



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE ODONTOLÓGIA

**Plasma Rico en Factores de Crecimiento
P.R.G.F.**

**T E S I S A
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANA DENTISTA
P R E S E N T A:
ERENDIRA RUIZ GONZÁLEZ**

**DIRECTORA: C.D. GRACIELA LLANAS Y CARBALLO
ASESOR: MTRA. ROCIO GLORIA FERNÁNDEZ
ASESOR: C.D.MA. DEL CARMEN LÓPEZ BUENDIA**

Graciela Llanas y C.

MÉXICO D.F.

MARZO DE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Añade el hombre conocimientos a conocimientos:
núnca el saber es bastante.
Si tanto es uno más hombre cuanto más sabe,
el más noble empleo será el aprender.**

Padre Baltasar Gracián y Morales

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad nacional autónoma de México, en especial a la Facultad de odontología;

Por albergarme en sus espacios durante cinco años, por brindarme todo lo necesario para mi formación como profesionista.

**A la Dra. Graciela Llanas y Carballo,
Por su apoyo y dirección en la realización de este trabajo.**

**A la Dra. Rocío Gloria Fernández,
Por sus enseñanzas transmitidas en este seminario de cirugía y pos su profesionalismo.**

**A la Dra. Ma. Del Carmen López Buendía,
Por compartirme sus conocimientos, por su colaboración para la realización de esta tesina.**

El deseo de "enseñar", y "enseñar de corazón", crea en los alumnos un agradecimiento, que constituye terreno idóneo para el apostolado.

San Josemaría Escrivá de Balaguer

DEDICATORIAS

A mis padres:

Por impulsarme a seguir adelante no importando las dificultades, por estar conmigo en los momentos más difíciles, por su apoyo incondicional, pero sobre todo por su cariño.

Los quiero

A mis hermanos: Verónica, Ana Laura, Juan Pablo:

Por ser parte importante en mi vida y crecimiento personal, por contagiarme su alegría.

A mi amor: Alfredo

Por tu gran cariño incondicional, por los gratos momentos compartidos, por ser parte importante para enfrentar los momentos difíciles, por tu gran ayuda. Te Amo.

A mis grandes amigas Karina, Silvia y Tania.

Por compartir estos cinco años de formación profesional, por todas las experiencias que vivimos, por su alegría y jovialidad.

Las quiero mucho

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	I
II. OBJETIVOS.....	III
1. General	
2. Específicos	
III. ANTECEDENTES.....	1
CAPÍTULO I. GENERALIDADES	
1.1 Sangre.....	4
1.1.1 Eritrocitos.....	5
1.1.2 Leucocitos.....	6
1.1.3 Plaquetas.....	7
1.1.4 Plasma.....	7
1.2 Biología Ósea.....	8
1.2.1 Microestructura.....	8
1.2.2 Macroestructura.....	15
CAPÍTULO II. REGENERACIÓN	
2.1 Reparación mediante tejido conectivo.....	17
2.1.1 Angiogénesis.....	18
2.1.2 Fibrosis.....	19
2.1.3 Remodelación de la cicatriz.....	19
2.2 Cicatrización de las heridas.....	20
2.2.1 Concepto.....	20
2.2.2 Fases de la cicatrización.....	21
2.2.3 Tipos de cicatrización.....	25
2.2.4 Alteraciones en la cicatrización.....	26

2.3 Principios básicos de Regeneración Ósea.....	27
2.4 Factores de Crecimiento.....	30
2.5 Fibrina Adhesiva.....	37

CAPÍTULO III. PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO P.R.G.F.

3.1 Plasma Rico en Plaquetas (P.R.P.).....	39
3.1.1 Técnica de Obtención.....	41
3.2 Plasma Rico en Factores de Crecimiento P.R.G.F.....	43
3.2.1 Coágulo Blanco de P.R.G.F.....	43
3.2.2 Técnica de Obtención del P.R.G.F.....	45
3.2.2.1 Extracción y manejo de muestras sanguíneas.....	45
3.2.2.2 Pipeteado de las muestras.....	49
3.2.2.3 Activación y agregación de las plaquetas.....	51
3.3 Modificaciones actuales en la técnica.....	52
3.4 Ventajas.....	54

CAPÍTULO IV. APLICACIONES CLÍNICAS DEL P.R.G.F. EN ODONTOLOGÍA

4.1 Preparación de áreas futuras Zonas post-extracción.....	55
4.2 Tratamiento de canino incluidos y terceros molares.....	55
4.3 Apicectomías. Tratamiento de defectos óseos periapicales.....	56
4.4 Regeneración alrededor de implantes.....	56

4.5 Injertos en bloque.....	56
4.6 Elevación de seno.....	57
4.7 Expansión de cresta.....	57
4.8 Tratamiento de defectos periodontales.....	57
CONCLUSIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

ÍNDICE DE IMÁGENES

	PAG.
Figura 1. Esquema de tubo de ensayo tras la centrifugación de la sangre.	5
Figura 2. Sistema de Havers.	12
Figura 3. Macroestructura ósea.	16
Figura 4. Etapas de la angiogénesis.	18
Figura 5. Factores de crecimiento y matriz extracelular en la cicatrización.	25
Figura 6. Coágulo formado con P.R.G.F. y cloruro cálcico a los 3 min.	44
Figura 7. Plaqueta activada cloruro cálcico a los 3 min.	44
Figura 8. Coágulo formado con P.R.G.F. y cloruro cálcico a los 30 min.	45
Figura 9. Coágulo formado con P.R.G.F. y cloruro cálcico a la hora y media.	45
Figura 10. Localización de las venas de la fosa antecubital.	46
Figura 11. Centrífuga modelo P.R.G.F. – Gac Medicales-España	47
Figura 12. Posición de las muestras en la centrífuga.	47

Figura 13. Muestras sanguíneas posterior a la centrifugación.	48
Figura 14. Distribución de las fracciones de P.R.G.F.	48
Figura 15. Pipetas de 50 μ l, 100 μ l y 500 μ l.	49
Figura 16. Fracciones de plasma separadas en PPGF, PGF, PRGF .	50
Figura 17. Bloque térmico utilizado para la reparación de fibrina o para acelerar la coagulación del P.R.G.F.	51
Figura 18. Plasma rico en factores de crecimiento una vez que ha coagulado gracias al calcio.	52
Figura 19. Coágulo englobando material (Bio-Oss) en factores de crecimiento una vez que ha coagulado gracias al calcio.	52

INTRODUCCIÓN

La estimulación de la regeneración de tejidos del organismo ha sido uno de los retos más perseguidos y anhelados por los especialistas de varias áreas terapéuticas.

La liberación de los factores de crecimiento desde las plaquetas y células de la serie blanca constituyen la orden inicial que desencadena la reparación tisular. Los factores de crecimiento tienen muchas actividades que los hacen agentes atractivos para estimular la reparación de los tejidos. Los factores de crecimiento atraen células dentro de la herida, estimulan su proliferación y tienen gran influencia en la deposición de matriz extracelular. Científicamente se ha desarrollado la capacidad para producir estas citoquinas por combinación de técnicas.

Cientos de estudios han demostrado que los Factores de Crecimiento (FGs) pueden mejorar la reparación de los tejidos en modelos de cicatrización normal y anormal. Posteriormente, han demostrado que los factores de crecimiento mejoran la cicatrización.

Mediante el estudio de los factores de crecimiento en heridas se ha encontrado, que al inicio de la cicatrización se liberan varios factores de crecimiento. En una herida fresca (inicial), son los trombocitos los encargados de proporcionar estos factores de crecimiento. En una fase posterior de la cicatrización, los macrófagos secretan las citoquinas necesarias para la curación.

Una cicatrización inadecuada esta asociada con la alteración en la producción de Factores de Crecimiento. Estos descubrimientos han promovido gran interés en el uso de Factores de Crecimiento para mejorar la cicatrización.

Un incremento en los factores de crecimiento se puede lograr por diferentes medios disponibles, como son:

- Aplicación de factores de crecimiento individuales, generalmente recombinados.
- Preparados de origen animal.
- Preparación de concentrados autólogos de trombocitos (PRP=Plasma Rico en Plaquetas) obtenidos a partir de la propia sangre del paciente.

II OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Describir la técnica para la obtención del Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.) para la regeneración de las heridas, y su aplicación en odontología.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Conocer los antecedentes de la técnica del Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.).
- De manera general, describir los componentes de la sangre y hueso; así como los principios básicos de regeneración y cicatrización.
- Describir los Factores de crecimiento involucrados en la regeneración ósea y en tejidos blandos.
- Dar a conocer de manera detallada la técnica para la obtención del Plasma Rico en Factores de Crecimiento.
- Conocer la aplicación de P.R.G.F. en odontología.

ANTECEDENTES.

Históricamente desde que Marshall Urist describiera las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) en 1965, los científicos han intentado aislar y sintetizar los factores de crecimiento para poder aplicar físicamente en las regiones lesionadas. ¹

Tayaponsak (1944) interesado en obtener una mejor fijación del implante, centró su atención en los mecanismos intrínsecos de respuesta celular, fijándose en un nuevo elemento: la sangre y sus componentes lanzando así la innovadora idea de añadir lo que denominó A.F.A. (Fibrina Adhesiva Autóloga) a hueso esponjoso para la reconstrucción mandibular, haciendo el seguimiento en 33 casos con notable éxito. Obtenía la AFA a partir de una unidad de sangre de la que dejaba una parte de serie roja y todo el plasma, para utilizar en las siguientes 2-3 semanas en forma de un crioprecipitado. Era descongelado en un periodo de 24 horas para obtener de 10 a 15 ml de un concentrado rico en fibrina. ²

Paralelamente, desde los años 90, otro grupo de investigadores dirigidos por Marx R.E. (1998), ^{3,6,9,20,21} estaban estudiando el comportamiento del elemento de la sangre responsable de la reparación celular, las plaquetas, encontrando al menos tres factores de crecimiento. P.D.G.F. (platelet-derived-growth-factor), T.G.F.B1 (transforming-growth-factor-beta1) y T.G.F.B2 (transforming-growth-factor-beta 2). Obtenía dichos factores mediante la colocación de un catéter venoso central, extrayendo de 400 a 450 ml de sangre, usando como anticoagulante C.P.D. (citrate phosphate dextrose) en una proporción de 1 ml de C.P.D. por cada 5 ml. de sangre. Posteriormente, centrifugaba a 5.600 rpm con una velocidad de obtención de 50 ml por minuto. Separaba así los tres componentes sanguíneos: capa eritrocitaria abajo, P.R.P. (plasma rico en plaquetas)

también llamado buffy coat en el centro y P.P.P. (plasma pobre en plaquetas) arriba. ^{3,9}

Obteniendo sobre 200 ml de P.P.P., sobre 70 de P.R.P., y sobre 180 de hematíes. Una vez recogida la capa de P.P.P. se bajaban las revoluciones de la centrifugación a 2.400 para conseguir una separación precisa del P.R.P. y la serie roja. De hecho recogía 1ml. de células rojas que estaban en la capa superior y las incluía con el producto de P.R.P. El resto de la extracción, P.P.P., y serie roja era reintroducido al paciente por el mismo catéter o a través de una vía periférica. ^{3,9}

Para aplicar el P.R.P. 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 (Gentrac). El protocolo para utilizar el P.R.P., requiere usar jeringas individuales para cada mezcla, que contiene del orden de 6 ml, de P.R.P., 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 P.R.P., ahora en forma de gel se pueda añadir con el material de relleno o con el injerto para que el cirujano remodele la reconstrucción. ^{3,9}

El Dr. E. Anitua consideró inviable esta práctica en la cirugía oral y maxilofacial por motivos que eran obvios: volumen de sangre excesivamente grande, utilización de trombina bovina (prohibida en Europa) y; su utilización práctica se limitaba sólo a nivel hospitalario.

Sin embargo, no carecía de interés científico el poder desarrollar una tecnología a menor escala con expectativas terapéuticas prometedoras.

Anitua.E.(1999) da un paso más al proponer utilizar el P.R.G.F. como preparación de futuros lechos para implantes. ^{4,6,9}

La técnica diseñada por Anitua, que ha sido desarrollada por el laboratorio Biotechnology Institute (BTI), de la capital vasca, comienza con la extracción de 20 centímetros cúbicos de sangre del paciente. La muestra se centrifuga para diferenciar las distintas fracciones de plasma y separar la porción más rica en factores de crecimiento, que acumula una cantidad cuatro o cinco veces superior a lo normal. ^{5,6}

El primer campo donde se ha puesto en práctica esta técnica ha sido en la cirugía oral: "Con esta estrategia se ha conseguido que una extracción dentaria cicatrice en menos de la mitad de tiempo y de forma más indolora, disminuyendo notablemente los riesgos de infección en fumadores, diabéticos, etc.", Anitua señala que también la utiliza para corregir defectos óseos alrededor de implantes dentales. ⁵

CAPÍTULO I. GENERALIDADES.

