

Tesis
RK
SIS
-C37
2004

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**ESTUDIO COMPARATIVO DE ALOINJERTOS ÓSEOS DESMINERALIZADOS
LIOFILIZADOS (DFDBA) EN ALVÉOLOS POSTEXTRACCIÓN CON Y SIN
PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF).**

75389

ANDREA SOLEDAD CARVAJAL ENDARA

**TESIS DE GRADO PRESENTADA COMO REQUISITO PARA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ODONTOLOGÍA CON MENCIÓN EN PERIODONCIA**

USFQ - BIBLIOTECA

QUITO

DICIEMBRE - 2004

© Derechos de autor
Andrea Soledad Carvajal Endara
2004.

Universidad San Francisco de Quito

Colegio de Graduados

HOJA DE APROBACION DE TESIS

ESTUDIO COMPARATIVO DE ALOINJERTOS ÓSEOS DESMINERALIZADOS
LIOFILIZADOS (DFDBA) EN ALVEOLOS POSTEXTRACCIÓN CON Y SIN
PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF).

ANDREA SOLEDAD CARVAJAL ENDARA

Doctor Mario Muñoz
Director de Tesis




(firma)

Doctor Roberto Campuzano
Miembro del Comité de Tesis



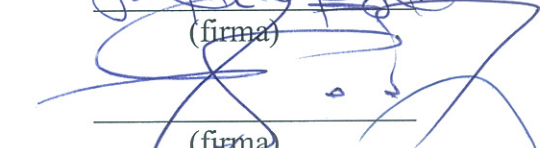
(firma)

Doctor Marco Medina
Miembro del Comité de Tesis




(firma)

Doctor Francisco Saa
Miembro del Comité de Tesis



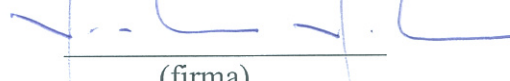
(firma)

Doctor Fernando Sandoval
Decano de Odontología



(firma)

Víctor Viteri, Ph.D.
Decano del Colegio de Graduados



(firma)

Quito, 17 de diciembre del 2004.

DEDICATORIA

Con todo mi amor
a mi hijo Flavio
a mis padres Ximena y Fernando
a mis hermanos Sofy y Fede.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento especial al doctor Mauricio Tinajero por su inmejorable apoyo en la realización de esta investigación, y en mi desenvolvimiento como alumna del postgrado.

Agradezco además a mi director de Tesis Doctor Mario Muñoz Mera por la valiosa guía y la dedicación para el desarrollo de esta tesis, así como por su carisma y entrega como docente.

Un reconocimiento especial al Doctor Fernando Sandoval por su aporte en la evaluación histológica para la ejecución de la presente investigación.

Con mucho cariño a mis profesores y amigos doctores: Fausto Dueñas, Roberto Campuzano, Marco Medina, Germán Moreno, doctora Tatiana León; a mis compañeras Anita y Jacky, y con especial afecto a Luisa, una gran amiga, muchas gracias por su ayuda incondicional durante el curso del postgrado y en la elaboración y culminación de mi tesis.

RESUMEN

La regeneración de los tejidos perdidos es uno de los principales objetivos de la terapia periodontal y quirúrgica, es así que, luego de la exodoncia indicada se recomienda utilizar algún tipo de material que favorezca la inducción, conducción y regeneración ósea para preservar el reborde alveolar, preparándolo para futuros tratamientos restauradores como la colocación de implantes y/o la instalación de prótesis. El objetivo del presente estudio es evaluar los efectos sobre la regeneración ósea y cicatrización de tejidos blandos con la adición de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) a los aloinjertos óseos desmineralizados liofilizados en alvéolos postextracción en comparación con el grupo control. Para ello se evaluó la densidad ósea obtenida en un mismo período de tiempo después de la regeneración ósea guiada con y sin la aplicación PRGF, además de observar las características de la cicatrización y maduración de los tejidos blandos en los alveolos postextracción en un grupo de estudio de 23 casos y en un grupo control de 16 casos.

De acuerdo a la valoración clínica y radiográfica se ha comprobado que la adición de PRGF a los aloinjertos óseos desmineralizados y liofilizados acelera la regeneración ósea además de mejorar la cicatrización de los tejidos blandos en alveolos postextracción.

ABSTRACT

Regeneration of lost tissues is one of the main goals of periodontal surgical therapy. After conventional tooth extraction, it is recommended to use some type of material that guides osseous induction, conduction and regeneration in order to preserve the alveolar ridge; preparing it for future restorative treatments as placement of implants and/or installation of a prosthetic device. The objective of the present study is to evaluate the effects of bone regeneration and healing of soft tissues in the addition of plasm rich growth factors (PRGF) to freeze-dried bone allografts in postextraction sockets in comparison to control group. It was evaluated osseous density obtained in the same period of time after guided bone regeneration and with and without application of PRGF. Also it was observed healing and maturation of soft tissues in postextraction sockets in a test group of 23 cases and a control group of 16 cases.

According to clinical and radiographic assessment, it has been proved that addition of PRGF to freeze-dried bone allografts accelerates osseous regeneration and improves healing of soft tissues in postextraction sockets.

Tabla de contenido

• Introducción	01
• Fundamentos teóricos	
1. Antecedentes Generales	04
2. Injertos óseos	05
3. Factores de Crecimiento	10
3.1 PDGF	13
3.2 TGF- β	13
3.3 IGF-I E IGF-II	15
4. Gel de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)	16
4.1 Técnicas para obtención de PRGF	19
4.2 Papel del plasma rico en factores de crecimiento en el proceso de cicatrización	24
4.3 Potencial terapéutico del PRGF en Odontología	26
4.4 PRGF como agente hemostático	30
4.5 Riesgos potenciales con el uso de PRGF	31
• Metodología	34
• Resultados	38
• Discusiones	48
• Conclusiones	50
• Recomendaciones	52
• Bibliografía	53
• Anexos	56

Lista de figuras

- Gráfico N° 1: Color a los ocho días 38
- Gráfico N° 2: Tumefacción a los ocho días 39
- Gráfico N° 3: Bordes a los ocho días 40
- Gráfico N° 4: Epitelización a los ocho días 41
- Gráfico N° 5: Dolor a los ocho días 41
- Gráfico N° 6: Calor a los ocho días 42
- Gráfico N° 7: Bordes a los quince días 43
- Gráfico N° 8: Epitelización a los quince días 43
- Gráfico N° 9: Promedio de porcentajes de altura radiográfica de alvéolos a las dieciséis semanas 45
- Gráfico N° 10: Densidad radiográfica a las dieciséis semanas 46

INTRODUCCIÓN

La pérdida dental implica un proceso de reabsorción del hueso alveolar a expensas de la tabla vestibular superior y lingual inferior en la mayoría de los casos, lo que conlleva a deficiencias en las dimensiones tanto vertical como horizontal del reborde alveolar, considerando que la sustitución de dientes perdidos comprende factores funcionales y estéticos es importante la ubicación de los implantes dentales o de los aditamentos protésicos usados para sustituir dichos dientes. La conservación del reborde alveolar consiste en la colocación de injertos óseos en los alvéolos postextracción para limitar el proceso de reabsorción e incrementar la velocidad de regeneración ósea en el sitio.

La regeneración de los tejidos perdidos es uno de los principales objetivos de la terapia periodontal y quirúrgica, es decir, conseguir la restitución de la forma y función tisular. Existen varios métodos para llegar a este objetivo, el uso de injertos y sustitutos óseos está muy difundido en nuestro medio, es así que, luego de la exodoncia indicada se recomienda utilizar algún tipo de material que favorezca la inducción, conducción y regeneración ósea con la finalidad de preservar el reborde alveolar, preparándolo para futuros tratamientos restauradores como es la colocación de implantes dentales y/o la instalación de prótesis.

La regeneración ósea guiada es un procedimiento quirúrgico aceptado que intenta incrementar la cantidad y calidad del hueso del reborde alveolar. Los métodos descritos para estos fines incluyen la utilización de autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos óseos aloplásticos. Si bien es cierto que el injerto ideal es uno de tipo autólogo, la aplicación de este conlleva dificultades como es un segundo sitio quirúrgico con las molestias postoperatorias correspondientes.

Los aloinjertos utilizados más comúnmente son: aloinjerto óseo desmineralizado liofilizado y aloinjerto óseo liofilizado mineralizado, existiendo la controversia sobre el potencial osteoinductivo de los mismos. No se ha demostrado el potencial osteoinductivo de estos materiales y si existiera, difiere de un banco de tejido a otro y está determinado por la edad y las condiciones del donante. Por otro lado los resultados controversiales sobre la transmisión de enfermedades han llevado al desarrollo de xenoinjertos y diversos

materiales aloplásticos. A pesar de que estos dos últimos tipos de injertos son biocompatibles y osteoconductores, sus resultados clínicos son impredecibles. Es así que se vuelve imprescindible el mejorar las condiciones osteoinductoras de estos materiales.

En la actualidad, se trata de obtener biomateriales que contengan células y mediadores biológicos que permitan la regeneración de un tejido en particular. Sería idóneo obtener estos biomateriales en nuestra consulta, para que sean aplicados directamente a los pacientes, limitando además, el riesgo de transmisión de enfermedades. Dentro de estas posibilidades tenemos la obtención y aplicación del Plasma Rico en Factores de crecimiento (PRFG), el cual es aislado del propio paciente y tiene una alta concentración de factores de crecimiento tisulares; lo que nos permite obtener mejores resultados en las diversas técnicas de regeneración ósea.

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRFG) es un concentrado de plaquetas y fibrinógeno, que al ser activado resulta en la liberación de una cascada de factores de crecimiento de los gránulos alfa de las plaquetas. Estos factores de crecimiento son péptidos que tienen un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo de una variedad de tejidos.

El uso de PRFG se viene investigando desde la década de los noventa, se han publicado varias técnicas para su obtención y para su activación. De la misma forma existen estudios con diversas aplicaciones con autoinjertos, aloinjertos y sustitutos óseos; considerando que es una técnica relativamente nueva en nuestro medio, es nuestro afán difundir el empleo de PRFG, ya que su obtención es sencilla, segura, de bajo costo, pero con grandes ventajas para nuestros pacientes.

Debido a que existe controversia en cuanto a las propiedades osteoinductivas de los aloinjertos óseos liofilizados desmineralizados, se pretende comparar su uso con y sin plasma rico en factores de crecimiento en regeneración ósea de alvéolos postextracción, sean o no futuros lechos para implantes dentales, para evaluar la respuesta de tejidos duros y blandos en ambas técnicas. De esta manera se busca una alternativa para mejorar las propiedades de estos aloinjertos, que nos permitan mejores resultados clínicos y radiográficos en regeneración ósea.

A pesar de que se ha sugerido que la combinación de PRGF e injertos de hueso autólogo aumenta la formación ósea, no está claro que el PRGF pudiera ejercer un efecto similar cuando se asocia con aloinjertos, ya que varios estudios sostienen que la actividad osteoinductiva de los aloinjertos óseos desmineralizados y liofilizados es limitada o nula. Por ello el presente estudio pretende aclarar estas dudas con la finalidad de definir adecuadamente las aplicaciones de PRGF en regeneración ósea.

El uso de aloinjertos óseos desmineralizados y liofilizados en combinación con gel de PRGF se presenta como un andamiaje radiotransparente que posee propiedades regenerativas, pero no interfiere en los estudios radiológicos, lo que permitirá hacer las comparaciones necesarias de densidad y altura ósea.

Se espera reducir el tiempo de colocación de implantes endoóseos y que además mejore el pronóstico para osteointegración por una mejor calidad ósea del lecho. Es importante comprobar si el uso de Plasma Rico en Factores de crecimiento mejora la cicatrización de tejidos blandos ya que permitiría un sinnúmero de aplicaciones en cirugía periodontal y bucal.

Una de las ventajas de esta técnica es que el material es obtenido del propio paciente, en el mismo consultorio odontológico y minutos antes de la intervención quirúrgica. El tiempo empleado y el valor económico permitirían que muchos pacientes accedan a este tratamiento con varias aplicaciones en cirugía periodontal, oral y maxilofacial.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1. ANTECEDENTES GENERALES

Una restauración con una excelente estética y función sobre implantes depende de que se lo coloque en una posición óptima de acuerdo a los objetivos restauradores. Desde el punto de vista quirúrgico, tanto la altura y las dimensiones vestibulo-linguales del reborde influyen en la ubicación del implante. Desde que estas dimensiones del reborde son consideradas tan críticas, es importante reconocer que la preservación del reborde post-extracción es esencial para conseguir el mantenimiento de las dimensiones vertical y horizontal del reborde, así como su contorno (23).

La respuesta ante la pérdida dental es la reabsorción ósea, donde la mayor pérdida ocurre en la dimensión horizontal del reborde a expensas de su superficie vestibular, debido a la presencia de inserciones musculares, sin embargo también ocurre una pérdida en la altura del reborde de tal forma que este patrón reduce el reborde hacia una posición más lingual o palatina. Así la reducción de las dimensiones vertical y horizontal del reborde influyen en la ubicación del implante y en su restauración. Esta situación empeora cuando además existe pérdida de alguna de las paredes del alvéolo (23).

Existen criterios clínicos que sostienen que el alvéolo de por sí tiende a llenarse de hueso donde el procedimiento de conservación de reborde sería superfluo, y por otro lado se considera que la preservación del reborde con injertos óseos intraalveolares con membrana deberían preservar tanto las dimensiones como el contorno del alvéolo facilitando la posterior colocación de implantes (23).

El mecanismo biológico posterior a una extracción dental se inicia con la formación de un coágulo que llena completamente el alvéolo; este es invadido y reemplazado por tejido de granulación hacia el séptimo día, que se eleva hacia la periferia del coágulo. En el cuarto día es visible tejido conectivo joven, mientras que es evidente el osteoide en la base del alvéolo cerca del séptimo día. La epitelización ocurre al cuarto día, y a los 28 días, el alvéolo está lleno de hueso inmaduro hasta sus dos terceras partes (6).

La reabsorción que se produce luego de una extracción tiene patrones diferentes en el maxilar y la mandíbula. Cuando un diente maxilar es extraído la tabla vestibular se reabsorbe mientras la nueva formación de hueso ocurre cerca de la tabla palatina. Es posible que ocurra porque la actividad de biosíntesis y fibrinogénesis de colágeno óseo precede a la finalización morfológica de la formación de hueso lamelar. El principal efecto de deformidades del reborde alveolar anterosuperior es estético, por lo que la terapia quirúrgica pretende conservar y mejorar las condiciones de su volumen y forma. (7).

2. INJERTOS ÓSEOS

Las razones para usar injertos óseos o materiales aloplásticos es la suposición de que el material puede contener células óseas neoformadoras (osteogénesis), de que puede servir como andamiaje para la neoformación ósea (osteoconducción), o en el mejor de los casos la matriz de los injertos óseos puede contener sustancias inductoras de hueso (osteoinductoras) que estimulen tanto la formación de hueso alveolar como de una nueva inserción periodontal (10).

El proceso de reparación ósea se inicia con una respuesta inflamatoria que induce la proliferación de tejido de granulación en el lugar de la lesión, el mismo que aporta capilares, fibroblastos y células osteoprogenitoras. Los osteoblastos se derivan de las células osteoprogenitoras en el tejido de granulación, y empiezan a formar la matriz orgánica del hueso trabecular para su posterior mineralización. Esta masa cicatricial de tejido nuevo tiene una arquitectura desorganizada, que luego es reemplazada por hueso laminar. A medida que tiene lugar esta sustitución, el crecimiento del nuevo hueso se adapta también para formar una estructura organizada (12).

Los mecanismos por los cuales pueden cicatrizar los injertos y ocasionar la subsecuente formación de hueso son:

Osteogénesis: El injerto posee osteocitos vivos y osteoblastos que son la fuente de osteoide el mismo que es producido activamente durante las primeras cuatro semanas posteriores al injerto.

