

[PID 6120](#)

## Estudio comparativo del aumento óseo en tibia de conejo utilizando obturadores de Cr-Co microfijados con sangre entera y plasma rico en plaquetas

*Decco, Oscar; Zuchuat, Jéssica I.; Cura, Andrea C. y Lezcano, María F.*

AUTORES: Laboratorio de Bioimplantes, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos, (3100) Oro Verde, Entre Ríos, Argentina.

CONTACTO: [odecco@bioimplantes.com.ar](mailto:odecco@bioimplantes.com.ar) [odecco@bioingenieria.edu.ar](mailto:odecco@bioingenieria.edu.ar)

### Resumen

El aumento óseo es un tema de intensa investigación en la medicina regenerativa ósea y constituye una situación clínica en la cual se utilizan injertos de hueso autógeno o materiales sintéticos para apoyar la formación de nuevo hueso. Metodología: basándonos en un defecto no crítico, se colocaron membranas de Cr-Co en seis conejos adultos Leandro de Borgoña, que fueron divididos en dos grupos: sangre entera y PRP. Se realizaron tres controles densitométricos durante la experiencia. Los animales fueron sacrificados a los 30, 45, 60 y 110 días. Se observó el aumento de tejido óseo interna y externamente. Las muestras para el estudio histológico fueron tomadas del centro del aumento. Resultados: se observó la existencia de aumento óseo, tanto en la superficie exterior como en el interior de la membrana. El PRP y la sangre entera estimularon el aumento óseo en el sitio de aplicación y al final de la experiencia no se observaron diferencias significativas entre ambos tratamientos. Sin embargo, a partir de los 60 días, las extremidades con PRP presentaron una mayor angiogénesis, la cual podría indicar una mayor proliferación y actividad celular. Conclusión: podemos determinar que el PRP parece ser capaz de activar el proceso de regeneración ósea en condiciones optimizadas, mediante la estimulación de la proliferación de osteoblastos a la sexta semana, donde existe una diferencia significativa en la actividad celular. La membrana podría estimular el aumento óseo en el sitio de colocación y en las zonas circundantes.

**Palabras clave:** obturadores Cr-Co, microtornillos, aumento óseo, PRP, atrofia maxilar

### Bone augmentation in rabbit tibia using microfixed Cobalt-Chromium membranes with whole blood and platelet-rich plasma

#### Abstract

Background: Bone augmentation is a subject of intensive investigation in regenerative bone medicine and constitutes a clinical situation in which autogenous bone grafts or synthetic materials are used to help new bone formation. Method: Based on a non-critical defect, Co-Cr barrier membranes were placed on six adult Fauve de Bourgogne rabbits, divided in two groups: whole blood, and PRP. Three densitometric controls were performed during the experiment. The animals were sacrificed at 30, 45, 60 and 110 days. The presence of newly formed bone was observed. Samples to the histological study were taken from the augmentation center. Results: External and internal bone tissue augmentation was observed in almost all the cases. PRP and whole blood stimulated bone augmentation in the application

site and at the end of the experience significant differences between both treatments were not observed. At 60 days, extremities whit PRP presented a higher angiogenesis, which would indicate a higher proliferation and cellular activity. Conclusion: We can determinate that PRP seems to be able to activate the bone regeneration process in optimized conditions, by stimulation

**Key words:** Co-Cr membranes – Micro screw – Bone augmentation – PRP – maxillary atrophy.

## Introducción

La prevención y el tratamiento de la deformación del proceso alveolar, pretende preservar o reconstruir la cresta y tejidos blandos de los huesos maxilares desdentados.

Se pueden utilizar técnicas quirúrgicas para prevenir el colapso del alveolo luego de la extracción o en el caso de que se haya perdido la anatomía de la cresta.

En una pérdida moderada, el aumento de los tejidos blandos es suficiente para planificar una rehabilitación oral con el uso de implantes. Los implantes dentales tienen una excelente prognosis. Se han reportado tasas de supervivencia de 82% a 99% luego de 10 años de completado el tratamiento protodóntico (1,9). Aunque pueden variar en función de las indicaciones y los sitios, se observaron valores similares en estudios prospectivos (42,8).

Cuando la pérdida es severa debemos plantear un enfoque diferente, en etapas, que nos permita lograr un aumento del hueso, para así luego llegar a la colocación de los implantes o una terapia combinada al mismo tiempo: aumento óseo y de las mucosas e implantes.

El conocimiento individualizado de la anatomía de los maxilares, el grado de atrofia, la cantidad y calidad del hueso disponible son los aspectos a tener en cuenta a la hora de diseñar una planificación exacta, que nos permita una correcta rehabilitación oral del paciente.

En un meta-análisis, Esposito *et al.* (1998a, 1998b) (21,22), correlacionaron el número de implantes colocados, con la tasa de implantes perdidos y observaron las causas de falla de éstos. Estudiaron 2812 implantes y encontraron que la calidad y cantidad ósea era responsable del 7.7% de todas las pérdidas.

El hueso comprometido puede causar fallas en el implante tanto tempranas como tardías (21). El término pérdida temprana del implante refiere a los implantes perdidos debido a que el crecimiento del hueso falló durante la curación del sitio. Los factores relacionados a la pérdida temprana del implante incluyen tanto la calidad del hueso comprometido como el trauma quirúrgico.

La densidad y la arquitectura del hueso trabecular de los procesos alveolares son cruciales en la estabilidad de un implante. Un porcentaje de fracasos es más alto cuando los implantes se colocan en zonas de densidad y estabilidad reducida (29).

La pérdida tardía del implante se refiere a la falla en el mismo después de la oseointegración, causada por la pérdida del contacto hueso-implante (BICs) luego del tratamiento protodóntico.

Excesivos esfuerzos de compresión y tensión introducidos en la interfase pueden causar una pérdida ósea acelerada. La magnitud de estas fuerzas, así como el volumen y la calidad del hueso hospedero circundante, son la clave para la falla o la supervivencia de los implantes.

Las bases mandibulares y maxilares permanecen relativamente constantes después de la pérdida dentaria, las dimensiones verticales y horizontales de los procesos alveolares sufren cambios importantes en ambos sexos, prevaleciendo más en la mujer que en el hombre (51). Esta reabsorción causa marcados cambios en la forma del reborde alveolar y una pérdida importante del volumen óseo (52).

La mayor pérdida ocurre en el primer año post-extracción. Luego, la tasa media de pérdida vertical ósea es de 0.4mm/año en la mandíbula. Esta tasa es cerca de cuatro veces mayor en el maxilar (23,

47). En el maxilar anterior, la pérdida ósea es todavía más dramática, con 4 a 6 mm perdidos en la dimensión transversal dentro de los 6 meses (54). La reabsorción y atrofia de los maxilares puede deberse a distintas causas que pueden ser producidas o influenciadas por diversos factores: extracción dentaria, enfermedad periodontal que se caracteriza por una inflamación de los tejidos de soporte del diente, y tiene como consecuencia en su versión más grave, la periodontitis, una reabsorción del hueso alveolar como así la pérdida de la inserción periodontal y dentaria. Respecto a las diferencias entre sexo y edad, puede observarse una mayor reabsorción ósea en la mujer, pudiendo estar asociado a la parte hormonal, menopausia y osteoporosis (48).

En los pacientes desdentados, tanto la falta de uso de prótesis, como el uso de prótesis desadaptadas, producen una mayor reabsorción ósea que aquellos pacientes rehabilitados correctamente. La colocación de prótesis implanto soportadas reduce sensiblemente la resorción del hueso (35).

En los pacientes parcialmente desdentados la pérdida ósea de los espacios se debe a la cicatrización de los mismos luego de las extracciones. La menor densidad trabecular observada en estos pacientes está dada por la tensión mecánica de los dientes naturales (32).

La reabsorción ósea que sigue a la pérdida de la pieza dental ha sido estudiada extensivamente, y se ha llegado a la conclusión que siempre ocurrirá una crónica, progresiva e irreversible pérdida de hueso en todos los pacientes. De acuerdo a los factores anteriormente mencionados se han observado diferencias entre los individuos a cerca de la velocidad de la pérdida ósea, atribuido a diversos factores como la edad, sexo, anatomía facial, metabolismo, higiene oral, estado nutricional, parafunciones, estado de salud, enfermedades sistémicas, medicamentos, y el tiempo que el paciente este edéntulo (35).

Estos eventos pueden ser prevenidos mediante técnicas que se pueden utilizar durante la instrumentación quirúrgica que permita mantener el hueso durante un mayor tiempo. Un enfoque quirúrgico a tener en cuenta es el colgajo que se realiza antes de la extracción, permitiendo prevenir el daño óseo, manteniendo la cortical en caso de fractura subgingival del diente. Otro de los métodos es la colocación de una prótesis post-extracción provisional inmediata, que protegería y simularía el soporte de los tejidos blandos. El uso de un injerto de tejido conectivo permite preservar la cresta y aumentar el tejido blando mucolingual y apicoronal. También se puede preservar la cresta ósea luego de la extracción por medio de los injertos óseos colocados en el espacio alveolar. Diferentes tipos de injertos son utilizados, autógenos, xenoinjertos, sustitutos óseos sintéticos, estos materiales se colocan en la cavidad alveolar cubriendo con membranas reabsorbibles o no reabsorbibles y realizando la sutura de los tejidos blandos.

Para reconstruir la anatomía de la cresta perdida, se realizan técnicas que permitan la recuperación de los tejidos mediante el aumento de los tejidos blandos, duros o una combinación de ambos. La reconstrucción de la mucosa es útil cuando está afectada la estética especialmente en el sector anterior. La recuperación del tejido óseo se da especialmente en la situaciones donde la atrofia de la cresta no permite la colocación de los implantes. En caso de atrofia importantes será necesario recuperar el hueso en etapas (4). En una primera etapa, promover una cantidad adecuada de hueso en ancho y altura que nos permitan luego dimensiones adecuadas para la colocación de los implantes, en una etapa posterior.

El tiempo necesario para lograr aumento óseo en los seres humanos está en un rango de 8 a 10 meses. Para reducir este tiempo de espera tanto en la cirugía maxilofacial como la implantología, se han investigado nuevas técnicas que promueven o mejoran la curación del hueso, estas involucran el uso del PRP, ingeniería de tejidos, injertos, autoinjertos, sustitutos óseos, factores de crecimiento, que pueden ser utilizados en combinación con membranas reabsorbibles o no reabsorbibles (10).

En un estudio anterior, realizado por nuestro Laboratorio (Decco *et al.*, 2015) (18), se demostró que las membranas de Cr-Co proporcionan un espacio adecuado para permitir el crecimiento óseo y que la combinación de estas con sangre entera como factor promotor del crecimiento revela los mejores re-

sultados tanto en altura y volumen como calidad ósea. Actualmente pretendemos comparar estos datos obtenidos con aquellos que se conseguirán mediante la utilización de PRP como factor acelerador del crecimiento óseo. Se promueve la aplicación de este concentrado debido a que se han podido observar los efectos positivos del uso de plasma rico en plaquetas (PRP) sobre los factores de crecimiento involucrados en el desarrollo óseo. Éste se produce a partir de la sangre del propio paciente, logrando una alta concentración de plaquetas en comparación con la sangre original. El conocimiento acerca de factores de crecimiento existentes en el PRP y sus características osteoinductivas, permite que el uso de PRP sea un posible método exitoso para promover la curación del hueso (27).

## Materiales y Métodos

### I. Materiales

Se utilizaron 6 conejos macho, raza Leandro de Borgoña adultos de  $3 \pm 0.5$  Kg de peso cada uno (de los cuales 2 se utilizaron como animales de control), a los cuales se les aplicó anestesia general mediante inyección intramuscular de Ketamina 50 (Holliday-Scott S.A, Industria Argentina), con una dosis de 5ml aproximadamente y como anestesia local se empleó Carticaína (Anescart®, LASIFARMA. Industria Argentina), con una dosis de 1,8ml; y Xilazina como miorelajante (de uso veterinario - Industria Argentina -) al 2%, con una dosis de 1ml.

