



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**CASO CLÍNICO DE REGENERACIÓN TISULAR GUIADA CON
USO DE PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO E
INJERTO D.F.D.B.A. UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO.**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGÍA

PRESENTA:

C. D. JESÚS FLORES ROMERO

**TUTOR: C. D. E. EP. ALEJANDRO ORDÓÑEZ
ACEVEDO**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Dedicatorias

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este momento tan especial en mi vida y haberme dado salud para lograr mis objetivos. Por los triunfos y los momentos difíciles, que me han enseñado a valorarlo cada día más, y por su infinita bondad y amor.

A mi padre, Clemente Flores Jiménez por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante, por todo el apoyo que siempre me ha brindado, los consejos, la sabiduría y el esfuerzo que siempre desempeñó en mí.

A mi madre, Virgen Romero Guzmán a quien le debo todo en la vida, le agradezco las noches de desvelos, que siempre ha estado pendiente de mí, que siempre ha dedicado su vida a mi cuidado, de que nada me falte, por saber comprenderme en los momentos difíciles, por sus valiosos consejos sabios, por ser fuerte, te amo madrecita mía, este triunfo también es tuyo.

A mi hermana, Sugeili Flores Romero por ser más que una hermana una amiga, gracias por soportar mis malos ratos, por apoyarme y por escucharme en los momentos que lo he necesitado.

A mi familia por brindarme su apoyo incondicional, por impulsarme día tras día a continuar y lograr mis metas.

Al Doctor Alejandro Ordóñez Acevedo por la dirección de este trabajo, señalando su constante entusiasmo en el tema y el afecto que siempre me ha mostrado, he tenido la suerte de encontrar en él un amigo y un maestro.

Al Doctor Eduardo Llamosas Hernández por creer en mí y darme la oportunidad de continuar desarrollándome, y quien me ha transmitido la ilusión por la investigación, le agradezco todos sus consejos, y mi especial reconocimiento a su dedicación.

Al Doctor César Redondo Caballero por permitirme aprender de su experiencia y quien siempre compartió sus conocimientos desinteresadamente, proporcionándome información para la realización de este trabajo.

Al Doctor Juan Ángel Martínez Loza por brindarme su sincera amistad, y quien siempre tuvo tiempo para enseñarme y simplificar la información para mi mejor comprensión. Agradezco sus consejos y apoyo.

Al Doctor Abel Gómez Moreno por compartir sus conocimientos, sus enseñanzas de temas de fundamental importancia para mi desarrollo clínico, de las cuales aprendí.

Al Doctor Javier Garzón Trinidad por brindarme su sincera amistad, por sus consejos profesionales y personales, además de permitirme aprender de su experiencia.

A mis grandes y mejores amigos, Enrique Enseldo, Nadia Lizbeth Ochoa, Anelena Gómez, Gicela Gutiérrez, que fueron un pilar importante en mi formación académica, aprendí mucho de cada uno de ustedes, gracias por su amistad incondicional la cual

valoro mucho, por la confianza, los consejos, por su paciencia, por los gratos momentos que hemos vivido y por darme la oportunidad de ir creciendo juntos de forma personal y académica.

A los pacientes, y en especial a la Sra Elizabeth Borboa González quien depositó su confianza en mí, gracias por enseñarme que con dedicación, compromiso, paciencia, podemos procurarnos una luz de esperanza.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la especialización en Endoperiodontología donde me dieron la oportunidad de formarme como especialista.

¡Gracias!

ÍNDICE

Introducción.	1
Capítulo 1.	
1.1 Antecedentes históricos del uso del plasma rico en plaquetas.....	3
Capítulo 2. Plaquetas	
2. 1 Antecedentes del descubrimiento de las plaquetas.....	8
2.2 Definición.....	9
2.3 Características estructurales.....	9
2.4 Función.....	11
2.5 Gel de plaquetas.....	16
Capítulo 3. Factores de crecimiento	
3.1 Definición.....	17
3.2 Descripción de los Factores de crecimiento.....	17
3.3 Factor de crecimiento derivado de plaquetas PDGF.....	18
3.4 Factor de crecimiento vascular endotelial VEGF.....	21
3.5 Factor de crecimiento transformante TGF.....	22
3.6 Factor de crecimiento insulínico IGF-I e IGF-II.....	23
3.7 Factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico: aFGF Y bFGF.....	25
3.8 Factor de crecimiento epidérmico EGF.....	26
Capítulo 4. Obtención de Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRFC).	
4.1 Anatomía del brazo.....	29
4.2 Técnica de extracción de sanguínea.....	30
4.3 Procedimiento de obtención del PRGF.....	31
Capítulo 5. Caso Clínico	
5.1 Antecedentes del caso.....	35

5.2 Historia médica.....	35
5.3 Historia dental.....	35
5.4 Fotografías clínicas.....	36
5.5 Serie radiográfica.....	39
5.6 Índice de CPOD y sondeo periodontal.....	39
5.7 Diagnóstico.....	43
5.8 Tratamiento	
5.8.1 Fase I.....	44
5.8.2 Fase II.....	48
5.8.2.1 Control Radiográfico de los dientes 32 y 31 al mes, 3, 6, 12, 18 meses.....	50
Conclusiones.....	57
Bibliografía.....	60

Introducción.

Introducción.

Para comenzar con la lectura del presente trabajo sobre el uso del plasma rico en factores de crecimiento utilizado en la terapia de regeneración tisular guiada, es importante partir de las siguientes definiciones:

Enfermedad periodontal: Proceso inflamatorio e infeccioso que provoca destrucción del cemento radicular, ligamento periodontal y del hueso alveolar, así como migración apical de la adherencia epitelial e inserción del tejido conjuntivo. ⁽¹⁾

Regeneración: Se refiere a la reproducción o reconstitución de una porción de tejido lesionado, en contraste con la reparación que se describe como la curación de los tejidos que no se restablecen plenamente tanto en la arquitectura como en función. ⁽²⁾

Regeneración periodontal: se define histológicamente como el neo crecimiento de los tejidos periodontales perdidos; hueso alveolar, cemento, ligamento periodontal. ⁽²⁾

Plasma: es una fracción líquida y acelular, compuesta por agua en un 90% y múltiples sustancias inmersas en ella, de éstas las más abundantes son las proteínas. ⁽³⁾

Factores de Crecimiento: Son proteínas que desempeñan un papel esencial y específico en la migración, diferenciación y proliferación celular. ⁽⁴⁾

Plasma rico en factores de crecimiento: Es un producto derivado del proceso de centrifugación de la sangre del paciente, para obtener altas concentraciones de plaquetas y factores de crecimiento presentes en el plasma sanguíneo. ⁽⁵⁾

Uno de los objetivos de la terapia periodontal es regenerar los tejidos periodontales perdidos causados por enfermedad periodontal principalmente.

Con la finalidad de lograr dicha regeneración, se han diseñado materiales que funcionen como relleno:

- Autoinjertos (injerto del paciente mismo).
- Aloinjertos (injerto de otro individuo de la misma especie en conservación con cialita o liofilización)
- Xenoinjertos (injerto de otra especie)
- Materiales Aloplastos (sustancias sintéticas)

De igual forma se han utilizado materiales como barrera, que evitan la migración del epitelio gingival y del tejido conectivo al sitio a regenerar. Estas son:

- Barreras no absorbibles: politetrafluoretileno expandido e-PTFE.
- Barreras absorbibles: Ácido poliláctico, copolímeros de ácido poliláctico, ácido poliglicólico, membranas de colágeno tipo I de bovino o porcino, plasma rico en plaquetas. ⁽²⁾⁽⁶⁾

La complejidad de eventos relacionados con la regeneración periodontal implica la presencia local de células en cantidad y calidad suficientes con potencial de diferenciación que se hacen presentes en el sitio a regenerar. ⁽⁷⁾⁽⁸⁾

Introducción.

Estas células progenitoras pueden diferenciarse posteriormente para formar; ligamento periodontal, cemento radicular, hueso. y demás estructuras histológicas para mantener fisiológicamente estable todo el aparato de inserción periodontal. ⁽⁹⁾

Por lo tanto, durante el evento de regeneración periodontal se estimulan células progenitoras capaces de repoblar el sitio del defecto a regenerar; Los factores de crecimiento son de suma importancia durante este proceso, ya que son capaces de inducir la migración, diferenciación y proliferación de las células progenitoras del periodonto. ⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾

Los recientes estudios acerca del plasma rico en factores de crecimiento han reportado propiedades fisiológicas importantes que tiene en la curación de la lesión. ⁽¹¹⁾

Watanabe, Lacoste, Martineau, denominan a los factores de diferenciación y/o de crecimiento, como mediadores biológicos que regulan la proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, síntesis de la matriz extracelular. ⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾

Se ha determinado que el tejido óseo así como el tejido conjuntivo, contiene numerosas de estas proteínas de señalización que juega un papel muy importante en la remodelación y en la regeneración ósea. ⁽¹²⁾

Autores como Marx y cols., Kim y cols., Froum y cols., Lynch y cols., Banach y cols kassolis y cols., De Obarrio y cols., han reportado en la literatura el beneficio del plasma rico en factores de crecimiento añadido a el tratamiento periodontal regenerativo. Así como, un aumento en la neo formación y maduración de hueso. ⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾

El presente trabajo se basa en el uso del plasma rico en factores de crecimiento como una terapia alternativa a las ya existentes, en combinación con injerto óseo homólogo, con la finalidad de lograr la regeneración de los tejidos periodontales perdidos.

1.1. Antecedentes Históricos del uso del Plasma Rico en Plaquetas

El uso del Plasma rico en plaquetas (PRP) se ha empleado desde hace ya varios años en áreas de especialidades médicas como: (Traumatología, Ortopedia, Cirugía plástica y reconstructiva). Así mismo, en el campo de especialidades odontológicas (Cirugía Máxilofacial, Implantología, Periodoncia, Endodoncia). Con el propósito de cohesionar injertos óseos o biomateriales particulados, con membrana biológica o en forma de spray para aumentar la adhesividad al lecho receptor. ⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾

Estudios previos en lesiones agudas han mostrado como los factores de crecimiento promueven la regeneración e influyen en parámetros tales como re-epitelización, angiogénesis y síntesis de la matriz extra celular. ⁽²⁴⁾

Urist (1965) demostró que el hueso desmineralizado en ácido clorhídrico, liofilizado e implantado en lugares ectópicos, inducía la formación ósea. Este fenómeno se ha denominado principio de inducción ósea.

Donde la matriz desmineralizada del hueso implantado se sustituye por nueva matriz ósea y se mineraliza, produciendo hueso reticulado que evoluciona a hueso cortical. ⁽²⁵⁾

Froum y colaboradores en 1976, trataron defectos Infra óseos con hueso autólogo solo, y añadiendo PRP. Después de un tiempo se hizo una re entrada quirúrgica y en el primer caso donde se injerto hueso autólogo solo, observo regeneración del hueso alveolar de .66mm, mientras que el resultado con el uso de injerto de hueso autólogo añadiendo PRP fue de 2.08mm de altura de formación. ⁽²⁶⁾

Matras en 1982 publicó la utilización del plasma rico en plaquetas (PRP), como adhesivo biológico de fibrina como producto, con la capacidad de sellado tisular, hemostasia y cicatrización tisular. ⁽²⁷⁾

Lynch en 1989 realizó un estudio para evaluar la eficacia de los factores de crecimiento en perros Beagle, debido a que esta raza presenta de manera natural enfermedad periodontal. El estudio se realizó con una combinación de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento insulínico (IGF), donde observó que mejoraba la regeneración comparándola con la zona control. ⁽²⁸⁾

En 1994 Tayapongsak y cols, realizaron un estudio donde aplicaron un coágulo de fibrina en la reconstrucción de defectos mandibulares junto con injerto óseo autógeno, identificando radiográficamente consolidaciones óseas tempranas. Atribuyendo a la red de fibrina un incremento de la osteoconducción sobre las células osteocompetentes del injerto. También refieren su utilización como vehículo para la compactación de injertos. ⁽²⁹⁾

En 1995, Slater y cols, mostraron en un trabajo in Vitro, resultados que indican un aumento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos humanos, y un incremento en la síntesis de la matriz extracelular cuando se cultivan dichos osteoblastos en presencia de Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF). ⁽³⁰⁾

En 1997, Whitman presentó el gel de plaquetas como alternativa autóloga al adhesivo de fibrina en cirugía oral y máxilofacial, utilizándolo no solo como adhesivo tisular sino también como procedimiento para la consolidación inicial de injertos córtico-esponjoso en los maxilares. ⁽³¹⁾

En 1998, Marx y cols, reportaron que el plasma rico en plaquetas aumentaba la concentración de plaquetas en los injertos, observándose la presencia de al menos tres factores de crecimiento PDGF, TGF-B₁ y B₂. Observaron que las células tenían receptores de membrana para estos factores de crecimiento. Concluyendo entonces que era técnicamente posible secuestrar, concentrar y añadir un mayor número de plaquetas y en consecuencia factores de crecimiento a los injertos óseos. Así como, la adición de PRP aceleraba la velocidad de formación ósea durante al menos 6 meses. ⁽³²⁾

En 1999, Anitua refirió la utilización del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) en pacientes que presentaban enfermedad periodontal, con resultados significativamente mejores, desde el punto de vista de la regeneración y maduración ósea. ⁽⁴⁾

Steigmann y cols., reportaron los beneficios relacionados con el uso del P.R.P. Como:

- a) Crecimiento y maduración ósea.
- b) Hemostasia.
- c) Ayuda a la condensación del injerto mediante la creación de un gel que permite mantener el injerto óseo.
- d) Reduce el sangrado e inflamación.
- e) Regeneración de tejidos blandos. ⁽³³⁾

En estudios realizados acerca de regeneración utilizando PRP. Fennis, ⁽³⁴⁾ presentó dos trabajos sobre cabras en las que practicó una resección mandibular que se reconstruyó con hueso iliaco particulado con y sin PRP. La evaluación radiológica, histológica e histomorfométrica, reveló que el uso del PRP mejoraba considerablemente la curación ósea a las 6 y 12 semanas.

Aghaloo y cols. ⁽³⁵⁾, efectuaron un estudio piloto sobre conejos a los cuales se les provocó un defecto en el hueso parietal, mismos a los que posteriormente se les injertó hueso autógeno, PRP o una combinación de ambos y mediante un análisis radiográfico, histológico e histomorfométrico, observaron mayor densidad de hueso con la adición de PRP que sin él.

Kim y cols. ⁽³⁶⁾, efectuaron un estudio colocando implantes de titanio en la cresta iliaca de perros, y rellenando defectos peri-implantarios con una combinación de yeso Paris, con y sin PRP. Según los autores la osteointegración mejoraba en los perros tratados con PRP.

Kim en otra investigación en perros, utilizando hueso desmineralizado. Estudió la osteointegración de los implantes dentales en cresta iliaca, observando mejor contacto óseo cuando el hueso se combinaba con PRP. ⁽³⁷⁾

Los estudios de Fennis presentaron condiciones de trabajo comparables a las habituales del empleo de PRP en cirugía oral y máxilofacial, donde sus resultados indicaron el efecto benéfico del PRP cuando se añadió a un injerto autólogo. ⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾

Existen trabajos de investigación, clínicos e histológicos con PRP aplicado en cirugía periodontal, Okuda y Kawase en un estudio demuestran nuevamente la elevada concentración de PDGF y TGF-beta en el PRP, observando un estímulo en la síntesis de ADN en los fibroblastos y en células del ligamento periodontal, así como su capacidad reguladora de la síntesis de colágeno en la matriz extracelular. ⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾

De Obarrio y cols. en el 2000, realizaron un estudio con controles a 2 años donde incorporaron PRP a un aloinjerto de hueso seco congelado desmineralizado DFDBA (por sus siglas en inglés), para tratar defectos infra óseos; reportaron una ganancia significativa en la inserción clínica y en el relleno óseo. ⁽⁴²⁾

Lynch y cols., reportaron un potencial regenerativo utilizando plasma rico en plaquetas (PRP), observando un incremento en la actividad celular dando lugar a la regeneración de hueso, cemento y ligamento periodontal. ⁽⁴³⁾

Howell y colaboradores, en un estudio realizado en humanos encontraron un incremento significativo en la formación de hueso alveolar en defectos periodontales tratados con (PRP). La altura del hueso formado fue de 2.98mm comparado con 0.75mm de altura ósea en sitios tratados con solo curetaje abierto e injertando hueso autólogo. ⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾

Rodríguez y colaboradores, reportaron 24 casos de elevación de seno de maxilar utilizando plasma rico en plaquetas y hueso bovino desmineralizado previo a la colocación de implantes, concluyendo que la adición del PRP a la técnica disminuía el tiempo necesario para la mineralización del tejido neoformado, permitiendo una carga protésica a los 4 meses de colocados los implantes. ⁽⁴⁵⁾

Kassolis utilizó PRP con un aloinjerto de hueso liofilizado para la elevación de seno del maxilar en 36 pacientes, a los 12 meses realizó una re entrada quirúrgica para tomar biopsia del sitio tratado previamente y la colocación de implantes, reportando la formación de hueso. ⁽⁴⁶⁾

Banach y colaboradores, trataron defectos infra óseos periodontales en humanos, donde se injertó hueso autólogo y plasma rico en plaquetas. Evaluaron la reducción de profundidad de bolsa, la cual al inicio del estudio se midió en 6 mm, encontrando a los 6 meses la disminución de profundidad de bolsa registrada con respecto a la inicial, dicha disminución fue de 3.28mm. y a los 12 meses de 3.97 mm. ⁽⁴⁷⁾

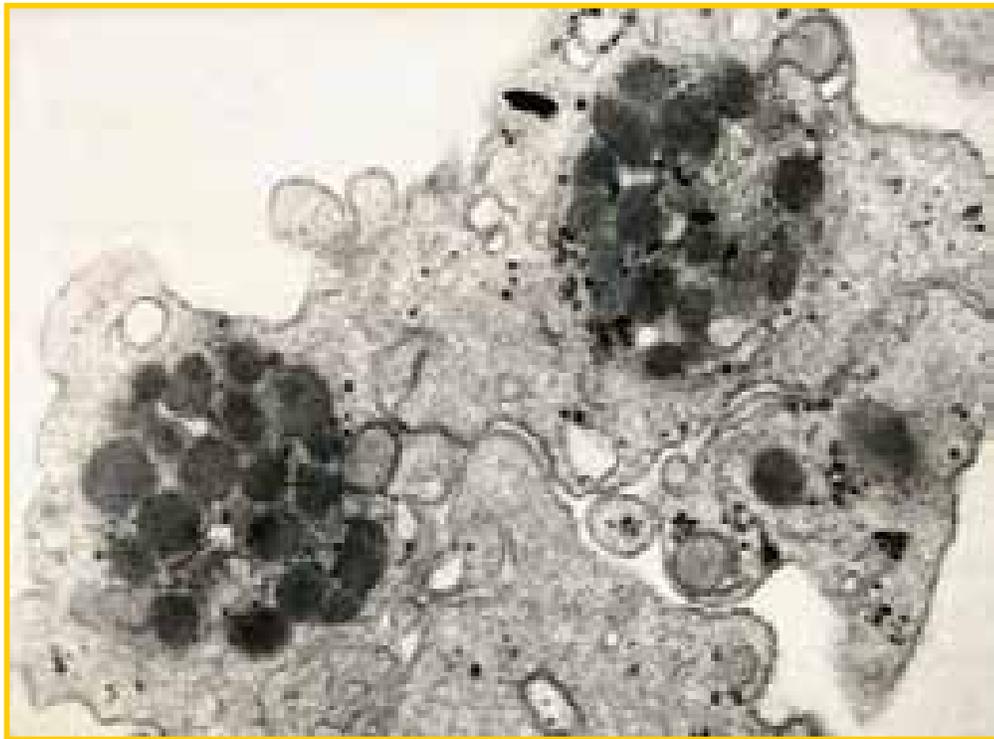
Tomando en consideración los autores mencionados, podemos decir que, el beneficio al utilizar el PRP en defectos óseos periodontales, ha sido fundamentado en función a la hemostasia, angiogénesis, mitosis, diferenciación celular, proliferación de células diferenciadas que promueven la regeneración tisular. ⁽⁴⁸⁾

De igual forma, han demostrado clínicamente y radiográficamente que al adicionar el PRP a un material de relleno, favorece una mejoría clínica del estado periodontal, en cuanto a la reducción de signos de inflamación se refiere, además de acelerar la formación de hueso y mejorar la densidad de hueso trabecular en comparación a los sitios tratados con solo material de injerto autólogo. ⁽⁴⁹⁾

El propósito de esta revisión, es observar las características histológicas, clínicas y radiológicas de los resultados obtenidos por la combinación de PRP y material de relleno como el hueso (DFDBA). En la terapia de defectos periodontales en humanos.