Osteoinducción: Es necesaria la presencia de materiales orgánicos capaces de inducir la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos, promoviendo el crecimiento óseo. Existe proliferación de vasos sanguíneos y de tejido conectivo, en el material de injerto, provenientes del hueso huésped, las células óseas del tejido huésped siguen los vasos sanguíneos y remodelan el injerto por procesos de formación y reabsorción. La proteína morfogenética, que se deriva de la matriz mineral del injerto, es reabsorbida por los osteoclastos y actúa como mediador de la osteoinducción; la proteína morfogenética y otras proteínas deben ser removidas antes del inicio de esta fase, que comienza dos semanas después de la cirugía y alcanza un pico entre las seis semanas y los seis meses, para decrecer posteriormente.

Osteoconducción: Ocurre cuando los componentes inorgánicos del hueso que actúan como una matriz y fuente de minerales, son remplazados por el hueso periférico; lo cual puede ocurrir cuando células mesenquimales indiferenciadas invaden el injerto para formar posteriormente cartílago que se osifica subsecuentemente.

Osteopromoción: Es la capacidad de inducir la formación ósea mediante la utilización de barreras, denominándose a este procedimiento Regeneración Ósea Guiada (10).

La osteogénesis es un proceso de formación de hueso que empieza a partir tanto de los osteoblastos del hueso natural del paciente como de las células supervivientes del injerto óseo que se ha colocado. A través de un proceso gradual de consolidación que comienza con la inflamación, los injertos óseos se incorporan a la estructura del hueso oral natural del paciente a lo largo del tiempo (12).

Los injertos autógenos se obtienen del organismo del mismo paciente, son los ideales porque son superiores en mantener la viabilidad celular. Contienen osteoblastos vivos y células madres osteoprogenitoras, además que, cicatrizan por osteogénesis. Estos injertos evitan los potenciales problemas de histocompatibilidad y el riesgo de transmisión de enfermedades. Las células osteoprogenitoras proliferan y cruzan la interfase entre el injerto y el lecho receptor. Los osteocitos trasplantados normalmente mueren por anoxia, mientras que los osteoclastos pueden sobrevivir al trasplante pudiendo iniciar la reabsorción del injerto, todo este proceso depende de una adecuada revascularización (12).

Los tipos de autoinjertos incluyen:

Fragmentos de hueso cortical con partículas mayores de 1559 x 183 um. con un mayor potencial de secuestro óseo por lo que no son las ideales.

El coágulo óseo descrito por Robinson en 1969 y se obtiene de hueso intraoral con fresas redondas, mezclado con sangre. Es más segura su reabsorción y sustitución en la zona receptora ya que sus partículas son menores (100 um) produciendo una actividad osteogénica mayor y más temprana. Tiene una previsión de relleno de más del 50% del defecto, el sitio ideal es la tuberosidad ya que el hueso es trabecular.

La mezcla ósea contiene hueso intraoral cortical y trabecular triturados y mezclados en una cápsula de amalgama hasta volverse semilíquida, con un tamaño final de las partículas de 210 x 105 um. (12).

El hueso autógeno se puede obtener de zonas intra y extraorales, aunque se prefieran las primeras es decir: mentón, región retromolar, rebordes edéntulos, torus, tuberosidad maxilar, etc. ya que resulta más fácil acceder a las mismas. Con la ayuda de trépanos o trefinas se pueden obtener núcleos formados principalmente por hueso cortical, luego de los cual es necesaria la trituración para utilizar el injerto en forma de partículas que pueden ir de 0,5 a 0,7 mm. (35).

A pesar que el tratamiento ideal para regeneración ósea es un injerto autólogo, en ocasiones no es posible obtener el mismo, en estos casos se recurre al uso de aloinjertos, para conservar la altura y ancho de rebordes alveolares luego de la extracción indicada de dientes; con miras a una futura rehabilitación protésica o a la inserción de implantes dentales (6).

Los aloinjertos son injertos transferidos entre miembros de la misma especie genéticamente diferentes. Se obtiene de cadáveres, se almacenan y procesan en bancos, donde se obtiene el hueso cortical a las 12 horas del fallecimiento del donador, se desgrasa, se corta en fracciones menores, se lava en alcohol absoluto, se deseca profundamente, luego se lo puede o no desmineralizar, para posteriormente fraccionarlo en partículas finas de 250 a 750 um. Tiene ventajas debido a que se elimina el sitio donante en el paciente, se disminuye el tiempo quirúrgico, de anestesia y se presenta menor pérdida sanguínea durante la cirugía (36).

Los tipos de injertos óseos alógenos disponibles son: hueso esponjoso y médula de la cresta ilíaca congelados, injertos de hueso desecado congelado mineralizado (FDBA) e injertos óseos desecados congelados desmineralizados (DFBDA). Los productores de estos injertos sostenían que la desmineralización en ácido clorhídrico diluido a bajas temperaturas, expone componentes de la matriz ósea, asociados con las fibras colágenas llamadas proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Obteniéndose mejores resultados cuando la zona donante es la cortical. De este modo este material se convertiría en osteoinductor (11).

Se ha determinado que la cantidad mínima efectiva de proteína morfogenética ósea es de 2 ug/40 mg de peso húmedo de material obtenido, con una cantidad óptima de 10 ug. (microgramos) para que tenga efectos osteoinductivos (12).

Los aloinjertos pueden formar hueso a través del efecto de la oseoinducción y la oseoconducción; no se da en el proceso de la osteogénesis debido a que el injerto no posee células vivas, por lo tanto la formación ósea es lenta y se pierde volumen apreciable si se compara con el injerto autólogo. Se demostró que la cicatrización de los aloinjertos esta mediada por la encapsulación de las partículas injertadas (13).

El aloinjerto mineralizado se comporta como una estructura que permitirá el crecimiento de nuevo hueso a partir del reemplazo gradual que sufre el injerto por el hueso huésped. Este proceso se da por proliferación subperióstica y endocondral (11).

El hueso humano desmineralizado liofilizado se ha usado como injerto de defectos intra y extraóseos, debido a que se pensaba en la posibilidad de que induzca la formación de nuevo hueso ya que consideraba la presencia de proteínas morfogenéticas en este material. Los estudios pioneros en el uso de este aloinjerto fueron dirigidos por Urist (en 1965 y 1973); y Reddi y Huggins (1972); posteriormente se ha usado este aloinjerto como material regenerativo en defectos periodontales y periimplantares, en los que por un lado se ha demostrado reducción de la profundidad de sondaje y relleno de los defectos y por otro la cobertura de roscas expuestas y expansión de rebordes alveolares deficientes (19).

En estudios para valorar la influencia del tamaño de las partículas sobre la osteoconducción. Melloning y cols. en 1996 utilizaron hueso liofilizado con partículas de 0,1 a 0,3 mm. en 48 pacientes, obteniendo un relleno óseo mayor del 50% en un 64% de 97 defectos intraóseos. Quintero y cols. 1982 han conseguido un relleno óseo medio de 65% en defectos intraóseos humanos utilizando aloinjertos de hueso desmineralizado liofilizado con partículas de 0,25 a 0,5 mm. de tamaño. En el estudio de Fucini y cols. de 1993 no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de relleno óseo obtenidos con aloinjertos óseos desmineralizados liofilizados de partículas de 0,25 a 0,5 mm. y de 0,85 a 1,0 mm. (35)

Antes de colocar el injerto se debe hacer un minucioso curetaje de la zona receptora, posterior a ello se activa el sangrado intraalveolar o intraóseo mediante perforaciones intramedulares. El injerto disponible comercialmente tiene partículas que van de 250 a 750 um. de tamaño, se rehidratan con suero fisiológico estéril 30 minutos antes del procedimiento, tiempo durante el cual también se volatilizan ciertas sustancias químicas utilizadas en el proceso de esterilización del aloinjerto. Se puede aplicar en la cavidad por medio de una jeringa estéril y una vez ubicado en el lecho se lo comprime varias veces con una espátula y una gasa húmeda con suero, para lograr minimizar los espacios muertos entre las partículas del injerto. Se repite el proceso hasta conseguir sobrellenar el defecto (13).

Estudios experimentales en seres humanos demostraron que el tejido óseo regenerado antes de las 12 semanas está íntegramente compuesto por tejido blando, mientras que las muestras con regeneración con aloinjerto de 4 meses o más están constituidas por tejido blando y cantidades crecientes de tejido mineralizado. Sin embargo al compararlo con tejido óseo regenerado mediante injerto autólogo, este tejido está mucho más calcificado que el anterior (6).

Brugnami y cols. en 1999 reportaron evidencias histológicas de la presencia de hueso en biopsias obtenidas luego de tres meses de regeneración ósea guiada mediante el uso de aloinjerto desmineralizado liofilizado y membrana no reabsorbible, las secciones descalcificadas mostraron focos de partículas de aloinjerto rodeadas por hueso embrionario y laminar. Las lagunas de aloinjerto eran acelulares no así las de hueso nuevo que

presentaban osteocitos, además se observaron osteoblastos revistiendo espacios endosteales y la nueva médula evidenciaba un grado de fibrosis sin inflamación. Se advirtió actividad osteoclástica evidente sobre las superficies del aloinjerto en varias secciones, con ausencia de encapsulación fibrosa (13).

Según el análisis histológico publicado por Landi y cols. en el 2000, el hueso humano desmineralizado y liofilizado está completamente reabsorbido a los 10 meses, mientras que todavía se encontraron partículas en biopsias de 6 y 9 meses (37).

Iasella y cols. en el 2003 reportaron un estudio comparativo entre alvéolos postextracción con y sin injerto óseo y membrana para preservación del reborde. En el estudio se incluyeron 24 pacientes que requirieron extracción dental excepto de molares, el grupo de estudio recibió el aloinjerto de hueso liofilizado hidratado con tetraciclina y cubierto con una membrana de colágeno, mientras que en el grupo de control únicamente se realizó la exodoncia. Posteriormente se registraron las dimensiones del reborde, y previo a la colocación de implantes se tomaron muestras histológicas para su comparación. De acuerdo a los resultados el uso de aloinjerto de hueso liofilizado con membrana de colágeno conserva mejor las dimensiones en altura y grosor del reborde alveolar comparado con los sitios de solo extracción. En el análisis histológico el grupo de estudio presentó más hueso que los sitios del grupo control, sin embargo en el grupo de estudio se incluyó un 28% de hueso vital y un 37% de fragmentos del aloinjerto de hueso liofilizado considerado hueso no vital (23).

3. FACTORES DE CRECIMIENTO

Existe una variedad de factores que contribuyen tanto a la estimulación, como al control del proceso de crecimiento: hormonas, polipéptidos, factores de crecimiento, elementos neurales, contactos proximales por células homólogas y heterólogas, y una interacción con la matriz extracelular, que parece ser la más importante. Cada factor puede señalar una célula blanco por medio de la formación de un complejo receptor del factor en el exterior de la membrana plasmática (31).

Además de la matriz extracelular, existe otro tipo de modificadores de la respuesta biológica, y son los péptidos factores de crecimiento. La importancia fundamental de estos factores de crecimiento reside en que estimulan el crecimiento y el mantenimiento de la viabilidad de una extensa variedad de tipos celulares que ha llegado a ser un principio generalmente aceptado como desarrollo biológico. Estos péptidos son parecidos a las hormonas en su estructura y función. sin embargo, se ha determinado que sus sitios de síntesis y medios de transporte para células específicas son más variables que sus análogos hormonales (31).

Definiríamos a los factores de crecimiento como un tipo de mediadores biológicos naturales que regulan procesos celulares fundamentales para la regeneración tisular, incluyendo la proliferación celular, la quimiotaxis, la diferenciación y la síntesis de la matriz, uniéndose a receptores específicos de la superficie celular. Los factores de crecimiento tienen efectos pleiotrópicos sobre la cicatrización de las heridas y son unos potentes moduladores de las células que forman el periodonto (5).

La mayoría de estos son liberados continuamente para difundirse a las células blanco (mediante un sistema: endócrino, parácrino y autócrino). Los mecanismos por los cuales son sintetizados y liberados los factores de crecimiento son aún desconocidos. La señal de transducción del factor que induce la repuesta proliferativa está mediada por receptores de alta afinidad presentes en la superficie de las células blanco (31).

Los receptores de los factores de crecimiento son generalmente proteínas quinasas localizadas en la membrana celular. Los factores de crecimiento se hallan agrupados en varias familias:

- Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)
- Factor de crecimiento transformante - beta (TGF- β)
- Factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF)
- Factor de crecimiento de la epidermis (EGF) y relacionados (TGF-alfa)
- Factores de crecimiento similares a la insulina (IGF)
- Factor de crecimiento derivado del cemento (CGF)
- Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) (8).

Los factores que desempeñan un papel importante en la cicatrización de heridas periodontales y óseas son el PDGF, IGF-I, la proteína morfogenética ósea 2 (BMP-2), la proteína morfogenética ósea 3 (BMP-3) llamada también osteogenina y la proteína morfogenética ósea 7 (BMP-7) conocida también como proteína osteogénica 1 (OP-1), donde las tres últimas forman parte de la súper familia de TGF- β (5).

El comportamiento quimiotáctico es una propiedad de una variedad de tipos celulares comprometidas en procesos biológicos como: reparación de heridas, desarrollo de órganos y nervios, invasión tumoral e inflamación. Los factores que modulan la quimiotaxis celular han sido implicados en el crecimiento celular y su diferenciación. Las proteínas de matriz extracelular como la laminina y fibronectina han demostrado estimular la motilidad de células en mamíferos en varios tipos celulares. Estas glicoproteínas también juegan un papel en el proceso de la adhesión celular, crecimiento y su diferenciación. En ensayos *in vitro* se ha demostrado que la laminina es mucho más efectiva como agente quimiotáctico que la fibronectina. Otros modificadores de la respuesta biológica como el colágeno tipo IV, y el factor de crecimiento epidérmico fueron activos como quimiotácticos, pero no tan efectivos en inducir la quimiotaxis como la laminina. Los datos obtenidos por Terranova y Lyall en 1987 definen que la laminina y otros componentes de la membrana basal pueden ser importantes reguladores de la migración y el crecimiento de células epiteliales gingivales (32).

En la cicatrización periodontal, las células epiteliales gingivales, fibroblastos gingivales y fibroblastos del ligamento periodontal, son la mayoría de células incluidas en el proceso de reparación de tejidos blandos para una nueva inserción y además responden a la liberación local de factores de crecimiento. Los factores de crecimiento están presentes en la matriz ósea y pueden regular la formación y reabsorción ósea. En varios modelos animales se ha demostrado la formación ósea y la estimulación en la regeneración de cemento, reveladas histológicamente (8).

El ligamento periodontal está compuesto por una heterogénea población celular incluyendo células endoteliales. En la cicatrización la neovascularización es un evento biológico esencial. Las células endoteliales han demostrado migrar hacia el factor de crecimiento de células endoteliales. Adicionalmente otras células de origen mesenquimal, han demostrado

poseer receptores para este factor de crecimiento. Por ello Terranova y cols. en 1987 evaluaron la capacidad del factor de crecimiento de células endoteliales de unirse a la dentina y por tanto de estimular la quimiotaxis de células del ligamento periodontal, donde se determinó que este factor de crecimiento se une preferiblemente a la dentina acondicionada con tetraciclina, además se ha demostrado que dicho factor de crecimiento se une al colágeno tipo I, y que potencia e induce la proliferación celular del ligamento periodontal (33).

3.1 PDGF

El factor más estudiado dentro de las investigaciones en periodoncia es el PDGF, desde que Lynch y cols. en 1980, descubrieron que promovía la regeneración de tejido óseo, de cemento y de ligamento periodontal (30).

El PDGF es transportado en el interior de los gránulos alfa de las plaquetas, no lo producen estas células sino sus progenitores: los megacariocitos, y son liberados al medio extracelular cuando se produce la activación plaquetaria, al degranularse las plaquetas (5).