Los obturadores rígidos de Cr-Co de dimensión aproximadamente uniforme de 0.785x0.90x0.095 mm, fueron fabricados en laboratorio particular. Para microfijarlos se utilizaron microtornillos de Vitalio estériles.

La sutura utilizada, de tipo atraumática, fue realizada con hilo de sutura no reabsorbible 3/0 (2 metric) crosstex silk braided.

### II. Procedimiento quirúrgico

Las cirugías fueron llevadas a cabo los días 12, 19 y 26 de abril, los animales fueron intervenidos siguiendo los procedimientos expresados en la tabla 1. Se seccionó el borde mesial de la metáfisis proximal, se rasuró la zona quirúrgica y luego se lavó con Yodo Providone. Se cubrió el animal con ropa de quirófano estéril, con perforaciones para las patas traseras. La superficie ósea se expuso mediante una incisión en la piel y disección subperiosteal. Se le realizaron microperforaciones a 1200 rpm bajo irrigación salina continua. A cada tibia izquierda de los 4 animales de experimentación, se le colocó el preparado de PRP; mientras que a las tibias derechas se dejó solamente la sangre proveniente de las microperforaciones. A las extremidades, se les colocó una membrana rígida de Cr-Co fijadas con microtornillos de Vitalio, con un diseño del obturador que permitió el sellado periférico.

Se registraron los distintos pasos quirúrgicos mediante fotografías.

**TABLA 1.** Procedimientos realizados a cada uno de los animales de experimentación.

Conejo	Fecha cirugía	Días	Pata derecha	Pata Izquierda
1 Control	12/04	110	Microperf.	Membrana
2 Control	12/04	110	Microperf. + Membrana	Microperf. + Membrana + PRP
3	19/04	103	Microperf. + Membrana	Microperf. + Membrana + PRP
4	19/04	60	Microperf. + Membrana	Microperf. + Membrana + PRP
5	26/04	46	Microperf. + Membrana	Microperf. + Membrana + PRP
6	26/04	28	Microperf. + Membrana	Microperf. + Membrana + PRP

\*Microperf.= microperforaciones

\*PRP= plasma rico en plaquetas

### III. Preparación del PRP

Para el ensayo del aumento óseo mediante el uso de plasma rico en plaquetas, la sangre obtenida se centrifugó en una centrífuga TYFON II de Zelian durante 8 minutos temperatura ambiente para la separación de los componentes celulares. Luego, suponiendo que el plasma quedó dividido en 3 capas: una inferior, compuesta por células rojas; una intermedia, compuesta por células blancas y una superior, correspondiente al plasma.

Posteriormente, la capa de plasma se extrajo y se colocó en un tubo de ensayo estéril, que fue centrifugado nuevamente bajo las mismas condiciones, para separar el plasma rico en plaquetas (PRP) del plasma pobre en plaquetas (PPP). El PPP corresponde a la parte superior, mientras que el de interés en este proyecto, el PRP, queda en la base del tubo. Este último se colocó en tubo estéril y se procedió a la formación del coágulo de PRP mediante el uso de Cloruro Cálcico 0.025 M, el cual fue insertado sobre las microperforaciones.

### IV. Estudios Macroscópico

Durante el período de cautiverio, los conejos fueron mantenidos en jaulas individuales durante los 28, 46, 60, 103 y 110 días postoperatorios correspondientes según el conejo (T: 18 a 22 °C; HR: 50 a 55%; luz natural), con provisión ad libitum de alimento balanceado para mantenimiento y agua. Durante la primera semana luego de la cirugía se observó el estado clínico de los animales diariamente, y luego de este período la frecuencia de observación fue semanalmente. Los animales consumieron alimento balanceado (de mantenimiento) para conejos.

### V. Procesamiento de los tejidos

Uno de los animales se sacrificó a los 28 días luego de la intervención, otro a los 46 días y los últimos dos a los 60 y 103 días. Se seccionó la zona de la tibia donde se encontraba el obturador. En el conejo testigo se seccionó la zona equivalente.

### VI. Estudios macroscópicos y morfométricos

Luego del sacrificio se retiraron los obturadores. Se observaron las muestras óseas macroscópicamente mediante lupa estereoscópica. Se tomaron datos morfológicos y se realizó el estudio morfométrico mediante el empleo de software Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co., China).

### VII. Estudios densitométricos

Se realizaron placas radiográficas antes de la cirugía, al finalizar la misma, a mitad de la vida estipulada de los animales (14, 21 y 53 días) y después del sacrificio, empleando el sistema de radiografías digitales Digora®. En todos los casos, el área seleccionada para la medición fue el hueso circundante al microtornillo y la membrana, con una selección homogénea de 10x10 píxeles, en 5 posiciones, a diferentes distancias de estos elementos.

Para el análisis, se procesó dichos datos mediante el software estadístico SPSS®, mediante la prueba de los signos y de chi cuadrado.

### VIII. Estudios histológicos

Se procesaron con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina. Se realizaron las observaciones mediante microscopía óptica.

### IX. Exámenes histomorfométricos

Luego del procedimiento realizado para la toma de las correspondientes muestras para el estudio histológico, se sometió a los ejemplares remanentes a cortes transversales en varios fragmentos según Mandarim de Lacerda (2003) (37) y posteriormente se retiró todo el tejido blando.

Se realizó un desgaste mediante pulido con papel de lija de grano 1000 para rebajar la superficie y permitir un mejor procesamiento.

Las biopsias se fijaron en solución de formaldehído al 10% durante 48 horas, se descalcificaron en solución de ácido nítrico al 7%.

Se adquirieron imágenes de cada pieza completa tomadas bajo las mismas condiciones y con un referente (regla) para poder escalar al realizar el estudio con el software correspondiente. La prueba de biometría consiste en realizar medidas de longitudes, áreas y perímetros en puntos similares de la muestra, magnitudes que serán comparadas entre ellas y/o con otras muestras.

### Resultados

#### Estudio de las membranas

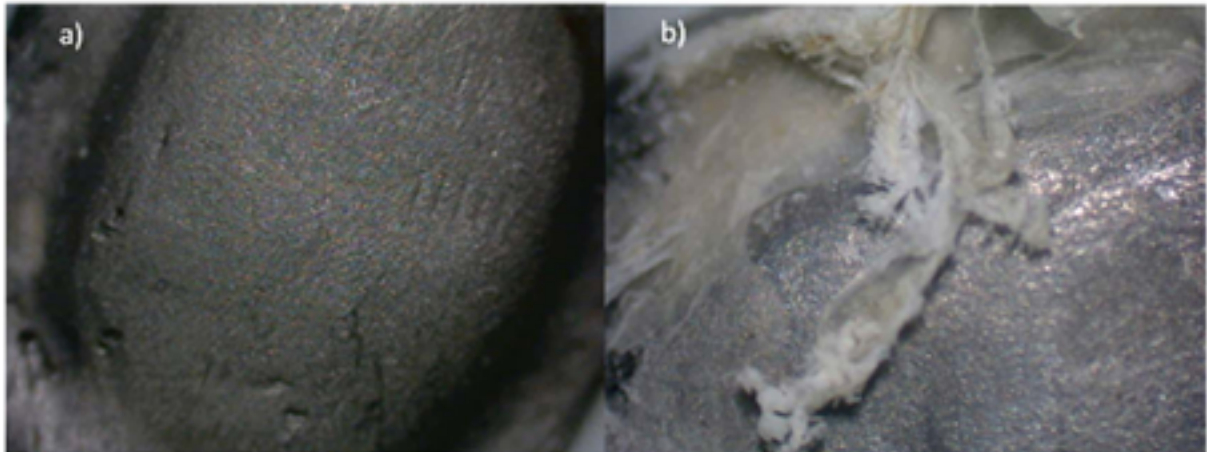
Las membranas empleadas en el estudio fueron fabricadas en un laboratorio particular. La superficie interna de las mismas (Figura 1) fue sometida a un tratamiento de granallado para la obtención de rugosidades adicionales con la finalidad de proveer mayor superficie para favorecer la nucleación de células óseas en el sitio. Luego, ambas superficies fueron sometidas a un tratamiento biácido mediante sumersión en soluciones de HF, primero y HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> luego, para otorgar limpieza, pasivado y suavizado de la superficie rugosa dada por el tratamiento inicial (Figura 2).

a)

b)



**FIGURA 1.** Superficie interna de la membrana utilizada en la experiencia. Imagen obtenida mediante lupa estereoscópica. A) 2X; b) 4X.

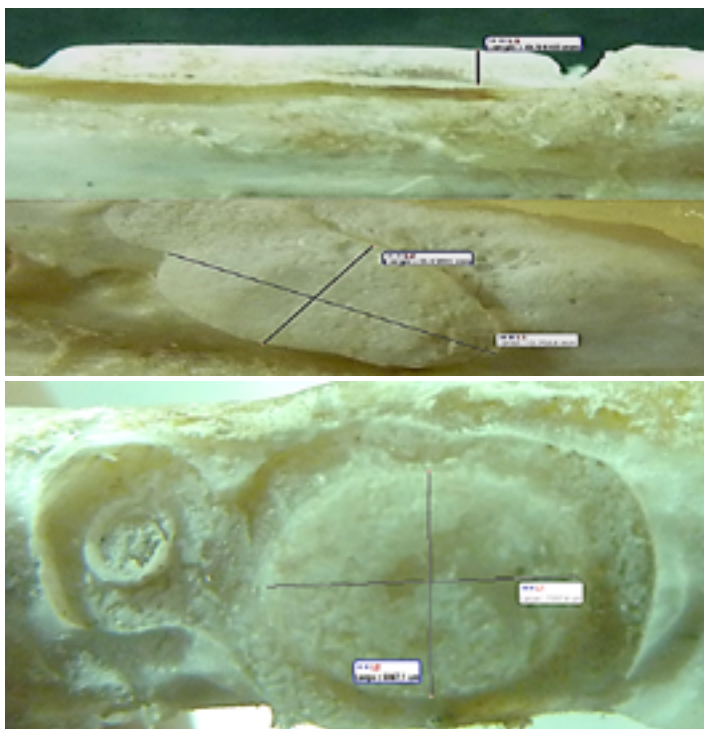


**FIGURA 2.** Superficie externa de la membrana utilizada en la experiencia. Imagen obtenida mediante lupa estereoscópica. A) 2X; b) 4X, con vestigios de tejido óseo.

### Estudio macroscópico

Luego del sacrificio de cada uno de los animales de experimentación, el aumento de hueso se observó en casi todos los casos, incluso a veces por encima de la membrana Cr-Co, a excepción de la tibia tratada con PRP del primer conejo, sacrificado a los 28 días, en el cual no se evidenció aumento alguno.

Se midieron alto, ancho y longitud del hueso recién formado, a partir de las imágenes macroscópicas (Figura 3) con el fin de obtener la longitud vertical y el volumen de hueso para cada grupo (Tabla 1).



**FIGURA 3.** Imágenes macroscópicas de la zona ósea aumentada en la tibia de conejo. (a) Vista lateral utilizada para medir la altura de aumento óseo. (b) Vista superior utilizada para medir la anchura y la longitud del hueso formado.

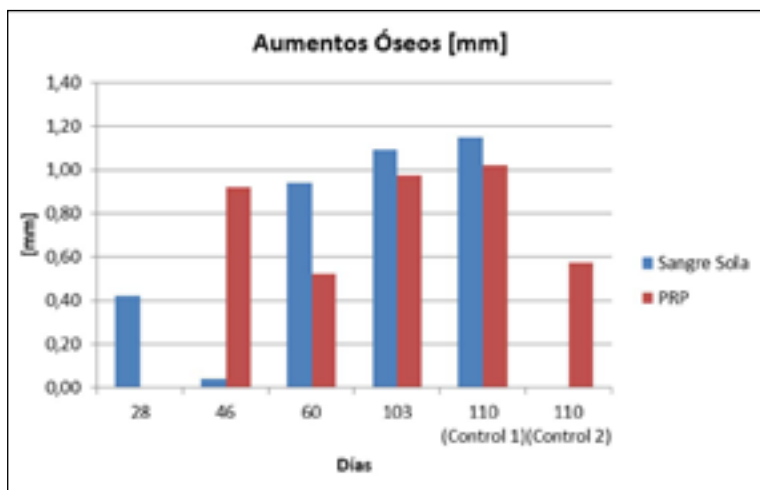
En la siguiente tabla se indican los volúmenes óseos obtenidos en cada tibia y el porcentaje del mismo, respecto al volumen interno ofrecido por la membrana, para cada uno de los tratamientos realizados.