Por las razones antes mencionadas y para adentrarse al tema de factores de crecimiento, es importante hacer una breve revisión del descubrimiento de las plaquetas en humanos, así como su composición estructural, función y, la influencia que guardan en un evento de curación posterior a un tejido lesionado.

PLAQUETAS



Fuente: Eduardo Anitua Aldecoa. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

2. 1 Antecedentes del descubrimiento de las plaquetas

De tres elementos formes de la sangre, las plaquetas fueron las últimas en ser descubiertas.

Durante el siglo XIX, numerosos observadores reportaron la presencia en la sangre de corpúsculos más pequeños que los glóbulos rojos y los glóbulos blancos. Sin embargo se considera al francés Alfred Donné (1801), como el primer autor que reportó su presencia en la sangre, aunque también se le atribuye este descubrimiento al médico inglés George Guilliver (1804).⁽⁵⁰⁾

En 1842, el inglés William Addison, describe a las plaquetas en su trabajo “sobre los corpúsculos pálidos en la sangre”.⁽⁵⁰⁾

Franz Simon, un químico alemán, fue el primero en usar ferrocianuro de potasio para evitar la coagulación de la sangre y definió a las plaquetas como cuerpos muy pequeños.⁽⁵¹⁾

En 1846 Gustav Zimmermann, médico militar alemán, describió “billones de ciertos corpúsculos incoloros” que tendían a agruparse, y los llamó “cuerpos elementales”. El mismo fenómeno fue observado en 1862 por Marx Schultze profesor de anatomía quien también los llamó “pequeños elementos”.⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾

En 1873 en Francia, Edme Félix Alfred describió la propiedad de esos cuerpos incoloros de la sangre de adherirse al vidrio y formar agregados.⁽⁵¹⁾

En 1878 George Hayem reportó, en la sangre existen unos pequeños elementos, que tenían tendencia a agregarse y a cambiar de forma. Describió interacciones con la fibrina y su participación en la detención de la hemorragia.⁽⁵¹⁾

Hayem empleó el término “plaquette”, en 1883.⁽⁵¹⁾

En 1885, Schimmelbusch describió los cambios morfológicos que sufren las plaquetas en un vaso dañado. En 1886, Eberth observó que la estasis del flujo sanguíneo ocasionaba el depósito de las plaquetas a la pared de vaso formando un trombo rojo, fenómeno al que denominó metamorfosis viscosa de las plaquetas.

1906, James Homer Wright descubrió, que los megacariocitos daban lugar a las plaquetas.

1910, propuso una prueba que relacionaba el número de plaquetas y la tendencia hemorrágica, (tiempo de hemorragia).⁽⁵²⁾

En los 100 años que siguieron a las primeras observaciones de este tercer elemento de la sangre, las plaquetas pasaron de la misteriosa partícula apenas visible, hasta el elemento que determina funciones vitales como la hemostasia y hoy día participa de manera importante en la curación tisular.⁽⁵²⁾

Las plaquetas continúan siendo un tema de gran interés por parte de los investigadores en áreas como: cirugía plástica y reconstructiva, implantología, cirugía oral y máxilofacial, y hoy día en periodoncia, endodoncia, entre otras especialidades.⁽⁵³⁾

Por lo tanto, mencionaré definición, características estructurales y funcionales de las plaquetas

2.2 Definición

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados que se producen como consecuencia de la diferenciación de los megakariocitos de la médula ósea.⁽⁵¹⁾

Circulan en la sangre en forma de disco biconvexo, de aproximadamente $3\mu\text{m}^2$ de diámetro, $4\text{-}7\mu\text{m}^3$ de volúmen, poseen carga eléctrica negativa en su superficie.

El conteo de plaquetas en condiciones de salud, recomendado por la OMS, oscila entre 150,000 – 400,000 plaquetas por centímetro cúbico de sangre periférica, tienen una vida media de 7 a 10 días. Junto a los eritrocitos y leucocitos constituyen los elementos formes de la sangre. (Fig. 1 y 2)⁽⁵⁴⁾



Figura 1

Corte longitudinal donde se observa la forma y el contenido de la plaqueta.



figura 2

Corte transversal, se observa que es una célula sin núcleo.

2.3 Características estructurales

Las plaquetas están constituidas por:

Membrana externa

Constituida por una bicapa lipoprotéica con glicoproteínas que funcionan como receptores de:

Agonistas fisiológicos de las plaquetas	TXA ₂ , trombina.
Proteínas adhesivas	fibrinógeno, fibronectina, laminina, factor Willebrand (vWF)
Ligandos fibrosos	Colágeno

Además de ser responsable de la interacción con el medio circulante a través de receptores entre las que figuran las integrinas.

Las integrinas más estudiadas han sido (GPIIb/IIIa y GPIb/IX). La primera ocupa una gran proporción de la superficie de la plaqueta.

La integrina GPIIb/IIIa es el principal mediador de la agregación plaquetaria a través de su capacidad de obligar a ligandos multivalentes de la proteína adhesiva en la plaquetas activadas.⁽⁵⁵⁾

La región extracelular posee los dominios de identificación de la trombina y el factor XII de Willebrand (vWF). Este complejo **tiene** una función: la región extracelular facilita el acceso al subendotelio y la interacción con la trombina y vWF; la región intracitoplasmática une los dominios funcionales extraplaquetarios con el citoesqueleto

de actina; la región transmembrana actúa como anclaje de la glicoproteína en la membrana plaquetaria.⁽⁵²⁾⁽⁵⁶⁾

Citoplasma

Las plaquetas forman parte de un proceso hemostático, además de poseer organelos específicos, como: mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, gránulos alfa y gránulos densos.

Contiene partículas de glucógeno diseminado, constituyen la fuente energética.

Contiene ribosomas en pocas cantidades fundamentalmente en plaquetas jóvenes, lo que concuerda con la casi nula actividad de síntesis protéica.

Soporta los microtúbulos en forma circunferencial, ubicados de manera concéntrica y que mantiene la forma discoide.⁽⁵⁶⁾

Citoesqueleto

Es un gel visco elástico que contiene filamentos de actina entrecruzados.

Tiene como funciones:

- a) Regulación de las propiedades de la membrana, tales como sus contornos.
- b) Mediación de la distribución de las glicoproteínas receptoras en la membrana.
- c) Constituyen una barrera para la exocitosis.⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾

Gel contráctil

Está formado por largos filamentos de actina conectados con el citoesqueleto submembranoso y miosina.

Constituye el cuerpo de los organelos celulares, los cuales se desplazan hacia el centro como consecuencia de la contracción del gel.⁽⁵⁶⁾

Sistema canalicular abierto

Formado por canales ramificados, se conecta a la membrana externa y posee características similares a ella en cuanto a su composición.

A través de este sistema se transportan las integrinas hacia los gránulos alfa.⁽⁵⁶⁾

Sistema tubular denso

Es un sistema en vecindad de los microtúbulos y rodea a los organelos y con funciones similares al retículo endoplasmico liso.

Regula la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio.⁽⁵⁷⁾

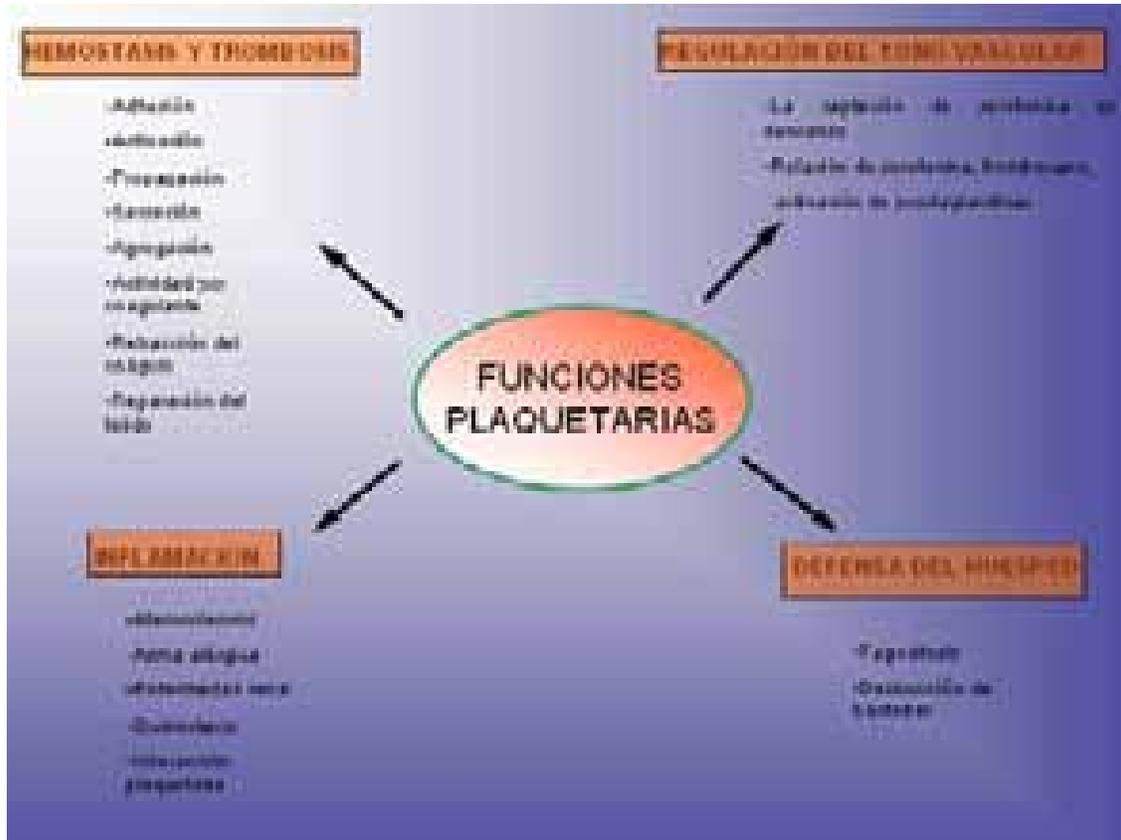
Gránulos α

Los gránulos α son organelos esféricos de 140 a 400 nm en diámetro, sus membranas contienen integrina y selectina, son de diferentes contenidos proteicos, llamados factores de crecimiento.⁽⁵⁶⁾

Estas proteínas se dividen de acuerdo a sus propiedades funcionales, las proteínas adhesivas más abundantes en los gránulos alfa son: fibrinógeno (Fg), fibronectina (Fn), vitronectina (Vn) y trombospodina, además de factores de crecimiento; factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento vaso endotelial (VEGF), factor de crecimiento transformante beta (TGF-B), factor de crecimiento de fibroblasto (AFGF y bFGF), factor de crecimiento insulínico (IGF-I y IGF-II), factor de crecimiento epidermal (EGF).⁽⁵⁸⁾

2.4 Función plaquetaria

En el siguiente esquema se ilustran los procesos fisiológicos en los que participan las plaquetas. Así como, la secuencia en el caso de la hemostasia.



El multi funcionamiento de las plaquetas.

Las plaquetas están involucradas en muchos procesos fisiológicos, como son: la hemostasia, mantiene el tono vascular, participa en la inflamación, participa en la defensa del huésped.

Las plaquetas, al recibir estímulos mediante la concentración de sustancias histoquímicas específicas, tienen dos alternativas:

1. Si se quedan dentro del vaso sanguíneo en el que circulan, simplemente se concentran en un sitio dañado o alterado para frenar la salida del contenido del vaso sanguíneo, formando un tapón plaquetario.
2. Si salen del vaso sanguíneo, se trasladan al sitio específico del daño donde liberan sus gránulos alfa.

Independientemente de las dos alternativas expuestas anteriormente, las plaquetas reciben estímulos específicos para ejercer tres fases o etapas de funcionamiento:

- El enlace plaqueta superficie o adhesión plaquetaria.
- El cambio de forma.
- El enlace plaqueta – plaqueta o agregación plaquetaria. ^{(51) (54)}

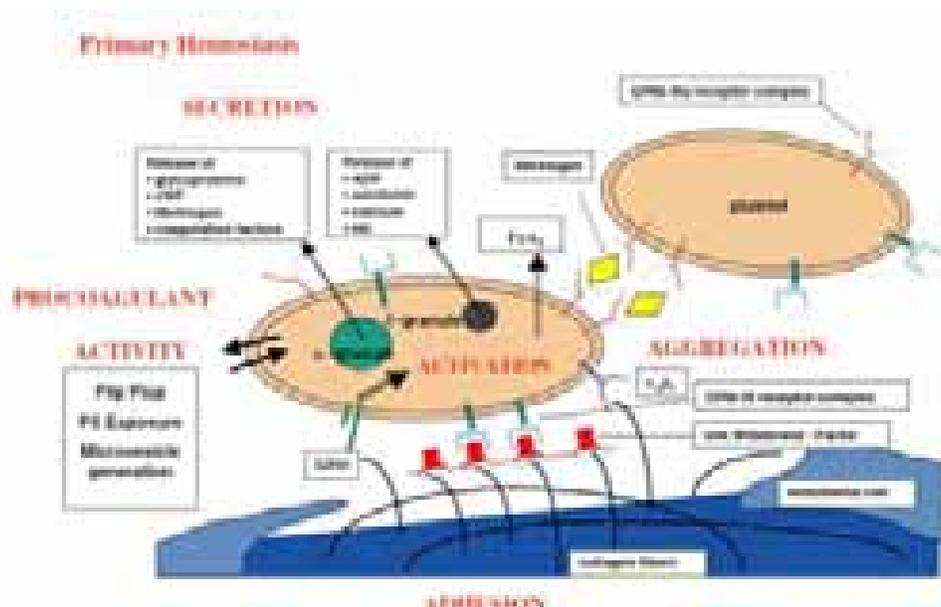


Fig.: Cuando se presenta una agresión a la pared vascular, resulta la exposición de colágeno y proteínas sub. endoteliales. Iniciando así la adhesión plaquetaria, mediada a través del factor XII e integrina del tipo Gp Ib. En el complejo superficial de la plaqueta.

Las plaquetas presentan un movimiento más lento y transitoriamente se adhieran a lo largo de la pared vascular.

El colágeno vinculante para la integrina GPVI inicia la activación de la plaqueta resultando una firme adhesión con otras plaquetas gracias a la intergina del tipo GP IIb/IIIa y de $\alpha 2\beta 1$. presentes en superficie de membrana plaquetaria.

También resulta de la adhesión plaquetaria, una señalización hacia el interior de la plaqueta provocando en los gránulos α la degranulación, liberando ADP, tromboxano A2 y la generación de procoagulante microvesicales.

Por otro lado, la cercanía que se va dando entre las plaquetas con respecto a sus vecinas, es mediado por el fibrinógeno y FVW, puente entre las integrinas del tipo GP IIb / IIIa.

La exposición de fosfolípido aniónico proporciona una superficie sobre la que las plaquetas pueden apoyar la trombina, y como resultado la formación de fibrina en la estabilización de la consiguiente tapón hemostático.

Adhesión plaquetaria.

Las plaquetas se adhieren específicamente al sub endotelio, que queda expuesto tras el daño del vaso, son capaces de adherirse a superficies sobre las cuales se expanden, utilizando como ligando al fibrinógeno, también se adhieren al colágeno fundamentalmente de los tipos I y III, el factor XII (vWF), fibronectina. ^{(56) (57) (58)}

Este evento es mediado por la interacción de vWF, integrina (GPIb), TxA2.

La adhesión plaquetaria al colágeno requiere de la interacción del colágeno con el factor XII (vWF) del plasma, e integrinas de membrana plaquetaria que durante la formación del coágulo establece enlaces plaqueta – fibrina, produciéndose la internalización de las mallas de fibrina o de colágeno, que son rodeados de microfilamentos. ^{(52) (56)}

Cambio de forma

Como consecuencia de la activación se producen alteraciones en las glucoproteínas de membrana que favorecen la tendencia de las plaquetas a pegarse entre sí. Fig. 3 ⁽⁴⁵⁾ ⁽⁵²⁾

Después del estímulo, se produce la redistribución de los microtúbulos que están en estrecho contacto con el gel contráctil trasladándose hacia el centro. Provocando que los gránulos densos se alarguen sufriendo un cambio de la forma discoidea a esférica con pseudópodos, siendo esto lo que permite el contacto entre las plaquetas. Aproximándose a la membrana plasmática fundiéndose con la membrana. Posteriormente aumenta de volumen debido a la entrada de líquido propiciado la liberación de su contenido, lo que se denomina secreción. ⁽⁵⁹⁾



Fig. 3: imagen donde se puede observar La agregación de plaquetas entre sí y la centralización de los gránulos antes de su liberación.

Agregación plaquetaria

Los estímulos fisiológicos para la activación plaquetaria son la trombina, el colágeno, la epinefrina, el tromboxano A2 (TXA2) ⁽⁵⁶⁾

Un evento que sigue a la activación es el incremento de la concentración de calcio citoplasmático, cuyo mecanismo bioquímico no ha sido determinado.

Con respecto a la trombina, colágeno y TXA2, se ha demostrado la ocurrencia de la activación fosfolipasa C, que da lugar a la formación de 1, 4, 5 trifosfato de inositol (que libera calcio del sistema tubular denso y activa una miosina kinasa) y 1, 2 diacilglicerol (que activa la proteína kinasa C, que desencadena una serie de fosforilaciones de proteínas que parecen importantes para el proceso de agregación plaquetaria) ⁽⁵⁹⁾

La activación plaquetaria por agentes como trombina, colágeno, ADP y epinefrina, puede conducir a la activación de la fosfolipasa A2 citoplasmática, que requiere de concentraciones fisiológicas de calcio para activarse, la cual cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos de membrana y da lugar al ácido araquidónico que se metaboliza preferentemente en la vía del TXA2 sintetasa para dar lugar al TXA2, producto inestable (solo 5 seg. Dura su actividad).

De esta manera el TXA2 constituye un amplificador de la señal de activación plaquetaria. ⁽⁵⁹⁾

Las plaquetas circulantes se encuentran en una interacción dinámica con los componentes del plasma, los demás elementos formes de la sangre y con endotelio vascular a través de las glicoproteínas de las membranas plaquetarias y de diferentes mediadores químicos. ⁽⁶⁰⁾

Los eritrocitos que viajan en la parte central de la corriente sanguínea, desplazan a las plaquetas hacia la cercanía de la pared del vaso, donde se realizara la adhesión plaquetaria.

La célula endotelial libera mediadores químicos como la prostaciclina (PG12), que impiden que ocurra la adhesión plaquetaria en endotelio sano y de esta manera modulan a la agregación plaquetaria.

Por otro lado la membrana de las células del endotelio y las plaquetas exponen la P selectina, que media la interacción a través del reconocimiento de estructuras hidrocarbonadas presentes.

Cuando las plaquetas se adhieren al endotelio atraen más selectinas P. Se reclutan y activan a los leucocitos, los cuales se unen a la superficie plaquetaria por medio de la molécula de adhesión ICAM – 2.

Por otra parte algunos componentes de los gránulos plaquetarios, que se liberan durante la activación, influye sobre otras células, uno de ellos es el factor derivado de plaquetas (PDGF), (Ver tabla 1).