PDGF parece tener un efecto pleiotrópico sobre la formación de hueso *in vitro* e *in vivo*, es un componente abundante de la matriz ósea y es liberado por células similares a osteoblastos. Promueve la formación intramembranosa de hueso cuando es inyectado subperiosticamente en huesos largos, e incrementa la resistencia biomecánica y la reparación en defectos por osteotomía en huesos largos. Demostrándose por el incremento del volumen y densidad del callo óseo (30).

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas recombinante humano purificado es un potente factor de crecimiento cicatrizante así como estimulante de la proliferación y el reclutamiento de células óseas y del ligamento periodontal. El uso de este rhPDGF-BB purificado mezclado con aloinjertos óseos resulta en una regeneración periodontal adecuada de las lesiones de furcación Clase II y en defectos intraóseos (30).

3.2 TGF- β

El factor de crecimiento transformador β es una cadena de 2 polipéptidos. Existen tres tipos diferentes. TGF-1, TGF-2 y TGF-3. El TGF- β se encuentra en altas concentraciones

en el hueso y en los gránulos de las plaquetas. Estos son secretados en forma latente por los macrófagos y activados en condiciones de pH bajo en procesos de curación de la herida. Además se encuentra también en concentraciones altas en las placas endocondrales, y en bajos niveles en la diáfisis y epífisis (10).

El factor (TGF- β) es un factor de crecimiento abundante en la matriz ósea y tiene una compleja variedad de efectos en los diferentes grupos celulares del hueso. Aumenta la síntesis de osteoblastos en la matriz ósea. TGF- β reside dentro de la matriz del hueso en una forma latente. Por esta razón puede ser local su actividad y puede tener efectos en la formación y resorción ósea, es una molécula candidata para ser involucrada en el mecanismo de remodelado óseo (34).

Por lo general el TGF- β tiene una acción inhibitoria sobre las células epiteliales y estimula al origen de las células mesenquimáticas. Además modula la producción de matriz extracelular y al mismo tiempo suprime la destrucción de la matriz disminuyendo la cantidad de plasminógeno y colagenasa. Además el TGF- β puede inducir la expresión de otros factores de crecimiento y estimular la producción de PDGF para células mesenquimáticas (10).

Se ha confirmado que el TGF- β tiene un efecto potente sobre las células asociadas al hueso. Se ha comprobado que estimula la formación ósea y favorece la cicatrización de defectos óseos en la bóveda craneal y las tibias en comparación a grupos controles. Estudios recientes han confirmado que el TGF- β 1 combinada con un matriz de colágeno a modo de transportador tiene efectos sobre hueso. Otro estudio ha demostrado que cuando se inyecta TGF- β 1 bajo el periostio estimula la proliferación de las células periósticas y potencia considerablemente la formación de hueso y cartílago. También se ha informado que el hueso neoformado está vascularizado y genera médula ósea (10).

Además el TGF- β es un potente estimulador de la fibronectina. Y esta a la vez interviene en la fijación de los fibroblastos a la superficie radicular. Así como también se considera es un factor angiogénico indirecto debido a sus grandes propiedades quimiotácticas sobre los monocitos que liberan distintos factores de crecimiento peptídicos angiogénicos (5).

El TGF- β es un péptido con un bajo peso molecular de 5.700 kda., que actúan induciendo un anclaje independiente de la transformación de las células NRK en estudios *in vitro*. Estas no se relacionan con TGF- β pero están relacionadas con EGF y compiten por los mismos receptores. La activación y producción de macrófagos se debe a un gen de TGF- β . El 42% de este, es homólogo al EGF por la unión de sus receptores. Estimula fibroblastos, células endoteliales y especialmente a células epiteliales (10).

3.3 IGF-I e IGF-II

Este grupo de polipéptidos exhibe efectos pleiotrópicos sobre la homeostasis ósea. IGF-I y el IGF-II comparten un 62% de homología con respecto a la secuencia de aminoácidos con la proinsulina y se unen a dos receptores diferentes en la superficie celular. La matriz ósea es una abundante fuente de IGF-I e IGF-II, ambos factores son producidos por células similares a osteoblastos. Estos dos factores influyen en la regulación de células óseas en forma autocrina o paracrina por incremento de la síntesis de ADN, síntesis de osteocalcina y elevación de la actividad de la fosfatasa alcalina. Más aún promueven directamente la migración de osteoblastos en forma dependiente de la dosis. EL IGF-I incrementa la síntesis de colágeno óseo y disminuye la degradación de colágeno en cultivos (8).

La administración subcutánea de IGF-I estimula el recambio óseo en pacientes con osteoporosis resultando en la elevación de los niveles séricos de osteocalcina, fosfatasa alcalina y del péptido carboxiterminal de procolágeno tipo I. Por esta variedad de actividades es que el IGF-I puede regular el recambio óseo y la actividad del ligamento periodontal:

1. Promueve la aposición de matriz ósea (síntesis de proteínas colágenas y no-colágenas)
2. Mitogénesis de osteoblastos y fibroblastos del ligamento periodontal
3. Quimiotáctico para fibroblastos del ligamento periodontal, osteoblastos y células progenitoras de osteoblastos (8).

Los factores de crecimiento insulínico; IGF I y IGF-II son producidos por células óseas así como por otros tipos de células, incrementan el colágeno tipo 1 y la síntesis de osteoblastos en la matriz ósea, además intervienen en la disminución de la degradación del colágeno. También son mitogénicos como precursores de osteoblastos. La actividad del

factor insulínico (IGF) es modulada *in vitro* e *in vivo* por una serie de uniones proteicas las cuales incrementan o disminuyen la actividad de IGF (34).

4. GEL DE PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF)

El gel de Plasma Rico en Factores de Crecimiento es la combinación de 7 factores de crecimiento naturales en un coágulo normal como vehículo. Estos factores de crecimiento son: PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\beta\beta$, PDGF $\beta\alpha$, TGF- β_1 , TGF- β_2 , VEGF y EGF. El coágulo está compuesto de fibrina, fibronectina y vitronectina las que actúan como moléculas de adhesión celular requeridas durante la migración celular así como en la osteoinducción, epitelialización de heridas y en la oseointegración. El PRGF tiene la misma concentración de moléculas de adhesión tisular que un coágulo normal (200 μ g – 400 μ g/ml), por lo tanto el PRGF no es fibrina adhesiva y tampoco es osteoinductivo, es decir que no puede inducir la formación ósea *de novo*; solamente las proteínas morfogenéticas óseas pueden inducir hueso *de novo*. Sin embargo se sugiere una oportunidad futura de que el PRGF pueda acelerar la actividad de las proteínas morfogenéticas (14).

La terminología relacionada con PRGF puede ser errónea, por ejemplo no es un *concentrado de plaquetas* porque este es de composición sólida solo de plaquetas sin plasma. Tampoco es un *gel de plaquetas* porque el PRGF es un coágulo de sangre humana con un número mayor de plaquetas y que debe su formación a la acción de las moléculas de adhesión celular con una actividad biológica adicional (14).

Matras en 1982 describió al sellante de fibrina con cualidades de sellador tisular, hemostático y promotor de la cicatrización. En este año y posteriormente en 1985 este autor reportó varios casos del uso de este sellante tisular en anastomosis microvascular y microneurales, como hemostático en alteraciones de tejidos blandos, como sustituto de sutura en procedimientos de injertos de piel y de heridas epidérmicas, en la re aproximación de fracturas conminutas complicadas y en cierres duros (22).

En 1990 Gibble y Ness aplican la fibrina adhesiva o gel de fibrina, como un biomaterial desarrollado en respuesta a la necesidad de obtener agentes hemostáticos con propiedades adhesivas (3).

Tayapongsak reportó en 1994 y 1995 el uso de fibrina adhesiva para transportar hueso esponjoso autólogo particulado y médula en conjunto con aloinjertos e injertos aloplásticos para resolver defectos mandibulares; haciendo el seguimiento en 33 casos con notable éxito. La donación preoperatoria requería de varias citas dependiendo del tamaño del defecto, e incluso posteriormente se definió que la donación debía ser de 1 a 3 semanas antes de la cirugía y que el crioprecipitado debía descongelarse en un periodo de 24 horas para obtener de 10 a 15 ml. de un concentrado rico en fibrina el día de la cirugía y ser utilizado en 4 horas. Esta técnica era solo aplicable en ambiente hospitalario ya que partían de volúmenes de 500 cc. de sangre y utilizaban trombina bovina cuya utilización en Europa no está permitida. (22).

La fibrina adhesiva, referida también como sellante de fibrina o gel de fibrina es un biomaterial que fue desarrollado en respuesta a la búsqueda de agentes hemostáticos y de adhesivos quirúrgicos. Se ha descrito clásicamente como una mezcla de dos componentes en el cual se concentra fibrinógeno, factor XIII (factor estabilizante de la fibrina), y fibronectina a los que se adiciona trombina y cloruro de calcio así como un inhibidor de la fibrinólisis para formar un coágulo de fibrina. La trombina en presencia de calcio, transforma el fibrinógeno en fibrina en el punto final común de la cascada de la coagulación, además la trombina activa el factor XIII, el cual se convierte en fibrina en un coágulo organizado (22).

El fibrinógeno es obtenido de diferentes formas, incluyendo donantes al azar y crioprecipitados de un solo donante, así como concentrados de fibrinógeno derivados de plasma autólogo. La fibrina asegura el tapón de plaquetas en el sitio de la herida tisular, y se considera que promueve la migración celular y el crecimiento fibroblástico en áreas de aplicación de fibrina adhesiva. Se han utilizado varios inhibidores de la fibrinólisis incluyendo el ácido tranexámico, el ácido ϵ -amino caproico y aprotinina que se presume promueven la estabilidad del coágulo protegiéndolo contra la degradación de la plasmina. La diferencia entre la fibrina adhesiva y el gel de plasma rico en factores de crecimiento es

la alta concentración de plaquetas y una concentración natural de fibrinógeno en este último (22).

Además de los factores de crecimiento las plaquetas activadas liberan trombina local, tromboxano A₂ y adenosin difosfato que causan intensa vasoconstricción y atraen plaquetas adicionales para el desarrollo del coágulo, por lo tanto mejoran la respuesta hemostática (22).

La concentración de fibrinógeno en la fibrina adhesiva ha sido controversial ya que por un lado se sostenía que niveles máximos de fibrinógeno, mejoraban la adhesividad de la fibrina mientras que por otro lado se considera que la deposición de colágeno depende de la ruptura de la fibrina y mientras más altas sean las concentraciones de fibrinógeno en la fibrina adhesiva, la deposición de colágeno sería más lenta y por lo tanto se retardaría la cicatrización. Opiniones posteriores sostienen que lo ideal es un adhesivo con concentraciones naturales de fibrinógeno, como en el gel de plasma rico en factores de crecimiento, el mismo que además ofrece una consistencia gelatinosa adhesiva ideal para ser colocado en el sitio quirúrgico (22).

Whitman y cols. en 1997 reportaron el uso exitoso de gel de plasma rico en plaquetas en cirugía oral y maxilofacial en cirugía reconstructiva mandibular, en cirugía de paladar hendido y de fístulas oroantrales y oronasales, así como en procedimientos relacionados con la colocación de implantes osteointegrados. También practicó el uso de sellante de fibrina con la porción de plasma pobre en plaquetas obtenida luego de la centrifugación. Entre las ventajas mencionadas por Withman y cols. están una consolidación adecuada de los fragmentos óseos, un incremento en la adherencia del colgajo mucogingival, además de ser seguro y conveniente para el paciente por su aporte en la cicatrización (22).

Withman y Berry en 1998, describieron una técnica para mejorar la manipulación de injertos de hueso esponjoso particulado e injertos de médula combinados con gel de plaquetas, denominándolo como un sellante biológico. Obtenían el injerto de cresta ilíaca y lo reducían a partículas uniformes, para luego introducirlo en jeringas de 3ml. de forma similar a la descrita por Marx y Wong en 1987, una vez compactado el material se colocaba 1 ml. de gel de plaquetas para que se mezcle con el injerto al colocar y presionar

el émbolo de la jeringa. Posteriormente se corta la punta de la jeringa y se extrae el injerto en una consistencia adecuada para ser llevado con una pinza hacia el sitio receptor donde se puede compactar. De esta manera los autores evitaban las dificultades de pérdida del injerto una vez colocado en su lecho o su extrusión una vez cerrados los tejidos blandos además de los beneficios en la cicatrización y maduración del injerto (26).

Paralelamente, desde la década de los noventa, otro grupo de investigadores dirigidos por Robert Marx en 1998, estaban estudiando el comportamiento de los elementos de la sangre responsables de la reparación celular, las plaquetas, encontrando al menos tres factores de crecimiento: PDGF, TGF- β 1, TGF- β 2 (2).

4.1 TÉCNICAS PARA OBTENCIÓN DE PRGF

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF) puede obtenerse a partir de sangre autóloga mediante la técnica de plasmaféresis, que se utiliza cuando se necesitan grandes cantidades de PRGF. Para usos clínicos más limitados el PRGF puede prepararse a partir de volúmenes reducidos de sangre extraídos minutos antes de la cirugía, con la ayuda de una centrífuga portátil de uso general y con técnicas de separación simplificadas, con lo que es posible tener cantidades suficientes. (2)

Marx y cols. en la década de 1990, obtenían PRGF mediante la colocación de un catéter venoso central, extrayendo de 400 a 450 ml de sangre, usando como anticoagulante CPD (citrate phosphate dextrose) en una proporción de 1 ml. de CPD. por cada 5ml. de sangre. Centrifugaban a 5.600 rpm con una velocidad de obtención de 50ml. por minuto. Separaban así los tres componentes sanguíneos: capa eritrocitaria abajo, PRGF. (plasma rico en factores de crecimiento) en el centro y PPP (plasma pobre en plaquetas) arriba (16).

Una vez recogida la capa de PPP se bajaban las revoluciones de la centrifugación a 2.400 rpm. para conseguir una separación precisa del PRGF y la serie roja. De hecho recogía 1ml. de células rojas que estaban en la capa superior y las incluía con el producto de PRGF. El resto de la extracción: PPP y los eritrocitos era reintroducido al paciente por el mismo catéter ó a través de una vía periférica, este procedimiento se denomina

plasmaféresis, con esta técnica se puede obtener PRGF con una concentración de plaquetas del 300% en comparación con los niveles sanguíneos normales (16).

Es mejor que la obtención de la sangre autóloga se la efectúe antes de iniciar el procedimiento quirúrgico, ya que el inicio de la cirugía o la colocación de una vía intravenosa pueden reducir el número de plaquetas circulantes. Por un período de 8 horas el PRGF puede permanecer en estado de anticoagulación y estéril, siendo ideal que la separación del plasma se efectúe apenas termine la centrifugación (14).

El anticoagulante usado de preferencia es el citrato dextrosa-A ya que mantiene de mejor manera la viabilidad de las plaquetas. El citrato se une al calcio evitando la coagulación. La dextrosa y otros ingredientes sostienen el metabolismo de las plaquetas. El citrato fosfato dextrosa preserva la integridad de la membrana plaquetaria y se puede usar también en el desarrollo del PRGF, sin embargo es 10% menos efectivo en mantener la viabilidad plaquetaria. No se recomienda el uso de ácido etilendiamino tetracético (EDTA) como anticoagulante porque fragmenta las plaquetas (14).

Según Marx una sólo centrifugación no es suficiente porque las células rojas interfieren con la separación fina de las plaquetas, por lo que sugiere dos centrifugaciones la segunda sin hematíes. Además recomienda que se active el plasma el momento de utilizar el coágulo ya que en los primeros 10 minutos las plaquetas secretan el 70% de los factores de crecimiento y completan el 100% en la primera hora. Posteriormente sintetizan cantidades adicionales de factores de crecimiento por cerca de 8 días hasta que son deplegadas y mueren (14).