**TABLA 2.** Volúmenes óseos logrados y valores respecto al volumen de la membrana.

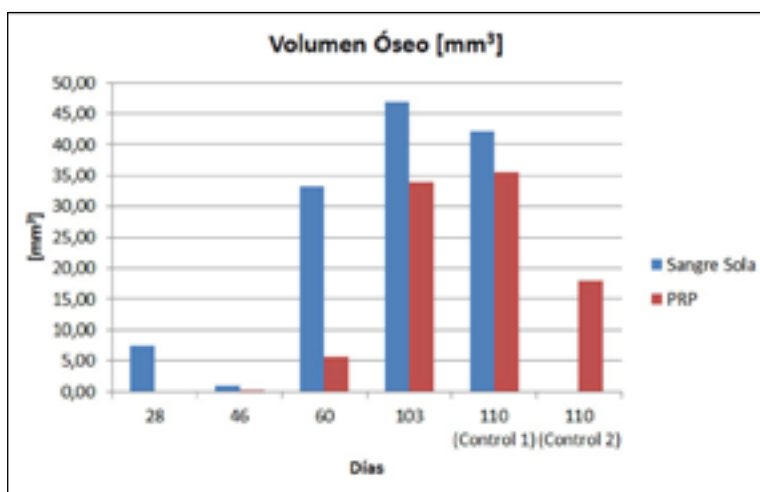
Sangre Entera					
Días	Dimensiones de la membrana [mm] (profundidad-longitud- ancho)	Volumen interior de la membrana (VM) [mm <sup>3</sup> ]	Dimensiones del aumento [mm] (profundidad-longitud- ancho)	Volumen de hueso logrado (VH) [mm <sup>3</sup> ]	% (VH/ VM*100)
28	7,85x8x0,0	-	0,42x5,32x4,24	7,44	-
46	3,6x7,3x0,35	9,2	0,04x6,49x5,17	1,05	11,41
60	5,35*7,8*1,2	50,08	0,94x8,07x5,58	33,24	66,37
103	5,3x7,6x1,1	44,31	1,09x8,95x6,13	46,97	106,00
110 (Control 1)	5,25x7,6x1,2	47,88	1,15x8,48x5,49	53,54	111,82
110 (Control 2)		-	-	-	-
PRP					
Días	Dimensiones de la membrana [mm] (profundidad-longitud- ancho)	Volumen interior de la membrana (VM) [mm <sup>3</sup> ]	Dimensiones del aumento [mm] (profundidad-longitud- ancho)	Volumen de hueso logrado (VH) [mm <sup>3</sup> ]	% (VH/ VM*100)
28	5,85x10x1,75	102,37	0,0x5,89x3,97	-	-
46	3,95x5,75x0,55	12,49	0,92x0,75x0,44	0,24	1,92
60	4,5x5,85x0,95	25,01	0,52x4,53x3,07	5,68	22,71
103	5,5x7,8x1,1	47,19	0,97x7,95x5,61	33,98	72,01
110 (Control 1)	5,35x7,55x1,15	46,45	1,02x7,8x5,7	45,35	97,63
110 (Control 2)	4,2x5,9x0,75	18,59	0,57x7,45x5,4	22,93	123,35

Luego de las observaciones macroscópicas post sacrificio y de la obtención de las mediciones correspondientes que fueron volcadas en la Tabla 2, se realizaron gráficos representativos de los resultados obtenidos en las dos situaciones estudiadas (Gráficas 1, 2 y 3).

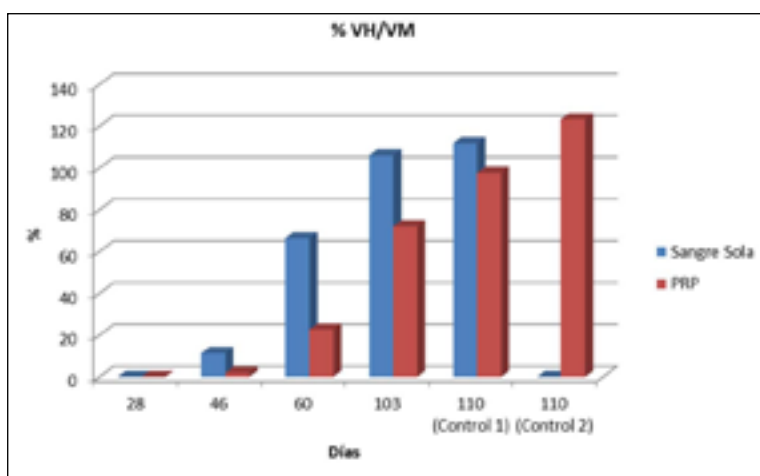




**GRÁFICA 1.** Aumento de hueso logrado en cada tratamiento.



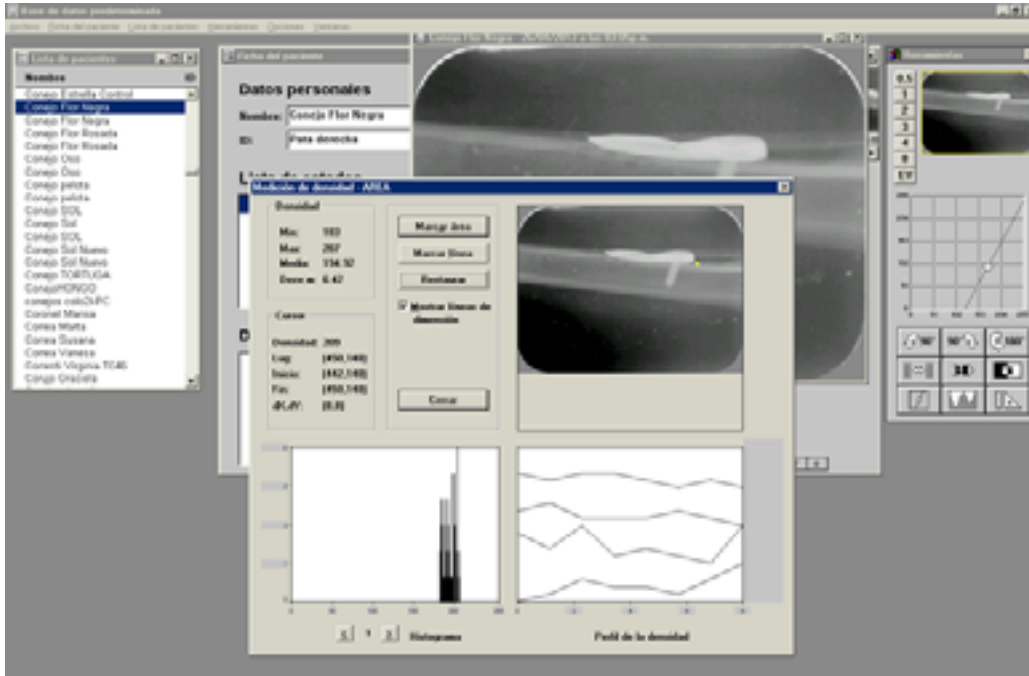
**GRÁFICA 2.** Volumen de hueso obtenido.



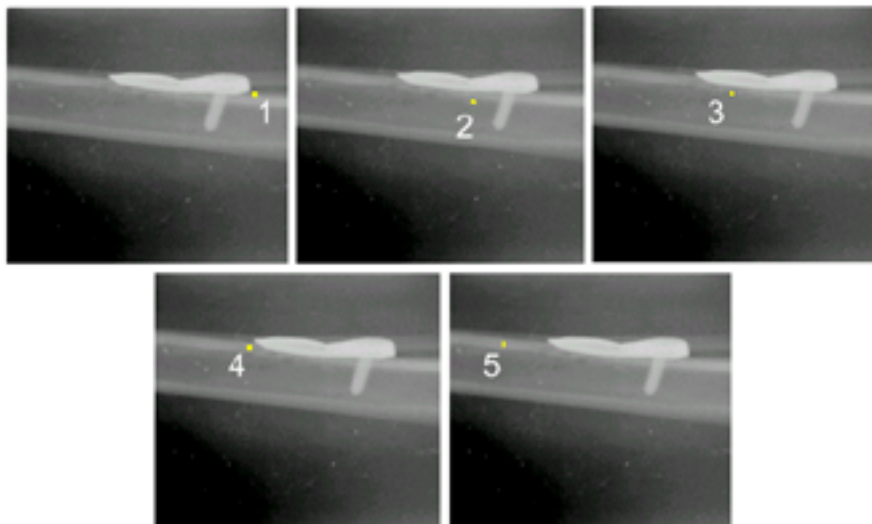
**GRÁFICA 3.** Porcentaje del volumen óseo logrado, respecto al volumen interno ofrecido por la membrana.

### Estudio Densitométrico

El control radiográfico se llevó a cabo a través el sistema Dígora®. A través del mismo también se evaluó la densidad ósea de cada espécimen. A continuación se puede observar la interfaz de trabajo del sistema Dígora® (Figura 4).



**FIGURA 4.** Interfaz del Sistema Dígora®.

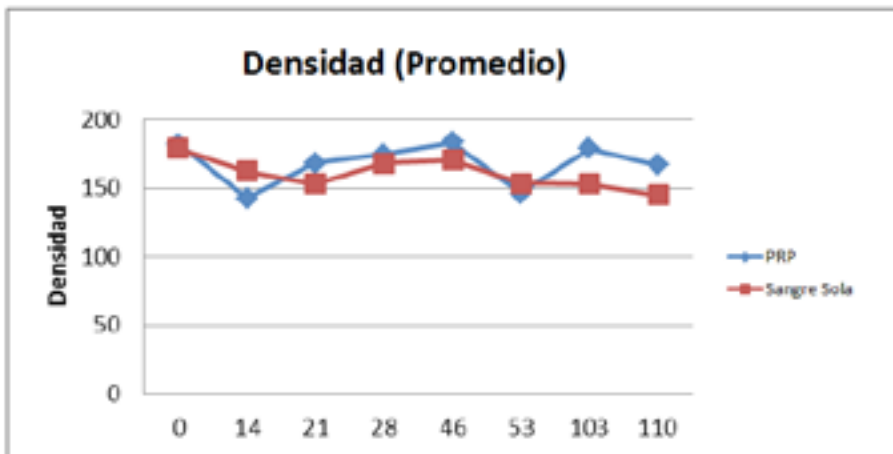


**FIGURA 5.** Puntos en que se realizaron las mediciones de densidad ósea en cada imagen radiológica.

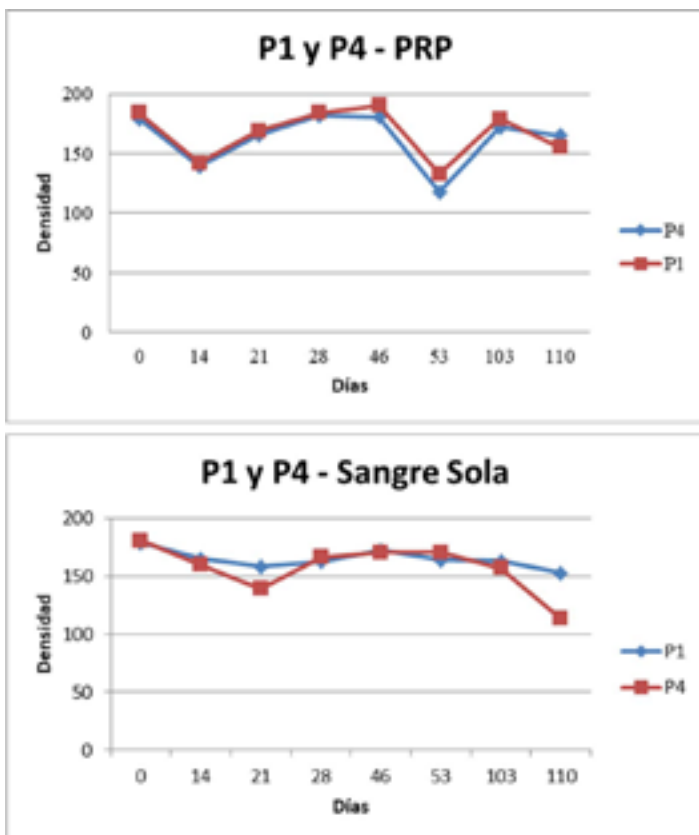
En todos los casos, el área seleccionada para la medición fue el hueso circundante al microtornillo y la membrana, con una selección homogénea de 10x10 píxeles. Se tomaron 5 posiciones, a diferentes distancias de estos elementos (Figura 5).