1.1 SANGRE.

La sangre es una forma especializada de tejido conectivo. Consta de elementos formes o células sanguíneas, y una sustancia intercelular líquida, el plasma sanguíneo. La sangre es un tejido circulante que integra una conexión del cuerpo con otra. Actúa como un medio de transporte que lleva a las células las sustancias esenciales para sus procesos vitales y que recoge de ellas los desechos del metabolismo. El volumen sanguíneo en el ser humano adulto sano es de unos 5 L, y la sangre representa el 8% del peso corporal.¹²

Los elementos celulares o formes de la sangre son: los glóbulos rojos (eritrocitos), los glóbulos blancos (leucocitos y las plaquetas (trombocitos)).⁷

Por centrifugación se logra sedimentar los componentes celulares de la sangre con mayor rapidez y además se agrupan en el fondo del tubo de centrifuga. Si se divide de 0 a 100, se lee directamente el porcentaje de volumen sanguíneo compuesto por los glóbulos rojos, denominado hematocrito. En condiciones normales es aproximadamente de 43%. Después de la centrifugación se observa que los elementos de la sangre forman 3 capas: la inferior, roja, está compuesta por los glóbulos rojos o eritrocitos. Por encima, se distingue una capa grisácea formada por plaquetas o trombocitos y glóbulos blancos o leucocitos. En la parte superior se observa el plasma sanguíneo, que es un líquido translúcido amarillento.⁸

En la sangre circulante la cantidad de eritrocitos es de unos 5 millones por milímetro cúbico, las plaquetas de unos 300.000 por milímetro cúbico y los leucocitos, alrededor de 7 000 por milímetro cúbico.⁸

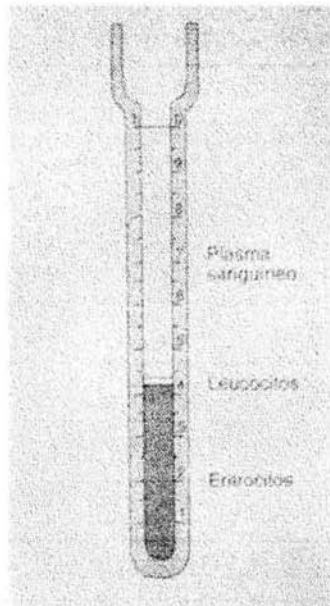


FIG.1 Esquema de un tubo tras la centrifugación de la sangre
GENNESER, FINN. HISTOLOGÍA. P.235

1.1.1 ERITROCITOS.

Son células muy especializadas cuya función es llevar el oxígeno de los pulmones a los tejidos y dióxido de carbono en dirección contraria. Los eritrocitos no poseen núcleo.¹²

Los glóbulos rojos son discos aplanados y bicóncavos. Vistos de frente, cada uno de ellos presenta una porción central delgada que se ve más clara que la porción periférica engrosada. Son los más abundantes de los elementos formes de la sangre.¹²

Los eritrocitos tiene la tendencia a adherirse entre sí por superficies cóncavas para formar columnas o hileras semejantes a pilas de monedas.

Este fenómeno se llama formación de pilas y se presenta de manera espontánea en la circulación estancada o sangre extraída de la circulación.¹²

Químicamente, el contenido del eritrocito consta de un complejo coloidal de lípidos y proteínas que contiene una solución de hemoglobina en concentración aproximada de 33%. Esta es la proteína transportadora de oxígeno a la que se debe el color de los eritrocitos y que determina en parte la forma de los mismos. La principal fuente de energía para la célula es la degradación anaerobia de glucosa a lactato.¹²

1.1.2 LEUCOCITOS.

Los leucocitos, o glóbulos blancos, son células con núcleo. Hay un promedio de 5000 a 9000 leucocitos por milímetro cúbico en la sangre humana normal. Sólo son funcionales en grado pequeño en el torrente sanguíneo. Presentan su mayor actividad en el tejido conectivo. En general los leucocitos participan en los mecanismos de defensa celular y humoral del organismo contra materiales extraños.⁸

Hay dos tipos principales de leucocitos: agranulosos y granulados. Los agranulosos se caracterizan por su citoplasma claro, homogéneo y ligeramente basófilo. Los núcleos tienen forma que va de esférica a reniforme. Los leucocitos granulados tienen citoplasma que contiene muchos cuerpos granulados característicos y poseen núcleos de forma muy variable. Los granulocitos, a su vez, se clasifican de acuerdo con las características tintoriales de los gránulos citoplasmáticos en granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los leucocitos agranulares comprenden a los linfocitos y monocitos.^{7,8}

1.1.3 PLAQUETAS.

Se forman en la médula ósea a partir de las células precursoras, megacariocito. Son células anucleadas con forma discoide. El conteo normal de plaquetas en individuos sanos oscila entre los 150 000 – 400 000 plaquetas por centímetro cúbico de sangre periférica.⁷

Las plaquetas desempeñan un papel central en la hemostasia. Se adhieren a las regiones dañadas de los vasos sanguíneos, produciendo un trombo blanco que cubre la superficies dañadas y taponan las aberturas en las paredes vasculares. Producen una enzima, la tromboplastina, importante en el mecanismo de coagulación. La tromboplastina ayuda en la transformación de protombina en trombina y esta a su vez el fibrinógeno en fibrina.^{7,12,21}

Una disminución en el número de plaquetas o funcionamiento defectuoso de éstas puede originar un síndrome de sangrado.¹²

Las plaquetas también parecen tener importancia para el mantenimiento del endotelio de los vasos sanguíneos por la liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), que estimula los procesos de reparación tisulares.^{4, 7, 9, 12, 14, 17.}

1.1.4 PLASMA.

Es una solución acuosa que transporta todos los materiales nutritivos. En él se encuentran las sustancias nutritivas provenientes del aparato digestivo, las sustancias de desecho producidas en los tejidos, y las hormonas. El plasma, de color pardo-rojo, ligeramente alcalino y al tacto de una sensación jabonosa constituye el 55% de una muestra de sangre, los elementos celulares representan el 45%. El plasma también contiene gases

disueltos, sales inorgánicas, proteínas, carbohidratos, lípidos y algunas otras sustancias orgánicas. Las proteínas plasmáticas representan el 7% de volumen y comprenden la albúmina (que conserva la presión osmótica de la sangre y es el principal componente), las gamaglobulinas (inmunoglobulinas o anticuerpos) y el fibrinógeno (que es una importante globulina necesaria para el proceso de coagulación). Mientras la sangre continúa su circulación normal por los vasos sanguíneos, el fibrinógeno permanece en un estado difuso o de solvente. Cuando la circulación se detiene, o la sangre queda expuesta al aire, el fibrinógeno se precipita formando una red de filamentos delgados, la fibrina. Con la contracción de la sangre o el plasma coagulados (sinéresis) se hace evidente un líquido claro y amarillento (el suero) en el que faltan los elementos formes de la sangre.¹²

1.2 BIOLOGÍA ÓSEA.

El hueso, a pesar de su rigidez, no es un tejido permanente e inmutable, es un tejido vivo, dinámico que mantiene su estructura gracias a un equilibrio entre actividades opuestas. Las células que forman el hueso están implicadas en un proceso continuo de renovación.⁷

Estas células están embebidas en la matriz extracelular, que consiste en una red compleja formada por macromoléculas, la cual participa activamente en el metabolismo celular y regula el comportamiento de las células que están en contacto con ella.⁷

1.2.1 MICROESTRUCTURA.

Desde un punto de vista microestructural podríamos clasificar los componentes del hueso en células, matriz inorgánica, matriz orgánica y factores señalizadores solubles. Todos éstos componentes celulares y macromoleculares están organizados especialmente e integrados en dos

jerarquías macroestructurales que son el hueso cortical y el hueso trabecular. ^{7,12}

Existen 5 tipos de células óseas: Las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteocitos, las células de recubrimiento óseo y los osteoclastos. ⁸

Células osteoprogenitoras.

Se diferencian de las células mesenquimáticas más primitivas. La célula madre mesenquimática pluripotente que da origen a las células osteoprogenitoras también tiene capacidad de diferenciarse a fibroblastos, condrocitos, adipocitos, células musculares y células endoteliales, y se denomina CFU-F (fibroblast colony forming unit). Se ha demostrado que tiene capacidad para inducir la formación de hueso por transferencia de tejido conectivo. ⁸

Durante la formación de hueso las células osteoprogenitoras se dividen y desarrollan a células formadoras de hueso u osteoblastos. Esto ocurre sobre todo durante la vida fetal y la etapa de crecimiento, pero en la edad adulta se puede observar en relación con la reparación de fracturas. ⁸

Las propiedades que definen a este tipo de células son las siguientes: no están diferenciadas sino a mitad de camino de diferenciación; se pueden dividir indefinidamente, cuando se dividen, cada célula hija puede especializarse en distintas direcciones. La diferenciación y progresión de una etapa a la siguiente depende de la presencia de factores específicos del entorno. En esta diferenciación tienen un papel activo las proteínas morfogenéticas (BMPs) y los factores de crecimiento (GFs). ⁷

Osteoblastos.

Son células formadoras de hueso, es decir, sintetizan y secretan matriz ósea orgánica (fibras de colágeno, proteoglicanos y las moléculas pequeñas como la osteocalcina, osteonectina y osteopontina).⁷

El citoplasma contiene gran cantidad de fosfatasa alcalina secretada por los osteoblastos, y que muy posiblemente tiene importancia en el proceso de mineralización.⁸

La secreción de los osteoblastos se llama osteoide, un producto cuya modificación extracelular origina un substrato orgánico insoluble que consiste principalmente en colágeno tipo I y se convierte en matriz ósea mineralizada rápidamente por depósito de cristales de fosfato de calcio, para precisar hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ que se encuentra en el medio extracelular en forma de solución sobresaturada. Primero se deposita la capa de colágeno que funciona de molde y encima se deposita la fase inorgánica del hueso, la hidroxiapatita. Este proceso se le conoce como mineralización.⁷

Los osteoblastos también secretan varias citoquinas y factores de crecimiento de efecto local sobre la formación y la resorción del hueso, entre ellas interleuquina-1, interleuquina-6 e interleuquina-11, y todas estimulan la formación de osteoclastos. La producción de estos factores es favorecida por hormonas circulantes como la hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicalciferol (vitamina D activa), para los cuales se ha demostrado la existencia de receptores sobre los osteoblastos. Otros ejemplos de mediadores locales producidos por los osteoblastos con efecto sobre la formación o resorción de hueso son IGF (insulin-like growth factor, factor de crecimiento similar a la insulina) y las prostaglandinas, entre ellas PGE_2 , que junto con la hormona paratiroidea estimulan la producción de interleuquina-1 por los osteoblastos. Los osteoblastos también producen TGF beta (transforming

growth factor beta, factor de crecimiento y transformación beta) que atrae por quimiotaxis a las células progenitoras, estimulan la maduración de los osteoblastos y favorece su producción de matriz, todos efectos que contribuyen a la formación de hueso.⁸

La rigidez de esta matriz ósea hace que el hueso crezca sólo por superposición, esto es, añadiendo capas de matriz adicional a las superficies libres del tejido duro.⁷

Una proteína ósea específica, la osteonectina pega fuertemente el colágeno y la hidroxiapatita. Las células se anclan a la matriz dura, las células no tienen oportunidad de secretar matriz ni de dividirse. Estas células se llaman osteocitos.⁷

La vida activa de los osteoblastos humanos se cree que es de 1 a 10 semanas y transcurrido este tiempo, las células pueden desaparecer mediante un mecanismo de apoptosis.⁷

Osteocitos.

Los osteocitos se originan a partir de los osteoblastos que quedan atrapados en la matriz ósea recién formada durante el proceso de formación del hueso. La transformación se caracteriza por una degradación paulatina del retículo endoplasmático rugoso y del aparato de Golgi.⁸

Estas células relativamente inactivas, no se dividen ni secretan matriz, aunque su metabolismo es crucial para la viabilidad del hueso y para el mantenimiento de la homeostasis.⁷

Los osteocitos ocupan una pequeña cavidad o laguna dentro de la matriz, lagunas óseas. Estas lagunas óseas están interconectadas entre sí a

través de una red de canaliculas. La vitalidad del hueso está garantizada a través de esta red de conexión. Estas canaliculas son las que permiten a los osteocitos interactuar a través de las hendiduras y permiten la transformación de señales a los osteoblastos y de los osteoblastos a los osteocitos. La vida de los osteocitos es de varios años, incluso décadas. Los osteocitos son células finales incapaces de renovarse, por lo tanto el recambio de la población celular se realiza a través de sus precursores que son los osteoblastos.⁷

Osteocitos en lagunas Láminas

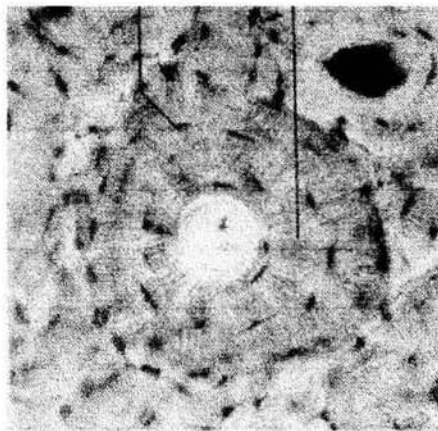


FIG. 2 SISTEMA DE HAVERS
FINN, GENESER. Histología. P.269

Osteoclastos.