Que estimula la proliferación celular y juega un papel importante en la reconstitución del tejido lesionado, además del proceso de aterogénesis. ⁽⁶⁰⁾

Tabla 1
Componentes de los gránulos plaquetarios

Category	Term	Biological activities
Adhesion proteins	VWF or propeptide, E _a , E _b , E _c , V _a , TSP-1, laminin	Cell contact interactions, clotting, extracellular matrix composition
Clotting factors and associated proteins	Factor XIII, Factor XI, molecules, g _{2b} , protein S, high molecular weight kininogen ^a , antithrombin ^a , tissue factor pathway inhibitor (TFPI) ^a	Thrombin production and its regulation, angiogenesis
Fibrinolytic factors and associated proteins	Fibrinogen, PAI-1 ^a , uPA, plasminogen ^a , t-PA, plasminogen activator, heparin, and glycosaminoglycans, TAFI, t-PA macrophages	Plasmin production and vascular remodeling
Proteases and anti-proteases	Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) ^a , metalloproteinase ^a , plasmin inhibitor of PK, protease-activator-1, C1 inhibitor, t-PA, urokinase ^a	Angiogenesis, vascular remodeling, regulation of angiogenesis, regulation of cellular behaviour
Growth factors, cytokines and chemokines	PDGF, TGF-β-1 ^a and 2, EGF ^a , IGF-1, VEGF ^a , IGF and EGF, bFGF and EGF-L, hepatocyte growth factor ^a , BAECN, IL-6, MCP-1, growth-regulated oncogene, EPO, TNF, MCP-1, angiopoietin 1, IL-1β, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, IL-37, IL-38, IL-39, IL-40, IL-41, IL-42, IL-43, IL-44, IL-45, IL-46, IL-47, IL-48, IL-49, IL-50, IL-51, IL-52, IL-53, IL-54, IL-55, IL-56, IL-57, IL-58, IL-59, IL-60, IL-61, IL-62, IL-63, IL-64, IL-65, IL-66, IL-67, IL-68, IL-69, IL-70, IL-71, IL-72, IL-73, IL-74, IL-75, IL-76, IL-77, IL-78, IL-79, IL-80, IL-81, IL-82, IL-83, IL-84, IL-85, IL-86, IL-87, IL-88, IL-89, IL-90, IL-91, IL-92, IL-93, IL-94, IL-95, IL-96, IL-97, IL-98, IL-99, IL-100, IL-101, IL-102, IL-103, IL-104, IL-105, IL-106, IL-107, IL-108, IL-109, IL-110, IL-111, IL-112, IL-113, IL-114, IL-115, IL-116, IL-117, IL-118, IL-119, IL-120, IL-121, IL-122, IL-123, IL-124, IL-125, IL-126, IL-127, IL-128, IL-129, IL-130, IL-131, IL-132, IL-133, IL-134, IL-135, IL-136, IL-137, IL-138, IL-139, IL-140, IL-141, IL-142, IL-143, IL-144, IL-145, IL-146, IL-147, IL-148, IL-149, IL-150, IL-151, IL-152, IL-153, IL-154, IL-155, IL-156, IL-157, IL-158, IL-159, IL-160, IL-161, IL-162, IL-163, IL-164, IL-165, IL-166, IL-167, IL-168, IL-169, IL-170, IL-171, IL-172, IL-173, IL-174, IL-175, IL-176, IL-177, IL-178, IL-179, IL-180, IL-181, IL-182, IL-183, IL-184, IL-185, IL-186, IL-187, IL-188, IL-189, IL-190, IL-191, IL-192, IL-193, IL-194, IL-195, IL-196, IL-197, IL-198, IL-199, IL-200, IL-201, IL-202, IL-203, IL-204, IL-205, IL-206, IL-207, IL-208, IL-209, IL-210, IL-211, IL-212, IL-213, IL-214, IL-215, IL-216, IL-217, IL-218, IL-219, IL-220, IL-221, IL-222, IL-223, IL-224, IL-225, IL-226, IL-227, IL-228, IL-229, IL-230, IL-231, IL-232, IL-233, IL-234, IL-235, IL-236, IL-237, IL-238, IL-239, IL-240, IL-241, IL-242, IL-243, IL-244, IL-245, IL-246, IL-247, IL-248, IL-249, IL-250, IL-251, IL-252, IL-253, IL-254, IL-255, IL-256, IL-257, IL-258, IL-259, IL-260, IL-261, IL-262, IL-263, IL-264, IL-265, IL-266, IL-267, IL-268, IL-269, IL-270, IL-271, IL-272, IL-273, IL-274, IL-275, IL-276, IL-277, IL-278, IL-279, IL-280, IL-281, IL-282, IL-283, IL-284, IL-285, IL-286, IL-287, IL-288, IL-289, IL-290, IL-291, IL-292, IL-293, IL-294, IL-295, IL-296, IL-297, IL-298, IL-299, IL-300, IL-301, IL-302, IL-303, IL-304, IL-305, IL-306, IL-307, IL-308, IL-309, IL-310, IL-311, IL-312, IL-313, IL-314, IL-315, IL-316, IL-317, IL-318, IL-319, IL-320, IL-321, IL-322, IL-323, IL-324, IL-325, IL-326, IL-327, IL-328, IL-329, IL-330, IL-331, IL-332, IL-333, IL-334, IL-335, IL-336, IL-337, IL-338, IL-339, IL-340, IL-341, IL-342, IL-343, IL-344, IL-345, IL-346, IL-347, IL-348, IL-349, IL-350, IL-351, IL-352, IL-353, IL-354, IL-355, IL-356, IL-357, IL-358, IL-359, IL-360, IL-361, IL-362, IL-363, IL-364, IL-365, IL-366, IL-367, IL-368, IL-369, IL-370, IL-371, IL-372, IL-373, IL-374, IL-375, IL-376, IL-377, IL-378, IL-379, IL-380, IL-381, IL-382, IL-383, IL-384, IL-385, IL-386, IL-387, IL-388, IL-389, IL-390, IL-391, IL-392, IL-393, IL-394, IL-395, IL-396, IL-397, IL-398, IL-399, IL-400, IL-401, IL-402, IL-403, IL-404, IL-405, IL-406, IL-407, IL-408, IL-409, IL-410, IL-411, IL-412, IL-413, IL-414, IL-415, IL-416, IL-417, IL-418, IL-419, IL-420, IL-421, IL-422, IL-423, IL-424, IL-425, IL-426, IL-427, IL-428, IL-429, IL-430, IL-431, IL-432, IL-433, IL-434, IL-435, IL-436, IL-437, IL-438, IL-439, IL-440, IL-441, IL-442, IL-443, IL-444, IL-445, IL-446, IL-447, IL-448, IL-449, IL-450, IL-451, IL-452, IL-453, IL-454, IL-455, IL-456, IL-457, IL-458, IL-459, IL-460, IL-461, IL-462, IL-463, IL-464, IL-465, IL-466, IL-467, IL-468, IL-469, IL-470, IL-471, IL-472, IL-473, IL-474, IL-475, IL-476, IL-477, IL-478, IL-479, IL-480, IL-481, IL-482, IL-483, IL-484, IL-485, IL-486, IL-487, IL-488, IL-489, IL-490, IL-491, IL-492, IL-493, IL-494, IL-495, IL-496, IL-497, IL-498, IL-499, IL-500, IL-501, IL-502, IL-503, IL-504, IL-505, IL-506, IL-507, IL-508, IL-509, IL-510, IL-511, IL-512, IL-513, IL-514, IL-515, IL-516, IL-517, IL-518, IL-519, IL-520, IL-521, IL-522, IL-523, IL-524, IL-525, IL-526, IL-527, IL-528, IL-529, IL-530, IL-531, IL-532, IL-533, IL-534, IL-535, IL-536, IL-537, IL-538, IL-539, IL-540, IL-541, IL-542, IL-543, IL-544, IL-545, IL-546, IL-547, IL-548, IL-549, IL-550, IL-551, IL-552, IL-553, IL-554, IL-555, IL-556, IL-557, IL-558, IL-559, IL-560, IL-561, IL-562, IL-563, IL-564, IL-565, IL-566, IL-567, IL-568, IL-569, IL-570, IL-571, IL-572, IL-573, IL-574, IL-575, IL-576, IL-577, IL-578, IL-579, IL-580, IL-581, IL-582, IL-583, IL-584, IL-585, IL-586, IL-587, IL-588, IL-589, IL-590, IL-591, IL-592, IL-593, IL-594, IL-595, IL-596, IL-597, IL-598, IL-599, IL-600, IL-601, IL-602, IL-603, IL-604, IL-605, IL-606, IL-607, IL-608, IL-609, IL-610, IL-611, IL-612, IL-613, IL-614, IL-615, IL-616, IL-617, IL-618, IL-619, IL-620, IL-621, IL-622, IL-623, IL-624, IL-625, IL-626, IL-627, IL-628, IL-629, IL-630, IL-631, IL-632, IL-633, IL-634, IL-635, IL-636, IL-637, IL-638, IL-639, IL-640, IL-641, IL-642, IL-643, IL-644, IL-645, IL-646, IL-647, IL-648, IL-649, IL-650, IL-651, IL-652, IL-653, IL-654, IL-655, IL-656, IL-657, IL-658, IL-659, IL-660, IL-661, IL-662, IL-663, IL-664, IL-665, IL-666, IL-667, IL-668, IL-669, IL-670, IL-671, IL-672, IL-673, IL-674, IL-675, IL-676, IL-677, IL-678, IL-679, IL-680, IL-681, IL-682, IL-683, IL-684, IL-685, IL-686, IL-687, IL-688, IL-689, IL-690, IL-691, IL-692, IL-693, IL-694, IL-695, IL-696, IL-697, IL-698, IL-699, IL-700, IL-701, IL-702, IL-703, IL-704, IL-705, IL-706, IL-707, IL-708, IL-709, IL-710, IL-711, IL-712, IL-713, IL-714, IL-715, IL-716, IL-717, IL-718, IL-719, IL-720, IL-721, IL-722, IL-723, IL-724, IL-725, IL-726, IL-727, IL-728, IL-729, IL-730, IL-731, IL-732, IL-733, IL-734, IL-735, IL-736, IL-737, IL-738, IL-739, IL-740, IL-741, IL-742, IL-743, IL-744, IL-745, IL-746, IL-747, IL-748, IL-749, IL-750, IL-751, IL-752, IL-753, IL-754, IL-755, IL-756, IL-757, IL-758, IL-759, IL-760, IL-761, IL-762, IL-763, IL-764, IL-765, IL-766, IL-767, IL-768, IL-769, IL-770, IL-771, IL-772, IL-773, IL-774, IL-775, IL-776, IL-777, IL-778, IL-779, IL-780, IL-781, IL-782, IL-783, IL-784, IL-785, IL-786, IL-787, IL-788, IL-789, IL-790, IL-791, IL-792, IL-793, IL-794, IL-795, IL-796, IL-797, IL-798, IL-799, IL-800, IL-801, IL-802, IL-803, IL-804, IL-805, IL-806, IL-807, IL-808, IL-809, IL-810, IL-811, IL-812, IL-813, IL-814, IL-815, IL-816, IL-817, IL-818, IL-819, IL-820, IL-821, IL-822, IL-823, IL-824, IL-825, IL-826, IL-827, IL-828, IL-829, IL-830, IL-831, IL-832, IL-833, IL-834, IL-835, IL-836, IL-837, IL-838, IL-839, IL-840, IL-841, IL-842, IL-843, IL-844, IL-845, IL-846, IL-847, IL-848, IL-849, IL-850, IL-851, IL-852, IL-853, IL-854, IL-855, IL-856, IL-857, IL-858, IL-859, IL-860, IL-861, IL-862, IL-863, IL-864, IL-865, IL-866, IL-867, IL-868, IL-869, IL-870, IL-871, IL-872, IL-873, IL-874, IL-875, IL-876, IL-877, IL-878, IL-879, IL-880, IL-881, IL-882, IL-883, IL-884, IL-885, IL-886, IL-887, IL-888, IL-889, IL-890, IL-891, IL-892, IL-893, IL-894, IL-895, IL-896, IL-897, IL-898, IL-899, IL-900, IL-901, IL-902, IL-903, IL-904, IL-905, IL-906, IL-907, IL-908, IL-909, IL-910, IL-911, IL-912, IL-913, IL-914, IL-915, IL-916, IL-917, IL-918, IL-919, IL-920, IL-921, IL-922, IL-923, IL-924, IL-925, IL-926, IL-927, IL-928, IL-929, IL-930, IL-931, IL-932, IL-933, IL-934, IL-935, IL-936, IL-937, IL-938, IL-939, IL-940, IL-941, IL-942, IL-943, IL-944, IL-945, IL-946, IL-947, IL-948, IL-949, IL-950, IL-951, IL-952, IL-953, IL-954, IL-955, IL-956, IL-957, IL-958, IL-959, IL-960, IL-961, IL-962, IL-963, IL-964, IL-965, IL-966, IL-967, IL-968, IL-969, IL-970, IL-971, IL-972, IL-973, IL-974, IL-975, IL-976, IL-977, IL-978, IL-979, IL-980, IL-981, IL-982, IL-983, IL-984, IL-985, IL-986, IL-987, IL-988, IL-989, IL-990, IL-991, IL-992, IL-993, IL-994, IL-995, IL-996, IL-997, IL-998, IL-999, IL-1000	Chemotaxis, cell proliferation and differentiation, angiogenesis
Basic proteins and others	PF4 ^a , β-thromboglobulin ^a , platelet basic protein, connective tissue-activating peptide III, neutrophil activating peptide-1, endostatin ^a	Regulation of angiogenesis, vascular remodeling, cellular interactions
Anti-microbial proteins	Thromboscladin	Bactericidal and fungicidal properties
Others	Chondroitin-6-sulfate, albumin, immunoglobulins	Diverse
Membrane glycoproteins	αIIbβ3, α3β1, GPIIb, PECAM-1, most plasma membrane constituents, receptors for primary agonists, CD62L, tissue factor, P-selectin	Platelet aggregation and adhesion, endocytosis of proteins, inflammation, chemotaxis generation, platelet-leukocyte interaction

Todo este mecanismo complejo esta en un dinamismo constante, durante la resolución de la lesión tisular. Por lo cual, los investigadores lograron obtener de ese evento biológico un producto que potencializara ese mecanismo.

Así, el precursor histórico del Plasma rico en factores de crecimiento (PRFC), fue el adhesivo o cola de fibrina.⁽⁵¹⁾

Fibrina adhesiva

Se obtenía mezclando dos componentes en el momento de su utilización: fibrinógeno plasmático de origen homólogo y trombina bovina.

La cola de fibrina o adhesivo de fibrina es un hemoderivado que ha sido utilizado en traumatología y cirugía vascular desde la década de los 70's. El uso del coágulo de fibrina en el campo de la cirugía oral y máxilofacial lo refiere Matras en 1982 y se extendió en la década de los 90's.

Presentaba grandes ventajas: hemostasia perfecta, sellado en minutos y fácil reabsorción, por esto adquirió gran importancia como agente hemostático, para controlar el sangrado y evitar transfusiones. Inicialmente se aplicó para el sellado de fugas de líquido cefalorraquídeo y en injertos de nervio periférico, posteriormente se aplicó en el sellado de anastomosis traqueales, esofágicas o vasculares.

Este autor describió el adhesivo de fibrina como una sustancia con propiedades selladoras, hemostáticas, que promueve la reparación de tejidos y el cierre de la herida.⁽⁶¹⁾

Ventajas	Desventajas
Agente hemostático	Riesgo potencial de infección por transmisión vírica, hepatitis C, SIDA.
Sellado en poco tiempo	Ser producto de plasma Homólogo
No Tóxico	
Se reabsorbe	
Promueve el crecimiento y reparación del tejido donde se aplica	

Fuente: Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

Este producto se utilizó en Europa, Canadá, y Japón, Pero la cola de fibrina en EUA la FDA (food and drug administration), prohibió su utilización por el riesgo de transmisión de enfermedades víricas, hepatitis C y SIDA entre otras.

Debido a esto, se desarrolló una alternativa sustituyendo el fibrinógeno homólogo por autólogo, partiendo de la sangre del propio paciente obtenida días antes de la cirugía.⁽⁴⁵⁾

Posteriormente se simplificó la obtención de fibrinógeno, utilizando una modalidad diferente, obteniendo una fracción plaquetaria en forma de gel.

2.5 Gel de plaquetas.

La alternativa a la preparación del adhesivo de fibrina, ha sido la obtención de un plasma rico en plaquetas (PRP) mediante plasmaféresis minutos antes de la intervención.

A medida que se centrifuga la sangre se separa en tres fracciones en función de su densidad creciente:

1- plasma pobre en plaquetas (PPP).

2- plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica.

3- plasma rico en plaquetas (PRP).

El plasma rico en plaquetas puede permanecer viable a temperatura ambiente durante un lapso de 4-6 horas, hasta el momento de su utilización y es hasta este momento cuando se mezcla con cloruro de calcio para precipitar el inicio de la liberación de los gránulos alfa de las plaquetas contenidas en el gel.

Bajo ciertas condiciones, se puede refrigerar el gel por un lapso no mayor de 24 horas a una temperatura aproximada de 6 grados Celsius, siempre y cuando se vaya a emplear para el mismo paciente.

Es importante destacar que es más recomendable hacer uso de esta técnica sin el proceso de la refrigeración por las diversas variables que pueden influir negativamente en los resultados esperados.

Inicia un cambio, donde las plaquetas se agregan y se degranulan, liberando las proteínas que contienen en su interior (factores de crecimiento entre otras).

La diferencia fundamental del gel de plaquetas con el adhesivo de fibrina es la presencia de todas las proteínas plaquetarias y la concentración de fibrinógeno más reducida. Además de que la utilización de las plaquetas funciona como vehículo portador de factores de crecimiento y de otras proteínas que desempeñan un papel importante en la biología ósea.

La liberación de estas proteínas contenidas en los gránulos alfa de las plaquetas, son factores de crecimiento que intervienen en el proceso de reparación, cicatrización, regeneración.^{(51) (62)}

Factores de crecimiento

3.1 Definición

Los factores de crecimiento son proteínas que desempeñan un papel esencial y específico en la migración, diferenciación y proliferación celular. ^{(63) (64)}

El plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) es un producto derivado de la sangre, es una concentración autóloga de factores de crecimiento originados por los gránulos α plaquetarios, que se obtienen por un proceso de centrifugación. ^{(65) (66)}

Durante los últimos años, el tema de factores de crecimiento ha aparecido de forma repetida en publicaciones científicas. Mencionando sus características de acelerar la curación y regeneración de los tejidos. Además de reducir la inflamación y sangrado. ⁽⁶⁵⁾

3.2 Descripción de los Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento promueven la regeneración e influyen en parámetros tales como re-epitelización, angiogénesis y síntesis de la matriz extra celular. ⁽⁴³⁾

Cada factor de crecimiento tiene una o varias actividades concretas fundamentales, y sus acciones específicas en una célula concreta dependerán de las circunstancias del entorno celular.

Para transmitir una señal específica, una vez liberados de las células que los fabrican, deben interactuar con su receptor correspondiente. Estos receptores son proteínas que se encuentran en la membrana de las células blanco.

La unión de los factores de crecimiento GFs (por sus siglas en inglés), a sus receptores específicos es lo que desencadena las acciones biológicas, convirtiendo este acontecimiento transmembranal (la unión ligando receptor), en un acontecimiento intracelular.

Posterior a ello se transmite un estímulo al interior de la célula, donde se amplifica esta señal mediada por un amplio espectro de enzimas especializadas. Y se encausa en forma específica.