Para el análisis densitométrico se procesó dichos datos mediante el software estadístico SPSS®, mediante la prueba de los signos y de chi cuadrado.

El objetivo en esta instancia, consistió en cuantificar la diferencia de densidad entre las muestras con PRP y sin éste, en distintos tiempos (Gráfica 4), para lo cual se empleó como variable dependiente la densidad y como variable independiente el tipo de tratamiento (con y sin PRP). Se evaluaron las diferencias entre las densidades a un mismo tiempo, al principio (luego de la cirugía) y al final del estudio, para cada tratamiento (Gráfica 5).



**GRÁFICA 4.** Densidad promedio para cada grupo a lo largo del estudio (Cirugía, controles y sacrificio).



**GRÁFICA 5.** Densidad del hueso con y sin PRP en el área circundante a ambos extremos de la membrana.

**TABLA 3.** Pruebas estadísticas a distintos tiempos durante la experiencia, y al inicio y final de la misma.

	Pruebas Estadísticas <sup>b</sup> - Exact Sig. (2-tailed)
DensidadSinPRP0-DensidadPRP0	0,424 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP14-DensidadPRP14	0,021 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP21-DensidadPRP21	0,109 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP28-DensidadPRP28	0,344 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP46-DensidadPRP46	0,063 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP53-DensidadPRP53	1,000 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP103-DensidadPRP103	0,063 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP110-DensidadPRP110	0,063 <sup>a</sup>
DensidadPRP110-DensidadPRP0	1,000 <sup>a</sup>
DensidadPRP110-DensidadPRP0	0,375 <sup>a</sup>

a. Distribución binomial utilizada.

b. Prueba de los signos.

**TABLA 4.** Pruebas estadísticas correspondientes a la densidad antes y después de la colocación del obturador, para ambos tratamientos.

	Pruebas Estadísticas <sup>b</sup> - Exact Sig. (2-tailed)
DensidadPRP0-DensidadIzqAC	0,000 <sup>a</sup>
DensidadSinPRP0-DensidadIzqAC*	0,000 <sup>a</sup>

a. Distribución binomial utilizada.

b. Prueba de los signos.

\*DensidadIzqAC: densidad pata izquierda antes de la cirugía.

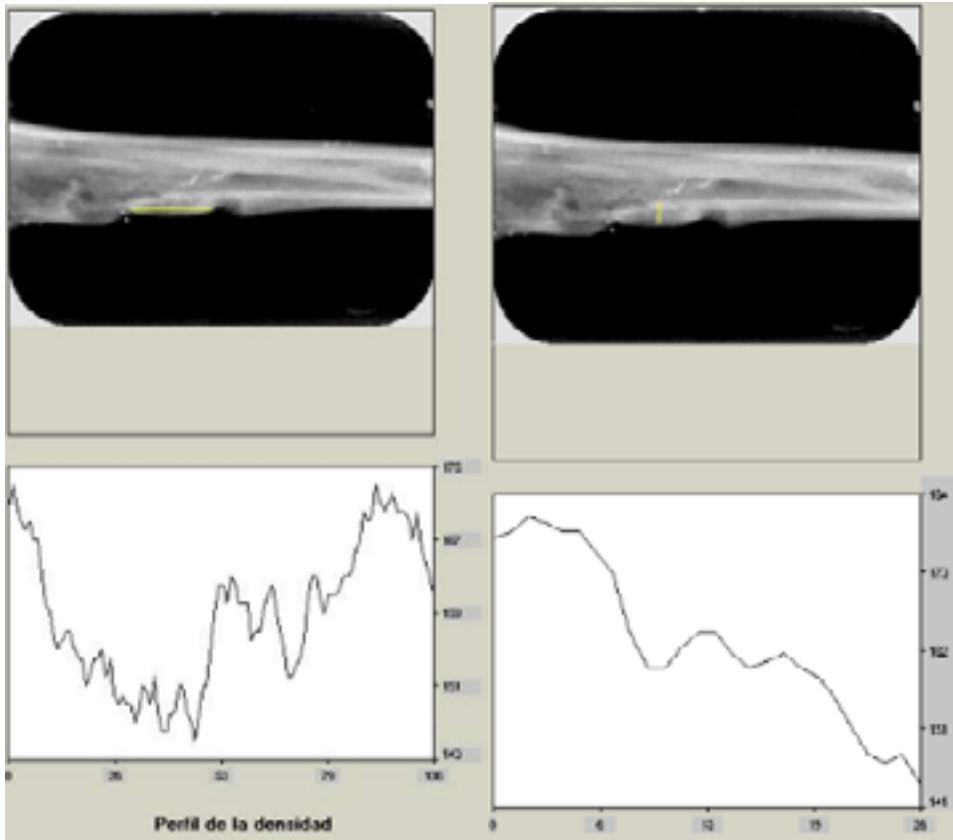
Se utilizó la prueba “Chi-cuadrado” para determinar si existió relación entre el tratamiento empleado (PRP y sangre sola) y el tipo de callo óseo formado (hueso compacto, o compacto y laminar) en cada caso (Tabla 5).

**TABLA 5.** Pruebas estadísticas correspondientes a la densidad con sangre sola y PRP, y el tipo de callo óseo.

	Valor	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Chi-Cuadrado de Pearson	0,400 <sup>a</sup>	1	0,527		

a. 4 células (100,0%). El mínimo recuento esperado es 2,50.

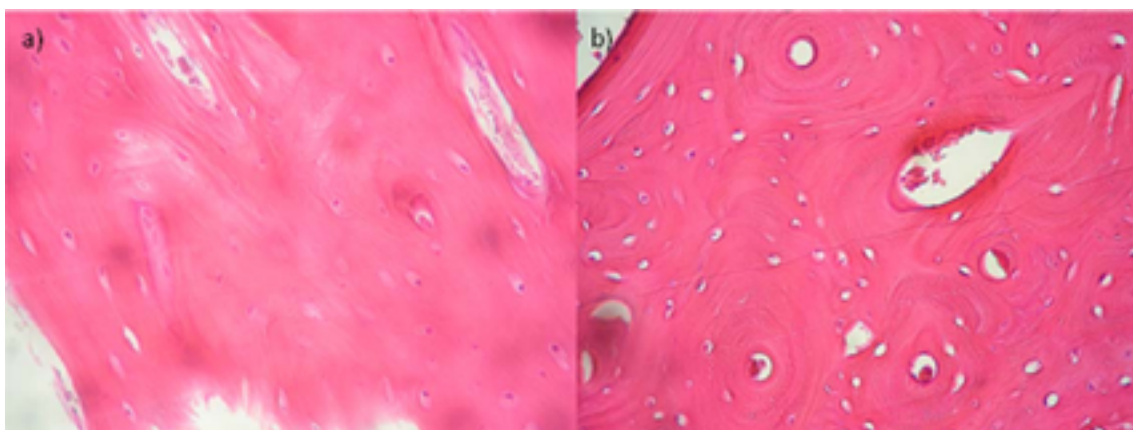
Al analizar el perfil de densidades sobre las radiografías del aumento en sentido vertical se pudo observar un perfil que indica mayor densidad en los extremos del aumento cercanos a la membrana, disminuyendo hacia el interior. Lo mismo sucede en sentido horizontal, los valores de densidad disminuyen a medida que nos alejamos de la superficie del hueso. Las zonas de densidad más baja indicarían la formación de hueso reciente, lo que concordaría con una tendencia a la formación ósea centrípeta, desde los extremos hacia el centro (Figura 6).



**FIGURA 6.** Perfil de densidades encontrado en las dimensiones vertical y horizontal del aumento óseo.

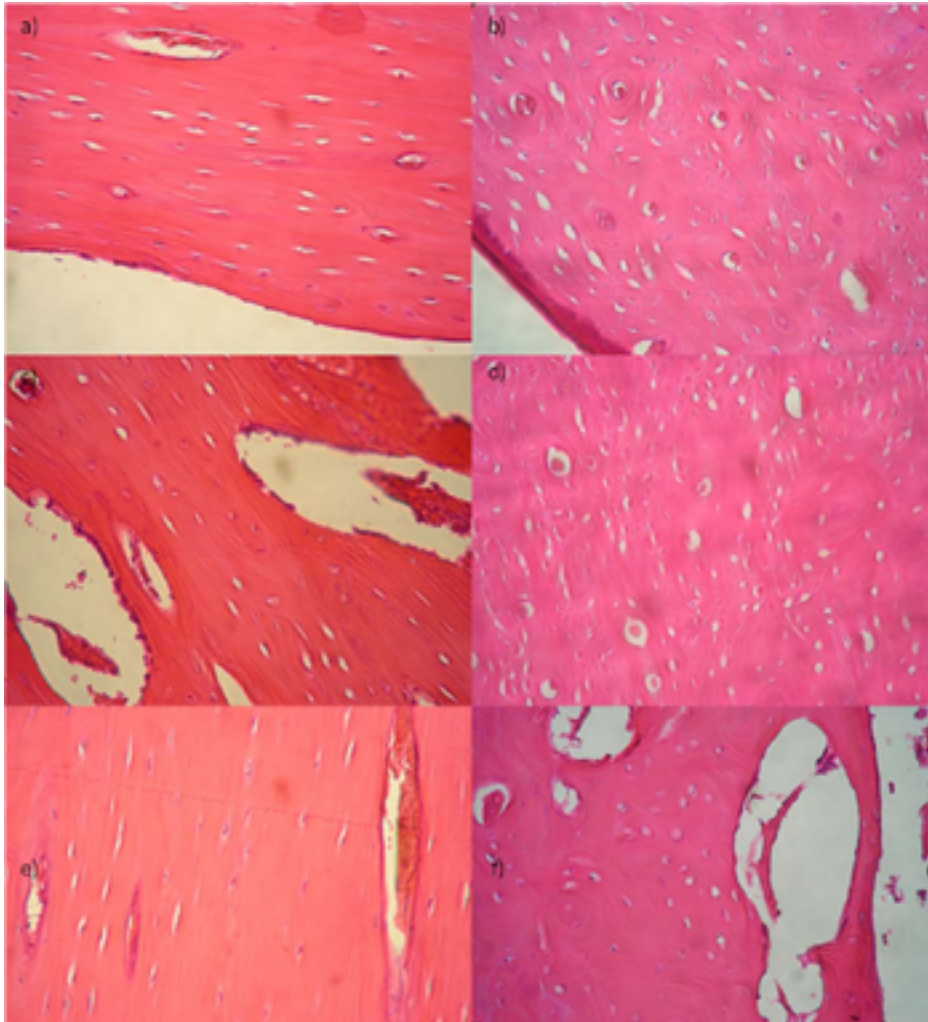
### Estudio Histológico

A los 28 días de la intervención, luego del sacrificio del primer animal, se detectó actividad celular alta en la extremidad con sangre sola, observándose hueso compacto y laminar, con 200 células osteoblásticas en promedio (Figura 7-a). En la muestra de la extremidad con PRP, se observó solo hueso compacto con un recuento de 25 osteoblastos promedio (Figura 7-b).