Son macrófagos que se desarrollan a partir de monocitos originados del tejido hematopoyético de la médula. Estos monocitos se liberan en el torrente sanguíneo y mediante fusión producen células multinucleadas de hasta 100 Mm de diámetro con una media de unos 10 a 20 núcleos.¹²

Los osteoclastos viajan en el torrente sanguíneo y se recogen en los lugares de reabsorción de hueso. Los osteoclastos forman cavidades y

hacen túneles, crece un vaso capilar por dentro de dicho túnel y las paredes se van poblando de osteoblastos que van haciendo capas óseas concéntricas y así se va modelando el hueso. ⁷

El reclutamiento y la actividad de los osteoclastos es estimulada por citoquinas secretadas por los osteoblastos, en especial IL-1, IL-6 e IL-11 y la estimulación de la resorción ósea es favorecida por la hormona paratiroidea. Los osteoclastos también carecen de receptores para 1, 25-dihidroxicolecalciferol (la forma activa de la vitamina D, la vitamina D₃), que poseen los osteoblastos. ⁷

Células de recubrimiento óseo.

Las células de recubrimiento óseo, también llamadas osteocitos de superficie, se originan a partir de los osteoblastos que han finalizado la formación de hueso y recubren como una capa de epitelio plano simple todas las superficies óseas internas y externas en las que no hay actividad de osteoblastos u osteoclastos. En consecuencia, están mucho más dispersas en el individuo adulto. ⁸

Esta capa de células inactivas tiene gran importancia, porque descansan sobre una capa muy delgada de osteoide (matriz ósea no mineralizada). La resorción ósea nunca ocurre sobre superficies recubiertas por osteoide u otra matriz ósea no mineralizada (colágeno), por lo que es necesario eliminar esta capa antes de que los osteoclastos entren en contacto directo con el tejido óseo mineralizado y comiencen la resorción. La eliminación de la capa tiene lugar cuando las células del recubrimiento óseo se activan y secreta la enzima colagenasa necesaria para eliminar la capa superficial no mineralizada. Una vez degradado el osteoide de la superficie se retraen y dan paso a los osteoclastos. ⁸

Matriz orgánica.

Aproximadamente el 35% de hueso deshidratado es matriz orgánica. El principal componente es el colágeno tipo I (aproximadamente el 90%), el 10% restante son componentes no colágenos y sedimento.⁷

Los colágenos forman la parte fibrosa de la matriz extracelular, el esqueleto, incluyendo el colágeno fibrilar (tipos I, II, III, y IX) y el colágeno no fibrilar (tipo IV). Las proteínas no colágenas modulan la mineralización y la unión de las células a la matriz. Esta unión celular a la matriz se le conoce como anclaje; el anclaje cambia la forma de la célula y tiene por lo tanto un papel activo en el proceso de diferenciación de los osteoblastos a los osteocitos.⁷

Las moléculas adhesivas y antiadhesivas juegan un papel importante en las interacciones de la matriz extracelular, un proceso que se conoce como reciprocidad dinámica. La principal molécula de adhesión de matriz extracelular es la fibronectina, una glucoproteína asociada a la superficie celular. Las células se pueden unir a la matriz vía fibronectina, pero también existen otras moléculas de unión como la vitronectina, laminina, tenascina, osteoponina, osteonectina, trombospodina y entactina.⁹

La matriz extracelular proporciona señales reguladoras e instrucciones, ofreciendo una superficie de anclaje para los factores solubles como las BMPs y los factores de crecimiento. La unión de estos factores a la matriz extracelular puede facilitar su liberación controlada en respuesta a las demandas locales. Los mecanismos homeostáticos que rigen el funcionamiento de las BMPs y los factores de crecimiento, su almacenamiento y protección, cinética de liberación e inactivación, implica a la matriz extracelular y las células así como sus receptores que son las que responden a dichas proteínas.⁷

Matriz inorgánica.

La matriz inorgánica también conocida como mineralizada, responde al 60-70% del hueso deshidratado. Contiene aproximadamente un 99% de calcio, un 85% de fósforo y alrededor de un 40 y 60% de sodio y de magnesio que contiene el organismo.⁷

La regulación de la homeostasis mineral se centra en tres iones: calcio, fosfato y magnesio, con modulación de su concentración por la vitamina D3 PYH y calcitonina. El precursor de la vitamina D primero se activa en la piel por los rayos ultravioleta del sol y se convierte en 25-hidroxicoлекаliferol en el hígado, a continuación se forma en el riñón 1,25-dihidroxicoлекаliferol. Esta vitamina D activa promueve la formación de proteínas a las que se les pega el calcio en el epitelio intestinal, favoreciendo la absorción de calcio y fosfato. La hormona paratiroidea (PTH) promueve la reabsorción en los riñones y activa los osteoblastos, que a su vez expresan una serie de factores que activan la reabsorción del hueso por parte de los osteoclastos, liberando por tanto calcio. La calcitonina apaga la actividad osteoclástica y facilita la recuperación del nivel basal del calcio.⁷

1.2.2 MACROESTRUCTURA.

Todos estos componentes microestructurales del hueso están ordenados en el espacio originando distintas macroestructuras. Los osteocitos se localizan en unos espacios llamados lagunas óseas que están comunicadas entre sí a través de canalillos. La matriz extracelular se dispone en forma de láminas óseas. Según la disposición de estas láminas el hueso puede ser cortical (denso o compacto) y trabecular (esponjoso). Todos los huesos tienen las dos variedades del tejido óseo pero en distinta disposición

y cantidad. El tejido compacto es típico de los huesos cortos y anchos; el tejido esponjoso forma la parte central de los huesos cortos y anchos y la epífisis de los largos.⁷

El hueso cortical tiene cuatro veces lo del hueso trabecular, aunque el recambio metabólico del hueso trabecular es ocho veces mayor que el del cortical; esto se debe a que el recambio se realiza en la superficie del hueso y el trabecular tiene mayor área de superficie que el cortical.⁷

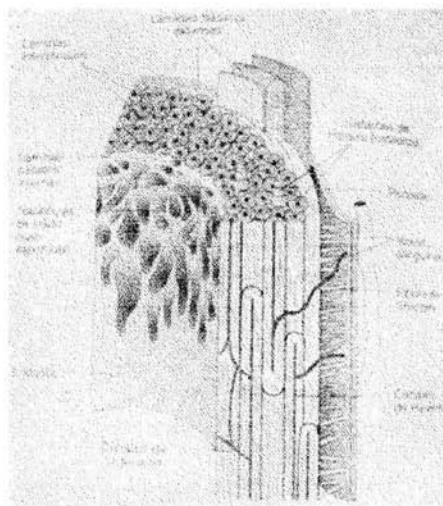


FIG.3 MACROSTRUCTURA ÓSEA
FINN, GENESER. Histología. P. 270

CAPÍTULO II. REGENERACIÓN.

La proliferación celular es regulada principalmente por factores bioquímicos producidos en el microambiente local que pueden estimular o inhibir el crecimiento de las células. Por lo tanto, un exceso de estimuladores o una deficiencia de inhibidores dará como resultado el crecimiento neto de las células. Este crecimiento se puede lograr acortando la duración del ciclo celular o reduciendo la tasa de pérdida de las células, pero el control más importante es inducir a las células en reposo (en G_0) para que entren en el ciclo celular.¹³

2.1 REPARACIÓN MEDIANTE TEJIDO CONECTIVO.

Una lesión tisular grave o persistente e inflamación con daño a las células parenquimatosas y al armazón estromal conducen a una situación donde la reparación no se puede lograr por la simple reparación del parénquima. En estas condiciones, las células parenquimatosas no generadas comienzan a ser reemplazadas antes de 24 horas por fibroblastos proliferantes y células endoteliales vasculares. Entre 3 y 5 días, está bien establecido un tejido de granulación iniciador de la cicatrización. El tejido de granulación se deriva del aspecto burdamente granular, blando y de color rosa como el que se observa debajo de una costra de una herida en la piel. Su aspecto histológico se caracteriza por proliferación de fibroblastos y nuevos capilares finos y de pared delgada en una matriz extracelular laxa. El tejido de granulación se acumula entonces de manera progresiva en una matriz de tejido conectivo y con el tiempo produce fibrosis (cicatrización). Hay tres componentes en este proceso; el primero conduce a la formación de una plantilla de tejido de granulación sobre el cual se desarrolla y madura la cicatriz final:

- Formación de vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis).

- Fibrosis.
- Maduración y organización de la cicatriz (remodelación)¹³

2.1.1 ANGIOGÉNESIS.

El proceso denominado angiogénesis o neurovascularización consiste en la formación de vasos nuevos en el sitio donde evoluciona un proceso de reparación originado por gemación de los vasos ya existentes.¹³

Varios factores inducen angiogénesis, notablemente b-FGF y VEGF. Ambos factores pueden unirse a proteoglucanos y posiblemente, pueden ser liberados cuando dichas estructuras se dañan. De manera indirecta o directa inducen a la células endoteliales para secretar proteínas que descomponen la membrana basal, promueven la migración y proliferación de las células endoteliales, y dirigen la formación de tubos vasculares a partir de la población de células endoteliales en crecimiento.¹³

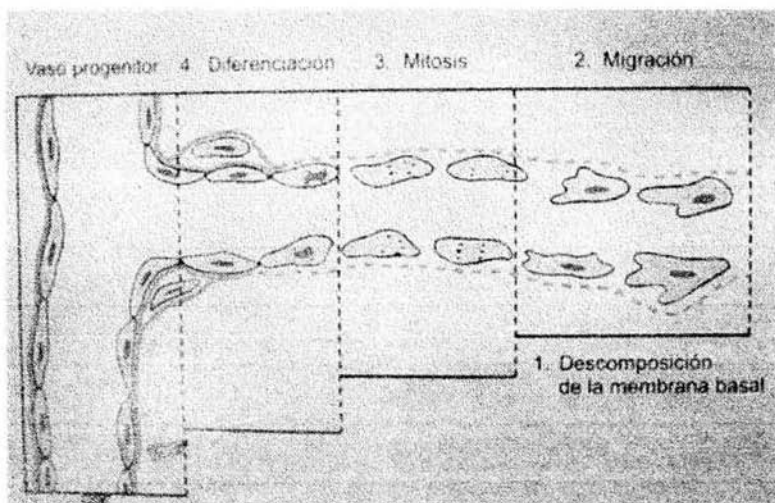


FIG. 4 ETAPAS DE LA ANGIOGÉNESIS
 STANLEY L. ROBBINS. PATOLOGÍA HUMANA. P.59

2.1.2 FIBROSIS (FIBROPLASIA).

La fibrosis o fibroplasia ocurre sobre el armazón de los vasos nuevos del tejido de granulación y de la matriz extracelular laxa que se desarrolla inicialmente en el sitio de la reparación. El proceso de fibrosis ocurre en dos pasos. 1) emigración y proliferación de fibroblastos en el sitio de la lesión, y 2) Deposito de matriz extracelular por estas células. El reclutamiento y estimulación de fibroblastos está controlada por los diferentes factores de crecimiento. El origen de estos factores incluye endotelio activado, pero, quizá de mayor importancia, también incluye varias células inflamatorias. Por ejemplo, los macrófagos son elementos canaculares importantes en el tejido de granulación encargados de la depuración de residuos extracelulares, fibrinas y otro material extraño. También elaboran PDGF, b-FGF y TGF- β , y por lo tanto promueven la migración y proliferación de fibroblastos. Conforme la cicatrización avanza, el número de fibroblastos proliferantes y de vasos nuevos disminuye; sin embargo, los fibroblastos progresivamente asumen un fenotipo más sintético, y por lo tanto incrementan el depósito de matriz extracelular. La síntesis de colágeno, en particular, es decisiva para el desarrollo de la resistencia en el sitio de la cicatrización de la herida. La síntesis de colágeno por los fibroblastos se inicia desde el principio de la cicatrización de la herida (días 3 a 5) y continua durante varias semanas, según el tamaño de la misma. Por último, la plantilla de tejido de granulación evoluciona para formar una cicatriz compuesta de fibroblastos fusiformes principalmente inactivos, colágeno denso, fragmentos de tejido elástico y otros componentes.¹³

2.1.3 REMODELACIÓN DE LA CICATRIZ .

Los colágenos (y otros componentes de la matriz extracelular) son descompuestos en una familia de metaloproteinasas que para su acción

dependen de iones zinc. Las metaloproteinass incluyen colagenasa intersticial, que desdobla los colágenos similares tipos I, II y III; gelatinazas (o colagenasas tipo IV), que descomponen el colágeno amorfo y fibronectina, y estromelisinass, que catabolizan varios de los componentes de la matriz extracelular, incluyendo proteoglicanos, laminina, fibronectina y colágeno amorfo.¹³

Varios tipos de células producen estas enzimas (fibroblastos, macrófagos, neutrófilos, células sinoviales y algunas células epiteliales), y su síntesis y secreción está regulada por factores de crecimiento, citocinas y estímulos fagocíticos. Debido a su potencial para causar estrógenos en los tejidos, la actividad de las metaloproteinass esta estrictamente controlada.

En sitios de inflamación y cicatrización de heridas, la descomposición del colágeno ayuda al desbridamiento de los sitios lesionados y también a la remodelación del tejido conectivo necesaria para reparar defectos.¹³

2.2 CICATRIZACIÓN.

2.2.1 CONCEPTO.

La cicatrización comprende una serie de procesos encaminados a reparar el daño tisular.