En la actualidad se reconocen los factores de crecimiento como multifuncionales. Por ejemplo; un factor de crecimiento 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 célula. ⁽⁵¹⁾

Entre los tipos celulares productores de factores de crecimiento están los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, monocitos, macrófagos. Además existen lugares de almacenamiento, como el hueso y las plaquetas. ⁽⁶⁷⁾

El PRP es fuente de varios factores de crecimiento. Que se encuentran implicados en la regeneración tisular y ósea, estos son:

- a) PDGF (Growth Factor Derived from Plateles).
- b) VEGF (Vascular endotelial growth factor).
- c) TGF- B_1 y B_2 (transformed beta growth factor).
- d) AFGF y bFGF (Acidic and basic Fibroblast Growth Factor).
- e) IGF-I y IGF-II (Insulin like Growth factor).
- f) EGF (Epidermal growth factor). ^{(22) (26) (33) (51) (63) (68).}

3.3 Factor de crecimiento derivado de plaquetas PDGF.

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), se encontró por primera vez en los gránulos α de las plaquetas liberándose cuando las plaquetas se degranulan, iniciando una cascada de estímulos con tendencia a la reparación y regeneración. Esta proteína también la producen otros tipos de células como macrófagos, células endoteliales y fibroblastos. ^{(51) (67) (69)}

Tiene un peso molecular de 30 KDa, es un dímero formado por dos cadenas de Aminoácidos (Aas), la cadena A que presenta 121 Aas, y la cadena B presenta 125 Aas. Cada cadena codificada por un gen diferente, el gen que codifica la cadena A se encuentra en el cromosoma 7 y el de la cadena B en el cromosoma 22. ⁽⁷⁰⁾

La combinación de estas dos cadenas origina tres formas: PDGF-AB, PDGF-AA, PDGF-BB. Boyan y cols, en 1994, demostraron que aunque las tres formas del PDGF estimulaban las células del ligamento periodontal, el PDGF-BB era el más potente de los tres, seguido del PDGF-AB. El PDGF-AA era el menos efectivo de los tres. ⁽⁷¹⁾⁽⁷²⁾

El PDGF-BB además de estimular a las células del ligamento periodontal, también estimula a los fibroblastos, cementoblastos, y Osteoblastos. ^{(51) (71)}

Estas formas de PDGF se expresan de distinta manera en las células, además de ser el primer factor de crecimiento que se demostró que era quimiotáctico para monocitos y macrófagos. ⁽⁷³⁾

La composición de PDGF es dependiente del tipo de célula. La forma AA se secreta por los fibroblastos y osteoblastos. Y la forma BB es asociada a los macrófagos. Por tanto, el 65% son AB, el 23% son BB y el 12% AA.

Para que el PDGF ejerza su acción, deben interrelacionarse con sus receptores. Estos receptores son proteínas que se encuentran insertadas en la membrana celular que al acoplarse el ligando correspondiente se desencadena un efecto celular como respuesta. ⁽⁷⁴⁾

El receptor alfa se une a las dos cadenas A y B, mientras que el beta se une sólo a la cadena B. Ambos receptores inducen respuestas mitogénicas. El receptor Beta está implicado en la estimulación de la quimiotáxis, mientras que el alfa no. ⁽⁷⁵⁾

En general las isoformas de PDGF son mitógenas para las células del tejido conectivo y quimiotáctica para los fibroblastos, neutrófilos, células mononucleares. ^{(51) (76)}

Los investigadores han reportado diversas actividades del PDGF como son: la quimiotáxis, estimulación de la liberación de los gránulos por los neutrófilos y monocitos, estimulación de la fagocitosis de los neutrófilos, estimulación de la síntesis de colágeno, estimulación de la actividad y secreción de la colagenasa, aumenta el metabolismo celular favoreciendo la síntesis de proteínas colágenas y no colágenas, induce la reparación y formación del hueso, promueve la proliferación de fibroblastos. ⁽⁷²⁾

Antoniades HN. En 1981⁽⁶¹⁾ ⁽⁷²⁾, pudo aislar a las plaquetas mediante electroforesis de poliacrilamina. Esta técnica separa las proteínas en función de su tamaño; identificó dos formas que denominaron PDGF-I y PDGF-II, ambas formadas por dos cadenas de aminoácidos de peso molecular diferentes. No pudiendo de inicio determinar la concentración en plasma.

Piche y cols, en 1989, demostraron que el PDGF estimulaba la proliferación de los fibroblastos del ligamento periodontal.⁽⁷⁷⁾

Zhang y cols, en 1991, observaron que los osteoblastos poseían una gran cantidad de receptores de PDGF y respondían a la PDGF-AA y PDGF-BB, y que estos osteoblastos eran capaces de producir PDGF-AA pero no PDGF-BB.⁽⁶⁷⁾

Matsuda y cols, en 1992, realizaron un estudio demostrando que el PDGF tiene un efecto mitogénico en los fibroblastos del ligamento periodontal, mostrando que los fibroblastos tenían una extraordinaria respuesta quimiotáctica hacia el PDGF. De la misma forma, se observó que el PDGF-BB estimuló la síntesis de colágeno y la proliferación y la quimiotaxis. Aunque los mejores resultados en las funciones quimiotácticas y mitogénicas se obtenían con la combinación de varios factores de crecimiento, siendo la combinación más efectiva el PDGF-BB/IGF-I.⁽⁷⁸⁾

Oates y cols, en 1993, demostraron que los mayores estimuladores de la mitogénesis en las células del ligamento periodontal humano, eran el PDGF-BB y el PDGF-AA.⁽⁷⁹⁾

Dennison y cols, en 1994, también encontraron que el PDGF estimulaba en mayor medida la proliferación de células del ligamento periodontal que la de los fibroblastos gingivales.⁽⁸⁰⁾

Hock y Canalis sugirieron en 1994 que el PDGF incrementaba la proliferación de las células óseas pero no favorecía la diferenciación osteoblástica.⁽⁸¹⁾

Nishimura y Bartold, en 1996, estudiaron el efecto de estimulación de la migración y proliferación sobre fibroblastos del ligamento periodontal, observando que el PDGF incrementaba la migración de estas células.⁽⁸²⁾

En 1998, Anderson estudió los efectos del TGF- β y del PDGF sobre el crecimiento de fibroblastos gingivales humanos en un medio en presencia de suero bovino fetal (FBS) y en un medio en ausencia de suero. Las conclusiones a las que llegó fueron que en ambos medios la respuesta del PDGF-BB era dosis-dependiente por encima de 40 ng/ml, sin embargo se encontró la máxima respuesta en el medio con FBS a una concentración de 20 ng/ml; y por otro lado que el crecimiento de fibroblastos gingivales humanos, en un medio libre de suero, con aplicación de concentraciones de PDGF-BB de 20 ng/ml, fue equivalente al crecimiento obtenido en un medio con FBS sin adición de factores de crecimiento.⁽⁸³⁾

Regeneración ósea y periodontal aplicando PDGF

Comenzaron en 1987 en ratas comprobando como podían inducir la formación de tejido de granulación. Posteriormente se realizaron estudios sobre otros modelos animales como los perros Beagle y monos Rhesus para comprender mejor el papel de los factores de crecimiento en los mecanismos de regeneración ósea y periodontal.⁽⁶⁷⁾

En 1989 Lynch, realizó un estudio en perros Beagle, para comprobar la utilización de factores de crecimiento y observó que aumentaba la regeneración de los tejidos periodontales. En el estudio histológico se observó la neoformación de hueso alveolar, a las dos semanas de la aplicación local de PDGF/IGF-I, con diferencias estadísticamente significativas respecto de los controles. Toda la superficie de hueso nuevo se encontraba rodeada de una capa de células osteoblásticas continua. La capacidad para estimular la regeneración era debida a los efectos que tienen los factores de crecimiento sobre las células mesenquimales. ⁽⁸⁴⁾

Lynch también en 1991, estudió la formación de hueso alrededor de implantes mediante la combinación de PDGF-BB/IGF-I a dosis de 4 µg. Los resultados del estudio indicaron que la aplicación in vivo de la combinación de estos factores de crecimiento promovía la regeneración del hueso alrededor del titanio durante las primeras fases de la cicatrización. A los siete días, los implantes a los que se aplicaron los factores de crecimiento, PDGF-BB/IGF-I, presentaban un porcentaje significativo de hueso en contacto con el implante (BIC, Bone Implant Contact) en comparación con los controles. El uso combinado de PDGF/IGF-I alrededor de los implantes podría acelerar y aumentar la osteointegración de los implantes, particularmente en lugares con densidad ósea deficiente. ⁽⁸⁵⁾

Rutherford, en 1992, estudió la regeneración de tejidos periodontales en primates mediante la aplicación de factores de crecimiento y observó que con la aplicación de PDGF-BB/IGF-I inducía una significativa regeneración periodontal. Los factores de crecimiento eran capaces de inducir la regeneración de aproximadamente el 50% de los tejidos en un periodo de tiempo de 4 semanas. ^{(67) (86)}

Park y cols, realizaron en 1995, un estudio en perros Beagle con el objetivo de comparar la regeneración tisular guiada (RTG) sobre defectos de furca tipo II horizontales creados artificialmente, con o sin el uso de PDGF-BB. Los animales fueron sacrificados a las 8 y 11 semanas, encontrando una mayor formación ósea y del ligamento periodontal siendo estadísticamente significativa en las lesiones tratadas con terapia combinada de RTG+PDGF-BB.

En el grupo experimental, se observó, que el nuevo hueso rellenaba el 80% del defecto a las 8 semanas y el 87% a las 11 semanas, siendo en el grupo control sensiblemente inferior (14% a las 8 semanas y 60% a las 11 semanas). ⁽⁸⁷⁾

En 1995, Cho y colaboradores, realizaron un estudio en perros Beagle, para estudiar el efecto de RTG+PDGF-BB, llegando a la conclusión de que la terapia combinada, promovía la regeneración periodontal de manera más rápida y significativa, que cuando se usaban sólo membranas de politetrafluoretileno expandido PTFE-e. ⁽⁸⁸⁾

Giannobile y cols, en 1994, realizaron un estudio comparando los efectos de combinar PDGF/IGF-I, sobre perros Beagle y monos Rhesus, para estimular la regeneración periodontal. En ambos grupos de animales se observó un aumento significativo en la regeneración periodontal respecto a los controles de ambos grupos. ⁽⁶⁷⁾

En 1996, Gianobile y cols, realizaron un nuevo estudio sobre monos estudiando la regeneración periodontal mediante el uso de PDGF aplicado individualmente y en terapia combinada de PDGF-BB+IGF-I. La dosis utilizada en el estudio fue de 10 µg/ml, y consideraban que cuando sólo se utiliza el PDGF-BB, es posible la formación de nueva inserción, pero no de relleno óseo. ⁽⁸⁹⁾

En 1997, Green, realizó un estudio en el que consideraba al epitelio gingival como una fuente importante de PDGF-A y PDGF-B, considerando al PDGF-A como importante modulador en los estadios iniciales de la inflamación, mientras que el PDGF-B tendría un papel más importante en momentos más tardíos de la cicatrización.

Gamal, en 1998, estudió la aplicación de PDGF-BB y de IGF-I, solos o en combinación, sobre superficies radiculares tratadas con HCl, concluyendo que el PDGF-BB es un potente estimulador para la adherencia de fibroblastos del ligamento periodontal a una concentración de 50 ng/ml, tanto en superficies radiculares tratadas con HCl como en superficies no tratadas. ⁽⁹⁰⁾

Hooshmand-Rad, 1998 ⁽⁹¹⁾, nos indican que los receptores de PDGF alfa y beta son esenciales en el desarrollo embriológico, y por lo tanto lo serán también en los procesos de regeneración.

Munford, en el 2001, estudió el efecto del PDGF-BB sobre células del ligamento periodontal comparándolo con el efecto provocado sobre fibroblastos gingivales, llegando a la conclusión que el PDGF-BB tenía un marcado efecto de proliferación celular sobre células de ligamento periodontal, significativamente superior al inducido sobre fibroblastos gingivales, aunque sucedía al contrario cuando se analizaron los efectos inducidos sobre la migración celular. ⁽⁹²⁾

Los últimos estudios sobre PDGF se basan en el uso de la ingeniería genética, como medio para transportar estos factores de crecimiento a los tejidos Nevis y colaboradores reportan que con la utilización de PDGF, se produce un buen nivel de inserción clínica y menor recesión gingival a los 3 meses, y un incremento de hueso a los seis meses. ⁽⁹³⁾

3.4 Factor de crecimiento vascular endotelial VEGF

Se trata de una proteína homodimérica cuya secuencia de aminoácidos es parecida a la del PDGF-B, pero se une a distintos receptores induciendo distintos efectos biológicos. Es un mitógeno potente y selectivo para las células endoteliales. Su importancia queda manifiesta por su acción angiogénica. ⁽⁹⁴⁾

Entre los estudios sobre el VEGF en nuestro campo destaca:

Booth y colaboradores, en 1998, estudiaron el papel del VEGF en la enfermedad periodontal encontrando niveles más bajos de VEGF en pacientes con enfermedad, con respecto a pacientes en ausencia de enfermedad. Concluyeron que el VEGF podría ser relevante en los procesos de angiogénesis y que los niveles en suero de VEGF estaban influenciados por el grado de salud periodontal de los pacientes. ⁽⁶⁷⁾

3.5 Factor de crecimiento transformante TGF.

La primera vez que se identificó aislándolo de tejidos transformados, en concreto, de sarcomas. Se trataba de un factor que promovía la transformación de los fibroblastos, alterando su fenotipo y transformándolos en células tumorales. ^{(51) (67)}

Existen dos tipos de esta clase de factor:

- TGF α
- TGF β

TGF α : Está estrechamente relacionado con el EGF, estos factores tienen en común un 42% de su secuencia de aminoácidos. Se unen a los mismos receptores estableciéndose competencia. Su gen está localizado en el cromosoma 2. Su peso molecular es de 5,6 D. Se sintetiza como un precursor de 160 aminoácidos, aunque la parte activa sólo consta de 50. ⁽⁶⁷⁾

Entre sus acciones biológicas destacan:

- Aumentan la proliferación y la migración de células epiteliales.
- Liberan iones calcio del hueso.
- Inhiben la actividad de los osteoblastos.
- Efecto angiogénico.
- Interviene en el desarrollo tumoral tanto de una forma autocrina como paracrina. ⁽⁶⁷⁾

TGF β : Es un dímero formado por dos subunidades de 112 aminoácidos, unidas por puentes disulfuro. Tiene un peso molecular de 25.000 D. El gen correspondiente se ha localizado en el brazo largo del cromosoma 19. Esta molécula pertenece a la superfamilia de proteínas que incluye TGF β 1 hasta TGF β 6 y proteínas morfogenéticas entre otras. ⁽⁹⁵⁾

La principal fuente de TGF- β son las plaquetas y el tejido óseo. ⁽⁵¹⁾

El TGF presenta moléculas que pertenecen a la superfamilia de proteínas que incluyen TGF- B_1 hasta B_5 , proteínas morfogenéticas y actinas (Kingsley DM. 1994). ⁽⁹⁶⁾

Prácticamente todas las células sintetizan TGF- B_1 y todas las células expresan receptores para TGF, este hecho indica que TGF- B_1 afecta de alguna forma a todos los procesos fisiológicos. ^{(65) (96)}

TGF- B_1 promueve:

- a) La síntesis de matriz extracelular.
- b) estimula la síntesis de colágeno tipo I, fibronectina y osteonectina.
- c) Disminuye la síntesis de metaloproteinasas (enzima que degrada la matriz extracelular), y del factor activador del plasminógeno.
- d) Estimula la mitosis de fibroblastos.
- e) Acelera el cierre de las heridas. ^{(96) (97)}

Todo esto tiene como consecuencia disminución en la destrucción de la matriz del tejido conectivo.

También inhibe la formación de osteoclastos. Por otro lado promueve la resorción del hueso por un mecanismo dependiente de la prostaglandina⁽⁵¹⁾

Se secreta de forma inactiva o latente, pero el TGF en forma libre tiene una vida media de dos minutos. Mientras que en forma latente tiene una vida media de 90 minutos. Para que exista actividad biológica debe estar en forma libre.

En 1993, Oates y cols, compararon la actividad mitótica del TGF β con la interleukina-1 y el PDGF en fibroblastos del ligamento periodontal, llegando a la conclusión de que el TGF β tenía una menor acción mitótica que el PDGF.⁽⁷⁹⁾

En 1994, Dennison y cols, demostraron que tanto el TGF β como el PDGF provocaban mayor incremento en la proliferación de las células del ligamento periodontal que en los fibroblastos gingivales.⁽⁸⁰⁾

En 1996, Nishimura y Terranova, evaluaron la capacidad del TGF β para estimular la respuesta migratoria de células del ligamento periodontal y de los fibroblastos gingivales.⁽⁶⁷⁾

En 1999, Jin Gao y cols, demostraron que las células del ligamento periodontal expresaban múltiples receptores para el TGF β , presentado este factor un papel importante en el desarrollo y en la posterior maduración del periodonto. Estos autores demostraron la existencia de mayor número de receptores para el TGF β_2 que para el TGF β_3 .⁽⁹⁸⁾

En 1999, Steinsvoll y cols, en un estudio sobre la expresión del TGF β_1 en tejidos periodontales, que presentaban enfermedad periodontal crónica, llegaron a la conclusión de que esta citocina estimulaba los procesos de cicatrización en los pacientes que presentaban esta enfermedad.⁽⁹⁹⁾

En el 2000, Ruskin y cols, estudiaron la capacidad que tenía el TGF β_1 junto con membranas de barrera (PTFEe) en la regeneración ósea en defectos realizados sobre la cresta alveolar canina. Los autores concluyeron que el uso de TGF β_1 combinado con el uso estas membranas, aumentaba en gran medida la regeneración del hueso.⁽⁶⁷⁾

3.6 Factor de crecimiento insulínico IGF-I e IGF-II.

Son una familia de proteínas séricas de cadena simple Se han descrito dos polipéptidos, el IGF-I, y el IGF-II.

El IGF-I, es una proteína formada por 70 aminoácidos con tres puentes disulfuro, posee un peso molecular de 7689 Kd.

El plasma contiene cantidades importantes de IGF-I, sintetizado por diferentes tejidos como tejido muscular liso, placenta. Pero principalmente en el hígado, también se encuentra en niveles considerables en las plaquetas.⁽⁵¹⁾

Es un quimiotáctico potente para las células vasculares endoteliales, originando un aumento en la neovascularización de la herida. Estas proteínas se vehiculizan en el plasma.⁽⁵¹⁾

Entre sus acciones biológicas se pueden destacar las siguientes:

- 1) Capacidad de estimular la síntesis de matriz ósea por un efecto directo sobre los osteoblastos, estimulando su número y función, y por un aumento la proliferación de las células osteoprogenitoras.
- 2) Estimulación de la actividad mitogénica y quimiotáctica sobre las células del ligamento periodontal.
- 3) Estimulación de la síntesis de glucógeno en el hígado.
- 4) Capacidad de actuar sinérgicamente con el PDGF aumentando la regeneración. ⁽⁵²⁾

La IGF son factores de crecimiento más abundante en la matriz ósea, producidos por los osteoblastos. Estimulan la formación de hueso induciendo la proliferación celular, la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I. La IGF también aumenta el número de células multinucleadas osteoclasticas. (Canalis 1988). ⁽¹⁰⁰⁾

En 1988 Koch y cols, demostraron que el IGF-I estimulaba la formación de la matriz ósea, en un estudio realizado con células obtenidas de calota fetal de rata, mediante la inducción de la proliferación celular y la secreción de componentes de la matriz extracelular. Se observó que los osteoblastos producían localmente el IGF-I y II.

Bloom y colaboradores, en 1992, demostraron el efecto mitogénico del IGF-I sobre los fibroblastos, además de estimular la síntesis de ADN en los fibroblastos del ligamento periodontal. ⁽¹⁰¹⁾

Matsuda y colaboradores en 1992, confirmaron también el efecto mitogénico y quimiotáctico que tiene el IGF-I sobre los fibroblastos del ligamento periodontal. ⁽⁷⁸⁾

Cho y colaboradores, en 1994, mostraron la capacidad del IGF-I de inducir una diferenciación prematura de las células del ligamento periodontal en osteoblastos y cementoblastos, pudiendo ser de utilidad para promover la osteogénesis y/o la cementogénesis. ⁽⁸⁸⁾

Nishimura y Terranova, en estudios realizados en 1996, también demostraron que IGF-I y II incrementan la migración de células del ligamento periodontal y a los fibroblastos gingivales. ⁽⁶⁷⁾

En cuanto a los estudios in vivo destacan los siguientes:

En 1991 Lynch y cols, estudiaron de nuevo la aplicación de PDGF+IGF-I (3µgr) en un gel de metilcelulosa al 4%, en trece perros Beagle que presentaban defectos verticales, siendo la regeneración ósea de un 40% en los tratados frente a un 6% en el grupo control a las cinco semanas. ⁽⁸⁴⁾

En 1992 Rutherford realizó un estudio en el que se demostró que los factores de crecimiento, también inducían la regeneración de los tres tejidos (cemento, hueso y ligamento periodontal) que forman el periodonto en primates, en los que se inducía periodontitis de manera experimental. La aplicación de la combinación de factores de crecimiento PDGF/IGF-I indujo una significativa regeneración periodontal. Por el contrario, en las lesiones control no se observó ni la presencia de nuevo hueso, ni de nuevo cemento, ni de nuevo ligamento periodontal.

