



Universidad de Los Andes

Facultad de Odontología

Departamento de Odontología Restauradora

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA OBTENIDA CON QUITOSANO Y PLASMA RICO EN FIBRINA.

Autoras: Br. Orianna Ortega M.

Br. Andreina Paredes R.

Tutora: Dra. Gladys Velazco

Mérida – Venezuela, Noviembre de 2012



Universidad de Los Andes

Facultad de Odontología

Departamento de Odontología Restauradora

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA OBTENIDA CON QUITOSANO Y PLASMA RICO EN FIBRINA.

Trabajo Especial de Grado para optar al título de Odontólogo

Autoras: Br. Orianna Ortega M.

Br. Andreina Paredes R.

Tutora: Dra. Gladys Velazco

Mérida – Venezuela, Noviembre de 2012

ACTA DE LA PRESENTACIÓN DEL INFORME FINAL DEL TRABAJO ESPECIAL DE GRADO (TEG).

En la ciudad de Mérida a los 28 días de mes de noviembre del año 2012, siendo las 8:30 am, reunidos en el salón de materiales dentales de la facultad de Odontología, los Miembros del Jurado designados para conocer y evaluar el TEG titulado: **ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA OBTENIDA CON QUITOSANO Y PLASMA RICO EN FIBRINA**, de las bachilleres: **Ortega M, Orianna C.I.: V-19422697** y **Paredes R, Andreina C.I.: V-18966295**, se procedió a la presentación pública del informe final, para darle cumplimiento a los establecido en el artículo 38 del Reglamento para la Elaboración y Presentación del Trabajo Especial de Grado de la Facultad de odontología de la Universidad de Los Andes. El Jurado estableció que la exposición tuviera una duración de:35 minutos.

Los bachilleres realizaron su exposición en el tiempo indicado. El Jurado calificó el informe escrito y la presentación oral de la siguiente manera:

Informe escrito (40%):20pts

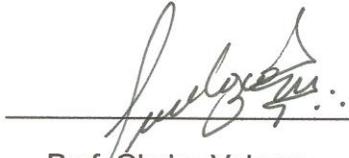
Presentación oral (20%):20pts

Promedio de las presentaciones anteriores (40%):20pts

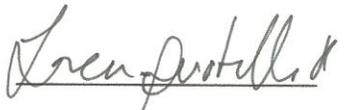
Nota definitiva (100%):20pts

El Jurado otorgó Mención Publicación.

Para que el presente surta los efectos legales que fueren necesarios, firmamos a los 28 días del mes de Noviembre del 2012

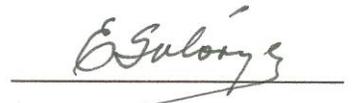


Prof. Gladys Velazco
Tutor Coordinador



Prof. Lorena Bustillos
Jurado del Departamento





Prof. Eduvigis Solórzano
Jurado del CTTEG

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, quien con su luz celestial ha iluminado nuestros caminos brindándonos paz, alegría y bendiciones.

A nuestros padres, fuente inagotable de amor, esperanza y fortaleza quienes con su tenacidad nos apoyaron en todo momento.

A nuestras Hermanas, esperando que este logro las llene de orgullo y satisfacción

A quienes tengan la oportunidad de leer este trabajo, con la esperanza de que les sirva de ayuda y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso, por darnos el don de la inteligencia y la oportunidad para aprender y comprender.

A nuestra Madre, María Santísima, por su bendición.

A la Profesora Gladys Velazco, por brindarnos sus acertadas orientaciones y apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo y el feliz término del mismo.

A la Lic. Anajulia González, a la Od. Jenair Yopez y al Od. Edgardo Morales por brindarnos su colaboración y apoyo durante el desarrollo de esta investigación

A nuestra compañera Yabilys Salmeron, por brindarnos su plena colaboración para lograr el término de este trabajo.

A nuestros padres y hermanas, por brindarnos su apoyo incondicional en todo momento.

A Ender Corredor, por brindarnos su apoyo en todo momento.

A la Facultad de Odontología, por habernos abierto las puertas de la institución para nuestra formación académica.