- La reparación de una herida es un proceso dinámico que requiere la participación de diversos mecanismos que actúan de forma sinérgica e interactiva. Los principales responsables de la cicatriz son:
 - Las células sanguíneas.
 - Los mediadores solubles (citoquinas).
 - La matriz extracelular.

- Las células parenquimatosas.
- Las citoquinas. La mayor parte de ellas actúan de forma sinérgica, utilizando varios mecanismos. La excesiva producción de TGF β se ha visto relacionada con la formación de cicatrices hipertróficas y queloides.^{16,20}

La cicatrización de fracturas e injertos óseos es logrado por la interacción de osteoblastos y la matriz extracelular bajo la influencia de varios factores de crecimiento de los cuales algunos son secretados por las plaquetas.²⁰

2.2.2 FASES DE LA CICATRIZACIÓN.

En el proceso de cicatrización se pueden distinguir diversas fases. Estas fases de la reparación de las heridas que se suceden y se solapan progresivamente para dar lugar a la cicatriz son: hemostasia, inflamación, reparación o formación tisular y remodelación.¹⁶

Fase de **HEMOSTASIA**. Inmediatamente, tras la agresión quirúrgica, se produce una vasoconstricción por la liberación de catecolaminas en un primer intento hemostático del organismo. En este instante ya las plaquetas producen fibrina y se liberan los mediadores de la inflamación. El coágulo sanguíneo mantiene la hemostasia y sirve de "matriz extracelular" para la migración celular.¹⁶

Fase de **INFLAMACIÓN**. Como respuesta a la agresión, y una vez finalizado el fenómeno de vasoconstricción transitoria, tiene lugar una vasodilatación, con aumento de la permeabilidad capilar y migración celular. Esta respuesta, propia de la inflamación, se debe a la liberación de mediadores, como son las citoquinas, histamina, cininas y prostaglandinas. Los elementos celulares que más participan son:

Las plaquetas, que además de participar en la hemostasia son células secretoras de importantes mediadores para la cicatrización, como por ejemplo el factor de crecimiento derivado de las plaquetas que atrae y activa a macrófagos y fibroblastos. ¹⁶

Los neutrófilos, que limpian la herida de partículas extrañas y bacterias, después de realizar su labor son expulsados con la escara de fibrina o fagocitados por los macrófagos. ¹⁶

Los monocitos que habitualmente circulan por el torrente sanguíneo son también reclutados por quimiotaxis. Estos se transforman en macrófagos activados que liberan diversos factores de crecimiento que favorecen el inicio de la formación del tejido de granulación. Los macrófagos se adhieren a la matriz extracelular y hacen que otros monocitos se transformen en macrófagos inflamatorios y reparadores. Los macrófagos tienen un papel fundamental en la transición entre inflamación y reparación. ¹⁶

Fase de REPARACIÓN. Un nuevo tejido va sustituyendo el defecto producido por la agresión. Este tejido procede de la epidermis adyacente y del nuevo tejido conjuntivo que se va formando, también llamado tejido de granulación. De esta manera se producen tres hechos fundamentales:

- La epitelización o crecimiento de la epidermis desde sus capas basales.
- La formación de matriz extracelular mediante la síntesis de colágeno y sustancia fundamental.
- La neoangiogénesis o neoformación vascular, que consiste en el crecimiento de yemas vasculares desde los vasos hemostasiados. ¹⁶
- Epitelización: La re-epitelización de las heridas comienza unas horas después de producida la lesión. Inmediatamente después, las células

epiteliales retraen sus tonofilamentos, pierden sus desmosomas (uniones intercelulares) y forman filamentos de actina para desplazarse. De esta forma, estas células migran sobre la herida, en un proceso mediado por unos receptores (integrinas) que expresan sobre la superficie celular. Uno o dos días después de la lesión se produce la proliferación desde los bordes de la herida. Las células epiteliales adquieren su fenotipo normal al reestablecerse la integridad de la membrana basal. ¹⁶

- Formación de tejido de granulación. Es el nuevo estroma, al que denominamos tejido de granulación. Al cuarto día comienza a invadir el defecto de la herida. Los macrófagos se encargan de liberar los mediadores de la angiogénesis y la fibroplasia. El factor de crecimiento derivado de las plaquetas y el factor de crecimiento transformante β_1 ($TGF\beta_1$) estimulan la proliferación de fibroblastos. Estos comienzan la formación de una matriz extracelular constituida por fibrina, fibronectina y ácido hialurónico. Esta matriz provisional es sustituida posteriormente por una matriz colagenosa, por la acción del $TGF\beta_1$. Las alteraciones de este proceso de sustitución son las responsables de la formación de los queloides y las cicatrices hipertróficas. Aunque antes se pensaba que el colágeno se sintetizaba días después de la agresión, ahora se ha demostrado que su síntesis comienza después de 10 horas, y que se alcanza la máxima función sintética entre el quinto y el séptimo día. ¹⁶

- Neovascularización. La angiogénesis es estimulada inicialmente por los factores de crecimiento fibroblásticos procedentes de los macrófagos activados. Posteriormente, la hipoxia produce la liberación del factor de crecimiento endotelial de las células epidérmicas. La fibronectina parece jugar también un papel importante en el movimiento de las células endoteliales. La proliferación de yemas vasculares cesa cuando el tejido de granulación cubre la herida. ¹⁶

Fase de **REMODELACIÓN**. En esta fase se originan el fenómeno de contracción de la herida y la reorganización de la matriz extracelular. ¹⁶

- **Contracción de la herida.** Durante la segunda semana de cicatrización los fibroblastos forman microfilamentos de actina en la cara citoplasmática de su membrana celular y multiplican sus uniones intercelulares. Estos miofibroblastos interactúan entre sí y con la matriz colagenosa para producir la contracción de la herida. Este proceso facilita la cicatrización de la lesión, aproximando los bordes del defecto. Su acción se manifiesta en las cicatrices por segunda intención. ¹⁶

- **Reorganización de la matriz extracelular.** Una vez que cesan la inflamación, la fibroplasia y la angiogénesis, se produce un equilibrio entre síntesis y catabolismo de colágeno. El catabolismo del colágeno depende las denominadas metaloproteasas, sintetizadas por diversas líneas celulares. De esta forma, el tejido de granulación se transforma en cicatriz propiamente dicha, aumentando su resistencia. Así, las fibras de colágeno se alinean en el sentido de las fuerzas tensionales a la que es sometido el tejido cicatricial, para poder alcanzar una máxima resistencia. Después de tres semanas la cicatriz sólo alcanza el 20% de su fuerza final. Posteriormente alcanza lentamente su máxima resistencia. En la piel, por ejemplo, la máxima fuerza de resistencia que alcanza una cicatriz es el 70% de la que tendría sin sufrir lesión. Esta resistencia la alcanza al año de producirse la lesión. ¹⁶

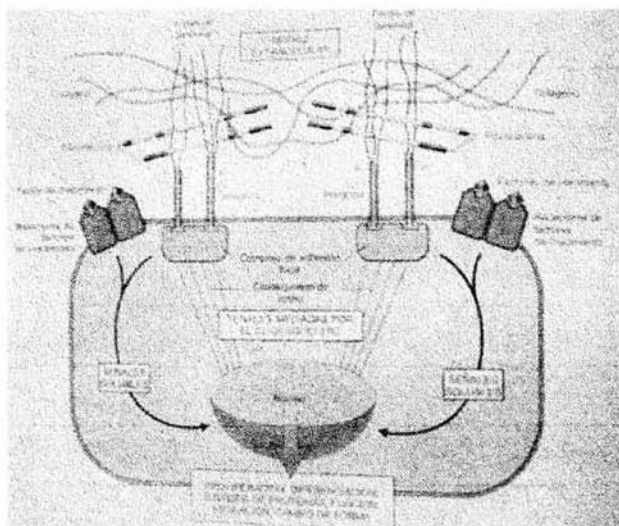


FIG.5 FACTORES DE CRECIMIENTO Y MATRIZ EXTRACELULAR EN LA CICATRIZACIÓN.
 STANLEY L. ROBBINS. PATOLOGÍA HUMANA. P

2.2.3 TIPOS DE CICATRIZACIÓN.

Atendiendo al tratamiento quirúrgico empleado en la reparación tisular existen tres tipos de cicatrización:

- **Cicatrización por primera intención:** este tipo de reparación sucede cuando se realiza una aproximación quirúrgica inmediata en heridas limpias. ¹⁶
- **Cicatrización por segunda intención:** se produce una cicatrización espontánea, ya que no se aproximan los bordes de la herida. En ella participan activamente todos los mecanismos de la reparación ya comentados. Este tipo de cicatrización se realiza cuando se cumplen las siguientes condiciones:

En heridas muy contaminadas: Retraso en el tratamiento de más de 6

horas. Por definición se considera que todas las heridas están colonizadas (número suficiente de gérmenes para generar una infección) cuando superan el intervalo de 6 horas. Este intervalo puede ser más prolongado en zonas muy vascularizadas, como ocurre en el caso de heridas de bordes limpios en la cara o cuero cabelludo. En estos casos el intervalo puede ser de más de 24 horas.¹⁶

Mordeduras. Todas las mordeduras se consideran heridas muy contaminadas, tanto las caninas como las humanas¹⁶.

Isquemia en la zona de la reparación, como consecuencia de una ausencia de circulación sanguínea suficiente en la zona, torniquetes o debido a la hipoperfusión periférica que caracteriza a algunos estados de shock.¹⁶

2.2.4 ALTERACIONES EN LA CICATRIZACIÓN.

Existen varios factores demostrados que afectan a la cicatrización, retrasándola o impidiendo una adecuada reparación tisular.

LOCALES	GENERALES
- Infección	- Edad avanzada
- Insuficiencia circulatoria	- Hipoproteinemia
- Cierre a tensión	- Déficits de vitamina C y de Zinc
- Cuerpos extraños	- Anemia
- Movilización precoz	- Insuficiencia renal crónica
	- Corticoides, como en el caso de

<ul style="list-style-type: none"> - Obesidad 	<p style="text-align: center;">enfermos trasplantados</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sepsis - Neoplasias - Ictericia, insuficiencia hepática... - Hiperglucemia - Radiaciones
---	--

2.3. PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA REGENERACIÓN ÓSEA.

Tras una lesión, incluidas la extracción de un diente o la inserción de un implante, el hueso puede reconstruirse por medio de procesos fisiológicos de remodelación o cicatrización. En estos procesos pueden incorporarse materiales de aumento óseo para favorecer o estimular el crecimiento del hueso en zonas en las que haya desaparecido como consecuencia de procesos patológicos, traumáticos o fisiológicos. Estos sustitutos óseos pueden actuar sobre el hueso huésped por medio de tres mecanismos diferentes: Osteogénesis, osteoconducción y/o osteoinducción⁹

Osteogénesis: Proceso de formación y desarrollo de hueso nuevo.⁷

La osteogénesis hace referencia a los materiales que pueden formar hueso, incluso sin la presencia de células mesenquimatosas indiferenciadas locales. Los materiales de injerto osteógenos están formados por células óseas vivas, que producen grandes cantidades de factores de crecimiento para el hueso. En la actualidad, el hueso autógeno es el único material osteógeno disponible. Las zonas donantes más utilizadas son los injertos óseos

autógenos de cresta ilíaca o injertos óseos locales de la tuberosis maxilar, la rama ascendente o la sínfisis mentoniana.⁹

Osteoconducción: La osteoconducción caracteriza el crecimiento óseo por aposición, a partir del hueso existente y por encima del mismo. Proporciona la estructura o matriz física apropiada para la deposición de hueso nuevo. El proceso de reparación ósea se produce a partir de células osteoprogenitoras del propio huésped. Se crea una estructura para que se pueda formar hueso por sustitución progresiva. La reabsorción será lenta (dependiendo del bio-material y del lecho receptor) y progresiva.^{7,9}

La cicatrización ósea alrededor de un implante osteointegrado es un proceso osteoconductor y sigue las fases típicas de remodelación a nivel de la interfase hueso-implante. Los materiales osteoconductivos son biocompatibles. Se pueden desarrollar tejido óseo o tejidos blandos por aposición sobre estos materiales sin que se produzcan signos de reacción tóxica. Los materiales osteoconductivos más utilizados en implantología son productos aloplásticos. Los materiales aloplásticos son exclusivamente productos sintéticos biocompatibles desarrollados para satisfacer un gran número de indicaciones. Se fabrican en una gran variedad de texturas, tamaños de partículas y formas, que se pueden conseguir fácilmente.⁹

Pueden clasificarse en cerámicas, polímeros y composites. Los más empleados son las cerámicas, que pueden ser bio-inertes (óxido de aluminio y óxido de titanio) o bio-activas (materiales de fosfato cálcico). Las cerámicas bio-inertes no se unen directamente con el hueso huésped y se mantienen en contacto con el mismo por medios mecánicos. Las cerámicas bio-activas son el principal grupo de aloplastos empleados para el aumento óseo, e incluyen la hidroxiapatita (HA) y el fosfato tricálcico beta. Se ha podido demostrar que

se produce un contacto químico entre el hueso y el material injertado. Existen dos categorías de materiales osteoconductivos para el mantenimiento o el aumento tisulares: no reabsorbibles y reabsorbibles. Si se colocan bajo la piel o rodeados de tejido fibroso, estos materiales no forman hueso. Permanecen relativamente estables, o son reabsorbidos.⁹