En 1994, Giannobile y cols, realizan un estudio comparando los efectos de la combinación de factores de crecimiento con perros Beagle y monos. Los autores evaluaron la respuesta de la cicatrización a la cirugía periodontal con o sin el uso de un gel con PDGF+IGF-I. Sus resultados indican que se produjo un aumento significativo en la regeneración periodontal comparada con los controles en ambos grupos. ⁽⁶⁷⁾

En 1998, Howell y cols, realizaron un estudio clínico aleatorio y controlado sobre 38 pacientes con lesiones bilaterales periodontales, para estudiar el uso de la terapia combinada de factores de crecimiento (recombinantes) en el tratamiento de la periodontitis. La terapia combinada consistía en el uso de PDGF-BB+IGF-I, a diferentes dosis (50 y 150 µg/ml). Ninguno de los pacientes desarrolló anticuerpos frente a estos factores de crecimiento recombinantes. Se observó una neoformación ósea significativamente superior en los grupos tratados con esta combinación de factores de crecimiento a concentraciones de 150 µg/ml con respecto al grupo de 50 µg/ml y grupo control, evidenciándose un efecto dosis-dependiente. ⁽¹⁰²⁾

3.7 Factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico: aFGF Y bFGF.

Son una familia de polipéptidos de cadena sencilla, que juega un papel importante en los mecanismos de regeneración tisular y cuya misión es la de controlar la inducción de la migración celular, Estimulación, proliferación y diferenciación de la mayoría de las células derivadas del mesodermo y neuroectodermo. ⁽¹⁰³⁾

Aunque existen siete formas de FGF, se han descrito extensamente dos de ellas:

- El Factor de Crecimiento Fibroblástico Ácido (FGF- α).
- El Factor de Crecimiento Fibroblástico Básico (FGF- β).

El FGF básico es una cadena peptídica simple compuesto por 146 aminoácidos, tiene un peso molecular entre 16.000 y 18.000 daltons.

El FGF ácido es un péptido de 140 aminoácidos, existiendo una porción homóloga del 55% entre los FGF ácido y básico, tiene un peso molecular de unos 15.000 daltons. ⁽¹⁰³⁾

Estos dos factores de crecimiento están clasificados por diferentes genes pero son similares en estructura y función. Estos factores son potentes mitógenos y quimiotácticos para las células endoteliales y para gran variedad de células de origen mesenquimatoso como los fibroblastos, los osteoblastos, células musculares lisas.

Entre sus acciones biológicas están las siguientes:

- Estimulación de la angiogénesis por un mecanismo directo, al estimular la mitosis y migración de células endoteliales.
- Estimulación y coordinación de la mitogénesis de múltiples tipos celulares durante el crecimiento, mantenimiento y reparación tisular. ⁽¹⁰⁴⁾

Según Hauschka y cols., en 1980, estos dos factores se almacenan en la matriz ósea y podrían ser de gran importancia en la regulación de los osteoblastos. ⁽⁶⁷⁾

Terranova y cols, en 1989, demostraron los efectos que tenía el FGF β sobre las células del ligamento periodontal y sobre células endoteliales, siendo el resultado una estimulación en la proliferación y migración de ambas. Según estos autores, el FGF β se adhería a la dentina, incrementándose esta unión si la dentina se sometía a procesos de acondicionamiento previos con clorhidrato de tetraciclina o con ácido cítrico, que provocarían una exposición del colágeno tipo I, favoreciendo de este modo la adhesión.⁽¹⁰⁵⁾

En 1989, Tweden y cols, también demostraron que el FGF β estimulaba la proliferación y la migración de células endoteliales.⁽¹⁰⁶⁾

En 1991, Eppley y cols, realizaron un estudio con el objetivo de estudiar la evolución del tratamiento con autoinjertos óseos, con o sin la utilización de FGF β . Los resultados de los defectos tratados con autoinjerto+FGF β fueron significativamente mejores en cuanto a cicatrización y relleno de los defectos, con respecto a los defectos en los que no se aplicó FGF β .

En 1997, Takayama y cols, analizaron el efecto que el FGF β tenía en la proliferación de células del ligamento periodontal midiendo los niveles de actividad de la fosfatasa alcalina y la formación de nódulos de calcificación y síntesis de matriz extracelular. Los autores llegaron a la conclusión de la importancia que tenía este factor en la inducción del crecimiento de células inmaduras de ligamento de periodontal, lo que podría acelerar la regeneración periodontal.⁽⁶⁷⁾

En 1998, Sasaki y cols, publicaron el posible papel que el FGF β jugaría en el agrandamiento gingival inducido por fenitoína, demostrando que los niveles en suero de FGF β podían estar relacionados en parte con este sobre crecimiento gingival.⁽¹⁰⁷⁾

Hosokawa y cols en el 2000, en un modelo experimental en perros Beagle, demostraron que la aplicación controlada mediante esferas de colágeno de FGF β aceleraba la regeneración ósea en defectos protegidos con membranas de PTFE, con respecto de los controles.

También en el 2000, Rossa, demostró en un estudio en cinco perros Beagle, el efecto positivo que tenía el FGF β en defectos de furca clase III mediante aplicación de técnica de RTG.⁽¹⁰⁸⁾

McCracken y cols, en el 2001, en un estudio realizado en tibias de 32 ratas, examinaron el comportamiento que el FGF α podría tener sobre la cicatrización y respuesta ósea en la colocación de implantes. Los autores llegaron a la conclusión de que el FGF α podría incrementar la producción de hueso alrededor de los implantes en este modelo animal.

3.8 Factor de crecimiento epidérmico EGF.

El EGF es una proteína de cadena simple de 53 aminoácidos con tres puentes disulfuro en su estructura. Posee un peso molecular de 5.300-5.500 D. se sintetiza en diversos tejidos: riñones y se encuentra en la orina, en las glándulas salivales (en la saliva), glándula lacrimal (en las lágrimas), glándulas de Brunner y plaquetas.

Favorece la reparación de las heridas estimulando la migración y división de las células epiteliales y aumenta la síntesis de proteínas como la fibronectina.

Nuevos estudios indican que el EGF atrae a los fibroblastos por quimiotaxis, esto a su vez sintetizan colágeno produciéndose un aumento del colágeno total.

Se ha comprobado que el EGF estimula la síntesis de ADN y el crecimiento celular de gran variedad de células incluyendo a las células epiteliales, endoteliales y de origen mesodérmico. ⁽¹⁰³⁾

Sus acciones biológicas se resumen:

- Efectos mitogénicos y quimiotácticos en fibroblastos y células epiteliales.
- Estimula la formación de tejido de granulación.
- Inhibe la liberación de ácido por la mucosa gástrica.

En 1987, Thesleff, observó que los restos epiteliales de Malassez expresaban un alto número de receptores para el EGF.

En 1988, Cho y cols, demostraron que los fibroblastos del ligamento periodontal, los preosteoblastos y precondrocitos expresaban un alto número de receptores para el EGF. ⁽⁶⁷⁾

En 1992, Matsuda y cols, estudiaron los efectos que tenía el EGF sobre células de ligamento periodontal de rata. Los autores llegaron a la conclusión de que el EGF incrementaba los efectos quimiotácticos en los fibroblastos del ligamento periodontal y suprimía la síntesis de colágeno. ⁽⁷⁸⁾

En 1996, Nishimura y Terranova, observaron que el EGF incrementaba la migración de células del ligamento periodontal y de fibroblastos gingivales. ⁽⁶⁷⁾

Considerando los diversos trabajos elaborados por los autores mencionados, podemos decir que, el beneficio al utilizar PRP en defectos óseos periodontales, han sido fundamentados en función a los factores de crecimiento (PDGF, VEGF, TGF-B, AFGF y bFGF, IGF-I y IGF-II, EGF). Cumpliendo múltiples acciones como: mitosis del fibroblasto, angiogénesis, diferenciación, proliferación, modulación de la inflamación. Favoreciendo así, a la regeneración tisular. ^{(78) (94) (96) (97)}

Tomando en consideración las acciones biológicas que los factores de crecimiento desempeñan, es importante conocer la fuente y la forma de obtención del plasma rico en factores de crecimiento. Información que se tratara más adelante.

TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO



Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F).
Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

En la técnica de obtención del plasma rico en factores de crecimiento, la cantidad de sangre por extraer depende de la técnica a emplear. Habitualmente, para los procedimientos quirúrgicos periodontales, se obtienen 10 a 30cc de sangre.

Por tanto, es importante mencionar la disposición de las venas superficiales del brazo.
(103)

4.1 Venas superficiales del brazo.

Las venas superficiales del brazo adoptan una disposición plexiforme muy variable. Por ello, mencionaré la trayectoria de cada una de ellas.

Venas digitales: las venas dorsales digitales fluyen a lo largo de las partes laterales de los dedos, uniéndose una con otra mediante ramas comunicantes. Se considera como el último recurso para la administración de líquidos. (Fig. 1).

Venas metacarpianas: Son tres venas que están formadas por la unión de las venas digitales. Se ubican entre los nudillos y los huesos metacarpianos de la mano.

Estas venas son muy importantes en el momento de ejercer una terapia parenteral. (Fig. 1)

Vena cefálica: Tiene su origen en la parte radial de la malla venosa dorsal formada por las venas metacarpianas. Su trayectoria es hacia arriba a lo largo del borde radial del antebrazo.

Esta vena es un buen lugar para la administración de medicamentos para la extracción de sangre y realizar el procedimiento de obtención de P.R.G.F. debido a que la vena puede aceptar con facilidad una aguja de un calibre adecuado



Fig 1

Vena cefálica accesoria: Se origina de un plexo de la parte posterior del antebrazo o en la malla venosa dorsal. Ascendiendo por el brazo, se une a la vena cefálica por debajo del codo.

Vena basílica: Tiene su origen en la parte cubital de la malla venosa dorsal, y asciende a lo largo de la posición cubital del antebrazo, desviándose a la cara anterior justo por debajo del codo, donde encuentra a la vena media cubital. También es una buena elección para la técnica de P.R.G.F.

Vena mediana antebraquial: tiene su origen en el plexo venoso de la palma de la mano y se extiende hacia arriba a lo largo del lado cubital de la cara anterior del antebrazo. Desemboca en la vena basílica o en la vena cubital mediana.



Figura 2

Vena mediana cefálica y mediana basilíca de la fosa ante cubital: Es el lugar de ideal de elección para la extracción de sangre, debido a su tamaño y a su situación superficial, son fácilmente accesibles para la punción. Admiten agujas de mayor calibre y, debido a los tejidos muscular y conectivo que las fijan, tienen muy poca tendencia a deslizarse. Fig. 2.

Las venas antecubitales que se localizan en la fosa antecubital son el primer lugar de elección para la extracción de sangre. No debe utilizarse las venas de calibre menor debido al riesgo existente a un embolismo pulmonar.

Ahora que hemos recordado la anatomía y disposición de las venas, se mencionará a continuación la forma de obtener las muestras de sangre para obtener el plasma rico en factores de crecimiento.

4.2 Técnica de extracción de sanguínea.

- Acomodar al paciente en posición de sentado con el brazo extendido o semi flexionado, con la palma de la mano hacia arriba.
- Colocar el compresor elástico a una distancia de 8-10cm por encima de la zona de punción.
- El pulso arterial no debe ser interrumpido por la compresión.
- Localizar la vena donde se realizará la punción; para ello debe examinarse las venas en el siguiente orden:
 - Fosa antecubital (V. mediana, V. basilíca, V. cefálica).
 - Antebrazo (V. cefálica).
- Una vez localizada la vena, pedirle al paciente que abra y cierre varias veces la mano.
- Desinfectar la zona de punción (con yodopovidona).
- Estirar la piel con la yema de los dedos e introducir la aguja “con el bisel hacia arriba” formando un ángulo de 15 grados con el brazo perforando la piel para luego dirigirla a la vena. Fig.3



Fig. 3: En la fosa antecubital, la vena mediana cubital será la que pinchemos más frecuentemente para la obtención de sangre. Siempre pondremos el Esmarch, unos segundos antes para provocar un éxtasis venoso.

- Cuando afluya sangre nos indicará que estamos en vena, inmediatamente después se coloca el sistema venojet de extracción para sobre él, acoplar los tubos con una ligera presión y extraer las muestras necesarias para la preparación del PRGF. Fig. 4 y 5.

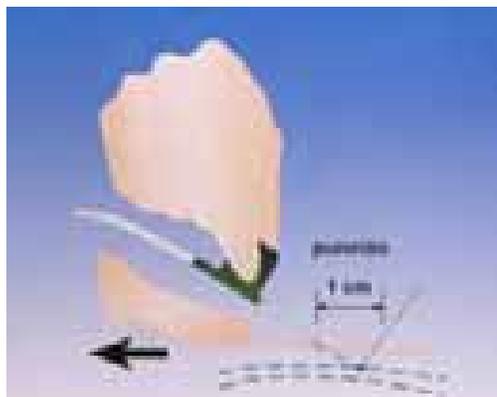


Fig. 4
En el esquema se observa como con un dedo se fija la vena en sentido distal y con la otra mano se realiza la punción.



Fig 5
sistema venofix

- Al finalizar la extracción retiraremos el compresor elástico y la aguja. Con una gasa seca en la zona de la punción para evitar hematomas.
- Identificar correctamente los tubos.

4.3 Procedimiento de obtención del PRGF.

Existen diversos procedimientos de obtención del PRFC, pero el método utilizado en el presente trabajo fue basado en el diseño del Dr. Eduardo Anitua Aldecoa, que parte de pequeños volúmenes de sangre .5cc y activa la formación del coágulo mediante dosis exactas de Cl_2Ca , evitando así los inconvenientes de la trombina bovina. ⁽¹⁰³⁾

Su costo ha disminuido considerablemente, por lo que facilita el empleo en intervenciones menores y otras formas de aplicación, lo que ha favorecido la divulgación del concepto y el aprendizaje en el manejo del PRFC.

El producto final, tal como está diseñado por este autor, debe ser aplicado con un lapso no mayor de 6 hrs. después de su preparación.

A continuación se presenta la forma de obtención del Plasma rico en factores de crecimiento:

1- Se realiza la extracción de sangre al paciente unos minutos antes de comenzar la cirugía.

La cantidad dependerá de la técnica a emplear, de un rango de 10 a 30cc. Se utilizan de 3 a 4 tubos estériles con citrato sódico al 3.8%. ^{(66) (103)}

2- Esta sal se elige como anticoagulante idóneo, debido a que capta iones calcio que se encuentran en la sangre y los neutralizan formando un compuesto químico llamado quelato, impidiendo de esta forma la coagulación de la sangre. Además el citrato sódico no altera los receptores de membrana de las plaquetas.

3- Se realiza una primera centrifugación del plasma durante 15 minutos con un equipo semi automático. La industria ha lanzado al mercado sistemas diseñados específicamente para la preparación rápida de concentrado de plaquetas. Fig. 6

Sistemas de obtención de plasma rico en factores de crecimiento

- VariSeal
- Sistema BTI PRGF
- Harvest Smart PReP system
- PCSS, 3i
- Haemonetics Cell Saver 5
- Curasan PRP kit AG
- Friadent-Schutze, PRP kit
- Symphony Platelet Concentrate System
- Sequestra 5000 centrifugation
- Centra CL2
- Clinaseal Laboratory Centrifuge



Fig. 6

Todos estos sistemas deben cumplir una serie de resultados que permitan su uso. Como son;

- a) Ser viables en la práctica ambulatoria.
- b) Concentrar las plaquetas entre 3-6 veces sus niveles basales.
- c) Retener y preservar plaquetas viables.
- d) Liberar factores de crecimiento durante 3 días. ⁽¹⁰⁹⁾

El material obtenido de la primera centrifugación se vuelve a centrifugar durante 7 minutos a una velocidad de 2400 rpm y a temperatura ambiente, obteniéndose una porción superior más clara y una porción inferior con los hematíes. ⁽⁶⁶⁾⁽¹¹⁰⁾

4- El plasma es separado en fracciones mediante una pipeta de .5ml, se realiza un pipeteado, este paso debe realizarse con mucho cuidado ya que puede crearse turbulencias en las fracciones obtenidas.

Los primeros .5cc (fracción 1), es un plasma pobre en plaquetas y por tanto pobre en factores de crecimiento.

Los siguientes .5cc (fracción 2), corresponderán a un plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica.

(La fracción 3), que son los .5cc inmediatamente arriba de la serie roja, es la porción rica en factores en PRGF. Fig. 7



Fig. 7. Esquema que ilustra la distribución de las diferentes fracciones

5- Con la pipeta antes mencionada, se aspira la fracción superior y se traslada a un tubo de cristal estéril 1 (F1), previamente etiquetado. Esta fracción es de plasma más pobre en factores de crecimiento. Fig. 8.



Fig. 8

Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

6- De nuevo con la pipeta se aspira la segunda fracción (F2), y se traslada a un tubo de cristal estéril 2, previamente etiquetado. Esta fracción de plasma contiene un número de plaquetas por unidad de volumen similar a las contenidas en la sangre periférica, denominado PIP (plasma intermedio de plaquetas). Fig. 9



Fig. 9

Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

7- La tercera fracción es el plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento (F3), es la más importante. Se realiza un pipeteo más cuidadoso, utilizando para ello una pipeta de .5cc. con el fin de evitar turbulencias y no aspirar los hematíes. Este pipeteado se lleva a un tercer tubo de cristal estéril. Los últimos .2cc de plasma que están más próximos a los hematíes son donde se encuentran el contenido más alto en PRGF y fibrinógeno. Fig. 10

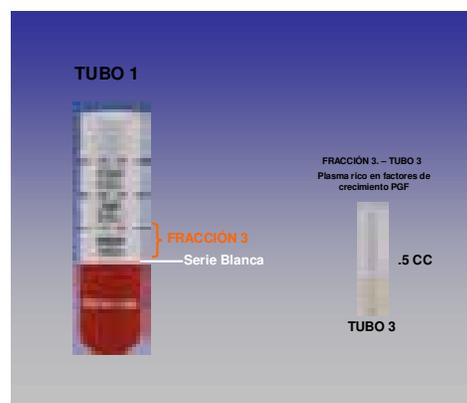


Fig. 10

Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 97- 110.

8- Una vez obtenida la fracción de plasma que se va a utilizar, se provoca la formación del llamado gel plaquetario, añadiendo .5cc de cloruro cálcico al 10% para cada cc. del PRGF. Siendo entonces necesario un lapso de 5 a 8 minutos para que se condense adecuadamente el gel para su manipulación. Además, si se equilibra el preparado a la temperatura corporal (37^0), la formación del gel se da en 2 ó 3 minutos. Fig 11



Fig 11

Para finalizar, la literatura nos menciona que con las distintas formas de preparación del PRFC se obtiene un producto con propiedades biológicas y potencial terapéutico adecuado; sea cual sea la metodología es posible conseguir un coágulo rico en factores de crecimiento. ⁽¹¹¹⁾

Actualmente la investigación ensaya con factores de crecimiento (FC) recombinantes y presenta múltiples estudios “In Vitro” o “modelo animal” sobre los efectos de un FC sintético determinado a dosis determinadas. ⁽¹¹²⁾

Teniendo éxito en el procesamiento in Vitro de dichos factores de crecimiento se podrán emplear éstos sin la manipulación sanguínea del paciente.

Sus conclusiones aún son limitadas con respecto a los efectos que pueda tener en la terapia humana. Por lo cual han sugerido los investigadores seguir estudiando el tema y revisar la literatura antes de aplicar la técnica con intención terapéutica.

Basándonos en la literatura existente acerca del tema, se presenta a continuación un caso clínico realizado en la clínica del posgrado en Endoperiodontología, utilizando plasma rico en factores de crecimiento con fin terapéutico.

C A S O C L Í N I C O

5.1 Antecedentes del caso

Paciente de sexo femenino de 40 años de edad originaria de los Mochis Sinaloa, se presentó por primera vez a la clínica de Endoperiodontología refiriendo como motivo de consulta: “se me mueven y me duelen los dientes de abajo y de enfrente y la muela del lado izquierdo”.

Antecedentes hereditarios y familiares

Refiere que su abuela paterna falleció a la edad de 60 años debido al cáncer de faringe que presentaba.