ÍNDICE

ÍNDICE	ii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 El Problema	3
1.2 Objetivos de la investigación	5
1.2.1 Objetivo general	5
1.2.2 Objetivos específicos	5
1.3 Justificación	5
CAPITULO II	7
ANTECEDENTES Y BASES TEÓRICAS	7
2.1 Antecedentes	7
2.2 Bases Teóricas	16
2.2.1 Tejido óseo	16
2.2.1.a Organización macroscópica del tejido óseo	17
2.2.1.b Características histológicas del tejido óseo	17
2.2.1.c Células óseas	19
2.2.1.d Histogénesis ósea	21
2.2.1.e Remodelado óseo	24
2.2.2 Regeneración ósea	25
2.2.2.a Definición	25
2.2.2.b Técnicas	27
2.2.2.c Indicaciones	27

2.2.2.d	Contraindicaciones	28
2.2.2.e	Principios quirúrgicos generales para realizar regeneración ósea guiada	28
2.2.2.f	Condiciones indispensables para lograr el éxito tras la aplicación de regeneración ósea guiada	29
2.2.3	Biomateriales utilizados para regeneración ósea	30
2.2.3.a	Definición	30
2.2.3.b	Características	32
2.2.3.c	Clasificación	33
2.2.3.d	Plasma Rico en Fibrina	36
2.2.3.e	Quitosano	41
2.2.4	Extracción dental	44
2.2.4.a	Tipos	44
2.2.4.b	Indicaciones	44
2.2.4.c	Contraindicaciones	46
2.2.4.d	Técnicas	48
2.2.4.e	Procedimiento quirúrgico	50
2.2.5	Impactación de terceros molares	52
CAPITULO III		55
MARCO METODOLÓGICO		55
3.1	Enfoque, tipo y diseño de la investigación	55
3.2	Variables	56
3.3	Población y muestra	56
3.4	Técnica(s) e instrumentos de recolección de datos	57
3.5	Materiales y procedimientos	58
3.6	Consideraciones bioéticas	70
3.7	Análisis de resultados	70
CAPITULO IV		72
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		72
4.1	Resultados y discusión de la evaluación radiográfica	72

4.2 Evolución de la Regeneración Ósea	78
4.3 Análisis y discusión de las microfotografías del PRF y Quitosano	84
CAPITULO V	95
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
5.1 Conclusiones	95
5.2 Recomendaciones	96
REFERENCIAS	98
ANEXOS Y APÉNDICES	103
Apéndice A	103
Apéndice B	104

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Células óseas	20
Tabla 2. Factores de crecimiento del concentrado plaquetario	38
Tabla 3. Comparación de la técnica de obtención entre el PRF y el PRP	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la estructura macroscópica del hueso largo	17
Figura 2. Esquema de la diáfisis de un hueso largo	19
Figura 3. Fases del remodelado óseo	25
Figura 4. Estructura molecular de la quitina	41
Figura 5. Estructura molecular del quitosano	41
Figura 6. Clasificación de Pell y Gregory	53
Figura 7. Clasificación de Winter	54
Figura 8. Anestesia de la zona quirúrgica	61
Figura 9. Toma de la muestra de sangre	61
Figura 10. Muestra de sangre en tubo de ensayo	62
Figura 11. Centrifugación de la muestra de sangre	62
Figura 12. Luxación de la pieza dental	62
Figura 13. Extracción de la pieza propiamente dicha	63
Figura 14. Limpieza y curetaje del alveolo	63
Figura 15. Implantación del Quitosano	64
Figura 16. Implantación del PRF	64
Figura 17. Sutura del alveolo	64
Figura 18. Toma de la muestra de sangre	66
Figura 19. Separación del coagulo de fibrina	66
Figura 20. Sección de coagulo de fibrina	66
Figura 21. Coagulo de fibrina seccionado	66
Figura 22. Muestra sumergidas en solventes puros	67
Figura 23. Muestra en papel absorbente	67
Figura 24. Muestra sobre la placa	67
Figura 25. Placa con las muestras preparadas	68
Figura 26. Placa introducida en el Recubridor Iónico	68
Figura 27. Recubridor Iónico (SPI-MODULE Sputter Coater)	68
Figura 28. Placas con las muestras recubiertas en oro	68
Figura 29. Placa dentro del Microscopio Electrónico de Barrido (HITACHI S2500)	69
Figura 30. Membrana de Quitosano	70
Figura 31. Evolución de la regeneración ósea. Paciente 1	79
Figura 32. Evolución de la regeneración ósea. Paciente 2	80
Figura 33. Evolución de la regeneración ósea. Paciente 3	81
Figura 34. Evolución de la regeneración ósea. Paciente 4	82
Figura 35. Evolución de la regeneración ósea. Paciente 5	83
Figura 36. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada solo con papel absorbente. X:100	85
Figura 37. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada solo con papel absorbente. X:500	86