Dentro de los materiales osteoconductivos tenemos:

- Hueso Autólogo, además de ser osteogénico y osteoinductor es también osteoconductor.
- Fibrina Autóloga (P.R.G.F.)
- Hidroxiapatita reabsorbible (Bio-Oss)
- Sulfato de calcio (Bone-Mousse, Tipo I)
- Fosfato tricálcico (Bone-Mousse, Tipo II)
- Fibrina liofilizada (Tisucol)
- Hueso desmineralizado (DFDBA)
- Cristales cerámicos bioactivos.
- + Las nuevas superficies osteoconductivas de los implantes.⁷

Osteoinducción: Es el proceso de estimulación de la osteogénesis.⁷

Un material osteoinductivo es capaz de inducir la transformación de células indiferenciadas en osteoblastos o condroblastos en una zona en la que no cabe esperar dicho comportamiento.⁹

Los materiales osteoinductivos más utilizados en implantología son los aloinjertos óseos. Un aloinjerto óseo es un tejido duro procedente de un individuo de la misma especie que el receptor, pero de diferente genotipo. Estos materiales eliminan la necesidad de obtener la donación del propio paciente y se tiene la ventaja de su disponibilidad, que permite utilizarlos en grandes cantidades. Se obtienen a partir de cadáveres, y se procesan y almacenan en diferentes formas y tamaños en bancos de hueso para ser

aplicados en el futuro. Existen tres tipos de aloinjertos: congelados, deshidratados por congelación y desmineralizados.⁹

Ejemplos de materiales osteoinductivos:

- Hueso Autólogo, en la fase de reabsorción libera proteínas morfogenéticas (BMPs)
- P.R.G.F.: Libera GFs que estimulan la quimiotaxis, la diferenciación y proliferación celular.
- Proteínas Morfogenéticas (BMPs)⁹

2.4 FACTORES DE CRECIMIENTO.

Los factores de crecimiento y otras citoquinas deben estar presentes en concentración suficiente para estimular los mecanismos de reparación tisular. La regeneración puede ser mejorada mediante el aporte de altas concentraciones de factores de crecimiento.^{10,17}

Los factores de crecimiento se definen como un tipo de mediadores biológicos que regulan acontecimientos claves en la reparación de tejidos; estos acontecimientos son proliferación celular, quimiotaxis (migración celular dirigida), diferenciación celular y síntesis de matriz extracelular. Además de estos, existen las proteínas morfogenéticas, también implicadas en la señalización celular del tejido óseo.^{7,9,14,17}

Su existencia se descubrió al observar que ciertos tejidos parecían tener una sustancia osteogénica que inducía la formación de hueso nuevo, identificándose un grupo de proteínas no colágenas en la matriz desmineralizada que son responsables del fenómeno de inducción ósea (BMPs) en conjunto con los factores de crecimiento.^{7,14,20}

Aunque el nombre de BMP describe una función concreta, morfogénesis, es un poco desconcertante, ya que las BMPs también tienen un efecto en la proliferación celular, apoptosis (muerte celular) y diferenciación.⁷

Algunos de estos factores de crecimiento son sintetizados por prácticamente todas las células, por ejemplo, TGFβ₁. Esto significa que afecta en cierto modo a casi todos los procesos fisiológicos.⁷

Cada factor de crecimiento tiene una o varias actividades concretas fundamentales, y sus acciones específicas en una célula dependerán de las circunstancias del entorno celular. Una vez liberados de la célula que los fabrica deben interactuar con su receptor correspondiente. Estos receptores son proteínas que se encuentran en la membrana celular.^{7,17}

En la actualidad se reconocen los factores de crecimiento como multifuncionales, por ejemplo, un factor de crecimiento multifuncional, puede por un lado estimular la proliferación de ciertos tipos celulares, y por otro lado inhibir la proliferación de otros y además causar efectos no relacionados con la proliferación en otro tipo de células.^{10,17}

Los diferentes factores de crecimiento pueden actuar en vías endocrina cuando tiene acción sistémica, paracrina cuando son producidos por una célula para estimular a otra o autocrina cuando son producidos por una célula para ser autoestimulados. Pero en tejidos conectivos es muy común que la reparación y cicatrización de las heridas se logre gracias a células en un tejido que secreta un factor regulador de la actividad de las células adyacentes.^{9,13}

Algunos de los factores de crecimiento que se encuentran en el tejido hematopoyético, óseo, y en aquellos tejidos implicados en la regeneración son:

- **PDGF:** Factor de crecimiento derivado de plaquetas (Platelet derived growth factor). Se le denominó así porque se encontró por primera vez en las plaquetas, aunque también lo producen otro tipo de células como los macrófagos y células endoteliales. Se trata de una proteína que se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas y se libera cuando las plaquetas se agregan y se inicia la cascada de la coagulación. Las células del tejido conectivo de dicha región responden a este factor de crecimiento iniciando un proceso de replicación. El PDGF fue el primer factor de crecimiento que se demostró que era quimiotáctico. La quimiotaxis se presenta tanto en monocitos como en macrófagos.^{10,17}

Al presentarse una herida, el PDGF se libera de forma inmediata de las plaquetas y es producido por numerosos tipos de células durante el proceso de regeneración, siendo esencial en este proceso. El PDGF es un potente mitógeno y quimiotáctico para muchos tipos de células, como fibroblastos y osteoblastos.^{10, 13}

PDGF estimula la síntesis de ADN, aumenta el metabolismo celular favoreciendo la síntesis de proteínas colágenas y no colágenas. Induce la reparación y formación de hueso. Promueve la proliferación de fibroblastos.^{7,13}

- **VEGF:** Factor de crecimiento vascular endotelial (Vascula endotelial growth factor). Se aisló originalmente a partir de cultivos celulares de hipófisis. Es un mitógeno potente y selectivo para las células endoteliales. Promueve la angiogénesis en el desarrollo embriológico normal, en la cicatrización de las

heridas y en los estados de inflamación crónica, provoca un incremento notable de la permeabilidad vascular. Esta última actividad es la que produce un aumento del depósito de proteínas plasmáticas (fibrinógeno) en la matriz extracelular y suministra un estroma provisional para fibroblastos y células endoteliales en crecimiento.^{7,13}

- **TGF-β:** Factor de crecimiento transformado tipo β (Transformed growth factor). Se secreta de forma inactiva o latente; en su forma libre tiene una vida media de dos minutos, mientras que en su forma latente tiene una vida media de 90 minutos. Pero para que exista actividad biológica debe estar en forma libre. Esto se realiza *in vitro* acidificando. Para que el TGF- β ejerza su acción deberá interaccionar con los receptores correspondientes. Los receptores implicados son dos proteínas la TGFRI y la TGFRII. Prácticamente todas las células sintetizan TGF- βI y todas las células expresan receptores para los TGF, este hecho indica, que TGF- βI afecta de alguna forma a todos los procesos fisiológicos. Tiene tres papeles fundamentales:

- a) modula la proliferación celular, generalmente como supresor.
- b) mejora la deposición de matriz extracelular aumentando la síntesis (colágeno tipo I, fibronectina y osteonectina) e inhibiendo la degradación (metaloproteínas).
- c) Tiene efecto inmunosupresor a través de varios mecanismos. La acción específica de TGF- βI en una célula depende de las circunstancias externas del entorno celular.

La principal fuente de TGF- β son las plaquetas y el tejido óseo.^{4,7,9,17}

- **AFGF y bFGF:** Factores de crecimiento fibroblástico ácido y básico (acidic and basic fibroblastic growth factors). Son proteínas de cadena sencilla que se originan a partir de precursores diferentes.

Tienen un papel importante en los mecanismos de regeneración tisular. Estimulan la proliferación de la mayoría de las células implicadas en la reparación: células capilares endoteliales, células vasculares endoteliales, fibroblastos, queranocitos y algunas células especializadas como controcitos y mioblastos. El bFGF induce a la migración celular.⁷

- **IGF-I y IGF-II:** Factores de crecimiento insulínico tipo I y II (insulin like growth factors). Ambos se encuentran en el hueso en gran cantidad.

IGF-I es el factor de crecimiento más abundante en la matriz ósea, lo producen los osteoblastos y estimulan la formación de hueso induciendo la proliferación celular, la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I. IGF-I regula la formación de hueso de forma autócrina y aumenta el número de células multinucleadas osteoblásticas.^{9,17}

- **EGF:** Factor de crecimiento epidérmico (epidermal growth factor). Es mitógeno para fibroblastos y queranocitos y acelera el cierre de las heridas. El EGF es sintetizado en diferentes tejidos: riñones, glándulas submandibular, glándula lacrimal, glándula de Brunner y megacariocitos. Se encuentra en saliva, lágrima y orina.^{7,9,13}

Favorece la reparación de las heridas estimulando la migración y división de las células epiteliales y aumentando la síntesis de proteínas como la fibronectina. El EGF atrae a los fibroblastos por quimiotaxis, los cuales a su vez sintetizan colágeno produciéndose un aumento del colágeno total. Se ha considerado que es importante para la cicatrización de las mucosas; protege y cicatriza ulceraciones en estas.^{7,17}

Sus nombres comunes reflejan su actividad o su fuente de aislamiento descrita originalmente.⁷ Se han descrito no menos de 25 sustancias que influyen decisivamente en la curación y proceden de las plaquetas y

leucocitos. Siendo las más destacadas las anteriormente descritas, cada una de ellas tiene su importancia y todas pueden incrementar su efecto mediante la selección de un plasma con alta concentración de plaquetas extraído de la sangre del propio paciente.¹⁰

Estudios previos en lesiones agudas han mostrado cómo los factores de crecimiento promueven la regeneración e influyen en parámetros tales como la re-epitelización, angiogénesis y síntesis de matriz extracelular. Muchas de estas proteínas las sintetizan las células y se almacenan en la matriz ósea en forma insoluble y se solubilizan cuando son activas.⁷

- **Citoquinas** : Son también en muchos casos factores de crecimiento. La IL-1 y TNF, por ejemplo, inducen la proliferación de fibroblastos. También son quimiotácticos para fibroblastos y estimulan la síntesis de colágeno y de colagenasa por éstas células. El resultado neto de su acción tiende a ser fibrógeno.¹

Sus acciones se producen localmente o a distancia, y se clasifican en:

- Acción endocrina, actuando sobre receptores situados a distancia utilizando como medio de transporte el torrente sanguíneo;
- Acción paracrina, actuando sobre los receptores de células vecinas;
- Autocrina, actuando sobre los receptores de la propia célula que la produce;
- Intracrina, actuando sobre su propio citoplasma sin ser secretada fuera de la célula.

CITOQUINAS QUE AFECTAN A LA CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS

CITOQUINAS	CÉLULA PRODUCTORA	CÉLULA DIANA Y EFECTOS PRINCIPALES
Familia de factores de crecimiento epidérmico		Regeneración epidérmica y mesenquimal
F. de crecimiento epidérmico	Plaquetas	Proliferación y movilidad de células pleiotrópicas
F. de crecimiento transformante α (TGF α)	Macrófagos, células epidérmicas	Proliferación y movilidad de células pleiotrópicas
F. de crecimiento epidérmico unido a heparina	Macrófagos	Proliferación y movilidad de células pleiotrópicas
Familia de factores de crecimiento fibroblástico		Vascularización de la herida
F. de crecimiento fibroblástico basófilo	Macrófagos, células endoteliales	Proliferación fibroblástica y angiogénesis
F. de crecimiento fibroblástico acidófilo	Macrófagos, células endoteliales	Proliferación fibroblástica y angiogénesis
F. de crecimiento de queratinocitos	Fibroblastos	Proliferación y motilidad de las células epidérmicas
Familia de factores β de crecimiento transformante		Fibrosis y fortalecimiento de la resistencia de la cicatriz
Factores β_1 y β_2 (TGF β_1 y TGF β_2)	Plaquetas, macrófagos	Motilidad de las células epidérmicas
		Quimiotaxis de macrófagos y fibroblastos
		Síntesis de matriz extracelular
Factor de crecimiento β_3 (TGF β_3)	Macrófagos	Remodelación Efectos anticicatriciales
Otros		
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	Plaquetas, macrófagos, células epidérmicas	Proliferación fibroblástica y quimiotaxis
Factores de crecimiento endotelial vascular	Células epidérmicas, macrófagos	Quimiotaxis y activación de macrófagos
Factor de necrosis α (TNF α)	Neutrófilos	Angiogénesis y aumento de la permeabilidad vascular
Interleukina 1	Neutrófilos	Expresión pleiotrópica de factores de crecimiento
Factor de crecimiento insulina-like	Fibroblastos, células epidérmicas	Expresión pleiotrópica de factores de crecimiento
Factor estimulante de colonias 1	Múltiples células	Reepitelización y formación de tejido de granulación
		Activación de macrófagos y formación de tejido de granulación