Su abuelo materno fue alcohólico y falleció a la edad de 60 años debido a cirrosis Hepática.

Su padre vive, tiene 63 años y padece de alcoholismo desde hace 40 años.

Su madre vive, tiene 61 años de edad, presentó trombosis en la pierna derecha en el 2002 y actualmente se encuentra bajo supervisión médica.

Tuvo 12 hermanos. El mayor, hombre, finado a los 56 años a causa de un accidente cerebro vascular, fue diagnosticado como hipertenso 15 años antes de su muerte.

Su esposo vive, tiene 36 años de edad, padeció Hepatitis tipo “A” en el año 2002, se encuentra bajo supervisión médica.

Tiene 2 hijos vivos, un hombre de 16 años y una mujer de 8 años, aparentemente sanos.

Antecedentes personales no patológicos

Realiza 2 comidas al día, toma 3 refrescos al día o ½ litro de agua natural. Su alimentación es excedida en cantidad y deficiente en calidad. Su talla es de 1.78 metros. Su peso de 89 Kilogramos, por tanto su índice de masa corporal es de 28.09 Kg/m². Según la Organización Mundial de la Salud clasificándola en obesidad grado I.

Con respecto a su higiene personal, se baña y cambia de ropa todos los días.

Su higiene bucal la realiza 2 veces al día con pasta y cepillo dental. No utiliza hilo dental y/o enjuague oral. Realiza técnica deficiente de cepillado.

5.2 Historia Médica

No refiere enfermedad sistémica alguna.

Su tensión arterial al momento de llegar a la clínica fue de 120/80mm Hg. Con un pulso de 68 pulsaciones por minuto.

5.3 Historia dental

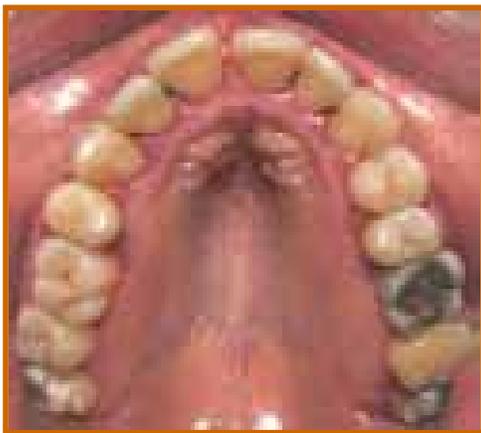
Ha sido atendida por las especialidades de Ortodoncia, Operatoria dental y Prótesis dental.

Presenta: 16 dientes cariados, 4 dientes perdidos y 4 dientes obturados con recidiva de caries y desajuste. Contando un total de dientes presentes de 28.

5.4 Fotografías clínicas iniciales



Panorámica



Oclusal superior



Acercamiento superior



Oclusal inferior



Acercamiento Inferior



Fotografías en Oclusión

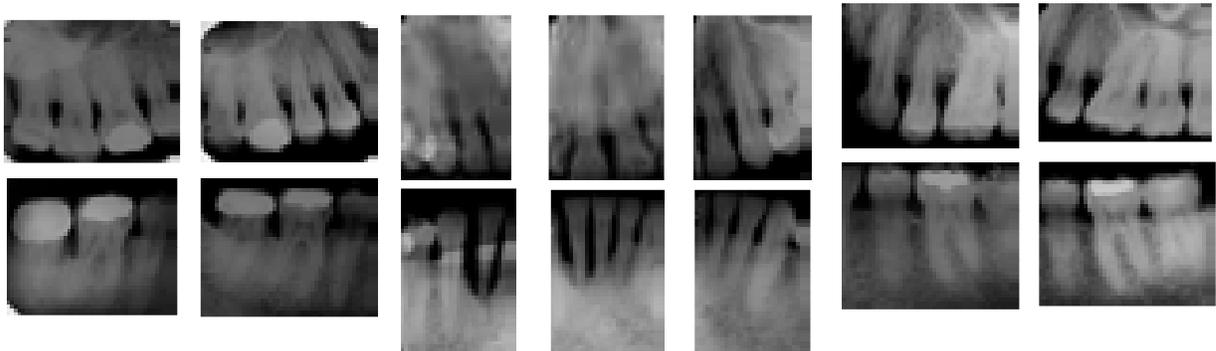


Acercamientos vestibulares

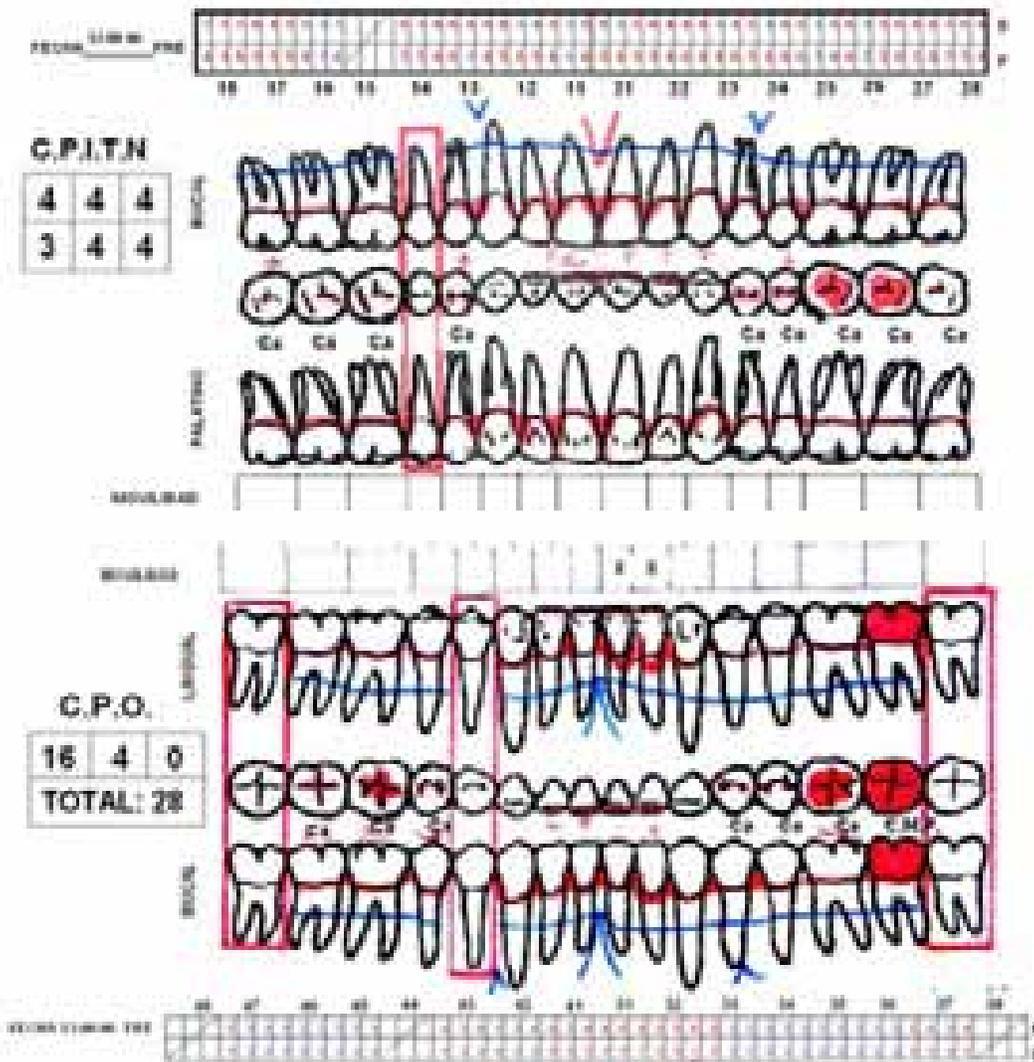


Acercamientos palatinos y linguales

5.5 Serie radiográfica



5.6 Periodontograma inicial



HC4 del diente 26

Antecedentes del diente: hace 10 años le colocaron amalgama clase I, debido a una caries que presentaba. 8 años después, inició un dolor a los cambios térmicos, (al ingerir alimentos fríos y calientes). Así mismo, al masticar. El dolor referido era punzante, intermitente, de corta duración y tolerable. No tomaba analgésico alguno para mitigar el dolor.



Dejo de molestar por casi un año, y hace 6 meses presentó el dolor. Moderado, pulsátil, constante de duración prolongada, principalmente durante la noche. Se mitigaba el dolor de manera espontánea, y reanudaba de igual forma.

Hace 4 días la molestia fue de mayor intensidad e irradiado a la zona, durante la noche principalmente, despertándola. Se automedico naproxeno sódico 1 tabletas 3 veces al día. Persistiendo el dolor.

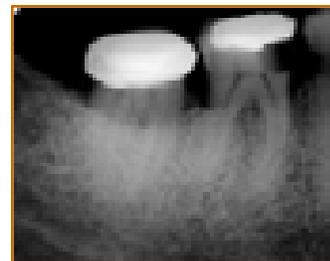
Examen clínico: presentó una restauración con amalgama desajustada, caries, aumento de volumen y cambio de coloración a rojo en la encía papilar. El sondeo fue de +6mm.

Pruebas de sensibilidad	Diente examinado 26	Diente testigo 16
Frió	+	-
Calor	+ permaneció	-
Percusión Horizontal	-	-
Percusión vertical	+	-
Prueba eléctrica	6	4

Examen radiográfico: zona radio opaca a nivel de la corona en cercanía con la cámara pulpar, conductos radiculares obliterados y ligero ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal

HC4 del diente 36

Antecedentes del diente: En Junio del 2007 inició dolor agudo espontáneo constante. Se mitigó el dolor con supradol de 10mg. Única dosis. Y hace 1 semana (22 de Agosto 2007) comenzó nuevamente el dolor de forma constante, pulsátil, todo el día en ocasiones de forma aguda, tomo analgésico 1 tableta diaria de supradol 10mg hasta el día de su consulta.



Examen clínico: presentó una restauración con amalgama desajustada, caries en la cara mesial, sarro supra gingival y aumento de volumen y cambio de coloración a rojo en la encía papilar y marginal. Sondeo máximo fue de +5mm.

Pruebas de sensibilidad	Diente examinado 36	Diente testigo 46
Frió	+	-
Calor	+	-
	mas de 1 minuto	
Percusión Horizontal	+	-
Percusión vertical	+	-
Prueba eléctrica	6	4

Examen radiográfico: zona radio lucida en cara mesial, zona radio opaca en cara oclusal obliteración del espacio correspondiente a los conductos radiculares a nivel de tercio medio y apical. Espacio del ligamento periodontal disminuido.

HC4 del siete 32

Antecedentes del diente: hace 3 años observó que se extruía el diente e iniciaba con movilidad, le dolía a la presión, masticación y a los estímulos térmico (calor).

Persistía un dolor leve en gran parte del día y se quitaba en ocasiones de forma espontánea durante poco tiempo, o tomaba analgésico (Naproxeno) para mitigarlo.

Al momento de la consulta refiere movilidad y dolor al presionarse o masticar y solo al estímulo térmico (calor).

No refiere haber tenido traumatismo en el diente.



Examen clínico: aumento de volumen y cambio de color a rojo, sondeo de +8 mm. Movilidad segundo grado. Sarro supra y sub gingival. Extrusión, diastema a distal.

Pruebas de sensibilidad	Diente examinado 32	Diente testigo 42
Frió	-	-
Calor	+	-
	por segundos	
Percusión Horizontal	+	-
	intenso	
Percusión vertical	+	-
	intenso	
Prueba eléctrica	6	4

Examen radiográfico: zona radio lucida extensa al tercio cervical, medio y apical, espacio del conducto radicular amplio en tercio cervical y obliterado en tercio apical. Defecto óseo vertical.

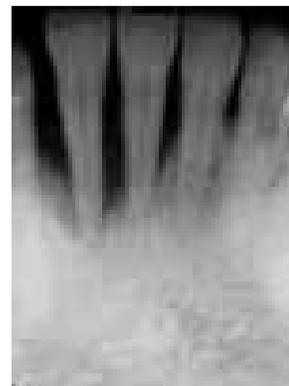
HC4 del diente 31

Antecedentes del diente: Hace 3 años observó que se extruía el diente al mismo tiempo que el diente 32. Presentaba movilidad, le dolía a la presión, masticación y a los estímulos térmico (calor).

El dolor se presentaba de forma irradiada a la zona, punzante, constante, y en gran parte del día. Se mitigaba en ocasiones de forma espontánea, o tomaba analgésico (Naproxeno).

Al momento de la consulta refiere movilidad y dolor al presionarse o masticar y al estímulo térmico de calor irradiado al diente vecino 32.

No refiere haber tenido traumatismo en el diente.



Examen clínico: presenta aumento de volumen y cambio de color a rojo de la encía marginal y papilar, presenta extrusión del diente, sarro supra e infra gingival, profundidad al sondeo de + 6 y movilidad segundo grado.

Pruebas de sensibilidad	Diente examinado 31	Diente testigo 41
Frió	-	-
Calor	+ + 30 segundos	-
Percusión Horizontal	+	-
Percusión vertical	+	-
Prueba eléctrica	6	4

Examen radiográfico: defecto óseo vertical, zona radio lucida extensa al tercio cervical y medio, espacio del conducto radicular amplio en tercio cervical, medio y obliterado en tercio apical. Ligera inclinación hacia distal del ápice.

5.7 Diagnóstico

Considerando los elementos presentados, y haciendo referencia al International workshop para la clasificación de enfermedades y condiciones periodontales de 1999. Se llegó al diagnóstico periodontal clasificándolo como periodontitis crónica moderada generalizada, periodontitis crónica leve localizada de los dientes 36, 41, 42, 43, 47 y periodontitis crónica severa localizada de los dientes 32, 31. ⁽¹¹⁴⁾

En el área de endodoncia, basándonos en la clasificación de enfermedades pulpares propuesta por el Dr. Mario Roberto Leonardo y del Dr. Carlos Estrela, se diagnosticó como pulpitis crónica a los dientes: 26, 31, 32, 36. ^{(115) (116)} Así como, degeneración pulpar cálcica de los dientes 16, 26, 27. ⁽¹¹⁷⁾

Se realizó un diagnóstico de presunción de granuloma piógeno, en los dientes 11 y 22, debido a que en la zona se presentaba una alteración de tejido con características de la patología antes mencionada. ⁽¹¹⁸⁾

Se determinó que la causa de la enfermedad periodontal presentada por la paciente fue debido a la placa dento bacteriana.

El pronóstico que se estableció para el caso fue de; favorable en general, reservado para los dientes 32, 31 y malo para los dientes 18 y 28.

Se realizó un plan de tratamiento por fases, de acuerdo al diagnóstico presentado.

En la primera fase, se pidió una inter consulta al médico familiar debido al sobre peso que presentaba en el momento.

Se le instruyó con la técnica de cepillado, utilización de hilo dental, y alimentos que favorecen a la eliminación de P.D.B. De igual forma se le indicó la diversidad de auxiliares de limpieza que podría emplear.

Se le indicó que acudiera a la clínica a sus citas semanales para registrar el índice de P.D.B.

Se propuso ferulizar por 16 semanas con férula semi rígida con composite correspondiente a los dientes 33 – 42, según lo propuesto por el Dr. Andreasen. ⁽¹¹⁹⁾

Se realizó raspado y alisado corono - radicular, pulido coronal, la realización de biopulpectomía de los dientes 26, 36, 31, 32. Y la realización de revaloración de fase I.

En la segunda fase, se propuso la realización de curetaje abierto con la colocación de material de relleno DFDBA y plasma rico en factores de crecimiento para los dientes 32 y 31.

Curetaje abierto con remodelado óseo de los dientes 17, 16, 14. Con extracción del diente 18.

Curetaje abierto con remodelado óseo de los dientes 13, 12, 11, 21, 22 y obtención para biopsia del presunto granuloma piógeno de los dientes 11 y 21, con probable frenilectomía.

Curetaje abierto con remodelado óseo de los dientes 27, 26, 25 con extracción del diente 28.

Revaloración.

En la tercera fase, se recomendaron citas de mantenimiento y remisión al servicio de operatoria dental y prótesis.

5.8.1 Tratamiento de fase I

Se le instruyó al paciente una técnica específica de cepillado dental. Así como, la utilización de hilo dental y auxiliar de limpieza.

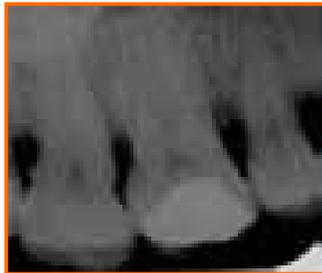
- Posteriormente se procedió a realizar raspado y alisado corono radicular con curetas específicas y pulido coronal con cepillo de profilaxis y pasta abrasiva.



- Se realizó la colocación de una férula semi rígida en cara vestibular desde los dientes 33 al 42.



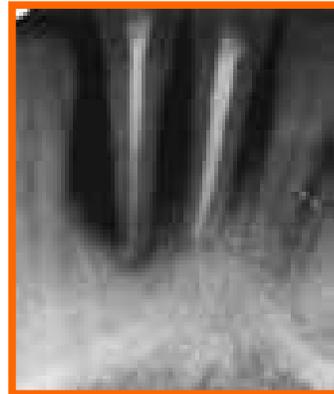
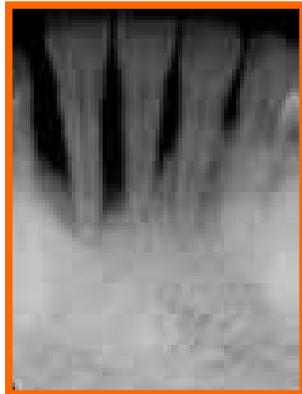
- Se realizó Biopulpectomía del diente 26 tomando conductometrías de los conductos MV a 19mm con una lima #15, DV a 20.5 mm con lima #15. y Pa 20mm con lima #20. se realizo trabajo biomecánico técnica corono apical y fuerzas balanceadas. El cono maestro fue para conducto MV #35, DV #40, Pa #45. se obturó con técnica de condensación lateral con gutapercha y cemento a base de hidróxido de calcio. Se colocó obturación temporal en la cavidad de ionómero de vidrio.



- Biopulpectomía del diente 36; se observa obliteración en el tercio apical de los conductos mesiales en donde después de realizar cavidad de acceso y localizar los conductos, el conducto MV no eran permeable en el tercio apical, por lo cual al ingresar con lima flex -R #6 hubo fractura en la punta del instrumento por lo cual se decidió instrumentar el tercio cervical y medio con técnica corono apical. Se logró pasar el instrumento fracturado e instrumentar el tercio apical. Se tomó la conductometría del MV 19 mm lima #15, MLi a 18.5mm lima #15 y distal a 18mm lima #20. Se realizó trabajo biomecánico corono apical con técnica rotatoria sistema protaper. El cono maestro fue en el conducto MV #30, MLi #30 Distal #45. Se obturó con técnica Mc spadden y con cemento a base de hidróxido de calcio.