Figura 38. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada solo con papel absorbente. X:2500	86
Figura 39. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en acetona. X:100	87
Figura 40. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en acetona. X:500	88
Figura 41. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en acetona. X:2500	89
Figura 42. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en etanol. X:100	90
Figura 43. Figura 38. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en etanol. X:2500	91
Figura 44. Figura 38. Microfotografía Electrónica de Barrido del coagulo de Fibrina deshidratada en etanol. X:5000	92
Figura 45. Microfotografía Electrónica de Barrido de la membrana de Quitosano X:100	93
Figura 46. Microfotografía Electrónica de Barrido de la membrana de Quitosano X:5000	94

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 15 días	73
Gráfico 2. Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 30 días	74
Gráfico 3. Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 60 días	75
Gráfico 4. Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 120 días	76
Gráfico 5. Niveles de regeneración ósea del PRF.	77
Gráfico 6. Niveles de regeneración ósea del Quitosano.	78

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA OBTENIDA CON QUITOSANO Y PLASMA RICO EN FIBRINA

Autoras: Br. Orianna Ortega M. y Br. Andreina Paredes R.

Tutora: Dra. Gladys Velazco.

RESUMEN

La regeneración ósea es un procedimiento que consiste en el incremento de la cantidad del hueso. La exploración de soluciones a los problemas de tejido óseo hace que se origine una demanda de métodos para regenerar hueso artificialmente. En Venezuela se han estudiado biomateriales como el quitosano (Polímero natural), y el plasma rico en fibrina (PRF), (Polímero autólogo del fibrinógeno), de manera individual, sin embargo, no se han desarrollado estudios que comparen dichos biomateriales. El objetivo de este estudio radica en comparar ambos polímeros sobre alveolos dentales postextracción, demostrando la regeneración ósea, aplicando un diseño experimental. Fueron seleccionados 5 pacientes que acudieron al Centro de Investigaciones Odontológicas y presentaron cordales inferiores bilaterales con indicación de extracción, en un alveolo se aplicó quitosano y en el otro PRF. Para registrar los datos se tomaron Rx periapicales y se analizaron bajo una lista de cotejo, mensualmente por 120 días, se compararon los datos mediante estadísticas descriptivas. Se analizaron ambos biomateriales en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Los resultados mostraron que ambos biomateriales regeneraron los tejidos, con diferencia, que el PRF en menor tiempo y el quitosano con mejor organización estructural. La MEB mostró que ambos biomateriales poseen una estructura que puede servir como soporte para las células osteoprogenitoras. Se concluye que ambos biomateriales se pueden tomar como opciones de tratamientos en la regeneración ósea guiada de tejidos.

Palabras Claves: *Regeneración ósea, Quitosano, Plasma Rico en Fibrina, biomateriales, Plasma Rico en Plaquetas.*

INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea guiada es un procedimiento quirúrgico que consiste en el incremento de la calidad y la cantidad del hueso. Se han descrito métodos para incrementar la formación ósea donde se incluyen el uso de injertos autólogos, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos aloplásticos. Existen otros enfoques biológicos que son usados para la promoción de la regeneración ósea, tales como el uso de factores de crecimiento y diferenciación, aplicación de las proteínas de la matriz extracelular y el uso de mediadores para el metabolismo óseo (1).

La búsqueda de soluciones factibles a los problemas de regeneración del tejido óseo hace que se origine una gran demanda de métodos para regenerar hueso de manera artificial. Recientemente, el uso de quitosano en la regeneración ósea ha despertado un interés particular actuando como un material aloplástico. Por otro lado, el plasma rico en fibrina es una forma autóloga que consiste en una preparación concentrada de factores de crecimiento, con el fin de acelerar la curación de los tejidos duros y blandos.

En Venezuela se han estudiado el quitosano y el plasma rico en fibrina, de manera individual, sin embargo, no se han desarrollado estudios que comparen dichos biomateriales y establezcan sus diferencias como regeneradores de tejidos duros y blandos, y así crear opciones de tratamientos más accesibles, con alta disponibilidad y bajo costo de producción, beneficiando de manera amplia a pacientes que enfrenten pérdidas dentarias prematuras y pérdidas del tejido óseo maxilar y mandibular.