Para aplicar el gel de PRGF se requiere iniciar el proceso de coagulación con una mezcla de 10 ml. de cloruro cálcico al 10% con trombina bovina tópica de 10.000 unidades. El protocolo para utilizar el PRGF, requiere usar jeringas individuales para cada mezcla, que contiene del orden de 6 ml. de PRGF, 1 ml. de la mezcla de cloruro cálcico y trombina y 1 ml. de aire para completar el proceso. La jeringa se agita durante 6-10 segundos para homogeneizar el producto de forma que el PRGF, ahora en forma de gel se pueda añadir con el material de relleno ó con el injerto. El fibrinógeno presente en el PRGF es activado y llega a constituir una red de fibrina, es por ello que el injerto autólogo se gelifica y

permanece adherido dentro del defecto. Esta técnica también es ventajosa al utilizar sustitutos óseos granulados como hidroxapatita, hueso bovino o fosfato tricálcico (16).

Anitua en 1999 propone la utilización de Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF) en la preparación de futuros lechos para implantes. El PRGF lo obtiene extrayendo 20 ml. de sangre de cada paciente usando tubos de 5 ml. con el 10% de citrato trisódico como anticoagulante. Los tubos eran centrifugados a 280 G. durante 7 minutos a temperatura ambiente. La sangre era así separada en sus tres elementos básicos: la serie roja abajo, el plasma rico en factores de crecimiento en el centro y el plasma pobre en factores de crecimiento en la parte superior (16).

El plasma rico en factores de crecimiento era recogido incluyendo 1-2 ml. de células rojas de la parte superior y transferido a tubos Eppendorf, donde le añadían 50 μ L. de cloruro cálcico al 10%. Después de 15-20 minutos adquiría la consistencia de gel y era introducido en el alvéolo de extracción como un injerto para mejorar la calidad ósea y la cicatrización. En sus conclusiones refiere una epitelización del 100% de los casos, determinando una mejoría significativa entre los pacientes tratados con el PRGF, ya que encontró regeneración ósea, hueso maduro en cantidad y calidad sin ningún efecto negativo (16).

La obtención de la capa leucoplaquetar o capa de células mononucleares, hace que se recolecte la mayor parte de plaquetas de la sangre periférica, así como células gránulo-monocíticas tanto maduras como inmaduras (stem-cells), a partir de las cuales se pueden regenerar todas las células hematopoyéticas con la consiguiente producción de múltiples factores estimulantes de proliferación celular.

Gonshor en el 2002, publicó una técnica simple para obtener plasma rico en plaquetas que consiste en la toma de 6 tubos vacutainer de 8,5 ml. de sangre cada uno, la centrifugación es en dos fases, la primera centrifugación se efectúa a 1300 rpm (160 G) durante 10 minutos, donde separamos a otros tubos la porción superior con plasma amarillento para centrifugarlos nuevamente a 2000 rpm (400 G) por 10 minutos. Luego se extrae la porción superior de plasma pobre en plaquetas y fibrinógeno que es de color amarillo claro, dejando en el tubo un concentrado de plasma rico en plaquetas de aproximadamente 1,5 ml. generalmente de color rojizo. (2)

La activación una vez obtenido el PRGF, puede realizarse con cloruro de calcio al 10%, también se puede optar por una activación con 1ml. de sangre completa autóloga y hueso esponjoso autólogo ya que ambos contienen trombina. Se puede activar con el uso de trombina humana o bovina con cloruro de calcio en una concentración de 5ml. de cloruro de calcio por 5.000 unidades de trombina bovina en polvo. El PRGF puede mezclarse con un material de aloinjerto, añadiendo una solución activadora en una proporción de 10:1 es decir que por cada 1 ml. de PRGF se debe añadir 0.1 ml. de trombina/cloruro de calcio (2).

Weibrich y cols. en el 2001 reportaron el análisis de la influencia de la edad y sexo del donante en la cantidad de plaquetas concentradas según el método de plasmaféresis y el método con centrifugación convencional de laboratorio. Según estos dos métodos no se determinaron diferencias clínicas que se relacionen con la edad y sexo del donador. Sin embargo el PRGF obtenido con plasmaféresis ofrece una mayor concentración de plaquetas que con el método en centrífuga convencional de laboratorio. Ambos métodos pueden ser efectivos en la obtención y concentración de factores de crecimiento autólogos pero no se puede medir la cantidad exacta de factores de crecimiento disponibles en cada caso (24).

La aplicación clínica de plasma rico en factores de crecimiento se veía limitada porque el método usado por institutos de transfusión ocasiona estrés cardiovascular en pacientes ancianos además de su alto costo de obtención. Existen en el mercado diversos sistemas para obtención de PRGF en la consulta privada, que llevan un tiempo de 30 a 40 minutos para su obtención. Weibrich y colegas en el 2002 publicaron un análisis de la habilidad de dos sistemas comerciales para obtención de PRGF, con respecto al contenido de TGF- β 1, PDGF-AB y IGF-I. Se investigó adicionalmente la influencia del conteo de plaquetas en la sangre circulante del donador sobre el conteo de plaquetas en el PRGF (15).

La proporción de TGF- β 1 y de IGF-I fue mayor en el sistema PCCS PRP, mientras que en el sistema Curasian hubo mayor concentración de PDGF-AB. Estas diferencias en la cantidad de factores de crecimiento parecen coincidir con las diferencias en las proporciones celulares de: trombocitos y leucocitos en las preparaciones de PRGF. A pesar de que en promedio, el contenido de factores de crecimiento fue mayor con el sistema

PCCS PRP, el significado biológico de diferentes proporciones de estos factores es todavía desconocido. La predicción exacta de niveles de factores de crecimiento basada en el conteo de trombocitos en sangre periférica o en las preparaciones de PRGF, parece muy limitada (15).

La doctora Landesberg y cols en el 2000 publicaron la cuantificación de PDGF y de TGF- β en gel de PRGF activado por dos métodos diferentes. El plasma rico en factores de crecimiento fue obtenido mediante dos ciclos de centrifugación y se lo activó en unos casos con agente gelificador ITA y con cloruro de calcio y trombina en los otros casos. En ambos grupos la preparación del PRGF fue en menos de 30 minutos y los niveles de PDGF y TGF- β fue similar, independientemente del método usado para iniciación de la formación del coágulo. De esta manera se puede utilizar el agente gelificador ITA sin el riesgo de coagulopatía potencialmente inducido por la trombina. Sin embargo no se publicó la composición exacta de este agente ni de datos acerca de su inoculación en seres humanos (28).

El trabajo con técnicas de anticuerpos monoclonales ha permitido comprobar que efectivamente este es un plasma rico en factores de crecimiento. También estudios en microscopía electrónica y con técnicas complejas de radio-inmunoensayo con doble marcaje permiten determinar que la membrana plaquetaria y sus receptores se encuentran intactos, así como que las plaquetas obtenidas con esta técnica conserven todo su contenido proteico (3).

Los ensayos con cultivos de diferentes líneas celulares permiten comprobar si los efectos han sido los esperados. Se han aplicado diferentes concentraciones de factores de crecimiento para determinar cuál es la dosis terapéutica idónea y se ha conseguido demostrar de forma objetiva y medible que el PRGF (plasma rico en factores de crecimiento) permite, en una semana conseguir una proliferación de osteoblastos cuatro veces superior a la zona control (3).

4.2 PAPEL DEL PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN

El proceso de cicatrización puede dividirse en 3 estados diferentes: activación bioquímica, activación celular y respuesta celular.

ACTIVACIÓN BIOQUÍMICA: comprende la traducción de injuria mecánica en señales bioquímicas que puedan ser entendidas por el cuerpo. El factor de Hagemann ubicado en el suero es el gatillo que inicia la cascada, cuando una agresión ocasiona interrupción de la microcirculación, el plasma entra en contacto con las proteínas tisulares y la membrana basal. Esto activa el factor de Hagemann y la circulación plaquetaria. La mencionada activación del factor de Hagemann desencadena 4 cascadas diferentes que resultan en la activación celular (18).

La activación de la cascada de la coagulación produce fibrina para ayudar en la hemostasia mientras que la trombina causa la máxima liberación de los gránulos alfa de las plaquetas. La cascada del complemento produce varias moléculas biológicamente activas incluyendo C5a, un potente quimiotáctico para neutrófilos y monocitos que también son importantes en la reparación y cicatrización. La cascada de las quininas resulta en la producción de bradiquinina que ocasiona dilatación microvascular en la periferia de la herida, y la activación del plasminógeno que produce plasmina, la cual degrada la fibrina. Los productos de la degradación enzimática de la fibrina son por sí mismas moléculas biológicamente activas que pueden ocasionar migración de monocitos y vasodilatación (18).

ACTIVACIÓN CELULAR: este estado resulta en el flujo celular hacia la herida. La primera respuesta celular comprende: neutrófilos, monocitos y plaquetas. Las plaquetas se acumulan en el sitio de la herida como respuesta a la agresión inicial; en respuesta a la trombina, las plaquetas liberan sus gránulos alfa que contienen factores inductores de las células mesenquimales locales y las células epidérmicas para que migren, se dividan e incrementen su síntesis de colágeno y glicosaminoglicanos (18).

RESPUESTA CELULAR: los monocitos transformados en macrófagos están incluidos en la respuesta celular final. Estas células colaboran con los neutrófilos en la defensa del huésped y producen varios factores de crecimiento, los cuales directamente reparan hasta que la herida sea sanada (18).

Estudios preclínicos y clínicos empleando el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, o una combinación de este con el factor de crecimiento – I similar a la insulina, para tratar las heridas periodontales sugieren que estos factores de crecimiento podrían aumentar la curación de heridas y la regeneración periodontal. Por otro lado también podrían mejorar la reparación alrededor de implantes dentales endoóseos (1).

Los efectos potenciales del factor de crecimiento derivado de las plaquetas incluyen la estimulación de la mitogénesis de las células madres medulares y el estímulo de la angiogénesis de la mitosis de células endoteliales, que se traduce en yemas capilares.

Se ha demostrado que el factor β de crecimiento transformante es un estimulador de la quimiotaxis y mitogénesis de los precursores de los osteoblastos, un estimulador de la matriz colágena para la curación de tejido conjuntivo y formación ósea, así como un inhibidor de la formación de osteoclastos y reabsorción ósea (1).

Los estudios iniciales se han centrado en la aplicación de PRGF a los injertos óseos; se ha comprobado que acelera la regeneración del hueso y la cicatrización de los tejidos blandos, y además incrementa la densidad del hueso trabecular maduro (2).

En estudios el PRP forma hueso 1,6 a 2,18 veces más que los controles. La densidad del hueso formado es 19 a 25% más al ser observado a 4 o 6 meses.

Los beneficios son:

Acelera regeneración de epitelio y endotelio.

Estimula la angiogénesis.

Síntesis del colágeno.

Mejora la respuesta hemostática.

Tiene alta concentración de leucocitos. (efecto antimicrobiano) (4).

4.3 POTENCIAL TERAPÉUTICO DEL PRGF EN ODONTOLOGÍA

La regeneración ósea guiada es un método quirúrgico aceptado y empleado en odontología y en implantología para mejorar la cantidad y calidad del hueso del huésped en áreas localizadas de defectos alveolares. La falta de predictibilidad en los procedimientos óseos regenerativos con diferentes materiales de injertos sugiere que es necesaria la mejoría de las propiedades osteoinductivas de estos materiales. El Gel de Plasma Rico en Factores de Crecimiento es una modificación de la fibrina adhesiva obtenida a partir de sangre autóloga que está siendo usado para conferir factores de crecimiento en altas concentraciones a sitios que requieren injertos óseos. Estos factores inducen a las células mesenquimales y epiteliales a migrar, dividirse e incrementar la síntesis de colágeno y matriz. El uso del gel de PRGF ha sido sugerido para el incremento del ritmo de deposición y calidad de la regeneración ósea en la preparación de lechos y en conjunto con la colocación de implantes dentales. Hasta el año 2003 únicamente se han encontrado 6 estudios usando gel de PRGF en humanos dentro de la literatura implantológica de los cuales 5 han sido reportes de casos (18).

Sánchez, Sheridan y Kupp en el año 2003 publicaron una revisión bibliográfica sobre el uso del gel de PRGF combinado con injertos óseos para la preparación de lechos de implantes desde 1960 hasta el 2002; en la cual se concluyó que son necesarios estudios longitudinales que determinen si la adición de gel de PRGF a los sustitutos óseos permite la colocación temprana de implantes y si incrementa la predictibilidad de los procedimientos regenerativos (18).

Se considera que el PRGF produce una consolidación temprana, alrededor de la mitad del tiempo necesario si solo se utilizara un injerto autólogo. Se ha sugerido además que el PRGF puede promover un aumento del 15 al 30% en la densidad de hueso trabecular. El empleo de PRGF se basa en la premisa de que a mayor número de plaquetas, se liberarán cantidades significativas de polipéptidos mitogénicos, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor β de crecimiento transformante, así como el factor de crecimiento – I similar a la insulina (1).

Marx y cols. en 1998 publicaron el primero y más consistente estudio del uso de PRGF en combinación con injertos. Evaluaron el efecto de reconstrucciones de defectos mandibulares de 5cm. o más debido a extirpaciones de tumores. El grupo de estudio recibió injerto trabecular medular con PRGF mientras que el grupo de control recibió únicamente el injerto trabecular medular; los controles se realizaron con radiografías panorámicas a los 2, 4 y 6 meses para determinar el grado de maduración del injerto. Los autores concluyeron que los injertos combinados con PRGF presentaron una madurez superior en casi el doble a los 2 y 4 meses que los injertos sin PRGF. Este índice se valoró subjetivamente de acuerdo a las imágenes radiográficas. El conteo de plaquetas obtenido por Marx y cols. en el PRGF era de 338%. Además realizaron biopsias a los 6 meses donde se compararon 10 especímenes divididos en tres grupos: sitios de hueso trabecular nativo con un valor de $38.9 + 6\%$, los sitios de injerto sin PRGF con un valor de $55.1 + 8\%$; y el grupo de injerto con PRGF con un valor de $74.0 + 11\%$. Es así que los autores concluyeron que la adición del PRGF a los injertos acelera el ritmo y el grado de formación ósea (18).

Según los reportes de Marx en 1998, a pesar de las variaciones cualitativas y cuantitativas del PRGF, los injertos autólogos tratados con PRGF maduran en las dos terceras partes del tiempo que los injertos sin PRGF, demostrando una radiopacidad mayor entre 1.6 a 2.6 y presentando un tejido 70% más maduro (16).

Anitua en 1999 reportó una serie de pacientes que requerían extracciones dentales por fracturas radiculares o periodontitis, donde 10 pacientes recibieron PRGF en los alvéolos postextracción, 5 de ellos recibieron PRGF combinado con injerto autólogo para evitar el colapso del reborde. Los diez pacientes del grupo control no recibieron ningún tratamiento posterior a la extracción dental. Se tomaron biopsias entre 10 y 16 semanas de la intervención. Anitua reportó regeneración ósea total en 8 de los 10 pacientes donde se determinó histológicamente la presencia de hueso compacto maduro con trabéculas bien organizadas y morfología normal. En dos de los pacientes del grupo tratado con PRGF se encontró hueso regenerado parcialmente con tejido conectivo y trabéculas no bien organizadas. En los diez pacientes del grupo control se encontró tejido conectivo en la mayor parte del alvéolo y no se encontró hueso maduro. Además en tres pacientes que requerían extracciones múltiples y que fueron asignados en un sistema de boca dividida, demostraron que los sitios tratados con PRGF presentaban hueso más maduro con

trabéculas mejor organizadas y una mayor regeneración ósea. En todos los pacientes tratados con PRGF, la epitelización fue descrita, basada en observaciones subjetivas, como muy buena y excelente (18).

Los estudios de Anitua de más de cinco años en la investigación del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), han demostrado varias ventajas como el hecho de ser aplicable a todo tipo de pacientes, para quienes no representa riesgo alguno, careciendo, además, de efecto antigénico; los tiempos de cicatrización y regeneración se reducen a la mitad y el postoperatorio mejora de manera notable. En un estudio multicéntrico que lleva tres años de evolución en más de 6.000 casos tratados no se ha observado ni un solo efecto indeseable. La estimulación de la regeneración ósea, regeneración alrededor de implantes y aceleración de la epitelización es incuestionable (3).