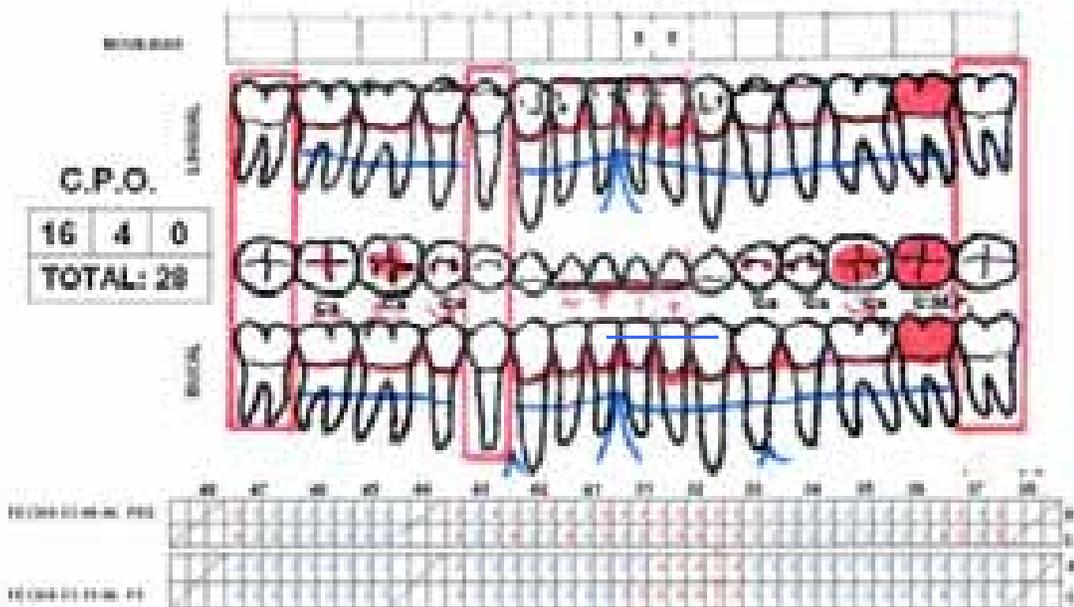
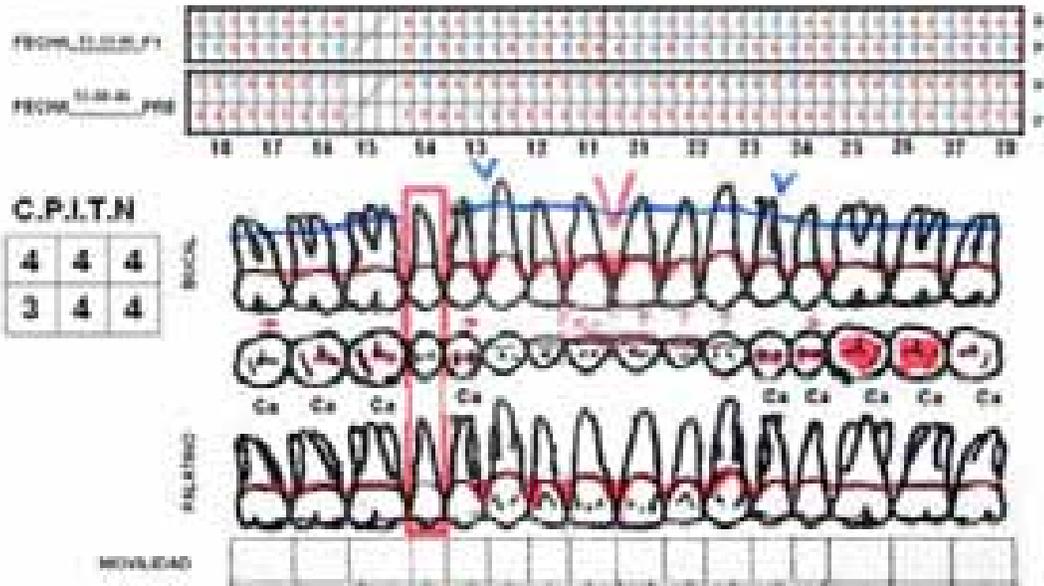


Se realizó tratamiento de Bio pulpectomía del diente 32, se realizó cavidad de acceso y se instrumentó tercio cervical y medio con técnica corono apical, se irrigó con solución de hipoclorito de sodio al 2.6%. Se medicó el diente con hidróxido de calcio en la primera cita, debido a que el tiempo de clínica había terminado. En la segunda sesión se tomó la conductometría a una longitud de 20mm con lima #15. se realizó trabajo biomecánico del tercio apical. La punta maestra fue #30. Se obturó con técnica de condensación lateral con gutapercha y cemento a base de hidróxido de calcio. Se realizó al mismo tiempo la Biopulpectomía del diente 31 tomando su longitud de trabajo a 18.5mm con lima #15. Se realizó trabajo biomecánico con técnica corono apical y fuerzas balanceadas. Punta maestra fue #30. Se obturó con técnica de condensación lateral con gutapercha y cemento a base de hidróxido de calcio.



Terminando los procedimientos previos correspondientes a la fase I, se realizó una segunda valoración.

Periodontograma de revaloración de fase I



Fotografías clínicas de revaloración fase I



Panorámica



Oclusal superior



Acercamiento superior



Oclusal inferior



Acercamientos inferiores



Fotografías en Oclusión

5.8.2 Fase II

- Se realizó curetaje abierto 18,17, 16,14 con extracción del diente 18 y remodelado óseo.



Incisión



Levantamiento de colgajo



Sutura

- Se realizó curetaje abierto de los dientes 13,12, 11, 21 con eliminación de granuloma piógeno y su obtención para biopsia, remodelado óseo y frenilectomía.



Incisión



Levantamiento de colgajo



Degranulación

- Curetaje abierto de los dientes 28, 27, 26, 25, 24 con extracción del diente 28 y remodelado óseo.



Incisión



Levantamiento de colgajo



Sutura

Se realizó curetaje abierto y colocó material de relleno DFDBA y plasma rico en factores de crecimiento en el defecto óseo correspondiente a los dientes: 32 y 31.



Incisión



Degranulación

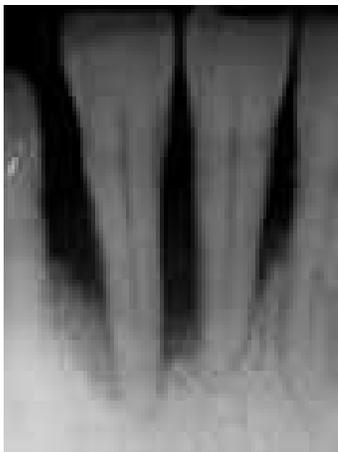


Colocación de material
De relleno DFDBA



Colocación del plasma rico en
factores de crecimiento en
forma de gel.

5.8.2.1 Control Radiográfico de los dientes 32 y 31.



Radiografía inicial



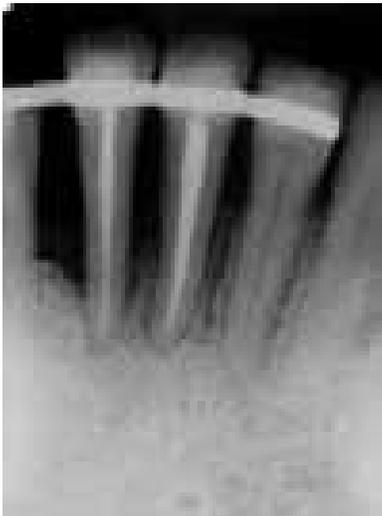
radiografías posquirúrgica.



Radiografía de control al mes



radiografías de control 3 meses

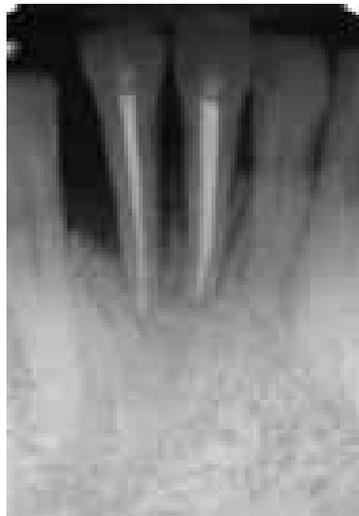


Radiografía de control 6 meses



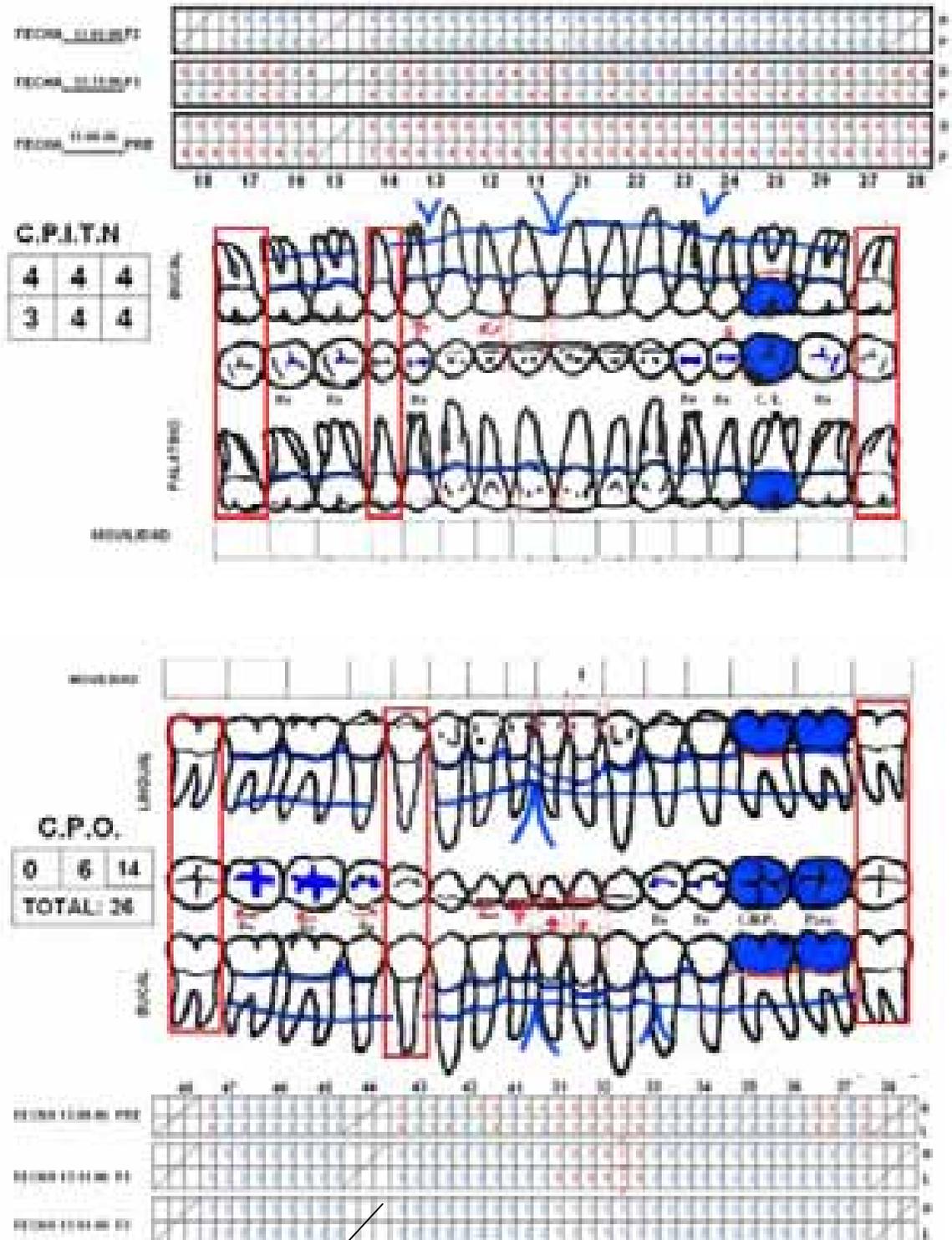
radiografías de control 12 meses

Radiografía de control 18 meses



Terminando los procedimientos correspondientes a la fase II, y posterior al seguimiento clínico y radiográfico de los dientes 32 y 31 durante 18 meses, se realizó una tercera valoración.

Periodontograma de revaloración de fase II



Fotografías clínicas de revaloración de fase II



Panorámica



Oclusal superior



Acercamiento superior



Oclusal inferior



Acercamiento Inferior



Fotografías en Oclusión

Fotografías clínicas de revaloración de fase III



Panorámica



Oclusal superior



Acercamiento superior



Oclusal Inferior



Acercamiento inferior



Fotografías en Oclusión

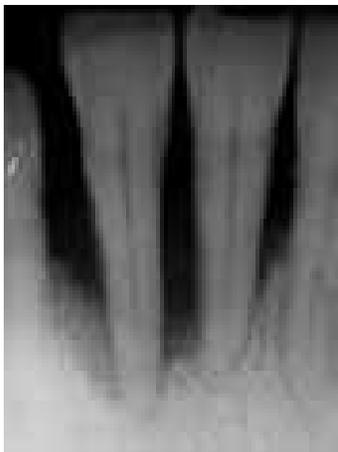


Acercamientos vestibulares

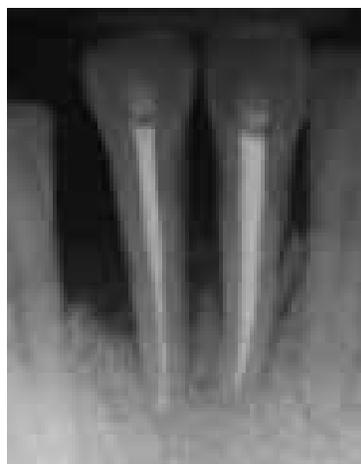


Acercamientos palatinos y linguales

Control Radiográfico de los dientes 32 y 31.



Radiografía inicial



radiografía de control actual
región de centrales
inferiores



radiografía de control actual
región de lateral y canino
inferiores

Conclusión

El Plasma rico en factores de crecimiento es un compuesto natural que puede representar una alternativa mas para un procedimiento de regeneración tisular u ósea. ⁽⁶⁴⁾
⁽¹²⁵⁾

La literatura hace referencia acerca de los efectos positivos del plasma rico en factores de crecimiento durante el procedimiento quirúrgico como son: mejora la estabilidad inicial del tejido injertado en el área receptora debido a sus propiedades de adhesividad tisular, favorece la liberación de otros factores de crecimiento, disminuye la reacción inflamatoria, así como del sangrado post operatorio, favorece la cicatrización. ⁽⁶⁵⁾ ⁽⁶⁷⁾

Se conoce, que los diferentes componentes del plasma rico en factores de crecimiento trabajan de forma sinérgica para incrementar la proliferación y diferenciación de células endoteliales y células madre mesenquimales, actuando como un estímulo en la regeneración tisular u ósea. ¹²⁰

Basándose en una preparación autóloga con concentración de factores de crecimiento, principalmente PDGF, VEGF, TGF-B, AFGF y bFGF, IGF-I y IGF-II, EGF. ⁵ a partir del secuestro de plaquetas, le confiere al sitio quirúrgico la habilidad de regenerar el sitio lesionado, por medio de la quimiotáxis, angiogénesis, mitogénesis. ⁶⁷

Diversos estudios coinciden en que la administración en forma de gel de los factores de crecimiento, especialmente cuando se trabaja en un lecho quirúrgico abierto, favorece a una mejor disolución en el tejido. ⁶⁷

El efecto del PRP después de su administración se prolonga por 3 días según Weibrich-Marx. ⁶⁷

Soffer considera que la aplicación del concentrado plaquetario incrementa la actividad fisiológica de todos los grupos de células involucradas en la reparación y regeneración tisular, posiblemente debido a un efecto sinérgico de todos los factores de crecimiento existentes en el concentrado plaquetario. ¹²¹

La concentración plaquetaria óptima del plasma rico en plaquetas todavía no ha sido descrita, sin embargo se ha sugerido que mientras presenten concentraciones por debajo de 1, 000,000/ μ l presentan un efecto sub óptimo, concentraciones superiores a esa concentración podrían tener paradójicamente efectos inhibitorios. ¹⁰³

Lynch realizó un estudio, utilizando trece perros Beagle. De ese estudio, concluyó que la regeneración de hueso y cemento fue de 5 a 10 veces mayor que en los sitios control donde no se usaron factores de crecimiento, también observó un ligamento periodontal de dimensiones adecuadas y en ningún caso hubo anquilosis. ¹⁰²

Anitua y cols, han utilizado PRP+hueso autógeno con resultados significativamente mejores, desde el punto de vista de la regeneración y maduración ósea con respecto al grupo control y exento de riesgos para el paciente. ¹⁰³

Lo expuesto es apoyado por Marx, quien menciona que puede mejorar el tratamiento adicionando PRP a los injertos óseos que utilizarlos solos. Por otro lado, este tipo de estudios se deben apoyar con más investigaciones.

La posibilidad de realizar estudios histológicos en humanos es limitada y los modelos animales son necesarios para evaluar la seguridad y eficacia de los protocolos para la regeneración periodontal.¹²⁰

El plasma rico en factores de crecimiento se está utilizando actualmente de muchas maneras, una de ellas es con la inclusión de material de relleno como aloinjerto y/ o xeno injerto, usados habitualmente en la práctica clínica, para el aumento del reborde alveolar o en regeneración tisular guiada, comportándose principalmente como material osteoconductor e inductor.¹²²

Podemos afirmar que el plasma rico en factores de crecimiento es un producto de ingeniería tisular, del que hasta nuestros días no se ha descrito efecto secundario alguno y que ofrece al profesional beneficios que justifican su empleo.^{98 99}

En el caso clínico presentado, se utilizó la técnica de Plasma rico en factores de crecimiento basado en los trabajos de (Froum 1976, Matras 1982, Lynch 1989, Tayapongsak 1994, Slater 1995, Whitman 1997, Marx 1998, Anitua 1999, Kassolis 2000, Aghaloo 2002, Kim 2002, Robioni 2002, Camargo 2002, Rodríguez 2003, Lekovic 2003, Anitua 2004, Fennis 2004, Oyama 2004, Mercks 2004, Banach 2006, Ki-Tae Koo 2007).²⁶⁻³⁵ con la adición de un material de relleno DFDBA. posterior al curetaje y eliminación de tejido granulomatoso, favoreciendo la formación de hueso y de ligamento periodontal y cemento; lo cual no podemos saber de manera clínica, se requiere corte histológico para poder aseverarlo.

Radiográficamente se observa mejoría del aspecto radiográfico periodontal, de los dientes 32 y 31. Comparativamente a la radiografía de inicio, existe aumento en la altura ósea en tercio apical y tercio medio de los dientes 32 y 31. conjuntamente con el área correspondiente de la existencia para el espacio del ligamento periodontal.

Respecto a la movilidad, ésta disminuyó para el diente 32 de grado II a grado I y para el diente 31 de grado II a normal. Así mismo, las condiciones de la encía mejoraron en cuanto a color, textura y consistencia.

El pronóstico sigue siendo reservado, ya que depende mucho de mantener la higiene oral adecuada por parte del paciente.

Con las evidencias científicas actuales que apoyan este material, es posible afirmar que el plasma rico en factores de crecimiento añadiendo un material de relleno permite la neo formación de hueso, de cemento y ligamento periodontal, además de favorecer el proceso de regeneración.

Por otra parte es importante que el cirujano dentista o especialista conozca este producto y revise la literatura existente. y pueda brindarle al paciente una terapia alternativa autóloga.

Con la experiencia obtenida de este caso clínico así como la revisión de la literatura respectiva, concluyo que es mejor utilizar esta técnica de manipulación de factores de crecimiento mezclándolo con un material de relleno para mantener el espacio y permitir la repoblación celular de los sitios intervenidos quirúrgicamente.

En lo personal, es posible afirmar que el manejo del PRFC es muy práctico ya que una vez presentado en gel, es fácil adosarlo al defecto sin el inconveniente de desgarrarlo o no poderlo fijar o contornear al diente que presenta el defecto óseo. Es fácil mezclarlo con algún tipo de injerto óseo y una vez mezclado poderlo llevar al defecto sin el riesgo de perder el material de relleno al tratar de compactarlo o afrontar los colgajos. Presenta mejor condición posquirúrgica de los tejidos, menor incomodidad para el paciente.

El PRFC es una alternativa a la gama de materiales que existen actualmente y que puede ser empleado con buenos resultados, teniendo siempre en consideración los elementos de diagnóstico correspondientes.