Se realizará un estudio cuantitativo de tipo descriptivo, experimental y prospectivo. Al manipular estos biomateriales de diferente naturaleza para la regeneración ósea, se plantea como objetivo general del estudio, comparar

un material aloplástico (quitosano) y uno autólogo (Plasma Rico en Fibrina) aplicado sobre alveolos dentales post extracción para observar la regeneración ósea mediante radiografías periapicales.

Este proyecto está estructurado en tres capítulos y es realizado para aspirar al título de Odontólogo general, en la Universidad de Los Andes del estado Mérida. En el capítulo I se describe el planteamiento del problema, los objetivos propuestos y la justificación de este trabajo. En el capítulo II se plantean investigaciones que preceden al estudio, sobre el quitosano y el plasma rico en fibrina aplicado a la regeneración ósea guiada; también se incluyen las bases teóricas, que describen y clasifican el tejido óseo, la regeneración ósea, los biomateriales para la regeneración ósea, las extracciones dentales y la impactación de los terceros molares. En el capítulo III se presenta el marco metodológico que propone el tipo y diseño de investigación, población y muestra, los métodos e instrumentos para la recolección de dato, los procedimientos que se realizarán durante el estudio, principios éticos, la forma de análisis e interpretación de datos y el plan de trabajo para lograr los objetivos de la investigación. En capítulo IV se demuestran los resultados obtenidos y la discusión de los mismos. Finalmente, en el capítulo V se presentan las conclusiones y recomendaciones de esta investigación.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 El Problema

La regeneración ósea guiada es un procedimiento quirúrgico que consiste en el incremento de la calidad y la cantidad del hueso. Se han descrito métodos para incrementar la formación ósea donde se incluyen el uso de injertos autólogos, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos aloplásticos. Existen otros enfoques biológicos que son usados para la promoción de la regeneración ósea, tales como el uso de factores de crecimiento y diferenciación, aplicación de las proteínas de la matriz extracelular y el uso de mediadores para el metabolismo óseo (1).

Algunos mediadores biológicos tienen la habilidad de regular la proliferación celular, la quimiotaxis y la diferenciación celular; sin embargo, tienen un uso clínico limitado, debido a sus costos, intolerancia inmune, vida útil corta y sus principales concentraciones van de forma ineficiente a la célula blanco (1).

La exploración de soluciones viables a los problemas de tejido óseo hace que se origine una gran demanda de métodos para reparar o regenerar hueso de manera artificial (5). Recientemente el uso de quitosano en la regeneración ósea ha despertado un interés particular. Este biomaterial se obtiene de una desacetilación extrusiva derivada del biopolisacárido quitina, la cual es un biopolímero abundante en la naturaleza y se puede encontrar

en los exoesqueletos de artrópodos, en las capas de crustáceos y en las cutículas de insectos (2).

El quitosano tiene excelentes propiedades, incluyendo la biocompatibilidad debido a que su estructura es similar a la glucosamina de la matriz extracelular, la actividad antimicrobial y bajo costo de producción (3). Este biopolímero puede ser usado en la inhibición de fibroplasia, curación de heridas, promoción de crecimiento óseo, incremento de la proliferación salival, inmunopotenciación antihipertensiva, inhibición del crecimiento de bacterias cariogénicas, potenciación de la respuesta antiinflamatoria; se ha demostrando también la liberación de agentes bioactivos como factores de crecimiento (3). Este material biológico se puede presentar en polvo, gel y solución, tales presentaciones lo hacen vehículo y liberador de fármacos y péptidos y potenciador de la absorción, siendo un candidato para aplicaciones clínicas interesantes como, tratamientos de tejidos blandos, apósitos de protección de heridas, actividad hemostásica y antiinfecciosa, además de acelerar la cicatrización de heridas y la neoformación ósea y cartilaginosa (4).

Por otro lado, los factores de crecimiento se conocen como intermediarios biológicos que se encargan de la proliferación, diferenciación y quimiotaxia celular, así como también de la formación de matriz extracelular, estos factores juegan un papel importante en la regeneración de tejidos duros y blandos. Se ha demostrado que al comenzar el proceso de cicatrización, las plaquetas se degranulan y son liberados los factores de crecimiento. Si existen mayor número de plaquetas en el sitio de la lesión, se liberará mayor número de estos factores y la cicatrización será más rápida (6).