Kassolis y cols. en el 2000 presentaron un reporte de 15 pacientes con elevación de piso de seno maxilar e incremento de reborde con PRP y aloinjerto óseo liofilizado. Se trataron 14 zonas con elevaciones de seno maxilar y 3 con aumento de reborde donde posteriormente se colocaron 36 implantes; de los cuales 29 se insertaron en conjunto con el procedimiento óseo regenerativo. Treinta y dos implantes resultaron exitosos. Ante la evaluación histológica de dos pacientes se confirmó la presencia de hueso vital en formación con aposición de partículas residuales del aloinjerto (29).

Rosenberg y Torosian presentaron el reporte de un caso en el 2000 con el uso de PRGF combinado con injertos aloplásticos en elevación de piso de seno maxilar en un paciente de 70 años donde a los tres meses de la intervención para elevación del piso de seno maxilar se le colocaron los implantes y a los 6 meses recibió la rehabilitación protésica definitiva (18).

Shanaman y colegas en el 2001 publicaron un reporte de tres casos. El primero con aplicación de PRGF combinado con aloinjerto desmineralizado liofilizado y membrana de politetrafluoroetileno, el segundo caso con PRGF combinado con aloinjerto desmineralizado liofilizado y membrana reabsorbible y en el tercer caso una combinación de PRGF con injerto autólogo e injerto aloplástico con membrana de politetrafluoroetileno. Los autores concluyeron que el PRGF usado con diversos sustitutos óseos y con una

membrana de barrera pueden soportar una nueva formación de hueso y aumentar el reborde alveolar en forma localizada (18).

Froum y cols. en el 2001 presentaron el reporte de tres casos de elevación de piso de seno maxilar con PRGF combinado con hueso bovino anorgánico, con colocación inmediata de implantes de prueba de 2mm. de diámetro por 10mm. de longitud. En los análisis histológicos de este estudio se determinó que el PRGF no ocasionó diferencia significativa en la producción de hueso vital ni en el contacto de la interfase hueso-implante (18).

La aplicación clínica de hueso bovino mezclado con plasma rico en plaquetas autólogo en elevación de seno maxilar en rebordes alveolares posteriores severamente reabsorbidos con la inserción simultánea de implantes, fue investigado por Rodríguez y cols. en el 2003. En quince pacientes se realizaron 24 elevaciones de piso de seno maxilar e inserción de 70 implantes en forma simultánea. Se obtuvo un espécimen para biopsia en un paciente y a tres pacientes se les realizó tomografía computarizada evaluando la densidad ósea y comparándola con la del hueso nativo. Se perdieron 5 implantes con un rango de éxito del 92.9%. En la biopsia hubo evidencia de nueva formación ósea en íntima relación con el xenoinjerto. La densidad del injerto óseo era similar o excedía la del hueso nativo cercano (27).

Oyama y Tsugawa en el 2004, publicaron un estudio en el que se evaluó la eficacia de osteoregeneración de autoinjertos de cresta ilíaca con incorporación de plasma rico en plaquetas en 7 pacientes con hendiduras maxilares. La evaluación cuantitativa del hueso regenerado se realizó en tomografías computarizadas tridimensionales comparadas con el grupo control. Los resultados determinaron un promedio mayor de hueso regenerado en los sitios tratados con PRP. Se consideró al PRP como una fuente segura de factores de crecimiento así como de fácil obtención de los mismos. Por lo tanto podría mejorar la osteogénesis de injertos alveolares en pacientes con hendidura de paladar y asegurar el subsecuente tratamiento ortodóntico (20).

Oyama y Tsugawa sostienen que el PRGF podría mejorar la osteogénesis del hueso autólogo y reducir la reabsorción ósea postoperatoria. Schmitz y Hollinger en el 2001, dudaron sobre los efectos del PRGF porque el factor de crecimiento derivado de las

plaquetas es inhibitorio para las células osteoblásticas si es liberado en forma continua incrementando la reabsorción ósea. El presente estudio reveló que el PRGF puede mejorar la osteogénesis mucho más que la reabsorción ósea en una fase de remodelación dentro de 6 meses posteriores a la operación; sin embargo se desconoce por cuanto tiempo el PRGF ejerce influencia sobre el volumen óseo en dicho estudio (20).

4.4 PRGF COMO AGENTE HEMOSTÁTICO

Los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante representan un grupo de riesgo de hemorragia ante intervenciones quirúrgicas bucales por lo que se han propuesto diversos protocolos en su manejo clínico. Algunos autores han propuesto una combinación de terapia local antifibrinolítica y agentes hemostáticos locales como tratamiento efectivo; otros sugieren que los pacientes deben continuar con su régimen anticoagulante y únicamente aplicar ácido tranexámico como agente antifibrinolítico en los dos días postoperatorios. En algunos casos se ha utilizado fibrina humana adhesiva como un eficaz agente hemostático, sin embargo presenta riesgo de infecciones virales y tiene un costo elevado (21).

Della Valle y cols. en el 2003 publicaron un estudio que evaluó la efectividad del uso de gel de plasma rico en plaquetas para prevenir sangrado posterior a extracciones dentales en cuarenta pacientes con terapia anticoagulante. Cada paciente recibió gel de plasma rico en plaquetas en el alvéolo postextracción sin la administración de heparina luego de la suspensión de anticoagulantes orales por 36 horas. El 5% de los pacientes reportó complicaciones con hemorragia. El 40% de los pacientes presentó un leve sangrado que fue controlado con agentes hemostáticos tópicos. El 55% restante de los pacientes presentaron una hemostasia adecuada. Es así que se concluyó que la cirugía bucal en pacientes cardíacos bajo terapia anticoagulante oral puede verse facilitada con la aplicación de gel de plasma rico en plaquetas, utilizándolo como un producto seguro que simplifica el manejo sistémico y ayuda a prevenir las complicaciones hemorrágicas y tromboembólicas (21).

Las ventajas reportadas incluyen una sencilla obtención, activación y aplicación del gel de plasma rico en plaquetas, una adecuada ubicación del gel dentro del alvéolo, limitar o evitar la suspensión de terapia anticoagulante sistémica, bajo costo. Sin embargo hay que escoger cuidadosamente los pacientes que recibirán esta terapia (21).

4.5 RIESGOS POTENCIALES CON EL USO DE PRGF

Considerando que el PRP es de origen autólogo no implica riesgos en transmisión de enfermedades virales como el VIH o la hepatitis. Hay que distinguir estos factores de crecimiento nativos de factores de crecimiento recombinantes como el rh PDGFbb o de rh BMPs que son factores de crecimiento individuales procesados por plásmidos bacterianos y transferidos a genes humanos dentro de cultivos de células de ovario de hámsters Chinos. Estos luego son aplicados exógenamente pero como factores aislados en dosis superfisiológicas (25).

La formación del gel de PRGF comprende la activación con cloruro de calcio y trombina bovina tópica. El uso de la trombina bovina se ha relacionado con desarrollo de anticuerpos ante factores V y XI y trombina, resultando en el riesgo de coagulopatías. Landesberg y colaboradores revisaron reportes encontrados en la literatura de serias coagulopatías que fueron difíciles de tratar luego de exposición a trombina bovina tópica. Las preparaciones de trombina bovina tópica que contienen factor V resultan en una reacción del sistema inmune cuando compite con una proteína externa, pudiendo ocasionar la deficiencia del factor V después de la exposición a la trombina. Landesberg y cols. en el 2000 describieron un nuevo método para activar el PRP con un agente gelificador denominado ITA, siendo una alternativa más segura que la trombina, pero no describieron su composición específica ni su mecanismo de acción (18).

Marx ha utilizado trombina bovina desde 1996 sin el desarrollo de ninguna coagulopatía; sin embargo el indica que el uso de reactivos como la trombina humana recombinante o la trombina autóloga pueden evitar el riesgo de las posibles coagulopatías ocasionadas por la trombina bovina. Dentro de los posibles métodos para activar el PRGF que pueden

considerarse tenemos la trombina recombinante humana, trombina autóloga o trombina extrapurificada (18).

Los factores de crecimiento no producen cáncer ya que actúan a nivel de las membranas celulares y no en los núcleos. Los factores de crecimiento activan proteínas señaladoras internas las cuales promueven una expresión genética normal y no anormal, por lo tanto no son mutágenos (14).

Los factores de crecimiento en el PRGF son inducidos a secretarse en forma controlada mediante su mecanismo natural, donde la secreción de los gránulos alfa de las plaquetas ocurre durante los primeros 60 minutos posteriores a la activación del PRGF. Los factores de crecimiento en el PRGF actúan como las proteínas morfogenéticas óseas donde activan normalmente la expresión de genes y no en forma anormal, por lo tanto no son mutágenos. Sabemos además que los osteosarcomas producen BMPs pero desde su descubrimiento en 1965 no se ha reportado que las BMPs produzcan osteosarcomas. De la misma forma el cáncer induce la producción de factores de crecimiento pero los factores de crecimiento no producen cáncer (25).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos sobre la regeneración ósea de la adición de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) a aloinjertos óseos desmineralizados liofilizados en alvéolos postextracción en comparación con el grupo control.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar las características radiográficas de los alvéolos postextracción con regeneración ósea.
2. Establecer las diferencias encontradas en el comportamiento de tejidos duros y blandos ante la aplicación o no del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).
3. Evaluar la densidad ósea obtenida a las dieciséis semanas después de la regeneración ósea guiada con y sin la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).
4. Observar las características de la cicatrización y maduración de los tejidos blandos en los alvéolos postextracción sometidos a regeneración ósea.

HIPÓTESIS

La adición de plasma rico en factores de crecimiento a los aloinjertos óseos desmineralizados y liofilizados acelera la regeneración ósea además de mejorar la cicatrización de los tejidos blandos.

METODOLOGÍA

El presente estudio clínico es abierto, prospectivo y comparativo entre grupos.

Se incluyeron en el estudio los pacientes mayores de dieciocho años, que requerían exodoncia de uno o más dientes, donde estaba indicada regeneración ósea guiada con la finalidad de conservar el reborde alveolar en altura y/o grosor y que pudieron solventar el valor del aloinjerto y la membrana de colágeno. Una vez que el paciente cumplió con el criterio diagnóstico se le explicó la técnica a emplear y sus ventajas, de tal manera que cuando estuvo de acuerdo pudo ser incluido en el estudio. (Ver anexo: autorización del paciente).

Se excluyeron los pacientes con enfermedades sistémicas que comprometan la cicatrización (p.e. diabetes), que impliquen alteraciones hematológicas o que presenten inmunodeficiencias ya que son variables que modifican la respuesta tisular.

Se distribuyeron los pacientes de forma alternada en orden de llegada al grupo de estudio y al grupo control de tal forma que tengan la misma cantidad de pacientes. Se asignó un tamaño muestral propositivo de veinte pacientes en cada grupo. Ambos grupos de pacientes recibieron terapia antibiótica (Amoxicilina de 500mg. cada 8 horas por 7 días) y antiinflamatoria (Valdecoxib de 40mg cada 24 horas por 5 días), así como colutorios de clorhexidina al 0,12% (enjuague con el líquido puro por 1 minuto cada 12 horas durante 15 días) para un control adecuado de placa microbiana.

La inclusión de pacientes se realizó durante los meses de octubre del 2003 a enero del 2004, tanto en la Clínica Odontológica de la Universidad San Francisco de Quito como pacientes que acudieron a clínicas Odontológicas particulares de los docentes del Postgrado de Periodoncia: Dr. Mauricio Tinajero, Dr. Mario Muñoz, Dr. Germán Moreno, Dr. Marco Medina, Dra. Tatiana León, Dr. Roberto Campuzano.

En el grupo de estudio se obtuvo el plasma rico en factores de crecimiento de acuerdo al protocolo presentado por el Dr. Eduardo Anitua. La sangre se extrajo minutos antes de la intervención quirúrgica, de la región antecubital con una aguja de calibre 21 y fue recogida

en tubos vacutainer de 5 ml. Estos tubos tienen una solución de citrato trisódico (al 3.8%), ácido cítrico y dextrosa que actúan como anticoagulantes.

La separación del plasma se realizó mediante centrifugación de los tubos obtenidos, a una velocidad de 280 G, a temperatura ambiente por siete minutos; lo que permite concentrar las plaquetas en la porción de plasma más cercana a los glóbulos rojos. Considerando la capacidad de los tubos vacutainer empleados (5 ml.), la fracción más concentrada corresponde a 0,1 ml. que están encima de los hematíes y que es hasta ocho veces más concentrada en plaquetas que la sangre periférica. (9)

Se deshecharon los tubos que después de la centrifugación presentaron el plasma turbio con hematíes ya que se produjo una hemólisis debido a algún defecto el momento de la extracción de sangre, con un exceso de tromboplastina por el trauma de la punción.

Mediante un pipeteado cuidadoso se separaron las porciones de plasma de la siguiente manera:

- Los primeros 0,5 ml. desde la parte superior del tubo contienen un plasma pobre en plaquetas y en factores de crecimiento.
- Los siguientes 0,5 ml. contienen una concentración de plaquetas similar al de la sangre periférica.
- Los 0,5 ml. inmediatamente por encima de los hematíes es la fracción de plasma rico en plaquetas y en factores de crecimiento.

La activación se realizó con la adición de 0,05 ml. de cloruro de calcio al 10% y se mezcló enseguida con el material de injerto en este caso con un aloinjerto desmineralizado liofilizado. Para reducir el tiempo de formación del coágulo se puede equilibrar el plasma a 37° antes de la activación. Luego de realizada la extracción dental y la preparación del lecho, la mezcla del aloinjerto con el coágulo de plasma fue llevada al alvéolo y se cubrió totalmente con una membrana de colágeno reabsorbible hidratada con plasma rico en factores de crecimiento y luego se suturó el colgajo mucoperiódico.

En el grupo control luego de realizar la exodoncia se preparó el lecho para recibir el injerto. Una vez hidratadas las partículas de hueso liofilizado con solución fisiológica

estéril, se las colocó en el alvéolo, el mismo que fue adecuadamente cubierto por una membrana de colágeno y por el colgajo mucoperióstico, de esta forma este grupo de pacientes reciben un tratamiento quirúrgico de regeneración ósea guiada con aloinjerto.

Fueron eliminados del estudio los pacientes que por diversos motivos perdieron el injerto de su lecho durante los primeros 15 días, ya que las variables de control se verán alteradas.

Las variables del tratamiento incluyen la presencia o no de complicaciones durante la exodoncia, la cantidad de hueso liofilizado utilizado expresado en miligramos y el tamaño de la partícula, así como el tiempo de hidratación del mismo (mínimo 20 minutos). Se registró en centímetros cúbicos la cantidad de sangre extraída del paciente y la cantidad del plasma rico en factores de crecimiento obtenida.

Las variables de control en la cicatrización de tejidos blandos se registraron a los 8 y 15 días con la finalidad de detallar los signos y síntomas presentes. Estos datos son subjetivos y fueron recabados por la investigadora. Se incluyó la evaluación del color. La presencia o no de exudado y sus características. Se registró la adaptación entre sí de los bordes de la herida. Por interrogación al paciente se registró la presencia de dolor y de sensación de calor. (ver anexo: formulario de inclusión del paciente y control de tratamiento)

Las variables del control radiográfico se realizaron a las 16 semanas desde la colocación del injerto. Se examinaron radiografías convencionales y digitales. Donde se determinó la densidad ósea y la altura de relleno óseo en el alvéolo. La altura fue en milímetros y luego se registró en porcentaje de acuerdo al tamaño completo del alvéolo.