Referencias bibliográficas

1. Position paper. Academy Report. Periodontal disease. J. periodontol. 2005; 69: 841- 850.
2. Lindhe. Karring. Lang. Periodontología Clínica e Implantología Oodntológica. Cuarta Edición. Ed. Panamericana. 2005; 680- 696.
3. Tioosi R. Mardegan Issa J. Di Matteo M. Mizusaki M. PRP: A Possibility in Regenerative Therapy. Int. J. Morphol. 2007; 25 (3): 587-590.
4. Eduardo Anitua Aldecoa. Factores de Crecimiento Plasmático una revolución terapéutica. Trabajos odontoestomatológicos 2001; 2 (2): 90-94.
5. Gonzáles Laguna J. platelet rich plasma. Rev Cir. Oral y Maxilofac 2006; 28, 2, (Marzo-Abril): 89-99.
6. Plagliai Girolamo A. Regeneración ósea guiada. J Oral Maxillofac Surg.. 2001; 15 (9): 22-31.
7. Todorovic T. Dozic I. Ljuskovic B. Pejovic J. Marjanovic M. Enzimas salivales y Enfermedad periodontal. Med. Oral Patol. Oral Cir Bucal 2006; 11: 115-9.
8. Enríquez Habib F, Moreno Reyes L, Marín González G. Utilización del plasma rico en plaquetas para regeneración periodontal en un perro. Revista Odontológica Mexicana 2004; 8 (3): 64-69.
9. Andreas Thor. On Platelet-Rich Plasma in Reconstructive Dental Implant Surgery. Uppsala University Hospital, Sweden. 2006. 6-19.
10. Ouyang Xiang-ying and Qiao Jing. Effect of platelet-rich plasma in the treatment of periodontal. Chinese Medical Journal 2006; 119 (18):1511-1521.
11. Skaler T. Bowens A. Efficacy of Autologous Platelet Rich Plasma in bone healing. Evidence Based Review. 2007; 1-32.
12. Anitua E, Isabel Andia, Ardanza B, Nurden P, Alan T. Nurden. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Spain. Thromb Haemost 2004; 91: 4-15.
13. Paulo J. Mardegan Issa; Cássio do Nascimento; Rodrigo Edson dos Santos Barbosa. . Morphogenetic Protein rhBMP-2 and New Bone Formation. Int. J. Morphol. 2006. 24(3):323-330.
14. Helmy Belal M. Watanabe H. Ichinose S. Effect of Er:YAG Laser Combined With rhPDGF-BB on Attachment of Cultured Fibroblasts to Periodontally Involved Root Surfaces. Journal Periodontol. 2007. Vol. 78, No. 7, Pages 1329-1341.
15. Czuryzkiewicz-Cyryna J, Banach J. Autogenous bone and platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of intrabony defects. Poland. Advances in Medical Sciences 2006 Vol. 51; 26-30.
16. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt, y cols. Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod. 1998; 85:638-46.
17. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet rich plasma. J Oral Maxillofac Surg 2002; 60:1018-25.
18. De Obarrio JJ, Aruz Dutari JJ, Chamberlain TM, Croston A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology case reports. Int J Periodontics Restorative Dent 2000; 20:487-97.

-
19. Richard H. Yamada, Douglas V. Gorin, Richard F. Marinello, Mark A. Rosen. Biologic Mediators: A new era in regeneration. *Periodontics, orthodontics and implant dentistry*. 2006. 1-4.
 20. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds Ma. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet rich plasma in combination with freeze dried bone allograft: case series. *J Periodontol* 2000; 71:1654-61.
 21. Fréchette P., Martineau I., and Gagnon G. Platelet-rich Plasmas: Growth Factor Content and Roles in Wound Healing. *J Dent Res* 2005. 84(5):434-439.
 22. Chang T., Liu Q., Marino V, Bartold PM. Attachment of periodontal fibroblasts to barrier membranes coated with platelet rich plasma. *Australian Dental Journal* 2007; 52: (3): 227-233.
 23. Soffer E, Ouhayoun JP, Thorn JJ, Sorensen H, Weis-Fogh U, Andersen. Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95:421-528. 48.
 24. Anitua Aldecoa E. Factores de Crecimiento Plasmático una revolución terapéutica. *Trabajos odontoestomatológicos* 2001; 2 (2): 90-94.
 25. González Pineda A., Urreola Pinto S. Injertos óseos en cirugía ortopédica. *Academia Mexicana de Cirugía*. 2006. Mayo – Junio; 74: 217-22.
 26. Cyrana J, Banach J. Autogenous bone and platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of intrabony defects. *Poland. Advances in Medical Sciences* 2006 Vol. 51; 26-30.
 27. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997; 55:1294-8.
 28. Giannobile WV, Finkelman RD, Lynch S. Comparison of canine and non human Beagle dog animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF / IGF-I. *J. periodontol*. 1994; 65: 1158-1168.
 29. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 1994; 52:161-6.
 30. Torres García Denche. Influencia del Plasma Rico en Plaquetas en la regeneración ósea: estudio densitométrico y morfométrico en calota de conejas osteoporóticas. España. Tesis Doctoral. 2006. 8.189.
 31. Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs PCSS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 437- 43.
 32. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt, y cols. Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*. 1998; 85:638-46.
 33. Steigmann M, DDS, and Arun K. Garg, DMD. A Comparative Study of Bilateral Sinus Lifts Performed with Platelet-Rich Plasma Alone Versus Alloplastic Graft Material Reconstituted with Blood. *Implant Dentistry* 2005. vol. 14, number 3.
 34. Fennis JPM, StoelingaPJW, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographical animal study on the use of autogenous scaffoldsand platelet rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31:281- 6.
 35. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet rich plasma in rabbit cranial defects: a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60:1176-81.

-
36. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60:1018-25.
 37. Kim SG, Chung CH, KimYK, Park JC, Lim SC. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet rich plasma in the treatment of bony defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17:86-94.
 38. Arpornmaeklong P, Kochel M, Depprich R, Kübler NR; Würzler KK: Influence of platelet rich plasma on osteogenic differentiation of rat bone stromal cells. An in vivo study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33: 60-70.
 39. Fennis JPM, Stoelinga PJW. Jansen JA. Mandibular reconstruction: an histological and histomorphometric study on the use of autogenous scaffolds, particulate corticocancellous bone grafts and platelet rich plasma in goats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33:48-55.
 40. Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Y, Suzuki H, Wolff LF, Platelet rich plasma contains high levels of platelet derived growth factors and transforming growth factor beta and modulates the proliferation of periodontal related cells in vitro. *J Periodontol.* 2003; 74:849-57.
 41. Kawase T, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H, Platelet rich plasma derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro. *J Periodontol* 2003; 74:858-64.
 42. De Obarrio JJ, Aruz Dutari JI, Chamberlain TM, Croston A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000; 20:487-97.
 43. Richard H. Yamada, Douglas V. Gorin, Richard F. Marinello, Mark A. Rosen. *Biologic Mediators: A new era in regeneration. Periodontics, orthodontics and implant dentistry.* 2006. 1-4.
 44. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB. Comparison of platelet rich plasma, bovinous porous bone mineral and guided tissue regeneration versus platelet rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *J Periodontol.* 2002; 73:198-205.
 45. Rodriguez A, Anastassov GE, LeeH, Buchbinder D, Wettan H. Maxillary sinus augmentation with deproteinated bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J Oral Maxillofac. Surg.* 2003; 61: 157 – 63.
 46. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds Ma. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet rich plasma in combination with freeze dried bone allograft: case series. *J Periodontol.* 2000; 71:1654-61.
 47. Ki-Tae Koo, Cristiano Susin, Ulf M.E. Wikesjö, Seong-Ho Choi and Chong-Kwan Kimi. Transforming Growth Factor-b1 Accelerates Resorption of a Calcium Carbonate Biomaterial in Periodontal Defects. *J Periodontol.* 2007; 4 (78): 723-29.
 48. Rozman P. and Boltan Z. Use of platelet Growth factors in treating rounds and soft tissues injuries. *Academy dermatol. Vent. A.P.A.* 2007; vol 16: 156-165.
 49. Xiang Y. Quiao J. Effect of platelet plasma in the treatment of periodontal infrabony defects in humans. *Chinese Medical Journal* 2006; 119 (18): 1511 – 1521.

-
50. Izaguirre-Avila R. El descubrimiento de las plaquetas. *Rev Biomed.* 1997; 8:197-208.
 51. Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Puesta al día. España. 2004; 81-91.
 52. Harrison P. Platelet function análisis. Oxford Haemophilia Centre & Thrombosis Unit. *Blood Reviews.* 2005; 19: 111 – 1123.
 53. Reynolds L.A. and Tansey EM. The recent history of platelets in thrombosis and other disorders. The transcript of a Witness Seminar held by the Wellcome Trust Centre for the History of Medicine at UCL, London. 2003; 11: 132 – 140.
 54. García-Chávez J., Carrillo-Esper R., Majluf-Cruz A. Fisiología del sistema de coagulación. *Gac Méd Méx* 2007. Vol. 143.
 55. Andia I., Ardanza B., Nurden P., Nurden TA. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Spain. *Thromb Haemost.* 2004; 91: 4 – 15.
 56. García Mesa M. Alfonso C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc* 2000; 1(2):132-41.
 57. Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. Harrison. Fisiología de la hemostasia principios de medicina interna. Nueva York: MacGraw Hill, 2001; 751-757.
 58. Banach J. Autogenous bone and platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of intrabony defects. *Advances in Medical Sciences.* Poland. 2006; Vol. 51: 26-30.
 59. Zi-Qing Hei, He-Qing Huang, Chen-Fang Luo, Shang-Rong Li, Gang-Jian Luo. Changes of nitric oxide and endothelial, thromboxane A2 and prostaglandin in cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *World J. Gastroenterol* 2006; 12(25): 4049-4051.
 60. Díaz Concepción A. Almagro D. Mecanismos de la coagulación sanguínea. Instituto de hematología e inmunología. *Rev. Cubana hematol. inmunol. Hemoter* 2001; 17 (2): 77-89.
 61. Smith G. R., B.S., C.C.P., Gassmann C.J., C.C.P., and Mark S. Campbell, B.A., C.C.P. Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications. *The Journal of Lancaster General Hospital.* 2007; 2(2): 108 – 114.
 62. Peter AM Everts, Johannes TA Knape, Gernot Weibrich, Jacques PAM Schönberger, Johannes JHL Hoffmann, Eddy P Overdevest, Henk AM Box, André van Zundert. Platelet rich plasma and platelet gel. A Review. *J Extra Corpor Technic.* 2006; 38: 174 – 187.
 63. Yao E, Ericsson E. Gene Therapy in wound repair and regeneration. *Periodontol.* 2000; 8: 443-51.
 64. Morales-Álvarez L., Ariza M. Eventos de señalización asociados al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). *Univer. Scientiarum.* Colombia. 2005; 10: 5-20.
 65. Gonzáles Laguna J. platelet rich plasma. *Rev Cir. Oral y Maxilofac* 2006; 2 (28): 89-99.
 66. Gonzáles Ossa S., Ortiz Orrego E.G. Plasma rico en plaquetas: una alternativa para acelerar el proceso de cicatrización ósea. *Revista CES Odontología.* 2004; 1 (17): 1-8.
 67. Jesús Torres García Denche. Influencia del Plasma Rico en Plaquetas en la regeneración ósea: estudio densitométrico y morfométrico en calota de conejas osteoporóticas. España. Tesis doctoral. 2006. 8-189.

-
68. Mendoza Garrido G. Plasma rico en plaquetas y terapia láser como alternativa en el proceso de regeneración ósea. *AMM*. 2005; 16 (5): 159 – 167.
 69. Terranova VP, Odziemiec C, Tweden KS, Spadone DP. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J. periodontol.* 1989;60: 293 – 301.
 70. Alvarez H. R., MD; Hagop M. Kantarjian, MD; and Jorge E. Cortes, MD. Biology of Platelet-Derived Growth Factor and Its Involvement in Disease. *Clin Proc.* 2006; 81(9): 1241-1257.
 71. Selheim F., Miriam H. Fukami, Holm Holmsen and Flemming S. Vassbotn. Platelet-derived-growth-factor-induced signalling in human platelets: phosphoinositide-3-kinase-dependent inhibition of platelet activation. *J. Biochem.* 2000; 469-475.
 72. Lynch S., DMD, DMSc, Wisner-Lynch L., DMD, DMSc; Nevins M., DDS; Marc L Nevins, DMD, MMSc; A New Era in Periodontal and Periimplant Regeneration: Use of Growth-Factor Enhanced Matrices Incorporating rhPDGF. *Compendium* December 2006; 27(12):672-679.
 73. Nathan E. Carlson and Robert B Roach, JR. Platelet-rich plasma Clinical applications in dentistry. *JADA*, Vol. 133, March 18, 2008. 1383 – 86.
 74. Evidence Based Review. Efficacy of Autologous Platelet Rich Plasma in bone healing. 2007. June.
 75. Peter AM Everts, Johannes TA Knape, Gernot Weibrich, Jacques PAM Schönberger, Johannes JHL Hoffmann, Eddy P Overdevest, Henk AM Box, André van Zundert. Platelet rich plasma and platelet gel. A Review. *J Extra Corpor Techn.* 2006; 38:174-187.
 76. Luengo F. Gimeno F., Gatto S., José Ferro J., Oscar Croxatto J. and Juan Eduardo Gallo J. Preparation of platelet-rich plasma as a tissue adhesive for experimental transplantation in rabbits. *Thrombosis Journal.* 2006; 4 (18): 1-7.
 77. Piche JE, Carnes DL Jr, Graves DT. Initial characterization of cells derived from human periodontitis. *J Dent Res* 1989; 68:761-7.
 78. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemostatic, synthetyc responses if rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992; 63:515-25.
 79. Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol.* 1993; 64: 142-8.
 80. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GGJ, Ritmen B, Caffese RG. Differential effect of TGF- β -1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblast. *J Periodontol* 1994; 65:641-8.
 81. Hock JM, Cannalis E. Platelet- derived growth factor enhances bone cell replication but not differentiated function of osteoblasts. *Endocrinology.* 1994; 134:1423- 28.
 82. Tolga Fikret Tözüm, DDS, PhD. Burak Demiralp, DDS, PhD. Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. *Journal of the Canadian Dental Association.* 2003; 10 (69).
 83. Anderson TJ, Lapp CA, Billman MA, Schuster GS. Effects of transforming growht factor- β andplatelet-derived growth factor on human gingival fibroblasts grown in serum-containing and serum-free medium. *J Clin Periodontol* 1998; 25:48-55.

-
84. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Antoniades NH. A combination of platelet derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Periodontol* 1989; 16: 545-8.
 85. Lynch SE, Ruiz de Castilla G, Williams RC, Kiritsy Ch P, Howell H, Reddy MS, Antoniades HN. The effects of short- term application of a combination of platelet derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991; 62: 458-76.
 86. P.C. Lekic. N. Pender. C.A.G. McCulloch. Is fibroblast heterogeneity relevant to the health, diseases, and treatments of periodontal tissues. *Crit Rev Oral Biol Med.*1997; 8(3):253-268.
 87. Park JB. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet derived growth factor. *J Periodontol* 1995; 66:522-30.
 88. Cho LI, Lin WL, Genco RJ. Platelet derived growth factor modulated guided tissue regenerative therapy. *J Periodontol* 1995; 66:522-30.
 89. Giannobile WV, Finkelman RD, Lynch SE. Comparison of canine and nonhuman primate animal models for periodontal regenerative therapy. Results following a single administration of PDGF/iGF-I. *J. Periodontol* 1994; 65: 1158 – 68.
 90. Gamal AY, Mailhot JM, Garnick JJ, Newhouse R, Sharawy MM. Human periodontal ligament fibroblast response to PDGF-BB and IGF-I application on tetracycline HCl conditioned root surfaces. *J Clin Periodontol* 1998; 25(5):404-12.
 91. Hooshmand-Rad R., Yokote K., Heldin C.H. PDGF a-receptor mediated cellular responses are not dependent on Src family kinases in endothelial cells. *Journal of Cell. Science.* 1998; 607 – 614.
 92. Munford JH, Carnes DL, Cochran DL, Oates TW. The effects of platelet-derived growth factor- BB on periodontal cells an in vitro wound model. *J Periodontol.* 2001; 72: 331-40.
 93. Giannobile WV, Lee CS, Tomala MP et al. Platelet-derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *J Periodontol.* 2001; 72: 815-23.
 94. Fernández-Tresguerres I. Hernández-Gil Miguel. Alobera Gracia Angel. del Canto Pingarrón M. Blanco Jerez L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11:151-7.
 95. Gálvez-Gastélum F., Sandoval-Rodríguez A. El factor de crecimiento transformante b como blanco terapéutico. *Salud pública de México.* 2004; 4 (46).
 96. David M. Kingsley. The TGF- β superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes & Dev.* 2008. 8: 133-146.
 97. Ki-Tae Koo, Cristiano Susin, Ulf M.E. Wikesjö, Seong-Ho Choi, and Chong-Kwan Kimi. Transforming Growth Factor- β 1 Accelerates Resorption of a Calcium Carbonate Biomaterial in Periodontal Defects. *J Periodontol.* 2007; 4 (78): 723-29.
 98. Jin Gao, Symons AL, Bartold MP. Expression of transforming growth factor- β receptors types II and III within various cells in the rat periodontium. *J Periodont Res* 1999; 34: 113-22.

-
99. Smith P.C., and J. Martínez. Differential UPA Expression by TGF- β 1 in Gingival Fibroblasts. 2006. *J Dent Res* 85(2): 150-155.
 100. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. Insulin like growth factor (IGF) and bone. *Connect tissue res.* 1998; 20: 277-282.
 101. Bloom S, Holmstrup P. The effect of insulin like growth factor-I and human growth hormone on periodontal ligament fibroblastic morphology growth pattern, DNA synthesis and receptor binding. *J Periodontol* 1992; 63: 960-8.
 102. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I / II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet derived growth factor -I in patients with periodontal disease. *J. Periodontol.* 1997; 68 (12): 1186-93.
 103. Anitua Aldecoa E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.). Ed. Puesta al día. España. 2004; 81-91.
 104. Caffesse R, Quiñones CR. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. *Periodontolo.* 1993; 1: 69-79.
 105. Terranova VP, Odziemiec C. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J Periodontol* 1989; 60: 293-301.
 106. Tweden KS, Spadone DP et al. Neovascularization of surface demineralized dentin. *J Periodontol*, 1989; 60: 460-6.
 107. Sasaki T, Maita E, et al. Increased bFGF level in the serum of patients with phenytoin-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 42-7.
 108. Rossa C, Marcantonio E. Regeneration of class III furcation defects with basic fibroblast growth factors (b-FGF) associated with GTR. A descriptive and histometric study in dogs. *J Periodontol* 2000; 71: 775-84.
 109. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factors levels in the platelet rich plasma produced by two different methods: curasan type PRP kit versus PCSS PRP system. *Int J Oral Maxillofacial Implants* 2002; 17: 184-90.
 110. Nathan E, Carlson and Robert B Roach, JR. Platelet-rich plasma Clinical applications in dentistry. *JADA.* 2008; 138 (133): 1383 – 86.
 111. Reyes M, Montero R, Cifuentes F, Zarzar C. Actualización de la Técnica de Obtención y Uso de Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). *Revista Dental de Chile.* 2002; 93 (2): 25-28.
 112. Hinze M., Sauerbier S., Wiedmann-Al-Ahmad M., Hübner, Schmelzeisen R., Gutwald R. Bone Engineering: Allogenic and Alloplastic Bone Transplants vitalized by Osteoblast-like Cells. *European Cells and Materials.* 2007; 2 (13): 59.
 113. Dohan, David M. DDS, MS, PhD; Del Corso, Marco DDS; Charrier, Jean-Baptiste MD, PhD. Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, & Endodontics.* 2007; 103(5):587-593.
 114. The 1999 international workshop for a classification of periodontal diseases and conditions was held. *The American Academy of periodontol.* 1999; October 30- November 2. 33- 38.

-
115. Roberto Leonardo M. Tratamiento de los conductos radiculares. 1994; 2da. Edición. Ed. Panamericana. Págs.33-45.
 116. Estrela C. Ciencia Endodóntica. Artes médicas. 2005; pags. 57- 60.
 117. Cohen, Stephen, Burns, Richard C.Pathways of the pulp. St. Louis. 2002; 8th. ed. Mosby. 1031pp.
 118. Saap J. Philip y col. Patología oral y maxilofacial contemporánea. Edición en Español. 1998.
 119. Andreasen J.O. y Andreasen F.M. Lesiones dentaria traumáticas. Departamento de medicina y cirugía bucal Dinamarca. 1990; ed. Panamericana. Pag. 77-84.
 120. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; (85): 638-46.
 121. Soffer E. Ouhayoun J. P. Dosquet C. Effects of platelet 1y sates on select bon cell functions. Clinic Oral Impl Res. 2004; 15: 581 – 8.
 122. Araújo MG, Carmagnola D, Berglundh T. Orthodontic movement in bone defects augmented with Bio-Oss. J Clin Periodontol 2001; 28: 73 – 80.
 123. Freymiller EG, Aghaloo T. Platelet rich plasma: ready or not. J Oral Maxillofac Surg 2004; 62: 484 – 8.