Una forma autóloga de factores de crecimientos es el aislamiento de las plaquetas de la sangre periférica. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es una preparación concentrada de factores de crecimiento, con el fin de

acelerar la curación de los tejidos duros y blandos. Esto se logra mediante la concentración de las plaquetas autólogas aplicadas a las heridas quirúrgicas o a los injertos y otras lesiones, con la finalidad de acelerar la curación. El coágulo de sangre es la guía central de inicio hacia la curación de los tejidos blandos y la regeneración ósea (7).

El Plasma Rico en Fibrina (PRF) fue definido por Choukroun y col. en Francia y se reconoce como una segunda generación de concentrado de plaquetas. Este concentrado exhibe algunas ventajas sobre el PRP, entre las cuales se destaca la facilidad de preparación y poco manejo bioquímico de la sangre, lo cual origina una preparación totalmente autóloga (7).

1.2 Objetivos de la investigación

1.2.1 Objetivo general:

Comparar un material aloplástico (quitosano) y uno autólogo (Plasma Rico en Fibrina) aplicado sobre alveolos dentales post extracción para la regeneración ósea mediante radiografías periapicales.

1.2.2 Objetivos específicos:

- Obtener de fibrina autóloga a base de sangre (PRF).
- Aplicar membranas de Quitosano y PRF en alveolos post extracción.
- Comparar radiográficamente la aparición de núcleos de osificación posterior a la colocación de ambos materiales.
- Analizar mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), la membrana de quitosano y PRF

1.3 Justificación

La regeneración ósea guiada, tiene como finalidad crear suficiente hueso sano ordenando su crecimiento por medio de membranas para poder

cubrir defectos óseos. La búsqueda para recuperar este tejido perdido, ha despertado nuevas tendencias por crear opciones de tratamiento (8).

La necesidad de evitar la pérdida de tejido óseo a nivel maxilar y mandibular estimula las propuestas de tratamientos encaminados a comparar biomateriales de distintos orígenes en la regeneración del tejido óseo, con el fin de determinar la rapidez y eficacia de cada uno de ellos en su aplicación clínica, beneficiando de manera amplia a pacientes que enfrenten pérdidas dentarias prematuras.

Desde hace varios años, se han ensayado diferentes biomateriales como regeneradores óseos; en Venezuela se han estudiado el quitosano que es un biopolímero obtenido de la naturaleza (2), y el plasma rico en fibrina que es un material autólogo obtenido de la sangre del paciente (7), de manera individual, sin embargo, no se han desarrollado estudios que comparen dichos biomateriales y establezcan sus diferencias como regeneradores de tejidos duros y blandos, para así crear opciones de tratamientos más accesibles, con alta disponibilidad y bajo costo de producción.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En la presente sección, se expondrán una serie de antecedentes ordenados en tres grupos, el primero estará relacionado con el material autólogo (PRF), el segundo con el material aloplástico (quitosano), y en el último se presentan ambos biomateriales. En cada grupo los trabajos encontrados se ordenarán de manera cronológica.

2.1.1 Plasma Rico Fibrina:

En México, en el año 2005, Fernández y col. realizaron un estudio, utilizaron plasma autólogo rico en factores de crecimiento (PRGF) para mejorar la respuesta quirúrgica, estimulando los mecanismos de reparación, mediante la técnica de regeneración tisular. Los investigadores realizaron el reporte de un caso clínico donde trataron un odontoma compuesto de 3x4 cm de diámetro, con la enucleación de la lesión, extracción quirúrgica del órgano dentario 21 y colocación de hidroxiapatita reabsorbible con PRGF en el defecto óseo. En las radiografías de control se observa el defecto óseo con el material de injerto y el PRGF a las 8 y 12 semanas respectivamente, en este caso observaron que el proceso de regeneración se presentó asintomático y sin evidencia de infección. Los autores concluyeron que la colocación de

plasma rico en factores de crecimiento es una técnica que ofrece ventajas sobre los procesos de reparación y cicatrización del tejido óseo y tisular (40).