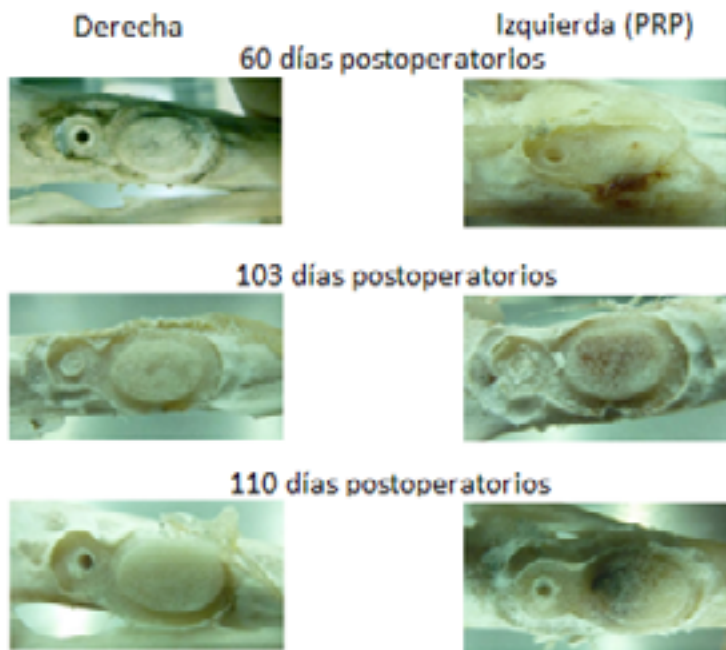
**FIGURA 7.** Histología a los 28 días de un sitio tratado con: a) sangre sola b) PRP. (Aumento original 40X; hematoxilina y eosina).

A los 46, 60 y 103 días, se detectó mayor actividad celular en la extremidad tratada con PRP, con conteos de 480, 440 y 95 osteoblastos, respectivamente; en comparación a la tratada con sangre sola, en la que se encontraron 109, 224 y 10 osteoblastos promedio (Figura 8).



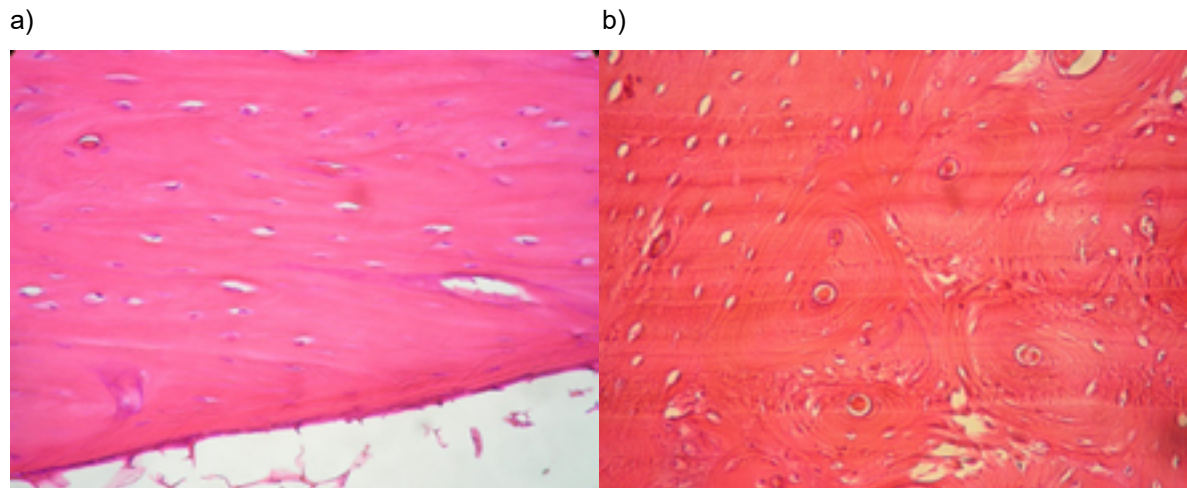
**FIGURA 8.** Histología a los 46, 60 y 110 días respectivamente de sitios tratados con: a), c) y e) sangre sola; b), d) y f) PRP. (Aumento original 40X; hematoxilina y eosina).

Debemos resaltar que a los 60 días, en la extremidad tratada con PRP, se produce un aumento en el número de osteoblastos y a partir de esa etapa, se vuelve evidente la proliferación de vasos e irrigación sanguínea en el sitio del aumento (Figura 9). Sin embargo, en la extremidad opuesta no se observa esta angiogénesis.



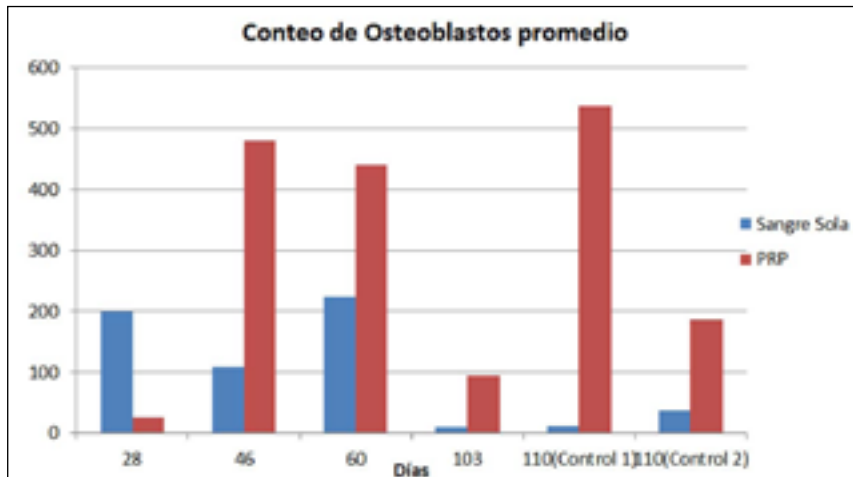
**FIGURA 9.** Muestra macroscópica de los aumentos a partir de los 60 días postoperatorios.

En cuanto el conejo de control, en la pata en la que se realizaron únicamente microperforaciones se encontró una baja actividad celular (12 osteoblastos promedio), con hueso completamente compacto (Figura 10-a). En la tibia opuesta, en la que se colocó solamente un obturador de Cr-Co, se encontró una alta actividad celular, con un conteo de 536 osteoblastos promedio y la presencia de hueso compacto y laminar (Figura 10-b).



**FIGURA 10.** Histología del animal testigo a los 110 días, en sitios tratados con: a) microperforaciones; b) Membrana de Cr-Co sin microperforaciones. (Aumento original 40X; hematoxilina y eosina).

Para el recuento de osteoblastos se utilizó un aumento de 40X, se localizaron 10 campos en cada muestra. Se realizó un conteo dentro del área. En la gráfica 6 se muestra el número de osteoblastos promedio relevado para cada tratamiento a lo largo de la experiencia.



**GRÁFICA 6.** Histología del animal testigo a los 110 días, en sitios tratados con: a) microperforaciones; b) Membrana de Cr-Co sin microperforaciones. (Aumento original 40X; hematoxilina y eosina).

### Estudio histomorfométrico

Al finalizar la toma de muestras para el estudio histológico, las tibias fueron transversalmente seccionadas en ocho fragmentos cubriendo la zona donde se colocó el obturador y sus alrededores, se retiró el tejido blando (médula) y se lavaron.

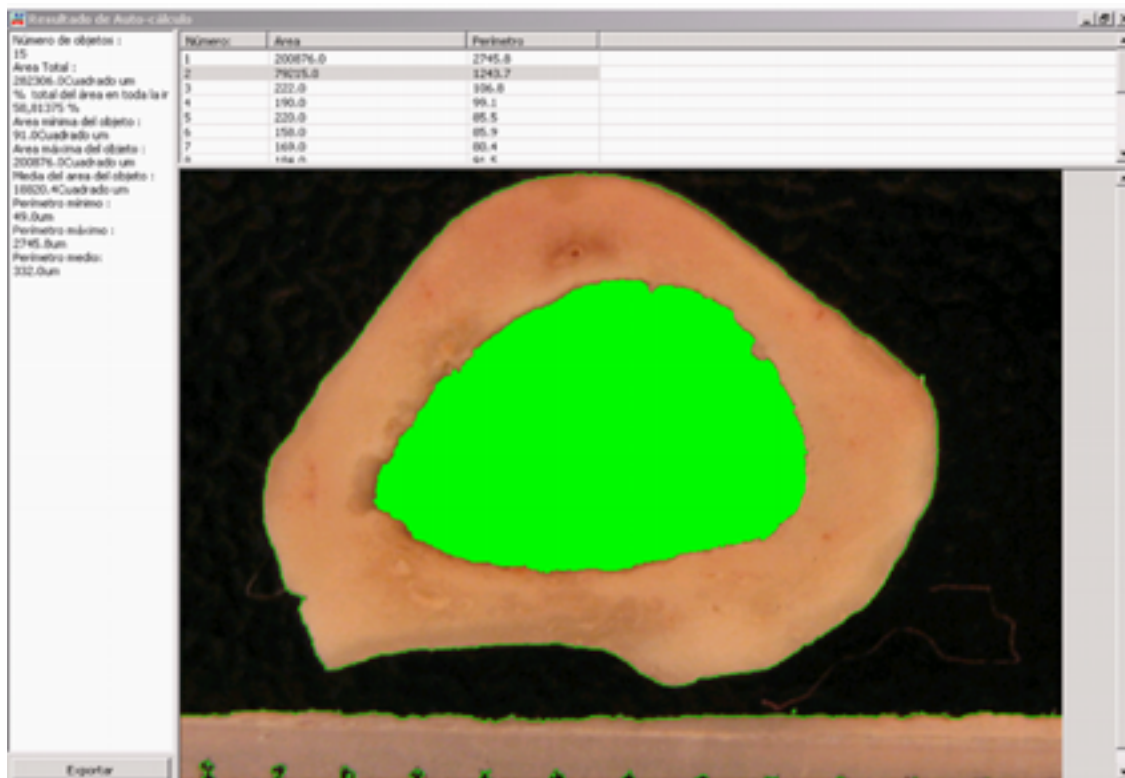
Debido a que no se contó con el tiempo suficiente para analizar todos los ejemplares, se estudió solo la extremidad derecha del conejo sacrificado a los 60 días, y se comparó los resultados con los obtenidos para la misma extremidad del animal de control 1.

Se realizaron pruebas biométricas y un análisis macroscópico a cada pieza de hueso. Se adquirieron imágenes con una cámara digital (Figura 11) y con la ayuda del programa Motic Images Plus 2.0 ML se calcularon área y perímetro de hueso cortical y del espacio medular (Figura 12). Con la ayuda del software libre de la serie TPS, se realizó el estudio de forma de las secciones de la muestra (Adams, 2003) (1). La digitalización y ubicación de landmark (Figura 13) se realizó con el programa TPS Dig donde se ingresaron una a una las imágenes de las muestras por espécimen. Se escaló y luego se ubicaron cuarenta y cuatro landmark describiendo los contornos. El estudio de las deformaciones se realizó en el programa Thin – Plate Spline y se obtuvo la imagen promedio con el software TPS Relw.