Modificado de F.H. Epstein. NEJM 1999;341:741

2.5 FIBRINA ADHESIVA.

El adhesivo de fibrina es un material biológico desarrollado en respuesta a la necesidad de mejorar los agentes hemostáticos y adhesivos quirúrgicos, sobretodo en aquellos órganos en los que resulta muy difícil controlar el sangrado como hígado, riñones... y en tejidos delicados por estar infectados, quemados o ser soporte de injerto.^{7,14,21}

Entre sus aplicaciones se encuentran: sellados de anastomosis vasculares, sellado en la superficie pulmonar de fugas de aire y sangrado tras resección, hemostasia en grandes superficies de exudado, sellado de anastomosis de traquea y esófago, reconstrucción de injertos de nervios, sellado de fugas de líquido cefaloraquídeo, control del sangrado durante cirugía cardíaca, de hígado o de riñón, uniones de cartilago en articulaciones, mezclado con hueso triturado como relleno de defectos óseos.⁷

Debido a las grandes ventajas que presenta la utilización de esta sustancia, es el agente hemostático perfecto, sella en minutos, no es tóxico, se reabsorbe y además promueve el crecimiento y la reparación del tejido donde se aplica pero, por consecuencia del veto a su utilización por la FDA (Food and Drug Administration), en EEUU debido a la utilización de trombina bovina en este, se ha desarrollado otra modalidad: la obtención del fibrinógeno autólogo del propio paciente, que evita así los riesgos de infección que potencialmente tenía el fibrinógeno homólogo. El paciente es citado días antes de la cirugía, predona su sangre, y se aísla el fibrinógeno en el laboratorio con el que se prepara la cola de fibrina autóloga.^{6,7,21}

El método de obtención de fibrinógeno puede ser mediante crioprecipitación, se obtienen concentraciones de fibrinógeno de 30/60

mg/ml. Además contiene los factores de coagulación 8 y 13. como alternativa de este método de crioprecipitación se utiliza un método de precipitación con sulfato de amonio.⁷

El mecanismo de formación de cola de fibrina mimetiza la última etapa de la coagulación, en la cual el fibrinógeno se convierte en fibrina por acción de la trombina. El tiempo de formación de esta cola puede ser inferior a 5 segundos cuando se emplean concentraciones elevadas de trombina y se pueden retardar a varios minutos disminuyendo esta concentración.^{7,21}

La concentración óptima de fibrinógeno en la cola de fibrina es origen de controversia, ya que dependiendo de ésta cambia la textura de la cola, la resistencia a la rotura y la capacidad adhesiva están relacionadas con dicha concentración. La trombina que se utiliza en este preparado es de origen bovino. Según algunos autores, la trombina bovina conlleva un riesgo remoto de transmisión de encefalopatía bovina espongiiforme. Además existe el riesgo de crear anticuerpos antitrombina.⁷

CAPÍTULO III. PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF)

Debido a su potencial terapéutico, factores proteínicos solubles (BPM y GFs) han generado un interés considerable en los últimos años. Estos compuestos actúan como indicadores proteínicos que regulan los procesos tales como la diferenciación, angiogénesis y quimiotaxis.¹⁴

La fibrina autóloga fue inicialmente utilizada como un agente hemostático y como adhesivo quirúrgico, este material biológico fue paulatinamente en procedimientos de traumatología y cirugía oral como un osteoconductor y como un medio de enlace para facilitar la compactación del material del injerto. Aplicando estos principios, Tayaponsak utilizó la fibrina autóloga obtenida a partir de crioprecipitación para injertos de hueso utilizados con alentadores resultados en cirugía maxilofacial.^{14, 21}

Recientes investigaciones de P.R.P. en conjunto con los de fibrina autóloga obtenidos por activación de P.R.P. con trombina bovina han demostrado la presencia de PDGF y TGF- β en la preparación de P.R.P.¹⁴

En el ámbito de la implantología oral con la aparición del plasma rico en plaquetas se cuenta con una técnica que permite la regeneración ósea mediante una sustancia autóloga, propia del individuo.⁹

3.1 PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).

La alternativa a la preparación del adhesivo de fibrina autóloga, que requería la cita del paciente días antes de la cirugía ha sido la obtención de un plasma rico en plaquetas (PRP) mediante plasmaféresis, minutos antes de la intervención.⁷

Efectos del PRP:

Siguiendo la secuencia gráfica de un proceso de reparación, en una cavidad provocada en un tejido sano, luego de producido el daño, se genera una zona necrótica, por el corte de los vasos sanguíneos y la obliteración de los capilares y por el hematoma, se detiene la circulación en los límites de la lesión, llenándose la cavidad con un coágulo. Al no tener vasos sanguíneos hay un menor gradiente de oxígeno condicionando el primer estímulo que es la hipoxia, con el consiguiente aumento del anhídrido carbónico y el descenso del PH. Las plaquetas presentes liberan factores de crecimiento PDGF y TGF beta. El PDGF tiene varias acciones: -Osteoconductiva: dirigiendo las Stem a células osteoprogenitoras. -Mitógenas: aumentando la proliferación de células en reparación. -Angiogenéticas: aumentando por mitosis continuas brotes vasculares. El TGF beta actúa sobre: -El pre osteoblasto, induciéndolo a la mitogénesis. -EL osteoblasto, para que secrete matriz osteoide. -El osteoclasto ,inhibiendolo. -El fibroblasto, estimulando su crecimiento, y favoreciendo la neoformación ósea. Hasta aquí es igual la cicatrización para los tejidos blandos que para el hueso, pero este último necesita un tejido de soporte - Comienza la proliferación capilar dentro del coágulo, con lo que aumentarían los macrófagos, para el escombros de desechos. Estos macrófagos liberan Factores angiogénicos macrófágicos (MDAF) y factor de crecimiento macrófágico (MDGF), que continúan con los efectos de los factores plaquetarios que son de vida corta. - En dos semanas se restablece el Ph y el gradiente de oxígeno, las Stem formaron nuevos núcleos óseos alrededor de vasos y fibras neoformadas. - Se disuelve el coágulo, se degradan los tejidos necróticos por medio de linfocitos, macrófagos y osteoclastos, que reabsorben los restos de virutas óseas liberando BMP, un ácido insoluble presente en la matriz orgánica, que continúa la función de osteoconducción que habían comenzado los FC.⁹

La acción de cada uno de los factores de crecimiento en los defectos óseos es múltiple. En momentos diferentes ellos inducen actividad, proliferación, diferenciación y quimiotaxis en diferentes células blanco, como lo pueden ser macrófagos y osteoblastos. Además los factores de crecimiento estimulan la angiogénesis. 7,9,12

Con la proliferación de osteoblastos bajo la influencia de uno o varios factores de crecimiento y la disponibilidad de los factores de crecimiento, propios del paciente, se desencadena la cascada de la cicatrización y con ello la nueva formación de hueso.⁹

3.1.1 TECNICA DE OBTENCIÓN.

Para la obtención de los factores de crecimiento se colocaba un catéter venoso central, extrayendo de 400 a 450 ml de sangre, se agregaba un anticoagulante: C.P.D. (citrate phosphate dextrose). En una proporción de 1 ml de C.P.D. por cada 5 ml. de sangre, se centrifuga a 5.600 rpm con una velocidad de obtención de 50 ml por minuto. Se separaba así los tres componentes sanguíneos: capa eritrocitaria abajo, P.R.P. (plasma rico en plaquetas) también llamado buffy coat en el centro y P.P.P. (plasma pobre en plaquetas) arriba.^{6,7,9,21,23}

Se obtenía 200 ml de P.P.P., sobre 70 de P.R.P., y sobre 180 de hematíes. Una vez recogida la capa de P.P.P. se bajan las revoluciones de la centrifugación a 2.400 para conseguir una separación precisa del P.R.P. y la serie roja. El resto de la extracción, P.P.P., y serie roja es reintroducido al paciente por el mismo catéter o a través de una vía periférica. Para aplicar el P.R.P. 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 (Gentrac). El protocolo para utilizar el P.R.P., requiere usar jeringas individuales para cada mezcla, que contiene del orden de 6 ml, de

P.R.P., 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 P.R.P., ahora en forma de gel, se pueda añadir con el material de relleno o con el injerto para que el cirujano remodele la reconstrucción^{6,9,21,22,23}

El PRP puede permanecer a temperatura ambiente hasta el momento de su utilización. Cuando se necesita, se mezcla con cloruro cálcico y con trombina bovina y en un intervalo de 5 a 30 segundos, por efecto de la trombina, se coagula. Este cambio hace que las plaquetas se agreguen y se desgranulen, liberando las proteínas que contienen en su interior, los factores de crecimiento, entre otras. El tiempo total para la preparación de este proceso es de unos 45 minutos.⁷

La diferencia fundamental de este gel de plaquetas con el adhesivo de fibrina es la presencia de todas las proteínas plaquetarias y la concentración de fibrinógeno mucho más reducida, del orden de 2-4 mg/ml unas quince veces inferior al adhesivo de fibrina. Esto hace que las propiedades físicas de uno y otro sean bastante diferentes, el adhesivo de fibrina es mucho más viscoso que el gel, pero la fuerza tensil y la capacidad adhesiva de éste también son adecuadas, y ambos controlan eficazmente el goteo y el sangrado.⁹

La utilización de estas sustancias con fines hemostáticos y de sellado han sido uno de los principales avances en cirugía durante los últimos años, además aplicable en cualquier especialidad quirúrgica.^{9,21}

En cirugía maxilofacial se ha utilizado mezclada con injertos particulados de hueso iliaco en reconstrucciones óseas en hemimandibulectomías.^{7,9}

3.2. PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRGF).

3.2.1 EL COÁGULO BLANCO DEL P.R.G.F.

Funciona como vehículo natural de los factores de crecimiento. Además de contener una combinación fisiológica de factores de crecimiento se han identificado otras proteínas en el interior de las plaquetas que pueden ser de gran interés. Como las plaquetas carecen de núcleo sus posibilidades de sintetizar proteínas son prácticamente inexistentes, sin embargo poseen proteínas, entre ellas el fibrinógeno, que captan del plasma por un mecanismo de endocitosis. Este fenómeno de endocitosis utiliza un sistema canalicular conectado a la superficie e interrelaciona el medio plasmático externo con los gránulos esta es la razón por la que las plaquetas contienen proteínas plasmáticas.^{9,20,21}

Con técnicas de microscopía electrónica se ha estudiado la cinética de la segregación plaquetaria en el PRGF activado con cloruro cálcico. Se ha observado que cuando se activa el PRGF las plaquetas cambian su forma y se van agregando (Fig.6.); y se desplazan dentro del coágulo hasta agruparse por completo a los 30 minutos (Fig. 8). Se observan cambios no sólo en la forma de las plaquetas sino también en su contenido. A los tres minutos las plaquetas se aprecian aisladas, esparcidas por el coágulo, pero se ve la formación de pseudópodos y la centralización de los gránulos(Fig.7). El intervalo de tiempo entre los tres y diez minutos es crítico, ya que es en este periodo en que las plaquetas continúan su activación y se agregan. A los treinta minutos la morfología del coágulo es completamente diferente. Las plaquetas se han desplazado por el interior del coágulo agregándose (agrupando) y permaneciendo de esta manera fuertemente unidas. Se han liberado el contenido de todos los gránulos y las plaquetas se observan vacías. También se pueden observar fibras gruesas de fibrina. Al cabo de

una hora, la estructura y morfología del coágulo es muy similar y su estructura permanece estable. A la hora y media, las plaquetas se encuentran vacías e incluso, se puede observar la rotura de muchas de ellas (Fig.9).⁷

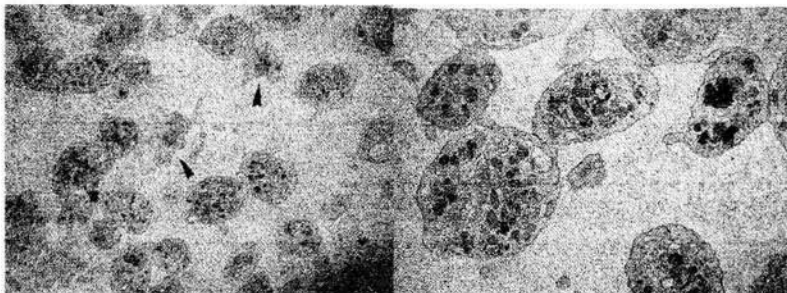


FIG.6 COAGULO FORMADO CON P.R.G.F. Y CLORURO CÁLCICO A LOS 3 MIN.

Anitua, E. Un Nuevo Enfoque en la Regeneración Ósea. Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). P108

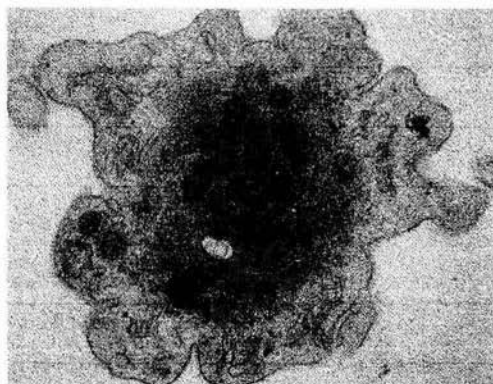


FIG.7 PLAQUETA ACTIVADA CLORURO CÁLCICO A LOS 3 MIN.