Las variables de control en la cirugía para implantes indicaron el tipo de hueso de acuerdo a las características de la cortical y de hueso esponjoso expresado en hueso tipo I, II, III y IV. Se tomó una biopsia del tejido regenerado en cuatro pacientes que requerían cirugía para implantes en el lecho preparado con el injerto, mediante una trefina de 2mm. de diámetro antes del ingreso de la primera fresa. El tejido obtenido fue colocado en formalina al 10%, y se lo remitió para su estudio histológico al Dr. Fernando Sandoval, quien colaboró con el informe histopatológico correspondiente y con las imágenes respectivas de cada muestra. De acuerdo a este estudio se determinaron las características

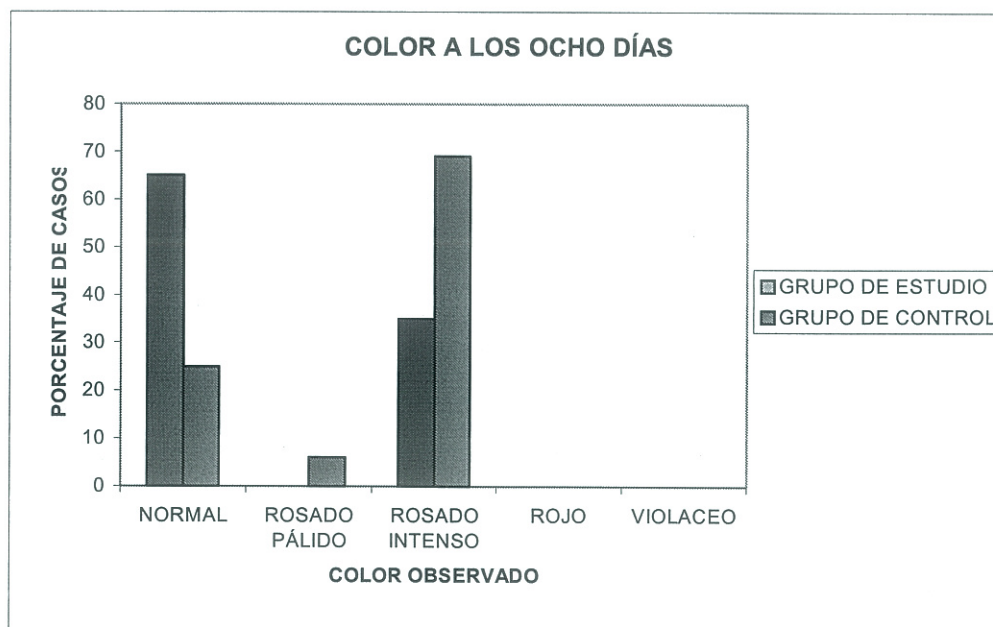
de madurez del tejido óseo, considerando la presencia de trabéculas óseas y la presencia de tejido conjuntivo, así como la persistencia o no de partículas del aloinjerto.

RESULTADOS

Para evaluar la respuesta de los tejidos blandos ante el tratamiento efectuado se realizaron dos exámenes clínicos de control, el primero a los ocho días y el segundo a los quince días del procedimiento de exodoncia y regeneración ósea guiada. No en todos los casos se valoró exactamente en esos días, tomándose como margen un día antes o un día después.

En la valoración clínica realizada a los ocho días de la exodoncia y la colocación del injerto con y sin gel de plasma rico en factores de crecimiento se observó que en el grupo control un 69% presentó un color rosado intenso mientras que en el grupo de estudio este color se observó en un 35% de los casos. En el 25% de los pacientes del grupo control se observó un color normal de la mucosa en el sitio quirúrgico ya que era similar al sitio contralateral del mismo maxilar, en tanto que un 65% de los pacientes del grupo de estudio presentaron esta coloración normal de la mucosa. Únicamente un caso del grupo de control correspondiente al 6% presentó un color rosado pálido en la zona quirúrgica con aspecto isquémico.

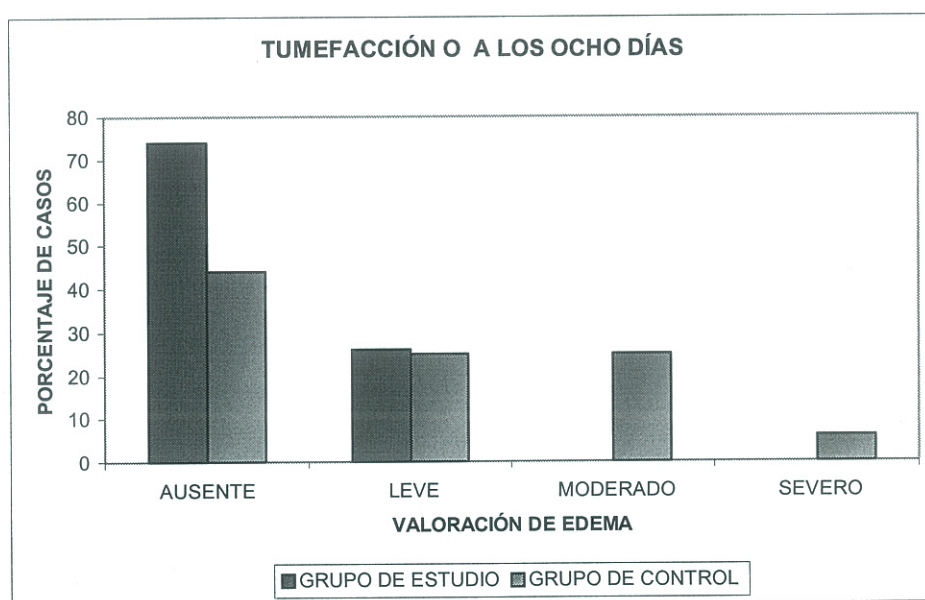
GRÁFICO N°1



La distribución de color rosado intenso demuestra la persistencia de inflamación tisular con una cantidad moderada de capilares sanguíneos dentro del proceso de cicatrización, mientras en los casos con coloración normal ese tejido inflamatorio ha sido sustituido por nuevo conectivo y epitelio. La variación de color evidencia signos de inflamación mayor en el grupo control que en el grupo de estudio en una relación de 2:1 a los ocho días, con una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de estudio y el grupo control ($P= 0.0225$).

En este mismo examen clínico se determinó tumefacción severa de la zona intervenida en el 6% de los casos del grupo control, tumefacción moderada en un 25%, leve en un 25% y ausencia de edema en un 44% del mismo grupo. A diferencia, en el grupo de estudio un 26% presentó tumefacción leve del sitio quirúrgico y un 74% no evidenciaron este signo de inflamación.

GRÁFICO N°2

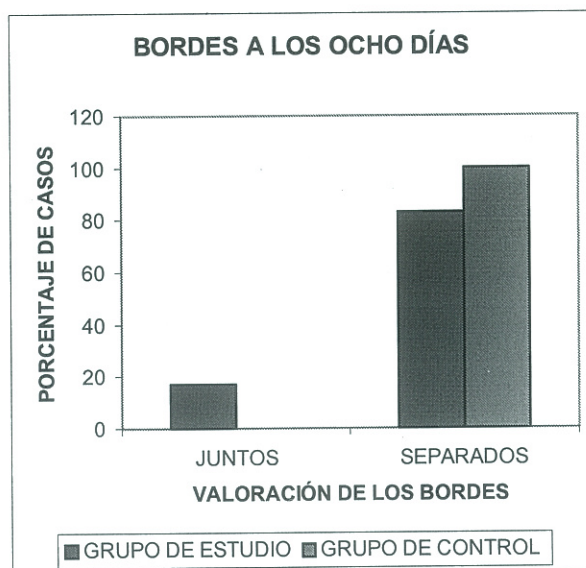


La persistencia de exudado inflamatorio en el espacio intercelular, constituye la tumefacción o edema del sitio afectado, como respuesta a la intervención quirúrgica y a la presencia del material de aloinjerto óseo. La ausencia de edema además indica que el recambio tisular es exitoso con la formación de nuevas fibras colágenas. La tumefacción de

la zona quirúrgica fue dos veces más frecuente en el grupo de control que en el grupo de estudio con una diferencia significativa estadísticamente ($P = 0.05$).

Los bordes de la herida estuvieron separados en todos los casos del grupo control a los ocho días, mientras que en el grupo de estudio un 83% de los casos presentaron bordes separados y en un 17% se pudieron observar los bordes juntos.

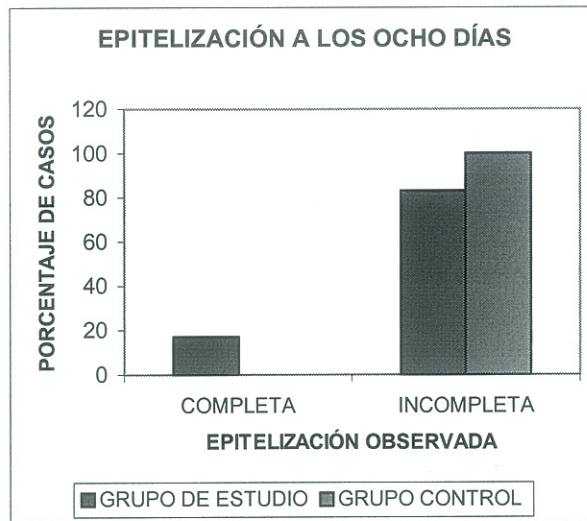
GRÁFICO N° 3



La epitelización del sitio quirúrgico estuvo incompleta en todos los casos del grupo de control, a diferencia del grupo de prueba donde un 17% de casos ya evidenció epitelización completa de la zona intervenida.

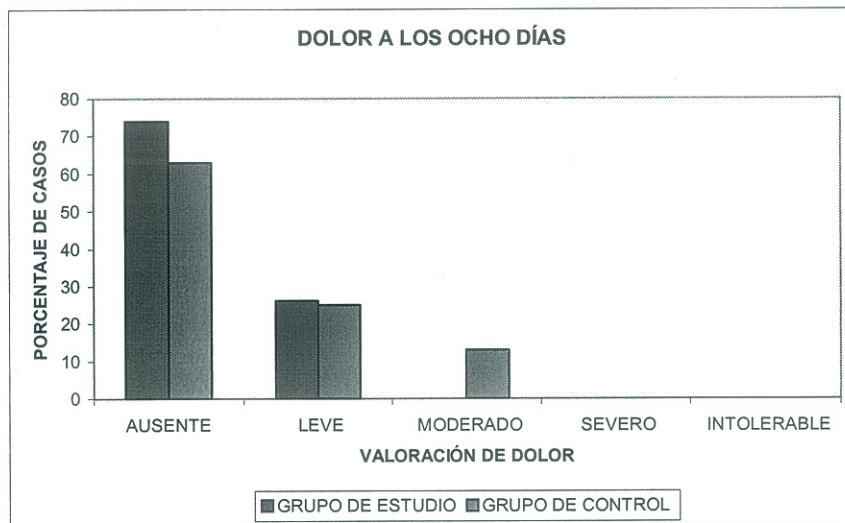
En solo 4 de los 23 casos del grupo de estudio se observó los bordes de la herida juntos y epitelización de la zona, mientras que, ningún caso del grupo de control presentó bordes juntos ni epitelización completa. La velocidad del recambio celular determina la epitelización de la herida que se ve mejorada por la presencia abundante de factores de crecimiento en los casos del grupo de estudio a pesar de no representar una diferencia estadísticamente significativa en relación con el grupo de control. Mientras que la unión de los bordes depende del manejo del colgajo, de la posición y distribución de los puntos de sutura.

GRÁFICO N° 4



En cuanto a la valoración de síntomas a los ocho días de la cirugía regenerativa, según el criterio de los pacientes del grupo control una cuarta parte sintieron un dolor leve, un 13% un dolor moderado y un 63% no refirió dolor. En tanto que, en el grupo de estudio solo el 26% de pacientes refirieron sensación de dolor leve, con un 74% de pacientes que no refirieron dolor.

GRÁFICO N° 5

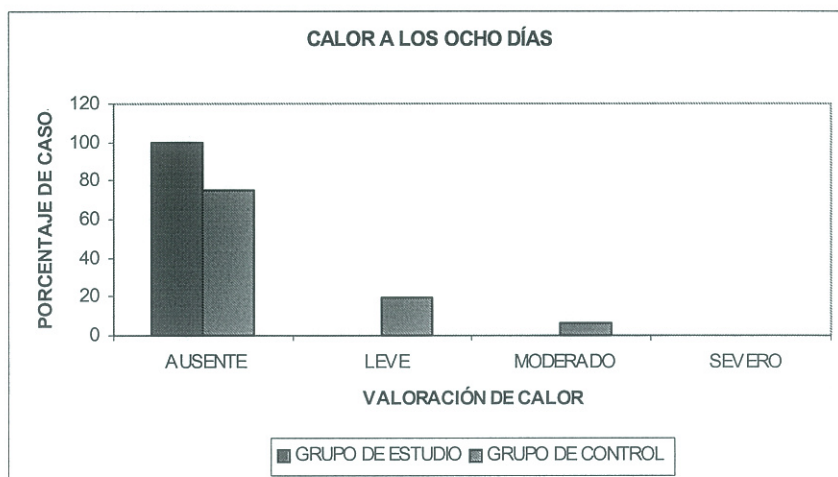


El dolor fue referido en forma parecida en ambos grupos: en la tercera parte de casos del grupo de control y la cuarta parte de casos del grupo de estudio. Esta relación se presenta

posiblemente porque ambos grupos recibieron terapia analgésica similar, no siendo una diferencia significativa estadísticamente.

La sensación de calor valorada a los ocho días, fue leve en un 19% de los pacientes del grupo de control, moderada en un 6% y estuvo ausente en las tres cuartas partes restantes del grupo mencionado. En el grupo de estudio ningún paciente reportó sensación de calor en el sitio intervenido.

GRÁFICO N° 6



El calor local como síntoma de inflamación es debido a la abundante irrigación sanguínea presente durante el período inflamatorio del proceso de cicatrización, y ha sido referido en el grupo de control con una diferencia estadísticamente significativa ($P= 0.0221$) en relación con el grupo de estudio donde no ha sido registrado.

En el segundo examen clínico realizado a los quince días de la exodoncia y regeneración ósea guiada, se observó que en el grupo control un 94% presentó un color normal de la mucosa en el sitio quirúrgico ya que era similar al sitio contralateral del mismo maxilar, en tanto que un 6% correspondiente a un solo caso del grupo de control presentó un color rosado pálido en la zona quirúrgica. En el grupo de estudio todos los pacientes evidenciaron un color normal de la mucosa correspondiente a la zona quirúrgica.

La tumefacción de la zona intervenida a los quince días permanecía leve en el 13% de los casos del grupo control con ausencia en el resto de pacientes del mismo grupo. En tanto que, en el grupo de estudio ningún paciente presentó tumefacción del sitio quirúrgico.

Los bordes de la herida permanecieron separados en todos los casos del grupo control a los quince días, en tanto que, en el grupo de estudio un 57% de los casos se observó bordes separados y en un 43% se presentaron los bordes juntos.