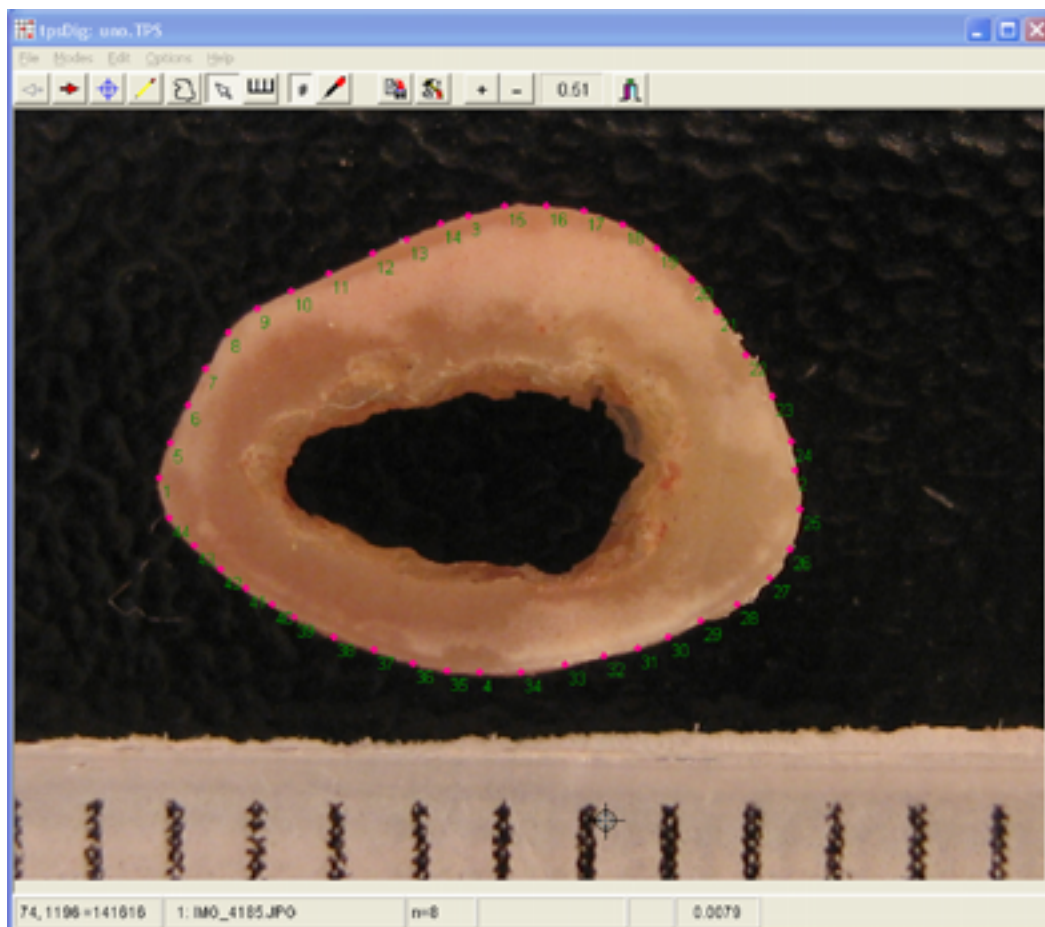




**FIGURA 11.** Muestra de hueso para histomorfometría.

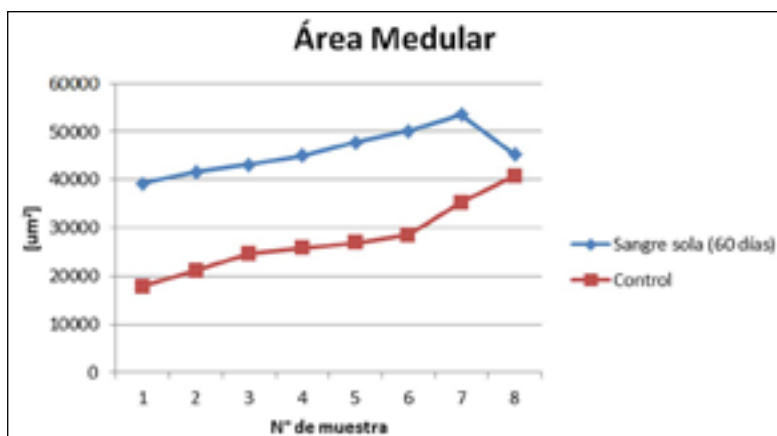


**FIGURA 12.** Determinación de área y perímetro del hueso.

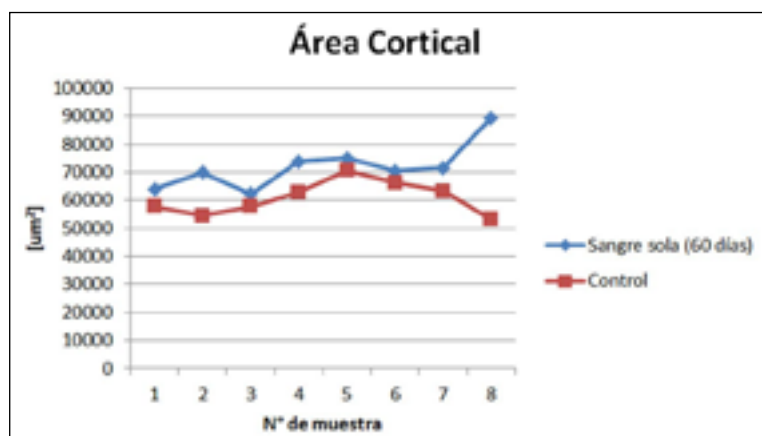


**FIGURA 13.** Ubicación de landmarks.

La medición de las áreas del espacio medular y del tejido cortical permite reconocer un comportamiento creciente. Con la ubicación de los landmark y la superposición de estos se obtuvo una figura promedio que permitió la comparación y el cálculo de desviaciones en cada muestra.



**GRÁFICA 7.** Área de la sección medular.



**GRÁFICA 8.** Área de la sección cortical.

## Discusiones

El uso del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en aquellos casos donde es necesario lograr regeneración o aumento de volumen óseo, se debe a su alta concentración de plaquetas, y consecuente liberación de factores de crecimiento (FC). En contraste con otros agentes osteoinductivos como las proteínas morfogenéticas óseas 2 y 7 (PMO-2 y PMO-7), el PRP de origen autólogo no causa ningún riesgo de alergias ni reacciones injerto vs. huésped (5). Entre los factores de crecimiento contenidos en el PRP encontramos PDGF (FC Derivado de Plaquetas), TGF $\beta$  (FC Transformante Beta), VEGF (FC Vasculo-Endotelial), EGF (FC Endotelial), IGF-1 (FC Insulínico 1) y PF-4 (FC Plaquetario 4) (7, 31). Experimentos *in vitro* han demostrado que cada uno de estos factores tiene diferentes efectos en la formación del hueso (24). Las actividades específicas más importantes del PDGF, factor que se encuentra en altas concentraciones en las plaquetas, incluyen mitogénesis, angiogénesis y activación de macrófagos, mientras que no sólo es responsable por el proceso de curación, sino que además sirve como una fuente secundaria para continuar la reparación y la regeneración ósea. El TGF $\beta$  es producido en las plaquetas y en los macrófagos (30), actúa como un factor de crecimiento autócrino y parácrino (activando células adyacentes, especialmente fibroblastos, células de la médula ósea y preosteoblastos, los cuales pueden producir su propio TGF $\beta$ ); esta es la razón por la cual el TGF $\beta$  representa un mecanismo para sostener la curación y la regeneración ósea a largo plazo, e inclusive evolucionar a un factor de remodelación ósea a lo largo del tiempo (38). Las funciones más importantes del TGF $\beta$  parecen ser la quimiotaxis y la mitogénesis de osteoblastos, además inhibe la formación de osteoclastos y la resorción ósea (55). En un estudio *in vitro* sobre osteoblastos (Células tipo "SaOS-2"), Lavinia Casati *et al.* (2014) (11), mostraron que el PRP tiene efectos sobre los mecanismos responsables del movimiento celular incrementando la quimiocinética y la quimiotaxis; además produce un aumento transitorio en la expresión del receptor del PDGF, que es el factor responsable de disparar estos mecanismos.

El enriquecimiento con PRP puede influir en la etapa temprana de la curación ósea. Dado que las plaquetas tienen una esperanza de vida aproximada de 5 a 7 días, dicha influencia irá disminuyendo gradualmente (57, 3) en las etapas siguientes. La acción de las plaquetas en el contexto de la curación ósea trabaja mediante dos mecanismos: durante la fase temprana, a través de la liberación de factores de crecimiento y citoquinas; y tardíamente, mediante la quimiotaxis y la activación de macrófagos (36).

A pesar de que la liberación de proteínas puede durar 1 hora, la vida media de un FC es de pocos minutos. Luego que el PRP es colocado en el defecto, se formaría una cavidad baja en oxígeno la cual contiene suficientes plaquetas, cariocitos, leucocitos, y fibras colágenas adyacentes a las células

óseas, osteoblastos y células estromales mesenquimales. La diferencia de oxígeno entre ésta cavidad y el tejido circundante puede promover la concentración de macrófagos en el sitio (57, 3).

Malhotra *et al.* (2013) (36) reportaron una disminución en la liberación de TGF- $\beta$ , para lo cual sugirieron un posible decremento de la función de las plaquetas cuando se utilizan altas fuerzas de centrifugado. Una pobre liberación de factores de crecimiento se atribuye, generalmente, a una activación prematura y daño en las plaquetas durante el procesado de técnicas agresivas, que con el objetivo de conseguir altas concentraciones, pueden resultar en un PRP de inferior calidad. En un estudio *in vitro* llevado a cabo por Choi *et al.* (15) se halló que altas concentraciones de PRP podrían suprimir la viabilidad y proliferación de las células del hueso alveolar.

Miloro *et al.* (2010) (40) concluyeron que el PRP parecía no proveer estadísticamente ningún beneficio significativo, tanto cuando se aplicaba junto con rellenos óseos como cuando se aplicaba solo. Sin embargo, más recientemente, Daif *et al.* (2013) (16) estudiaron el efecto del PRP en la regeneración de hueso en fracturas mandibulares, concluyendo que la aplicación directa de PRP sobre las líneas de la fractura puede mejorar la regeneración ósea.

En la revisión de Roffi *et al.* (2013) (49) expresan que no hay evidencias para crear claras conclusiones del rol del PRP como procedimiento de aumento. En este sentido, establecen que se deben aclarar varios aspectos, como por ejemplo, cuales biomateriales pueden potenciar el efecto del PRP, y cuál sería el mejor protocolo tanto para la producción como para la aplicación de este concentrado. Francesca Perut *et al.* (2013) (43) demostraron que la actividad biológica de los concentrados de plaquetas varía de acuerdo a la técnica utilizada para su obtención ya que esta afecta el contenido de plaquetas, leucocitos y la disponibilidad de los factores de crecimiento. Por su parte Massimo Del Fabbro *et al.* (2011) (19) evaluaron los resultados obtenidos de la utilización de concentrados autólogos de plaquetas en el aumento de seno maxilar, la mitad de los estudios considerados evidenciaban efectos positivos en la utilización de PRP y la otra mitad no encontró efectos significativos; hallaron heterogeneidad entre los métodos utilizados, considerando los biomateriales (por ejemplo relleno óseo) y la forma de preparación del PRP y los protocolos, no encontrando una ventaja clara en la utilización de PRP.

Además de sustancias osteoinductivas como el PRP, varios autores han estudiado la influencia de la utilización de membranas en los procedimientos de aumento óseo, algunos demostraron efectos positivos en la regeneración de defectos óseos (39), otros crearon un debate continuo con respecto a si la membrana de barrera debe ser usada para cubrir el sitio aumentado (14). Los objetivos de la aplicación de la membrana son que ésta prevenga la resorción ósea protegiendo al injerto frente a los factores inhibidores y fibroblastos (20), manteniendo a las sustancias osteoconductoras *in situ* (34, 56), conservando el espacio y permitiendo que éste sea gradualmente ocupado por tejido neoformado (6).