En Madrid, en el año 2007, Torres J y col. realizaron un estudio experimental con el fin de evaluar la capacidad osteoconductiva del PRP, los autores utilizaron 12 conejos hembras experimentales a los cuales se les crearon dos defectos craneales óseos, a un defecto se les aplicó PRP y el otro lo tomaron como control; los conejos fueron sacrificados a las 2,4,6 y 8 semanas después de la cirugía y se evaluaron histológicamente, los resultados mostraron aumento en la regeneración ósea en el grupo donde se aplicó el PRP, sin embargo, la regeneración ósea era diferente en los 2 grupos. Los autores concluyeron que el uso del biomaterial (PRP) utilizado en los defectos óseos de los conejos ayudó a la formación del mineral, siendo esta visible a la cuarta semana en comparación con el grupo control (12).

Sunitha y col., en el año 2008, realizaron una investigación de tipo bibliográfica en India, con el fin de describir la evolución y preparación de un biomaterial autólogo novedoso denominado Plasma Rico en Fibrina explicando sus principales ventajas sobre el Plasma Rico en Plaquetas. Utilizando fuentes bibliográficas confiables y bases de datos electrónicas, describieron las ventajas del PRF sobre el PRP, las cuales fueron: fácil preparación, menor manejo bioquímico de la sangre lo que hace del PRF una preparación totalmente autóloga, el biomaterial puede ser combinado con injertos óseos lo que le confiere la capacidad de ayudar a promover la cicatrización de heridas, la osteoconducción y maduración ósea, así como también expusieron que la afinidad de los osteoblastos por el PRF era mayor que para el PRP; Los autores concluyeron después de la revisión bibliográfica que el PRF tiene algunas ventajas sobre el PRP por lo que se propone hacer investigaciones más exhaustivas para abrirle paso a esta segunda generación de concentrado plaquetario (7).

Anilkulmar K, en el año 2009, en la India, realizó un estudio utilizando membranas de Plasma Rico en Fibrina para cubrir superficies radiculares expuestas en la zona antero inferior con el fin de evaluar las capacidades de regeneración ósea y tisular del biomaterial, la investigación consistió en la presentación de un caso clínico donde se observaba una reabsorción gingival de 7mm con exposición radicular en el incisivo lateral izquierdo de la mandíbula, se realizó la cirugía periondotal pertinente al caso ubicando las membranas de PRF en la superficie radicular expuesta, se realizó seguimiento observando un cubrimiento total de la raíz a los 6 meses después de realizado el tratamiento. Los autores concluyeron que la fácil aplicación clínica del PRF y sus capacidades de reconstrucción de tejidos y rápida cicatrización lo hace un biomaterial autólogo prometedor (13).

Bonete y col. en el 2009 realizaron una investigación experimental donde estudiaron la reparación de defectos óseos utilizando geles plaquetarios. Intervinieron quirúrgicamente 30 conejos (raza Nueva Zelanda), donde realizaron defectos de 6mm de diámetro en la tibia (metáfisis) y otro en el peroné (diáfisis); los conejos fueron divididos en dos grupos de 15 animales cada uno, recibieron como tratamiento plasma rico en plaquetas o plasma pobre en plaquetas en sus tibias y peronés derechos, por su parte el lado izquierdo se utilizó como grupo control. Los resultados se estudiaron mediante radiografías, TAC y preparados histológicos, a las 8, 12 y 16 semanas. En los resultados hubo mejoría en el grupo tratado con plasma pobre en plaquetas, aunque esta mejoría no mostró diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo control. Concluyeron que en este estudio el plasma rico en plaquetas no se comportó como un sustituto óseo con capacidad osteoconductor ni osteopromotora (14).

González y col., en el 2010, realizaron un estudio en la ciudad de México, cuyo objetivo consistía en evaluar el cierre de fístulas palatinas

recurrentes utilizando plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) combinado con injerto de hueso autólogo, el estudio era de tipo experimental, prospectivo y longitudinal que comenzó desde abril del 2008 y terminó julio del 2010, el número de muestra consistía en 11 fístulas nasopalatinas, las cuales fueron cerradas por medio de colgajos mucoperiosticos locales y colocación de injertos óseos y PRGF. Los resultados mostraron el cierre completo de las fístulas en un 90.9 % después de 6 a 24 meses de seguimiento. Los autores concluyeron que el uso del PRGF combinado con el injerto de hueso autólogo parece ser una alternativa eficaz, segura y de bajo costo para el cierre de fistulas palatinas, sin embargo, recomiendan ampliar el estudio (45).