GRÁFICO N° 7

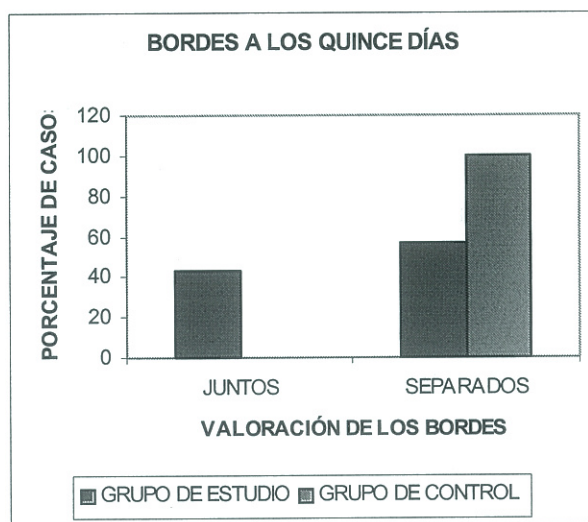
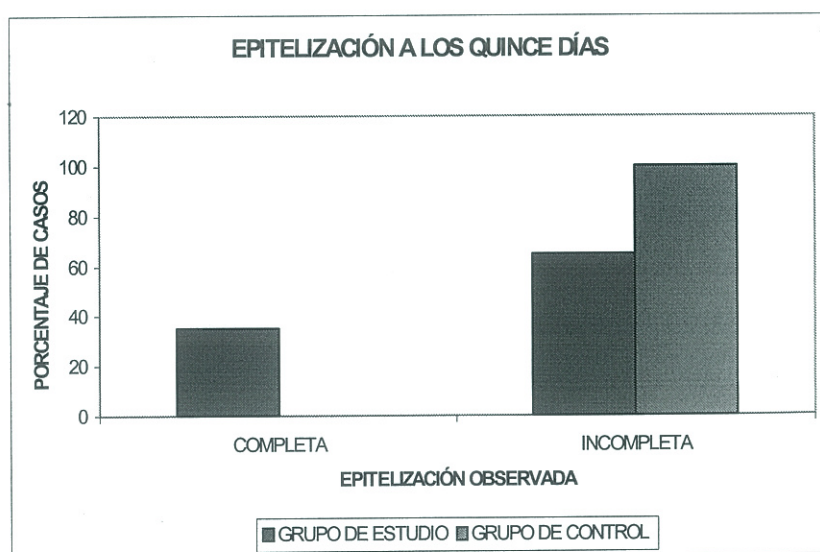


GRÁFICO N° 8



La epitelización del sitio intervenido estuvo incompleta en todos los casos del grupo de control hasta los 15 días, a diferencia del grupo de prueba donde un 35% de casos ya evidenció epitelización completa en la zona quirúrgica.

Los bordes de la herida continuaron separados en todo el grupo de control y en la mitad de los casos del grupo de estudio, siendo una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.005$). La epitelización fue incompleta en todo el grupo de control y solo la tercera parte del grupo de estudio presentó una epitelización completa de la zona intervenida, con significación estadística ($P = 0.025$). Determinado que el grupo de estudio presentó un mejor cierre de la herida y cicatrización de tejidos blandos.

La sintomatología evaluada a los quince días de la cirugía regenerativa, de acuerdo al criterio de los pacientes del grupo control uno de los dieciséis casos permanecía con dolor leve mientras el resto de pacientes no refirieron dolor. En el grupo de estudio ningún paciente refirió dolor a los quince días.

A los quince días la sensación de calor en la zona intervenida, fue leve en uno de los dieciséis pacientes del grupo de control, mientras el resto no refirieron esta sensación. En tanto que, ningún paciente del grupo de estudio reportó sensación de calor en esta valoración.

Se pudo observar solo un caso de exudado purulento en el grupo de control a los ocho días, se continuó con antibiótico terapia por siete días más con Amoxicilina y Metronidazol, en el control a los quince días se pudo detectar exudado sanguinolento.

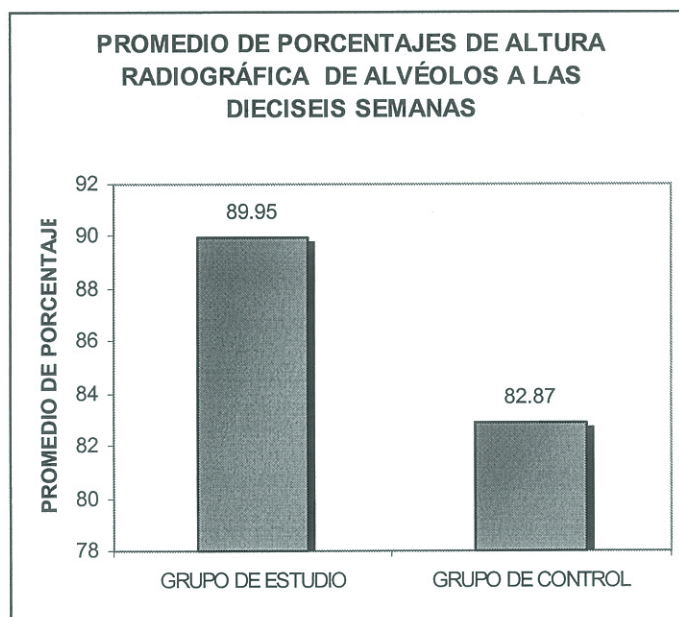
En varios de los casos en que se colocó la membrana Colatape® se pudo observar una exposición de la membrana hasta la evaluación clínica a los quince días que impedía la unión de los bordes de la herida. En tres casos del grupo de estudio donde no se colocó membrana por considerarse innecesaria los bordes de la herida se observaron juntos, así como una epitelización completa de la zona intervenida.

Se puede determinar que la distribución de signos y síntomas de inflamación en el sitio intervenido es mayor en el grupo control que en el grupo de estudio a pesar de ambos

grupos haber recibido terapia antiinflamatoria y antibiótica similar. Se observó que la epitelización de la herida es mejor y más rápida en el grupo de estudio apoyando la hipótesis de que la adición de gel de plasma rico en factores de crecimiento acelera la regeneración de tejidos blandos evidenciando una mejor cicatrización que en sitios donde no se lo aplicó.

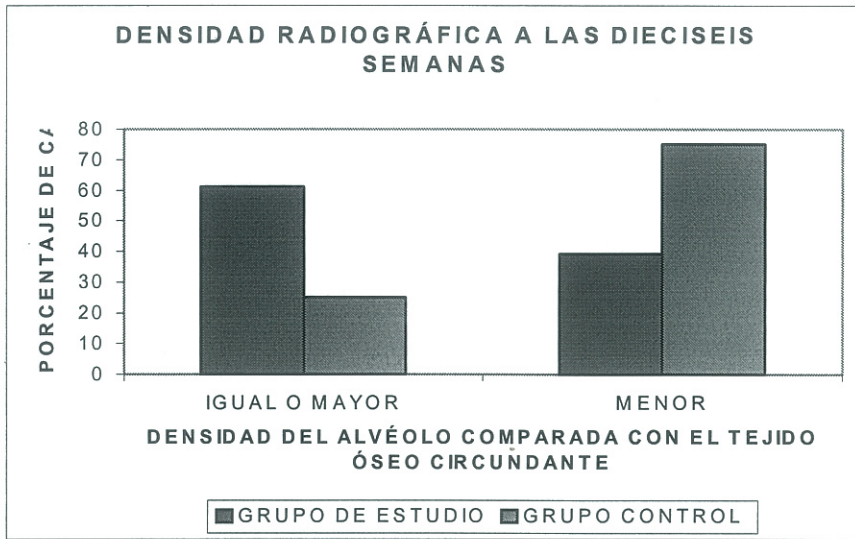
En la evaluación radiográfica realizada con imágenes digitales y películas convencionales, tomadas a las 16 semanas del procedimiento regenerativo, se ha determinado que los casos del grupo de estudio presentaron un relleno del alvéolo del 89.95% en promedio, comparado con un promedio de relleno del 82.87% en el grupo control.

GRÁFICO N° 9



En la evaluación de la densidad ósea en forma subjetiva de acuerdo al tejido óseo circundante un 61% de los casos del grupo de estudio presentó una imagen del alvéolo con similar o mayor densidad radiográfica y un 39% restante con una imagen más radiolúcida, en tanto que, un 25% de casos del grupo control presentaron una imagen similar o más radiopaca y un 75% evidenciaron mayor radiolucidez que el tejido óseo circundante, siendo una diferencia estadísticamente significativa ($P=0.025$).

GRÁFICO N° 10



El tejido óseo regenerado ha rellenado los alvéolos en un promedio similar en ambos grupos con lo que podemos determinar que ambos procedimientos regenerativos usando aloinjerto óseo desmineralizado y liofilizado, con y sin plasma rico en factores de crecimiento, consiguieron mantener la altura del alvéolo adecuadamente. Sin embargo en cuanto a la densidad, podemos afirmar que los casos del grupo de estudio presentaron una significativa mayor densidad del tejido óseo regenerado debido al efecto del plasma rico en factores de crecimiento sobre la velocidad de regeneración ósea.

En la evaluación clínica e histológica del tejido óseo encontrado durante la inserción de implantes osteointegrados se pudieron observar características diversas. Se tomaron cuatro biopsias en diferentes pacientes dos del grupo de estudio y dos del grupo control en zonas posteriores del maxilar superior para la respectiva inserción de implantes en la ubicación de los dientes: 1.4, 1.6, 17, 24. En los dos sitios del grupo de estudio y en uno del grupo control se determinó al hueso del lecho quirúrgico como tipo III, mientras el otro sitio del grupo de control fue catalogado como hueso tipo IV.

En las dos biopsias correspondientes al grupo control, se observó la presencia de tejido conjuntivo fibroso separado de pequeñas partes de hueso acelular y con persistencia de partículas de aloinjerto rodeadas también de tejido conjuntivo fibroso.

En uno de los especímenes correspondiente al grupo de estudio se observaron zonas de osteocitos y pocos osteoblastos características de hueso maduro, osteoide y zonas de fibroblastos separados entre sí por matriz fibrosa. Además se pudo encontrar persistencia de partículas del aloinjerto rodeadas por matriz fibrosa.

En la otra muestra del grupo de estudio se pudo observar hueso de tipo acelular con partículas del aloinjerto rodeadas de matriz colágena.

La presencia de osteoide y tejido óseo maduro en las muestras obtenidas del grupo de estudio comprueban que la regeneración ósea es exitosa a las 16 semanas, proporcionando un lecho adecuado para la inserción de implantes, a diferencia de las muestras pertenecientes al grupo de control donde a pesar de que el lecho presentó una consistencia suficiente para la fijación primaria del implante, no se evidenció tejido óseo maduro en la valoración histológica.

Además se demostró la persistencia de partículas del aloinjerto hasta las 16 semanas en todas las zonas examinadas.

DISCUSIONES

- La centrifugación y separación de los componentes sanguíneos nos permite obtener una alta concentración de plaquetas que al ser activadas liberan una cascada de factores de crecimiento contenidos en sus gránulos alfa, estos factores de crecimiento envían señales a las células mesenquimales locales y a las células epiteliales induciéndolas para que migren, se dividan e incrementen el colágeno y la formación de matriz ^{1, 2, 5, 8, 9}.
- El PRGF autólogo ha sido aplicado clínicamente para mejorar la cicatrización de diferentes tejidos y órganos además de favorecer la regeneración ósea combinándolo con diversos injertos y sustitutos óseos. Anitua⁹ comparó la cicatrización de alvéolos postextracción con y sin PRGF, concluyendo que el PRGF mejora y acelera la regeneración ósea y la adaptación de los tejidos, en forma similar nuestros resultados clínicos, radiográficos e histológicos sostienen que la adición de PRGF a los aloinjertos óseos desmineralizados liofilizados acelera la regeneración ósea y mejora la cicatrización de tejidos blandos.
- Los especímenes de biopsia obtenidos a los 4 y 5 meses en la presentación de casos reportado por Kassolis y cols.²⁹ demostraron nueva formación ósea y persistencia de las partículas del aloinjerto, estas observaciones histológicas al igual que las nuestras sostienen que la combinación de PRGF con aloinjerto óseo promueve la formación de nuevo hueso.
- Los factores de crecimiento presentes en el PRGF estimulan el proceso de cicatrización incluyendo la regeneración ósea; así Marx y cols.⁸ determinaron que el tiempo de cicatrización de autoinjertos óseos se reduce un 40% al combinarlos con PDGF. Sus resultados al igual que los de la presente investigación sugieren que el uso de PRGF en regeneración ósea puede permitir una colocación temprana de implantes dentales.
- La aplicación de PRGF mejora la manipulación de los materiales de injerto y sustitutos óseos de acuerdo con reportes previos de Whitman y Berry²², Marx⁸,

Anitua⁹; dándoles consistencia adecuada para su colocación y permanencia en los sitios requeridos.

- Una de las mayores ventajas de los aloinjertos es la eliminación de un sitio quirúrgico donante, sin embargo, se obtienen mejores resultados en regeneración ósea con el uso de autoinjertos. Marx consiguió relleno completo en defectos óseos a los 6 meses con el uso de autoinjertos, mientras que con aloinjertos se consiguió únicamente el 30% de relleno en defectos similares. El grado de revascularización de los aloinjertos también parece ser menor que con autoinjertos, es por ello que es de considerable interés identificar factores que puedan mejorar la regeneración ósea posterior al uso de aloinjertos como ha demostrado serlo la adición de PRGF.
- La técnica de centrifugación aplicada en la presente investigación es la misma sugerida por Anitua⁹, con un solo ciclo de centrifugación a diferencia de la defendida por Marx¹⁴, o la de Gonshor² que realizan dos ciclos para obtener una mayor concentración de plaquetas; a pesar de ello se han obtenido buenos resultados clínicos y radiográficos.

CONCLUSIONES

- La aplicación de Plasma Rico en Factores de Crecimiento a los aloinjertos liofilizados desmineralizados reduce significativamente los signos y síntomas clínicos de inflamación a los ocho días de realizado el procedimiento quirúrgico de acuerdo a la valoración de color, calor y tumefacción de la zona intervenida, sin embargo, no demostró ningún efecto sobre la sensación de dolor que fue mínima en ambos grupos evaluados, tomando en cuenta que, los pacientes recibieron terapia analgésica y antiinflamatoria.
- La epitelización de la herida y la adaptación de los bordes de la misma respondieron de mejor forma ante la aplicación de PRGF en el procedimiento de regeneración ósea en alvéolos postextracción, en la evaluación clínica a los quince días, demostrando el efecto beneficioso de los factores de crecimiento en el proceso de cicatrización de tejidos blandos.
- La colocación de aloinjertos en alvéolos postextracción permite regeneración ósea con y sin la adición de PRGF. En todos los casos incluidos en el estudio se evidenció radiográficamente la presencia de regeneración ósea, en alvéolos postextracción sin diferencia marcada en la altura del nuevo hueso entre los casos tratados con y sin PRGF, a las dieciséis semanas.
- Los casos tratados con PRGF presentaron mejores características de densidad ósea evaluada radiográficamente a las dieciséis semanas, que los del grupo de control, con una diferencia significativa.
- La presencia de osteoide y tejido óseo maduro en las muestras obtenidas del grupo de estudio comprueban que la regeneración ósea es exitosa a las 16 semanas, proporcionando un lecho adecuado para la inserción de implantes dentales.
- En ningún caso se observó reacción desfavorable ante el injerto con PRGF ni complicaciones de hemorragia durante o posterior al acto quirúrgico. Se presentó

un único caso de infección de la zona intervenida en un caso del grupo control el mismo que fue manejado satisfactoriamente.

- La técnica empleada para la obtención del PRGF demostró ser segura y sencilla sin ocasionar inconvenientes al paciente o al operador. Permitió obtener PRGF a partir de pequeños volúmenes de sangre evitando riesgos y la reinfusión de hemocomponentes realizada en la técnica de plasmaféresis.
- La activación del PRGF únicamente con cloruro de calcio sin trombina bovina fue efectiva y segura, evitando riesgos relacionados con el desarrollo de anticuerpos a la trombina y a los factores V, XI de la coagulación con posibilidad de provocar coagulopatías.
- La habilidad del PRGF, una vez activado, para la formación de un gel biológico o coágulo permite la estabilización del material de injerto con la función adicional de un adhesivo que asegura la hemostasia de la zona intervenida.
- La revisión de la literatura demuestra que la evidencia que soporta el uso de PRGF en regeneración ósea se basa en reportes y series de casos, considerando a estos estudios como un punto de partida pero no como un criterio definitivo sobre todo en cuanto al tiempo que se reduce para la colocación de implantes dentales ya que influyen otros factores como las características del lecho quirúrgico y las propiedades del injerto o sustituto óseo.
- Por las experiencias obtenidas con el presente estudio y con aplicaciones diversas en el uso de PRGF podemos concluir que es una herramienta importante en procedimientos regenerativos óseos, periodontales y periimplantares, que permite un sinnúmero de combinaciones posibles con otros elementos como proteínas de matriz de esmalte, membranas de regeneración, injertos y sustitutos óseos, o en forma aislada como adyuvante para la cicatrización de tejidos blandos y/o hemostasia local. Es un compuesto autólogo, fácil de obtener y sin costo elevado para el paciente y el profesional.