En cuanto a las membranas fabricadas para este estudio, la formación de hueso es posible debido a su diseño de ingeniería y su topografía. Una cuestión importante es, si la arquitectura de la membrana y su naturaleza podrían influir en la inhibición de osteoclastos y en la proliferación de osteoblastos en la superficie o en sus inmediaciones, cuestión que sigue siendo un problema abierto, factible de ser investigado en estudios futuros. En este sentido, Chen F-M *et al.* (2010)(13) observaron que la presencia de una membrana podría haber prevenido negativamente la diferenciación osteoblástica estimulada por el periostio. Para aprovechar esta estimulación a favor del aumento deseado, la técnica de colgajo utilizada en el presente estudio no remueve el periostio de la superficie ósea, sino que lo preserva realizando microp perforaciones sobre el mismo, utilizándolo como potenciador de la formación ósea. Se ha demostrado que la topografía de la superficie del obturador altera la expresión de la Osteoprogesterina (OPG) mediante las células MG63 adherentes (44), que producen transducción de la señalización, transcripción, regulación, proliferación y apoptosis del ciclo celular, además de la formación de citoesqueleto. Davies *et al.* (2009) (17) mencionaron que la topografía de la superficie puede afectar el número y la actividad osteoclástica demostrando que la población de células progenitoras está influenciada

por la superficie de la membrana. El óxido de superficie podría haber tenido un efecto favorecedor en la arquitectura de la matriz extracelular y en la actividad celular próxima a la membrana. Además, se ha demostrado que la colocación de membranas oclusivas osteoconductoras no reabsorbibles facilitan la formación ósea (53, 50), favoreciendo la inducción del aumento y regeneración del hueso, mejorando los resultados de técnicas que utilizan sustitutos óseos (46).

A pesar de que varias mejoras en regeneración ósea han sido halladas, se necesitan más pruebas para determinar si existen beneficios estadísticamente significativos en el uso del PRP y si su aplicación clínica resultará en mejoras en la regeneración ósea, no sólo radiográfica e histológicamente, sino también en los resultados clínicos (40).

En el presente estudio, el propósito fue estimular el crecimiento óseo vertical, basándonos en defectos no críticos (28), a través de la combinación de sangre entera, PRP y membranas no reabsorbibles de Cromo-Cobalto (Cr-Co) microfijadas. Esta microfijación fue realizada para prevenir el desplazamiento de la membrana y estabilizar el coágulo sanguíneo, factor importante ya que éste actúa como una matriz extracelular donde las células pueden crecer, y además contiene factores de crecimiento (41).

En el estudio macroscópico se observó una coloración marrón en el aumento óseo en las extremidades a las que se les aplicó PRP a partir de los 60 días postoperatorios; dicha coloración podría deberse a una baja mineralización del osteoide (33) o a una mayor angiogénesis.

El volumen óseo obtenido fue mayor en las extremidades tratadas con sangre sola, en todas las etapas del estudio.

El estudio histológico revela que, en la primera etapa (0 a 28 días) se obtuvo un aumento en la extremidad tratada con sangre sola, donde se observó tanto hueso compacto como laminar y un mayor número de osteoblastos en la zona central del aumento, respecto a la extremidad tratada con PRP; en la cual se observó solamente hueso compacto, encontrándose una baja actividad osteogénica.

Gerard *et al.* (2006) (25) concluyeron que el PRP promueve el proceso de curación únicamente durante la fase temprana (primeros 2 meses) al ser utilizado con autoinjertos en mandíbulas de perros. Luego de este tiempo el PRP no agrega efectos beneficiosos desde el punto de vista de la curación ósea, volumen óseo, o densidad radiológica. En un estudio posterior, los mismos autores (Gerard *et al.*, 2007) (26) concluyeron que el PRP aumentaría el número de osteoblastos y osteoclastos en el sitio del relleno solamente durante el primer mes. Del segundo al sexto mes, no se hallaron diferencias significativas en el número total de osteoblastos y osteoclastos entre los sitios con y sin PRP. Sin embargo, en nuestro estudio, en la segunda etapa (46 días) se observa un mayor aumento en la extremidad tratada con PRP, tanto en la altura ósea como en el número de osteoblastos, debido a que los estudios de microscopía indicaron presencia de hueso compacto y laminar; dicha situación podría tener explicación en base a la actuación de los FC presentes en el PRP, que proporcionaron las condiciones necesarias para favorecer la angiogénesis, estimulando una mayor actividad celular. En cambio, en la extremidad tratada con sangre sola se observó una menor actividad, acompañada por una menor cantidad de vasos sanguíneos, observándose solamente hueso compacto.

En la tercera etapa (60 días), la extremidad tratada con sangre sola mantiene su velocidad de crecimiento, con un mayor número de osteoblastos respecto a su semejante en la etapa anterior. En tanto que sobre la tibia opuesta, se experimenta una pequeña disminución cuantitativa de osteoblastos. En ambas se reportó la presencia de hueso compacto y laminar.

Aghaloo *et al.* (2002) (2) reportaron el uso de PRP en defectos óseos craneales de conejo; al final del estudio, los resultados no mostraron diferencias significativas para los defectos tratados con el agregado de PRP. En la cuarta etapa de la experiencia (103 días), se encontró un hueso con altura máxima en ambas extremidades, la cual estuvo determinada por el espacio interno al obturador. En la tibia tratada con sangre sola, se observó una menor presencia de osteoblastos y un hueso de tipo compacto, con una mejor mineralización. En la extremidad tratada con PRP se encontró una mayor actividad celular,

con presencia de hueso compacto y laminar; observándose de esta forma una diferencia significativa en relación a la cantidad de osteoblastos promedio entre la tibia con PRP y la tratada con sangre sola al finalizar la experiencia.

El estudio de densidad en el sitio donde se produjo el aumento óseo, se obtuvo mediante el sistema Digora®. Esta herramienta da como resultado la densidad en el punto donde ubicamos el cursor, sumado a las tres densidades del área seleccionada: mínima, media, y máxima. En esta ocasión, se escogió la media, por ser esta la más significativa de la sección elegida.

Luego de la cirugía donde se colocan los obturadores, ambas patas muestran un aumento de la mediana de la densidad estadísticamente significativo, lo que indica que la colocación de la membrana introduce un factor adicional en la valoración de la densidad, haciendo que dicha lectura no sea la real. Si tenemos en cuenta que la misma afecta, sumándole un valor constante, podemos inferir que los resultados obtenidos, son representativos, ya que el delta de densidad entre los diferentes controles radiográficos se torna independiente de dicha constante.

De los resultados obtenidos de la comparación entre densidades de tibias con PRP y sin PRP en cada tiempo durante la experiencia, y la diferencia entre el principio (luego de la cirugía) y fin del estudio para las tibias con PRP, se desprende que en la única situación en la que se observaron diferencias significativas en las medianas fue para el control realizado a los 14 días. Se observó que el grupo sin PRP muestra una disminución de la mediana estadísticamente significativa comparado con el grupo con PRP ( $p = 0.021 < 0.05$ ). Los demás controles a lo largo de la experiencia no mostraron diferencias significativas.

Se utilizó la prueba "Chi-cuadrado" (Tabla 4) para determinar si existe relación entre el tratamiento empleado (con y sin PRP) y el tipo de callo óseo formado (hueso compacto, o compacto y laminar) en cada caso. Como  $p=0.527 > 0.05$  se observa que no hay asociación estadísticamente significativa entre el tratamiento utilizado y el tipo de callo obtenido. Esto es razonable, debido a que las muestras son tomadas en diferentes tiempos post-quirúrgicos.

A partir del análisis del perfil de densidades sobre el aumento en sentido vertical se observó una mayor densidad en los extremos del aumento cercanos a la membrana, disminuyendo hacia el interior. Lo mismo fue encontrado en dirección horizontal, donde los valores de densidad disminuyen a medida que nos alejamos de la superficie del hueso. Chavez Netto *et al.* (2009) (12) realizaron un estudio en defectos óseos críticos de perros y, durante el análisis histológico de las muestras encontraron neoformación ósea en dirección al centro del defecto, caracterizando un proceso de formación ósea centrípeta. Esta situación se asemeja a la encontrada en nuestro estudio, ya que aquellas zonas de menor densidad indicarían la formación de hueso reciente, lo que concordaría con una tendencia a la formación ósea centrípeta, desde los extremos hacia el centro del aumento y desde la superficie del hueso existente hacia la superficie interna de la membrana.

## Conclusiones

En este trabajo se pudo observar que ambos procedimientos estimulan el aumento de hueso en el sitio de aplicación y, al final de la experiencia no se observan diferencias significativas entre ambos tratamientos. Sin embargo, a los 60 días se pudo observar que aquellas extremidades en las que se aplicó PRP presentaron una mayor angiogénesis, lo que indicaría una mayor proliferación y actividad celular, que se corresponde con los resultados del estudio histológico, donde se observó el doble de osteoblastos respecto a la tibia tratada con sangre sola, en el mismo periodo de estudio. A partir de esto, podemos determinar que el PRP parece ser capaz de activar el proceso de regeneración ósea en condiciones optimizadas, al estimular la proliferación de los osteoblastos a la sexta semana, donde existe una diferencia significativa en la actividad celular.

En los animales de control, donde se colocó únicamente la membrana de Cr-Co microfijada, se observó presencia de actividad celular con formación ósea de tipo cortical y laminar, aunque de forma más lenta que en los casos anteriores. Esto nos permite inferir que la membrana podría estimular el crecimiento óseo en el sitio de colocación y en las zonas vecinas. Esta potencial característica podría tomarse como punto de partida en futuros estudios, para investigar la capacidad inductora de dicha superficie.

Como continuación del presente estudio, y desde una perspectiva de la biología celular y molecular, sería interesante determinar la influencia de la presencia y concentración de diferentes factores de crecimiento en el aumento óseo.

## Bibliografía

1. **Adams , Dean C, Rohlf , James y Slice, Dennis E.** *Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress following the Revolution.* Italian Journal of Zoology, 2003;Vol. 71:1, págs. 5-16.
2. **Aghaloo, TL, Moy , PK y Freymiller, EG.** *Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study.* J Oral Maxillofac Surg, 2002; Vol. 60:10, págs. 1176-1181.
3. **Albanese, A; Licata, ME; Polizzi, B; Campisi, G.** *Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration.* Immun Ageing, 2013; Vol. 10:23,págs. 1-10.
4. **Albrektsson T, Zarb G, Worthington P,** et al. *The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria.* Int J Oral Maxillofac Implants. 1986;Vol. 1:1, págs. 11-25.
5. **Anitua, E; Sanchez, M; Nurden , AT; Zaldueño, M.** *Reciprocal actions of platelet secreted TGF-beta1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells.* Plast Reconstr Surg, 2007;Vol. 119, págs. 950-959.
6. **Antoun, H; Sitbon, JM; Martinez, H; Missika, P.** *A prospective randomized study comparing two techniques of bone augmentation: onlay graft alone or associated with a membrane.* Clinical Oral Implants Research, 2001;Vol. 12, págs. 632-639.
7. **Aspenberg , P y Virchenko , O.** *Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats.* Acta Orthop Scand, 2004;Vol. 75, págs. 93-99.
8. **Berginblock S, Andersson B, Fürst B, Jemt T.** Long-Term Follow-Up of CeraOne™ Single-Implant Restorations: An 18-Year Follow-Up Study Based on a Prospective Patient Cohort. Clinical Implant Dentistry and Related Research, 2012; Vol. 14:4, pages 471-479.
9. **Buser D, Janner S, Wittneben J, Bragger U, Ramseier C, Salvi G.** 10-Year Survival and Success Rates of 511 Titanium Implants with a Sandblasted and Acid-Etched Surface: A Retrospective Study in 303 Partially Edentulous Patients. Clinical Implant Dentistry and Related Research, 2012; Vol. 14:6, pages 839-851.
10. **Carini F, Porcaro G, Ciaravino M.** *Pre-implant reconstruction with autologous bone from mental symphysis during transverse maxillary bone atrophies rehabilitation: surgery protocol.* Avances en Periodoncia e Implantología Oral, 2009;21,1:11-19.
11. **Casati, L; Celotti, F; Negri-Cesi, P; Sacchi, MC; Castano, P; Colciago, A.** *Platelet derived growth factor (PDGF) contained in Platelet Rich Plasma (PRP) stimulates migration of osteoblasts by reorganizing actin cytoskeleton.* Cell Adh Migr, 2014;págs. 16-20.
12. **Chaves Netto, HDM; Olate, S; Chaves, MMGA; Barbosa, AJR; Mazzonetto, R.** *Análisis histológico del proceso de reparación en defectos óseos. Reconocimiento de defectos críticos.* Int. J. Morphol., 2009; Vol. 27:4,págs. 1121-1127.
13. **Chen, Fa-Ming, Zhang , Min y Wu, Zhi-Fen.** *Review Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering.* Biomaterials, 2010; 31(24):6279-308.