Gürbüzler y col., realizaron un estudio en Turquía, en el 2010, donde evaluaron el efecto del PRF sobre el proceso de regeneración ósea con esintografía de hueso basada en la absorción de bisfosfonato de metileno en los terceros molares extraídos. Escogieron 14 pacientes con terceros molares mandibulares bilaterales, donde realizaron la exodoncia en una misma sesión, administraron Plasma Rico en Fibrina (PRF) aleatoriamente en un alveolo y el otro sirvió de control, cuatro semanas después se evaluaron los alveolos con esintilogramas, luego del estudio clínico evaluaron muestras del PRF por medio de microscopía electrónica de luz. No se demostró diferencia significativa entre los alvéolos con PRF y los alvéolos controles, el análisis con el microscopio electrónico reveló la presencia de plaquetas agregadas a una red de fibrina y la presencia de cristales en la superficie externa del biomaterial. Concluyeron que el PRF no pudo regenerar de manera satisfactoria el hueso afectado, los autores manifiestan que pudo haber sido por la presencia de partículas cristalinas (presuntamente eran de sílice) que están presente en los agentes activadores de los tubos de ensayo; éstas partículas se encontraron en la superficie externa del biomaterial (9).

Pradeep y col. en el año 2012, en Bangalore, realizaron un estudio donde exploraron la eficacia clínica y radiográfica del Plasma Rico en Fibrina (PRF) y el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en el tratamiento de defectos intraóseos en periodontitis crónica. Realizaron colgajos con desbridamiento de tapa abierta en 90 defectos intraóseos donde aplicaron mioblastos de PRF, PRP autólogo y un grupo control. Evaluaron parámetros clínicos y radiográficos como la profundidad del sondaje y el porcentaje de relleno óseo en los defectos, desde el comienzo hasta 9 meses postoperatorios. Los resultados fueron significativos en la reducción de la profundidad del sondaje en los grupos tratados con PRF y PRP; además hubo mayor porcentaje de relleno óseo en los grupos tratados con los biomateriales en comparación con el grupo control. Los autores concluyeron que hubo una reducción similar de la profundidad del sondaje así como también rellenos óseos en los sitios tratados con PRF y PRP; sin embargo, el PRF es una técnica que consume menos tiempo y es menos sensible y esto puede hacerlo parecer mejor entre ambos; aunque se deben realizar ensayos clínicos aleatorios a largo plazo para conocer sus efectos clínicos y radiográficos en la regeneración ósea (43).

2.1.2 Quitosano

En el año 2000, en Corea, Lee y colaboradores, realizaron un estudio cuyo objetivo fue el desarrollo de quitosano / fosfato tricálcico (TCP) en esponjas como andamios en la regeneración ósea por parte de los osteoblastos. Utilizaron esponjas que fueron preparadas por liofilización y una mezcla de quitosano y TCP. Las células osteoblásticas del feto de la rata fueron aisladas, cultivadas y sembradas en las esponjas durante 56 días; la proliferación celular, la actividad de la fosfatasa alcalina y la deposición de calcio en las esponjas se midieron al 1, 7, 14, 28 y 56 días, la evaluación histológica fue realizada por medio de microscopia de luz y

microscopia electrónica de barrido. Los resultados arrojaron que las esponjas de quitosano/TCP favorecieron en la proliferación y diferenciación de células osteoblásticas. Las pequeñas espículas de hueso fueron observadas en la matriz de la esponja a los 14 días y en 56 días la cantidad de tejido mineralizado formado en la esponja era significativo. Concluyeron que la esponja de quitosano/TCP podría ser una herramienta factible como material transportador del factor de crecimiento para regeneración ósea (19).