Anitua, E. Un Nuevo Enfoque en la Regeneración Ósea. Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). P109

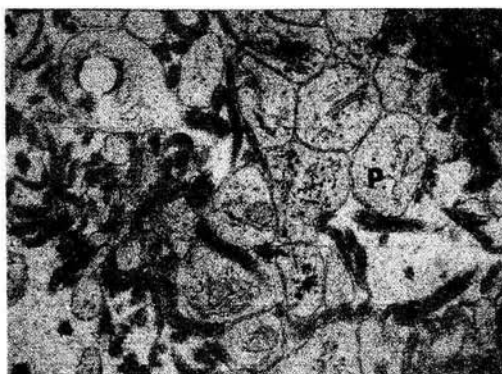


FIG.8 COAGULO FORMADO CON P.R.G.F. Y CLORURO CÁLCICO A LOS 30 MIN.

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque en la Regeneración Ósea. Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). P109



FIG.9 COAGULO FORMADO CON P.R.G.F. Y CLORURO CÁLCICO A LA HORA Y MEDIA.

Anitua, E. Un Nuevo Enfoque en la Regeneración Ósea. Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). P110

3.2.2 TÉCNICA DE OBTENCIÓN DEL PRGF.

3.2.2.1 Extracción y manejo de muestras sanguíneas.

La selección de las venas puede ser un factor decisivo para el éxito de la infusión, y la preservación de las venas para terapéutica futura. Los factores principales a considerar son:

1. La localización adecuada
2. la condición de la vena
3. El propósito de la infusión
4. Duración de la terapéutica

Las venas metacarpianas deben ser utilizadas en primer lugar las venas antecubitales son excelentes para la extracción de sangre, pero una infusión de larga duración puede traumatizarlas limitando su uso si se necesitaran con posterioridad. Debido a la íntima proximidad de las arterias con las venas en la fosa antecubital, se debe tener un cuidado especial.^{7,14}

En pacientes de edad avanzada las venas metacarpiana dorsales pueden ser una mala elección ya que resultan más difíciles de canalizar porque cuesta fijarlas debido al adelgazamiento de la piel y la carencia de tejido de sostén, con lo cual la extravasación de sangre ocurre fácilmente.⁷

Cuando el líquido a profundir tenga gran viscosidad habrá que escoger una vena de grueso calibre.⁷



FIG. 10 LOCALIZACIÓN DE LAS VENAS DE LA FOSA ANTECUBITAL

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque En La Regeneración Ósea. Plasma Rico En Factores De Crecimiento (P.R.G.F.). P118

La cantidad dependerá del defecto a tratar. Para la extracción de una pieza dentaria entre 10 y 20 cc. Para una elevación de seno 30 cc.^{4,5,7,9,14}

Se utilizan los tubos estériles con citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante. Se centrifuga el plasma con un equipo digital que garantice que los parámetros tiempo y velocidad son los adecuados (modelo P.R.G.F. – GAC Medicales-España).^{7,9,14}

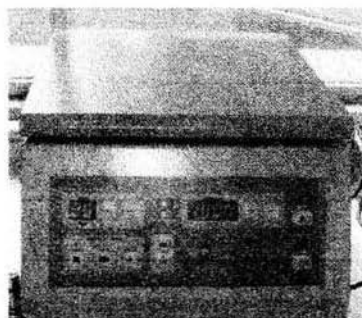


FIG. 11 CENTRÍFUGA MODELO P.R.G.F. – GAC MEDICALE-ESPAÑA
FUENTE DIRECTA

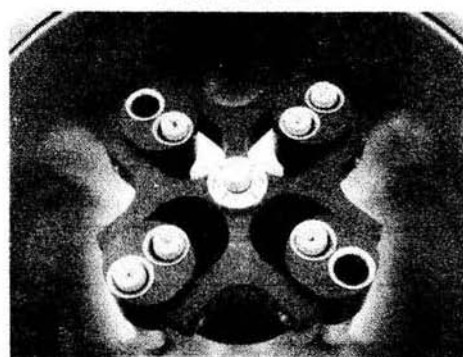


FIG. 12 POSICIÓN DE LAS MUESTRAS EN LA CENTRÍFUGA
FUENTE DIRECTA

El tiempo será de 7 a 8 minutos a una velocidad de centrifugación de 280 G a temperatura ambiente.^{7,9,14}

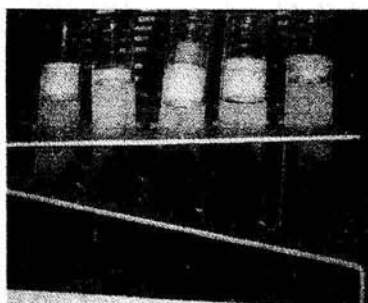


FIG 13. MUESTRAS SANGUÍNEAS POSTERIOR A LA CENTRIFUGACIÓN

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque En La Regeneración Ósea. Plasma Rico En Factores De Crecimiento (P.R.G.F.). P109

El plasma se agrega en fracciones mediante pipeteado muy meticoloso para no crear turbulencias en las fracciones obtenidas.^{7,9,14}

Los primeros 500 μ l (0.5 cc.) (fracción 1) es un plasma pobre en plaquetas y por lo tanto pobre en factores de crecimiento.

Los siguientes 500 μ l (0.5 cc.) (fracción 2) corresponderán a un plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica.

La fracción de plasma más rica en plaquetas y rico en factores de crecimiento (PRGF) son los 500 μ l (0.5 cc.) (fracción 3) inmediatamente después de la serie roja.⁷

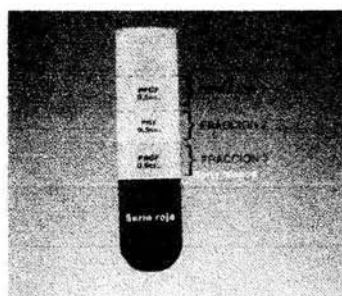


FIG. 14 DISTRIBUCIÓN DE LAS FRACCIONES DE P.R.G.F.

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque En La Regeneración Ósea. Plasma Rico En Factores De Crecimiento (P.R.G.F.). P137

El volumen de plasma que se obtiene tras la centrifugación varía ligeramente de unos individuos a otros. Debemos saber que siempre contaremos de la serie roja hacia arriba y por lo tanto, si obtenemos más plasma éste será pobre en factores de crecimiento y su volumen puede variar entre uno y dos centímetros cúbicos.⁷

Si después de centrifugar observamos un tubo en el que el plasma está turbio con hematíes, este tubo lo desecharemos, ya que esta pequeña hemólisis se debe a un defecto a la hora de extraer la sangre. Hemos provocado una lesión algo mayor de lo habitual en el vaso, se ha liberado una mayor cantidad de tromboplastina tisular y esto provoca que dentro del tubo se produzca la coloración rojiza del plasma y alteraciones en la formación del coágulo e incluso pequeños microcoágulos.⁷

3.2.2.2 Pipeteo de las muestras.

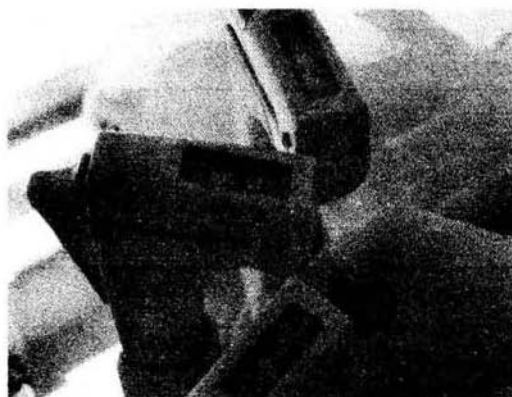


FIG. 15. PIPETAS DE 50 ML, 100 ML Y 500ML.
FUENTE DIRECTA

- Con una pipeta de 500 μ l (0.5 cc.) aspiraremos la fracción superior (fracción 1) y lo trasladaremos a un tubo de cristal estéril, previamente

etiquetado. Repetiremos lo mismo con el tubo 2. esta será la fracción de plasma más pobre en factores de crecimiento.

- De nuevo, con la pipeta de 500 μ l (0.5 cc.) aspiraremos la fracción 2 en ambos tubos y lo traspasamos a otro tubo de cristal estéril. Esta fracción de plasma (f2) contiene un número de plaquetas por unidad de volumen similar a las contenidas en la sangre periférica, la denominamos plasma con factores de crecimiento.

- La tercera fracción de plasma (f3) es la más importante por su alto contenido en plaquetas. Realizamos un pipeteo más cuidadoso, utilizando para ello una pipeta de 100 μ l (0.1 cc.) con el fin de evitar turbulencias y no aspirar los hematíes. Repetiremos el pipeteado cinco veces y lo llevaremos a un tercer tubo de cristal estéril, será el plasma más rico (P.R.G.F) (Fracción 3). Los 0.2 cc. de plasma que están más próximos a los hematíes son los que tienen el contenido más alto en plaquetas y por tanto en factores de crecimiento.⁷

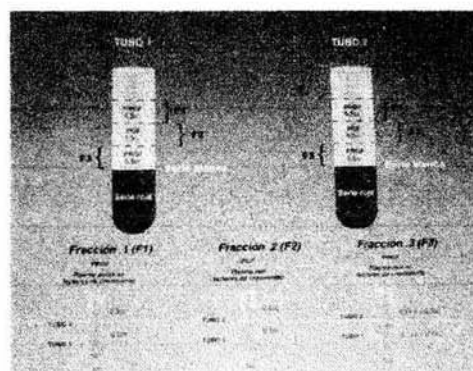


FIG16. FRACCIONES DE PLASMA SEPARADAS EN PPGF, PGF, PRGF.

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque En La Regeneración Ósea. Plasma Rico En Factores De Crecimiento (P.R.G.F.). P137

Se conserva a temperatura ambiente durante 6 horas o 24 horas en movimiento, mientras que por congelación, nos dura más tiempo ⁹

3.2.2.3. Activación y agregación de las plaquetas.

Una vez que tenemos la fracción de plasma que vamos a utilizar, realizaremos la activación del coágulo utilizando cloruro de calcio al 10% para proporcionar el calcio que neutralizó el citrato de sodio. Se forma un tapón gelatinoso y muy consistente, fácil de manipular. Cuando se activa comienza la transformación de las plaquetas liberando los factores de crecimiento, por eso se debe hacer unos 10 minutos antes de su utilización, pudiéndose a cortar los plazos con un baño térmico a 37 °C. ^{4,5,9,7}



FIG. 17 BLOQUE TÉRMICO UTILIZADO PARA LA REPARACIÓN DE FIBRINA O PARA ACELERAR LA COAGULACIÓN DEL P.R.G.F.
FUENTE DIRECTA

Obtenemos un gel consistente amarillo-rosado PRP (Plasma rico en plaquetas) y más transparente PPP (plasma pobre en plaquetas). ^{4,5,7,20}



FIG. 18 PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO UNA VEZ QUE HA COAGULADO GRACIAS AL CALCIO

www.diariomedico.com/cirmaxilofacial/n060601.html

Se puede mezclar con sustitutos autólogos o sintéticos, permitiendo un fácil manejo de las partículas que quedan incluidas en el gel. ^{7,9,14,15}

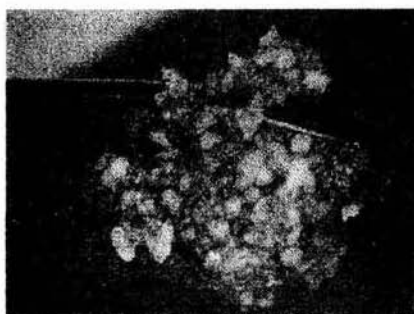


FIG. 20 COAGULO ENGLOBANDO MATERIAL (Bio-Oss)

ANITUA, E. Un Nuevo Enfoque En La Regeneración Ósea. Plasma Rico En Factores De Crecimiento (P.R.G.F.). P14

3.3. Modificaciones actuales de la técnica de P.R.G.F.

La cantidad de las muestras sanguíneas dependerá del defecto a tratar, en un rango de 5 y 40 cc. (Anitua, 2001). La sangre es depositada en tubos estériles con citrato sódico al 3.8% como anticoagulante. Los tubos

deben ser centrifugados a 270 G a temperatura ambiente durante siete minutos en una centrifuga especialmente diseñada para esta técnica (PRGF system, BTI BioTechnology Institute, Victoria, España). Después de la centrifugación, la sangre ha de ser separada en fracciones mediante pipeteado muy metódico. El plasma obtenido es dividido en cuatro fracciones plasmáticas dispuestas de acuerdo con su peso molecular, en orden ascendente, las cuales son descritas a continuación:

- Plasma muy rico en GFs (PVRGF), localizado en una capa de 0.2 cc. por encima de las células rojas (eritrocitos).
- Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), localizado en la capa siguiente a 0.3 cc.
- Plasma con factores de crecimiento (PGF), situado subsecuentemente a 0.5 cc.
- Plasma pobre en factores de crecimiento (PPGF), localizado en la capa superior con tan sólo 1 cc.¹⁴

El total de preparación de ésta técnica es de entre 10 y 15 minutos. Dependiendo del caso clínico, la aplicación del PRGF tendrá dos protocolos alternativos:

1) Protocolo No. 1. La preparación de PRGF puede ser combinada con un material de injerto (material autógeno o un aloinjerto) mejorando la consistencia y el manejo del injerto.^{7,14,15,20,24}

Aproximadamente 50 µl de CaCl₂ son agregado por cada 1 cc. de PRGF concentrado para activar la formación del coágulo; posteriormente, se agrega el material de injerto para obtener una masa sólida más estable y de fácil manipulación. El rango de formación del coágulo es de 5 a 8 minutos a

temperatura ambiente, si se mantiene la preparación a 37 °C se activará en un periodo más reducido, aproximadamente de 3 minutos.^{7,14}

2) Protocolo No. 2. En situaciones donde el concentrado de plaquetas es utilizado sin material de injerto, se activará el coágulo a las mismas concentraciones (50 µl de CaCl₂ por cada 1 cc.) y en el mismo tiempo aproximado^{7,14}.