14. **Chiapasco , M; Abati , S; Romeo , E; Vogel , G.** *Clinical outcomes of autogenous bone blocks or guided bone regeneration with e-PTFE membranes for the reconstruction of narrow edentulous ridges.* Clin Oral Implants Res, 1999;Vol. 10:4, págs. 278-288.
15. **Choi, BH; Zhu, SJ; Kim, BY; Huh, JY; Lee, SH; Jung, JH.** *Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: An in vitro study.* Int J Oral Maxillofac Surg, 2005;Vol. 34:4,págs. 420-424.
16. **Daif, ET.** *Effect of autologous platelet-rich plasma on bone regeneration in mandibular fractures.* Dent Traumatol, 2013;Vol. 29:5, págs. 399-403.
17. **Davies, JE; Schupbach, P y Cooper, L.** The Implant Surface and Biological Response. [aut. libro] Asbjorn Jokstad . *Osseointegration and Dental Implants.* 2009; 12, págs. 213-223.
18. **Decco O; Cura A; Beltrán V; Lezcano M; Engelke W.** *Bone augmentation in rabbit tibia using microfixed cobalt-chromium membranes with whole blood, tricalcium phosphate and bone marrow cells.* Int J Clin Exp Med, 2015; Vol. 8,1:135-144.
19. **Del Fabbro, M; Bortolin, M; Taschieri, S; Weinstein, RL.** *Effect of autologous growth factors in maxillary sinus augmentation: a systematic review.* Clin Implant Dent Relat Res, 2013;Vol. 15:2,págs. 205-216.
20. **Donos N, Mardas N, Chadha V.** *Clinical outcomes of implants following lateral bone augmentation: systematic assessment of available options (barrier membranes, bone grafts, split osteotomy).* J Clin Periodontol, 2008;Vol.35:8, págs. 173-202.
21. **Esposito M, Hirsch J-M, Lekholm U, Et Al.** *Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology.* Eur J Oral Sci, 1998;106:527-551.
22. **Esposito M, Hirsch J-M, Lekholm U, Et Al.** *Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis.* Eur J Oral Sci, 1998;106:721-764.
23. **Farré-Pagés N, Augé-Castro MI, Alaejos-Algarra F, Mareque-Bueno F, Ferrés-Padró E, Hernandez-Alfaro F.** *Relation between bone density and primary implant stability.* 2011. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 1;16 (1):e62-7.
24. **Gandhi , A; Bibbo, C; Pinzur, M; Lin , SS.** *The role of platelet-rich plasma in foot and ankle surgery.* Foot Ankle Clin, 2005;Vol. 10, págs. 621-637.
25. **Gerard, D; Carlson, ER; Gotcher, JE; Jacobs, M.** *Effects of platelet-rich plasma on the healing of autologous bone grafted mandibular defects in dogs.* J Oral Maxillofac Surg, 2006; 3:64: 443-451.
26. **Gerard, D; Carlson, ER; Gotcher, JE; Jacobs, M.** *Effects of platelet-rich plasma at the cellular level on healing of autologous bone-grafted mandibular defects in dogs.* J Oral Maxillofac Surg, 2007; 4:65:721-727.
27. **Hakimi M1, Jungbluth P, Sager M, Betsch M, Herten M, Becker J, Windolf J, Wild M.** *Combined use of platelet-rich plasma and autologous bone grafts in treatment of long bone defects in mini-pigs.* Injury, 2010; Vol. 41:7, págs. 811-817.
28. **Ishidou, Y; Kitajima, I; Obama, H; Maruyama I, I; Murata, F; Imamura, T; Yamada, N; Ten Dijke, P; Miyazono, K; Sakou, T.** *Enhanced expression of type I receptors for bone morphogenetic proteins during bone formation.* J Bone Miner Res, 1995; Vol. 10, págs. 1651-1659.
29. **Jang Hw, Kang Jk, Lee K, Lee Ys, Park Pk.** *A retrospective study on related factors affecting the survival rate of dental implants.* J Adv Prosthodont, 2011; 3:204-15.
30. **Järvinen, TA; Järvinen, TL; Kääriäinen, M; Kalimo, H.** *Muscle injuries: Biology and treatment.* Am J Sports Med, 2005;Vol. 33, págs. 745-764.
31. **Kitoh , H; Kitakoji , T; Tsuchiya , H; Katoh , M; Ishiguro, N.** *Distraction osteogenesis of the lower extremity in patients with achondroplasia/hypochondroplasia treated with transplantation of culture-expanded bone marrowcells and platelet-rich plasma.* J Pediatr O, 2007;Vol. 27:6, págs. 629-634.



32. **Klemetti E, Vainio P.** *Effect of maxillary edentulousness on mandibular residual ridges.* European Journal of Oral Sciences, 1994;102,5:309-312.
33. **Kransdorf, MJ; Stull, MA; Gilkey, FW; Moser Jr, RP.** Osteoid osteoma. Radiographics. 1991, Vol. 11(4), págs. 671-696.
34. **Linde F, F y Sorensen, HC.** *The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone.* J Biomech, 1993;Vol. 26:10,págs. 1249-1252.
35. **Lopez-Roldan A, Santaolaya Abad D, Gregori Bertomeu I, et al.** *Bone resorption processes in patients wearing overdentures. A 6-year retrospective study.* Journal section: Clinical and Experimental Dentistry, 2009;14,4:203-209.
36. **Malhotra, A; Pelletier, MH; Yu, Y; Walsh, WR.** *Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes.* Arch Orthop Trauma Surg, 2013;Vol. 133:2,págs. 153-165.
37. **Mandarim de Lacerda.** *Stereological tools in biomedical research.* Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2003; Vol. 75:4, págs 469-486.
38. **Marx, RE.** *Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP?* ImplantDent, 2001;Vol. 10, págs. 225-228.
39. **McAllister , BS y Haghigat , K.** *Bone augmentation techniques.* J Periodontol, 2007;Vol. 78:3, págs. 377-396.
40. **Miloro, M, Haralson , DJ y Desa , V.** *Bone healing in a rabbit mandibular defect using platelet-rich plasma.* J Oral Maxillofac Surg, 2010; Vol. 68:6,págs. 1225-30.
41. **Ogawa, M; Tohma, Y; Ohgushi, H; Takakura, Y; Tanaka, Y.** *Early Fixation of Cobalt-Chromium Based Alloy Surgical Implants to Bone Using a Tissue-engineering Approach.* Int J Mol Sci, 2012; Vol. 13, págs. 5528-5541.
42. **Örtorp A, Jemt T.** *CNC-Milled Titanium Frameworks Supported by Implants in the Edentulous Jaw:A 10-Year Comparative Clinical Study.* Clinical Implant Dentistry and Related Research, 2012;14:88–99. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00232.x.
43. **Perut, F; Filardo, G; Mariani, E; Cenacchi, A; Pratelli, L; Devescovi, V; Kon, E; Marcacci, M; Facchini, A; Baldini, N; Granchi, D.** *Preparation method and growth factor content of platelet concentrate influence the osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells.* Cytotherapy, 2013;Vol. 15:7,págs. 830-839.
44. **Pittenger, MF; Mackay, AM; Beck, SC; Jaiswal, RK; Douglas, R; Mosca, JD; Moorman, MA; Simonetti, DW; Craig, S; Marshak, DR.** *Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells.* Science : s.n., 1999, págs. 143-147.
45. **Prokharau P.A.; Vermolen F.J.; García-Aznar Jm.** *Model for direct bone apposition on preexisting surfaces, during peri-implant osseointegration.* Journal of Theoretical Biology, 2012;Vol. 304, págs.131- 142.
46. **Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K.** *Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications.* J Prosthodont Res, 2013;Vol. 57, págs. 3-14.
47. **Renouard F, Nisand D.** *Impact of implant length and diameter on survival rates.* Clin Oral Implants Res, 2006;17:35-51.
48. **Rodriguez S, Frutos R, Machuca G.** *Manifestaciones periodontales en la menopausia.* Avances en Periodoncia e Implantología Oral, 2001;13,2:17-22.
49. **Roffi, A; Filardo, G; Kon, E; Marcacci, M.** *Does PRP enhance bone integration with grafts, graft substitutes, or implants? A systematic review.* BMC Musculoskelet Disord, 2013;Vol. 21, págs. 314-330.
50. **Schmitz, JP y Hollinger, JO.** *The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions.* Clin Orthop Relat Res, 1986; Vol. 205, págs. 299-308.

51. **Ulm C, Kneissel M, Hahn M, Solar P, Matejka M, Donath K.** *Characteristics of the cancellous bone of edentulous mandibles.* Clinica Oral Implant Research, 2002; Vol.8:2, págs.125 - 130. DOI: 10.1034/j.1600-0501.1997.080207.x
52. **Ulm C, Kneissel M, Schedle A, Solar P; Matejka M; Schneider B; Donath K.** *Characteristic features of trabecular bone in edentulous mandibles.* Clinical Oral Implants Research, 1999;10, págs. 459-467.
53. **Van Steenberghe D, Johansson C, Quirynen M, Molly L, Albrektsson T, Naert I.** *Bone augmentation by means of a stiff occlusive titanium barrier.* Clin Oral Implants Res, 2003; Vol. 14, págs. 63-71.
54. **Yan Guo C, Hong Tang A, Pekka Matinlinna J.** *Insights into Surface Treatment Methods of Titanium Dental Implants.* Journal of Adhesion Science and Technology, 2012; 26:1-3, 189-205.
55. **Yokota, K; Ishida, O; Sunagawa, T; Suzuki, O; Nakamae, A; Ochi, M.** *Platelet-rich plasma accelerated surgical angio-genesis in vascular-implanted necrotic bone: An experimental study in rabbits.* Acta Orthop, 2008; Vol. 79, págs. 106-110.
56. **Zellin, G y Linde, A.** *Importance of delivery systems for growth-stimulatory factors in combination with osteopromotive membranes. An experimental study using rhBMP-2 in rat mandibular defects.* J Biomed Mater Res, 1997; Vol. 35, págs. 181-190.
57. **Zhang, N; Wu, YP; Qian, SJ; Teng, C; Chen, S; Li, H.** *Research Progress in the Mechanism of Effect of PRP in Bone Deficiency Healing.* Scientific World Journal, 2013.

**PID 6120 Denominación del Proyecto**

Estudio comparativo del aumento óseo en tibia de conejo utilizando obturadores de cromo-cobalto microfijados con sangre entera y plasma rico en plaquetas

**Directora del proyecto**

DECCÓ, Oscar

**Unidad Ejecutora**

Facultad de Ingeniería (UNER)

**Dependencia**

Universidad Nacional de Entre Ríos

**Contacto**

[odecco@bioimplantes.com.ar](mailto:odecco@bioimplantes.com.ar) ; [odecco@bioingenieria.edu.ar](mailto:odecco@bioingenieria.edu.ar)

**Cátedra, área o disciplina científica**

Laboratorio de Bioimplantes Integrantes del Proyecto

**Integrantes**

CURA, Andrea C.; FAVANT, José L.; FORMICA, Marcos;  
ENGELKE, Wilfred (integrante externo); ZUCHUAT, Jéssica I. (colaboradora)

**Fechas de iniciación y de finalización efectivas**

12/12/2012 y 12/02/2015

Aprobación del Informe Final por Resolución CS N°046/17 (05/04/2017)

[«« VOLVER AL INICIO](#)