RECOMENDACIONES

- El PRGF tiene un potencial clínico muy consistente con los factores de crecimiento que contiene, los mismos que actualmente han sido aislados y se los obtiene en forma recombinante para su uso en forma aislada y en concentraciones controladas. Por lo que la aplicación de PRGF en regeneración ósea y tisular es solo el inicio de la era de la ingeniería de tejidos mediante factores de crecimiento y mediadores biológicos.
- Los factores de crecimiento en general y el uso del PRGF en particular son parte de una nueva biotecnología con eficacia establecida y un potencial a futuro. Es por lo tanto nuestra responsabilidad como clínicos mejorar la comprensión de la misma y su manejo apropiado con miras al beneficio de nuestros pacientes.
- El manejo quirúrgico en pacientes con terapia anticoagulante puede tomar ventaja con la aplicación de PRGF como agente hemostático local, reduciendo el riesgo de hemorragia postoperatoria.
- Las limitaciones del presente estudio incluyen un tamaño reducido de la muestra: 23 en el grupo estudio y 16 en el grupo de control; la valoración subjetiva de la mayoría de las variables y la evaluación histológica de tan solo 2 casos del grupo de estudio y 2 del grupo control. Sería interesante para futuras investigaciones la evaluación de datos en forma más objetiva con otros auxiliares de diagnóstico como tomografía axial computarizada además del estudio histológico y radiográfico; por otro lado, en la valoración clínica se debería incluir un parámetro de mediciones del reborde con calibradores antes y después de la regeneración para considerar variaciones en el grosor en sentido vestíbulo palatino.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shanaman R, Filstein M, Danesh-Meyer M. Aumento localizado de la cresta utilizando ROG y plasma rico en plaquetas: casos clínicos. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. 2001; 5 (4): 353-363.
2. Gonhshor A. Técnica para producir plasma rico en plaquetas y concentrado plaquetario: antecedentes y proceso. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. 2001; 6 (6): 583-593.
3. Plasma rico en plaquetas. *Revista Gaceta Dental*. Septiembre del 2001. Entrevista Dr. Eduardo Anitua.
http://www.gacetadental.com/foyci/foyci_texto.asp?d1=septiembre_2001/entrevista/&d2=3&d3=/septiembre_2001/entrevista/3.htm
4. Ravelo Jorge. Conferencia: "Plasma Rico en Plaquetas". 25 de junio 2003.
5. Obarrio J, Araúz-Dutari J, Chamberlain T, Croston A. Uso de factores de crecimiento autólogos en cirugía periodontal: biotecnología de gel de plaquetas: informes de casos. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. 2000; 4 (5): 511-521.
6. Becker W, Becker B, Caffesse R. A Comparison of Demineralized Freeze-Dried Bone and Autologous Bone to Induce Bone Formation in Human Extraction Sockets. *Journal of Periodontology*. 1994; 65:1128-1133.
7. O'Brien T, Hinrichs J, Schaffer E. The Prevention of Localized Ridge Deformities Using Guided Tissue Regeneration *Journal of Periodontology* 1994; 65:17-24.
8. Marx R, Lynch S, Genco R. *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Quintessence Publishing, 1999.
9. Anitua E. *Un Nuevo enfoque en la Regeneración Ósea: Plasma Rico en Factores de Crecimiento*. Puesta al Día publicaciones, S.L. España. 2000.
10. Hallomon W, Carranza F. *Periodontal Literature Reviews*. The American Academy of Periodontology. 1996.
11. Lindhe J. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. 2001.
12. Rosenberg E, Rose L. Consideraciones Clínicas y Biológicas sobre los autoinjertos y aloinjertos en el tratamiento de regeneración Periodontal. *Clínicas Odontológicas de Norteamérica* 1998: 483 – 503.
13. Brugnamì F, Moroi H, Leone C. ROG en alvéolos de extracción y defectos del proceso alveolar en seres humanos previa inserción de implantes: resultados clínicos y

- evidencia histológica de actividad osteoblástica y osteoclástica en ODL. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. 1999; 3 (3): 249-257.
14. Marx R. Platelet-Rich Plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dentistry*. 2001; 10 (4): 225-228.
 15. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth Factor Levels in the Platelet-rich Plasma produced by 2 different methods: Curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2002, 17: 184-190.
 16. Sonnleitner D, Huemer P, Sullivan D. A Simplified technique for producing Platelet-rich Plasma and Platelet Concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2000, 15: 879-882.
 17. Phillippart P, Brasseur M, Hoyaux D, Pochet R. Human Recombinant Tissue factor, Platelet-rich Plasma, and Tetracycline induce a high-quality human bone graft: a 5-year survey. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2003, 18: 411-416.
 18. Sánchez A, Sheridan P, Kupp L. Is Platelet-rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A current Review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2003, 18: 93-103.
 19. Kim S, Kim W, Park J, Kim H. A comparative Study of Osseointegration of Avana Implants in a Demineralized Freeze-Dried Bone Alone or with Platelet-Rich Plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2002; 60: 1018-1025.
 20. Oyama T, Nishimoto S, Tsugawa T, Shimizu F. Efficacy of Platelet-Rich Plasma in Alveolar Bone Grafting. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004; 62: 555-558.
 21. Della Valle A, Sammartino G, Marenzi G, et...al. Prevention of Postoperative Bleeding in Anticoagulated Patients Undergoing Oral Surgery: Use of Platelet-Rich Plasma Gel. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003; 61: 1275-1278.
 22. Withman D, Berry R, Green D. Platelet Gel: an autologous Alternative to Fibrin Glue with applications in Oral and Maxillofacial Surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1997; 55: 1294-1299.
 23. Iasella J, Greenwell H, Miller R, et...al. Ridge preservation with Freeze-Dried Bone Allograft and a Collagen Membrane compared to extraction alone for implant site development: a Clinical and Histologic study in humans. *Journal of Periodontology*. 2003; 74: 990-999.
 24. Weibrich G, Kleis W, Kunz-Kostomanolakis M, Loos A, Wagner W. Correlation of Platelet-rich Plasma to the Extraction Method, Age, Sex, and Platelet Count of the Donor. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2001; 16: 693-699.
 25. Marx R. Letters to the editor. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2001; 59: 1119-1121.

26. Whitman D, Berry R. A Technique for Improving the Handling of Particulate Cancellous Bone and Marrow Grafts Using Platelet Gel. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1998; 56: 1217-1218.
27. Rodríguez A, Anastasov G, Lee H, Buchbinder D, Wettan H. Maxillary Sinus Augmentation with deproteinated Bovine Bone and Platelet Rich Plasma with simultaneous insertion of Endosseous Implants. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003; 61: 157-163.
28. Landesberg R, Roy M, Glickman R. Quantification of Growth Factor Levels using a Simplified method of Platelet-Rich Plasma Gel Preparation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2000; 58: 297-300.
29. Kassolis J, Rosen P, Reynolds M. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing Platelet-Rich Plasma in combination with freeze-dried bone allograft: Case Series. *Journal of Periodontology*. 2000; 71: 1654-1661.
30. Nevins M. Periodontal Regeneration in Humans using Recombinant Human Platelet-Derived growth factor BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. *Journal of Periodontology*. 2003; 74: 1282-1292.
31. Terranova V, Wikesjö U. Extracellular Matrices and Polypeptide Growth Factors as Mediators of Functions of Cells of the Periodontium—A Review. *Journal of Periodontology*. 1987; 58: 371-380.
32. Terranova V, Lyall R. Chemotaxis of Human Gingival Epithelial Cells to Laminin— A Mechanism for Epithelial Cell Apical Migration. *Journal of Periodontology*. 1986; 57: 311-317.
33. Terranova V. A Biochemical Approach to Periodontal Regeneration—AFSCM: Assays for Specific Cell Migration. *Journal of Periodontology*. 1987; 58: 247-257.
34. Wozney J. El Rol potencial de las proteínas morfogenéticas en reconstrucción periodontal. *Journal of Periodontology*. 1995; 66: 506-510.
35. Erpenstein H. Preparación de injertos de hueso autógeno con dos trituradores óseos diferentes. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. Vol.5 N° 6 (617-623) 2001.
36. Carranza F, Newman R. *Periodontología Clínica*. McGraw Hill Interamericana. Octava edición. México, 1997.
37. Landi L. Elevación del seno maxilar empleando una combinación de DFDBA e hidroxiapatita porosa bovina: publicación histológica e histomorfométrica preliminar. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia*. 2000; 4 (6): 595-603.

ANEXO 1

AUTORIZACIÓN DEL PACIENTE

Yo, _____ con cédula de identidad N° _____

Por medio del presente documento, autorizo a los doctores investigadores del proyecto "ESTUDIO COMPARATIVO DE ALOINJERTOS ÓSEOS DESMINERALIZADOS LIOFILIZADOS EN ALVEOLOS POSTEXTRACCIÓN CON Y SIN PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF)", para realizar los procedimientos quirúrgicos que previamente me han explicado. Esta autorización la hago con pleno conocimiento de la técnica a aplicar y de las características del estudio.

Me comprometo además a cumplir con las instrucciones, recomendaciones y a asistir puntualmente a las citas que fueran necesarias.

Firma: _____

ANEXO 2

FORMULARIO DE INCLUSIÓN DEL PACIENTE Y CONTROL DEL TRATAMIENTO

Nombre: _____ Edad: _____ Teléfono: _____

Odontólogo tratante: _____ Fecha de la cirugía: _____

Diente extraído: _____ Motivo de la exodoncia: _____

Complicaciones en la exodoncia: _____

Cantidad de hueso liofilizado: _____ Tamaño de las partículas: _____

Cantidad de sangre extraída: _____ Cantidad de plasma aplicado: _____

Forma de activación: _____ Tiempo de formación del coágulo: _____

Membrana: _____ Tipo de sutura: _____

Medicación: Antiinflamatorios: _____

Antibióticos: _____

Otros: _____

Control de cicatrización:

Día	Color	Dolor	Edema	Calor	Bordes	Exudado
8						
15						

Observaciones: _____

Control radiográfico:

Semana	Densidad	Altura	Observaciones
16°			

Cirugía para implantes osteointegrados:

Tipo de hueso encontrado: _____

Informe histológico: _____

Observaciones: _____

ANEXO 3

INSTRUCTIVO PARA REGISTRO DE INFORMACIÓN EN EL FORMULARIO

NOMBRE: Nombre y apellido del paciente.

EDAD: en años.

TELEFONO: número de teléfono para contactar al paciente para el seguimiento.

ODONTÓLOGO TRATANTE: Nombre del operador.

FECHA DE LA CIRUGÍA: día, mes y año de la cirugía.

DIENTE EXTRAIDO: número del diente en sistema dígito dos.

MOTIVO DE LA EXODONCIA: patología o indicación para la extracción del diente: endodóntica, periodontal, endoperiodontal, fractura, etc.

COMPLICACIONES DE LA EXODONCIA: alteración de las paredes alveolares, presencia de quistes, fractura de la raíz, etc.

CANTIDAD DE HUESO LIOFILIZADO: en gramos.

TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS: en micras.

CANTIDAD DE SANGRE EXTRAIDA: en centímetros cúbicos, cada tubo vacutainer obtiene 4.5 cc. de sangre circulante.

CANTIDAD DE PLASMA APLICADO: según la cantidad separada por pipeteado en centímetros cúbicos.

FORMA DE ACTIVACIÓN: cantidad de aplicación de cloruro de calcio.

TIEMPO DE FORMACIÓN DEL COÁGULO: tiempo en minutos desde la activación, hasta la colocación en el alvéolo.

MEMBRANA: tipo de membrana utilizada.

TIPO DE SUTURA: material de sutura.

MEDICACIÓN: fármaco, dosis y duración de antiinflamatorios, antimicrobianos, etc.

CONTROL DE LA CICATRIZACIÓN: anotar el día del control considerando como día 1 al de la cirugía, comparar con la zona contrapuesta del mismo maxilar para establecer el criterio de:

VARIABLE	DEFINICIÓN	ESCALA	RANGO
Color	Impresión que hace en la retina ocular la luz reflejada por los cuerpos.	0 similar al sitio de control 1 rosado pálido 2 rosado intenso 3 rojo 4 violáceo	0-4
Dolor	Sensación molesta de alguna parte del cuerpo.	0 sin dolor 1 dolor leve 2 dolor moderado 3 dolor severo 4 dolor intolerable	0-4
Tumefacción	Hinchazón de un órgano.	0 sin edema 1 edema leve 2 edema moderado 3 edema severo	0-3
Calor	Elevación de la temperatura del cuerpo.	0 sin calor 1 calor leve 2 calor moderado 3 calor severo	0-3
Bordes	Extremos de la herida.	Juntos Separados	
Exudado	Producto líquido.	0 sin exudado 1 exudado seroso 2 exudado sanguinolento 3 exudado purulento	0-3
Epitelización	Formación de epitelio.	Completa Incompleta	

CONTROL RADIOGRÁFICO:

VARIABLE	DEFINICIÓN	ESCALA	RANGO
Densidad ósea	Grado de oscurecimiento global de la película expuesta, comparando la imagen del alvéolo con la del tejido circundante.	Igual o mayor Menor	
Altura del alvéolo	Longitud desde el punto apical del alvéolo hasta la tangente entre las crestas interproximales comparada con la longitud del alvéolo inicial.	Porcentaje	0-100%

CIRUGÍA PARA IMPLANTES OSTEOINTEGRADOS: Establecer la calidad de hueso según el criterio del operador.

VARIABLE	DEFINICIÓN	ESCALA	RANGO
Tipo de hueso al fresado	Calidad de hueso de acuerdo a la resistencia al fresado	I Hueso cortical extremadamente compacto II Hueso cortical con núcleo esponjoso denso III Hueso cortical con núcleo esponjoso de baja densidad IV Hueso cortical delgado con un gran núcleo esponjoso de baja densidad	I-IV
Tipo de hueso histológicamente	Características histológicas de la muestra obtenida	Hueso maduro Osteoide Tejido fibroso Hueso acelular Partículas del aloinjerto	

OBSERVACIONES: anotar cualquier cambio no considerado anteriormente.

ANEXO 4

PROTOCOLO PARA OBTENCIÓN DE BIOPSIA Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO

1. Evidencia clínica y radiográfica de que cada lecho receptor es apto para colocar el implante.
2. Osteotomía inicial con trefina de 2mm. de diámetro.
3. Extracción de un cilindro de hueso de aproximadamente 2x8mm.
4. Sumergir la muestra en formaldehído tamponado al 10 %.
5. Según el protocolo quirúrgico continuar con la preparación del sitio receptor y la colocación del implante.
6. Descalcificar los especímenes por cualquiera de estos métodos:
con ácido clorhídrico durante 2 semanas;
 - con EDTA al 10% con pH 7;
 - con ácido fórmico-HCl durante 48 horas y luego con ácido nítrico;
 - con descalcificación por incubación durante 3 horas con una solución de una sal disódica de EDTA, tartrato potásico y ácido clorhídrico diluido en agua destilada pH<1.
7. Embeber los especímenes en parafina, cada fragmento separadamente.
8. Realizar secciones longitudinales de 6 a 8 micras de espesor.
9. Teñir con hematoxilina-eosina.
10. Evaluar cada placa en microscopio de luz para determinar la calidad y cantidad de tejido óseo: áreas de hueso vital, espacios medulares.
11. Buscar evidencia de material de injerto residual, así como cualquier reacción tisular adversa como presencia de células gigantes de cuerpo extraño.
12. Fotografíar las placas observadas.

BABBUSH, Charles. Histologic evaluation of Human Biopsies after dental augmentation with a demineralized bone matrix putty. *Implant Dentistry*. Vol.12 N°4, 2003.