3.4. ventajas obtenidas con la aplicación de P.R.G.F.

- Se ha conseguido que una extracción dentaria cicatrice en menos de la mitad del tiempo y de forma más indolora.^{5,9}
- Disminuye notablemente riesgos de infección en fumadores y diabéticos.^{5,9,20}
- Sin riesgo de transmisión de ningún tipo de enfermedad (plasma autólogo).⁹
- Mejor manejo de injertos al ser combinados con P.R.G.F.^{7,9,14,15,19,20}
- Preparación de forma inmediata 15 – 20 min.⁹
- Nulo efecto antigénico.⁹
- Bajo costo⁹

CAPÍTULO IV. APLICACIONES CLÍNICAS DEL P.R.G.F. EN ODONTOLOGÍA.

El primer campo en que se ha puesto en práctica esta técnica ha sido en la cirugía oral.^{7,9,14}

4.1. PREPARACIÓN DE ÁREAS FUTURAS. ZONAS POST-EXTRACCIÓN.

Una de las aplicaciones clínicas que pueden ser utilizadas en odontología general es en zonas post-extracción. Podemos utilizar el plasma en dos consistencias diferentes: dentro del alvéolo, pondremos un coágulo de PRGF para contener este coágulo a modo de tapón; con el fin de evitar la realización de un colgajo de desplazamiento, podemos poner un tapón de fibrina. la retracción del coágulo se va a producir a 37 °C en 10 – 15 minutos y si no, físicamente, con unas pinzas, podemos comprimir el coágulo y provocar su compresión.^{7,9,24}

Los beneficios los vamos a percibir rápidamente, la extracción va a epitelizar más rápido, vamos a obtener regeneración ósea más completa en menor tiempo, las posibilidades de infección o de una alveolitis seca van a desaparecer. Esta técnica está especialmente recomendada en fumadores o diabéticos que son pacientes que epitelizan peor y mucho más propensos a padecer alveolitis.^{7,20}

4.2. TRATAMIENTO DE CANINOS INCLUIDOS Y TERCEROS MOLARES.

Otra aplicación del P.R.G.F. es en la extracción de piezas incluidas, la cavidad la rellenamos con un gran coágulo de P.R.G.F. o con dos o tres coágulos hasta acompletar todo el defecto. En algunos casos podemos cubrir el alvéolo y el relleno de P.R.G.F. con fibrina autóloga a modo de membrana, para retener el coágulo. ⁷

4.3 APICECTOMIAS. TRATAMIENTOS DE DEFECTOS ÓSEOS PERIAPICALES.

El tratamiento de defectos óseos por quistes periapicales es otra de las indicaciones del P.R.G.F. Lo mezclaremos con un biomaterial o con hueso autólogo en el caso de que la ventana sea muy grande y haya riesgo de colapso. Si la ventana es pequeña sólo pondremos P.R.G.F.⁷

4.4 REGENERACIÓN ALREDEDOR DE IMPLANTES.

La regeneración alrededor de implantes y la preparación de áreas futuras fue una de las motivaciones por las que se inició la técnica de P.R.G.F, así como poder estabilizar los injertos y estimular la quimiotaxis, diferenciación y proliferación de las células osteogénicas.^{7,9}

Se puede conseguir regeneración ósea alrededor de los implantes. Se puede utilizar membranas o no; sin embargo, siempre que se han utilizado membranas (sin complicaciones), la cantidad de hueso regenerado ha sido mayor. El riesgo de exposición de membranas, sobre todo si son reabsorbibles, utilizando P.R.G.F. es mucho menor.^{7,9,19,20}

4.5 INJERTOS EN BLOQUE.

El P.R.G.F. lo utilizaremos en todos los casos de injerto en bloque con una doble finalidad: rellenar con un biomaterial (o sin él) la zona donante para estimular su regeneración y para cubrir y ayudar a remodelar el bloque que vayamos a colocar. De esta forma todos los bordes a las zonas limitiformes del bloque los compactaremos con P.R.G.F. y hueso particulado para evitar escalones.^{7,9,19,20,21,25}

4.6 ELEVACIONES DE SENO.

Las diferentes técnicas de injertos sub- antrales han supuesto un gran avance en el tratamiento del maxilar superior atrófico. La utilización del P.R.G.F. para compactar los injertos particulados es sin duda un gran avance, va a simplificar la técnica y a permitir compactar los injertos de forma más rápida y predecible. ^{7, 9, 20}

4.7 EXPANSIÓN DE CRESTA.

4.8 TRATAMIENTO DE DEFECTOS PERIODONTALES.

El tratamiento de los defectos óseos periodontales es otra de las aplicaciones del P.R.G.F.

El obtener la regeneración ósea alrededor del implante resulta relativamente sencillo, los defectos periodontales tienen características histológicas diferentes. Por un lado la superficie de la raíz no es osteoconductiva y hay que regenerar no sólo tejido óseo, sino también el ligamento periodontal; además, el injerto va a estar expuesto a una posible contaminación. Sin embargo se han obtenido buenos resultados en los casos tratados con estos defectos. ^{7, 9, 20, 21}

Este sistema también se está utilizando en prótesis de cadera y rodilla, siendo de gran ayuda al crear una interfase protéica entre el hueso y la prótesis. ^{5, 9}

Otras posibles aplicaciones de la técnica serían la consolidación de fracturas y la cicatrización de quemados. ⁹

CONCLUSIONES

El Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.) es una técnica de reciente aparición, empleada para mejorar la regeneración de los tejidos, por medio de un aumento en la proliferación celular inducida por los factores de crecimiento contenidos en las plaquetas y los factores de crecimiento que se encuentran en el tejido local.

El primer campo donde se ha puesto en práctica esta técnica ha sido en Cirugía oral. Con esta estrategia se ha conseguido que una extracción dentaria cicatrice en menos de la mitad del tiempo y de forma más indolora, disminuyendo notablemente los riesgos de infección en fumadores, diabéticos, etc. También se utiliza para corregir defectos óseos alrededor de implantes.

Un fundamento a consideración es la fácil manipulación, que no requiere ser elaborada a nivel hospitalario, la utilización de equipo simple y de bajo costo. La molestia del paciente es mínima ya que las muestras sanguíneas van de 5cc a 40 cc (comparada con 500 cc reportados en técnicas de P.R.P.) dependiendo de la lesión.

La preparación del Plasma Rico en Factores de Crecimiento en cuanto a tiempo es muy corta, ya que puede ser obtenido en tan solo 15 min. Puede ser aplicado solo o con un material de injerto (hidroxiapatita, hueso autólogo, etc.). Ambas técnicas son de fácil manipulación y pueden ser aplicadas en múltiples casos clínicos, incluyendo defectos periodontales, rehabilitación de sitios para implante, defectos óseos, cirugía oral. Además, puede resultar de gran ayuda en la fijación de implantes de cadera y rodilla, al crear una interfase protéica entre el hueso y la prótesis. Otras posibles

aplicaciones de la técnica serían la consolidación de fracturas y la cicatrización de quemados.

Los resultados obtenidos por Anitua en un estudio con 1.800 implantes demuestran que el empleo de esta sustancia autóloga mejora la adherencia del hueso 2,6 veces más de lo normal en el mismo periodo de tiempo. Además, los resultados durante los dos años en los que se lleva estudiando se han presentado el 99 por ciento de casos exitosos.

Aunque hay numerosos resultados exitosos con el uso de esta técnica, aún se sigue evaluando su eficacia por muchos otros investigadores.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. URIST M R. Bone: formation by autoinduction. Science. 1965; 150: 893-899.
2. TAYAPONSAK, P.; O'BRIEN, DA.; MONTEIRO, CB.; ARCEO-DIAZ,LL Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate Cancellous bone and marrow. J. Oral Maxillofac. Surg. 1994; 52; 161-6
3. MARX, R.E.; CARLSON, E.R.; EICHSTAEDT, R.M.; SCHIMMELE, S.R.; STRAUSS, J.E.; GEORGEFF, K.R.; Platelet- rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg. Oral med. Oral Pathol. Oral Radio. Endod. 1998 ;85 ; 638-46.
4. ANITUA , E.; Plasma rich in growth factors : preliminary results of use in the pre-Paration of future sites for implants. Journal of oral and maxillofacial Implants. 1999 ; 14; 529-535urg. O
5. "El plasma rico en plaquetas mejora la consolidación del injerto óseo" Julio Acero, Servicio de Cirugía Maxilofacial del Hospital Gregorio Marañón, Madrid <http://www.diariomedico.com/cirmaxilofacial/n060601.html>
6. ARRUGA ARTAL, A; GOMEZ CASAL, F; MORENO CHULILLA, J; MARIN MELERO, S; CATIVIELA OTAL, E; Evaluación de la adherencia de células hematológicas periféricas a implantes dentales de titanio sistema Intri. Estudio in vitro.
<http://www.aiip-online.com/articuloTxt.html>
7. ANITUA, E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.). Puesta al día publicaciones, S.L. Victoria-Spain. 2000.
8. FINN, GENESER. Histología. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid – España. 3ra. Edición. 2003. 235-278.
9. HERRRERA, FERNANDA; SAPIA, MARIANO; SCADDING, GABRIELA. Regeneración ósea. Plasma rico en plaquetas. Escuela superior de implantología-Bs.As. Argentina.
www.esiargentina.com.ar/trab_plasma.htm

10. LÓPEZ-OLIVA MUÑOZ, F; VICARIO ESPINOZA, C ; ALMOGUERA VILLACAÑAS, J. Plasma rico en plaquetas. Análisis comparativo de cuatro presentaciones comerciales. *Patología del aparato locomotor*, 2003; 1(1): 59 –66.
11. LYNCH, SAMUEL; GENO, ROBERT; MARX, ROBERT. *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Ed. Uintessence Publishing Co, Chicago 1999. 231 – 141.
12. LESSON, THOMAS; LESSON, ROLAND; PAPARO, ANTHONY; *Texto-Atlas de Histología*. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, 1990. 167-232
13. STANLEY L. ROBBINS, RAMZI S. CORTAN, VINAT KUMAR. *Patología humana*. 6° ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, 2001. 52-63
14. ANITUA, E: The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract proced Aesthet Dent*. 2001; 13(6):487-93
15. VELILLA , M; BELLAFONT, E; GALLEGOS, F; HOLGADO, F. Recuerdo y actualización de las técnicas en regeneración ósea para el práctico general. A propósito de casos. *Gaceta Dental*. Abril 2002. www.dentaldux.com/ensayo%20regeneracion.htm
16. <http://utreja.uninet.edu/cirurgia/heridas.htm>
17. GREENHALGH, DAVID G. The Role of Growth Factors in Wound Healing. *The journal of Trauma: Injury, Infection and Clinical Care*. 1996. Vol. 41. No.1. pags.159-164.
18. www.curasan.de/espanol/productos/prp.shtml
19. CHOI, B.H; IM C.-J.; HUH J.-Y. ;SUH J. -J. ; LEE S.-H. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *J.Oral Maxillofac. Surg.* 2004; 33: 56-59
20. ARPORNMAEKLONG, A; KOCHER, M; DEPFRICH, R; KÜBLER, N.R.; WÜRZLER, K. Influence of platelet rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study. *International Journal Oral Maxillofac. Surg.* 2004, 33: 60-70.
21. SOFFER EMMANUEL, PIERRE JEAN, ANAGNOSTOU FANI. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surgery Oral Medicine oral Pathology oral Radiology*. 2003; 95: 521-528.

22. TÖZÜM FIKRET ,TOLGA; DEMIRALP BURAK. Platelet- Rich Plasma: A PROMISING INNOVATION IN DENTISTRY. Journal of Canadian Association 2003; 69(10): 644
23. DUGRILLON, A; EICHLER, H; KERN, S; KLÜTER, H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. International Journal Oral Maxillofacial. Surg. 2002;31: 615 – 619.
24. WOJTOWICZ, A; CHABEREK, S; KRYST, L; Urbanowska, E. Fourier and fractal analysis of maxillary alveolar ridge repair using platelet rich plasma (PRP) and inorganic bovine bone. International Journal oral Maxillofacial Surgery. 2003; 32:84 -86.
25. FENNIS, J; STOELINGA, P; JANESEN, J. Mandibular reconstruction: A clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. International Journal oral Maxillofacial Surgery. 2002; 31:281-286.