En Corea, Seung-Yun y col., realizaron en el año 2005 un estudio para evaluar la biocompatibilidad y la regeneración ósea de las membranas de quitosano utilizando nanofibras en defectos de calota de conejo y en tejido conectivo subcutáneo de ratas. Los defectos craneales redondos de diez milímetros de diámetro fueron hechos en conejos y cubiertos por las membranas de nanofibra de quitosano durante 4 semanas. Las muestras fueron desmineralizadas y observadas por un microscopio de luz. Los resultados arrojados fueron que las membranas de nanofibra de quitosano implantadas en el tejido subcutáneo de la rata mantuvieron su forma y espacio para la regeneración del hueso durante 6 semanas, ninguna inflamación se podía considerar en la superficie de la membrana o en los tejidos circundantes; por otro lado, en los defectos tratados en los conejos, el nuevo hueso llenó los defectos y se fundió al hueso original en 4 semanas. Concluyeron que la biocompatibilidad de la membrana de la nanofibra de quitosano fue confirmada con la regeneración realizada del hueso y no se observó evidencia de una reacción inflamatoria. Este experimento demuestra que la membrana biodegradable de la nanofibra de quitosano puede ser útil como herramienta para la regeneración dirigida del hueso (20).

En Chile, en el año 2011, Hernández y col. realizaron un estudio donde comprobaron la proliferación de células madres mesenquimales (MSCs) provenientes de tejido conjuntivo gingival humano sobre una matriz

de quitosano. El estudio fue *in vitro*, en el que aislaron MSCs a partir de cultivos por explante de tejido gingival; la presencia de MSCs, se identificó mediante citometría de flujo, utilizando para ellos diversos anticuerpos (CD34, CD45, CD73, CD90, CD105), se encontraron hasta 3 linajes celulares adipocitos, condroblastos y osteoblastos. La matriz de quitosano fue analizada mediante microscopía óptica. Las MSCs fueron sembradas en presencia de la matriz de quitosano. Se observó que a partir del explante de tejido conjuntivo gingival las MSCs cultivadas en presencia de quitosano proliferan, sin embargo se evidenció que a mayor concentración de quitosano disminuye la proliferación y densidad celular. La matriz de quitosano en el cultivo pierde sus propiedades físicas, disolviéndose y formando un gel no transportable. Los autores concluyeron que a pesar de evidenciarse proliferación celular de MSCs de origen gingival humano en presencia de la matriz de quitosano, su utilidad como medio de transporte de MSCs es deficiente debido a que se alteran sus propiedades físicas, disolviéndose y formando un gel no transportable (11).

En el año 2011, Freitas y col., realizaron en Brasil un estudio donde establecieron un protocolo para la obtención de membranas de quitosano, evaluaron la biocompatibilidad de estas membranas comparándolas con membranas de colágeno, las cuales fueron implantadas quirúrgicamente en el tejido subcutáneo de ratas, utilizaron 15 ratas las cuales dividieron en 3 grupos experimentales: uno con membrana de quitosano de alto peso molecular, otro con membranas de quitosano de bajo peso molecular, y el otro como control con membranas de colágeno, cada uno de ellos con tres períodos experimentales 7, 15 y 30 días. Los resultados fueron los siguientes: a los siete días los grupos con membranas de quitosano de alto y bajo peso molecular mostraban resultados similares de resorción de la membrana con presencia de infiltrado inflamatorio, el grupo control mostró que la membrana estuvo implicada con una cápsula compuesta de fibras

colágenas y células fibroblásticas, siguiendo la orientación del tejido de granulación y asociado a una actividad vascular. A los quince días los grupos con quitosano mostraron la resorción total de la membrana, sin embargo, el grupo con quitosano de alto peso molecular mostró que en lugar donde probablemente fue colocada la membrana existía una desorganización en el tejido fibroblástico y respuesta inflamatoria considerable, mientras que el grupo con quitosano de bajo peso molecular estaba el tejido aparentemente organizado sin células de infiltrado inflamatorio, en el grupo control había ausencia de la membrana y no había respuesta inflamatoria. Treinta días después los tres grupos mostraron condiciones sanas donde al parecer se habían colocado las membranas. Concluyeron que en la última evaluación ambas membranas se reabsorben exitosamente en tiempo parecidos (10).

En Estados Unidos en el 2011, Stephan y col. realizaron un estudio experimental en ratas de laboratorio para comprobar la propiedades osteoreparadoras del quitosano unido a células mesenquimáticas (MSCs) y a factores de crecimiento óseo (BMP-2). Se utilizaron 30 ratas machos y se creó un defecto óseo de 8mm en cada una de ellas posteriormente se dividieron en grupos el experimental y el control se estudió histológicamente. Los autores describen los siguientes resultados: el análisis Micro-CT reveló un significativo aumento en el área y volumen del hueso en los defectos tratados con gel/MSC/BMP-2 con respecto a los otros grupos. Los autores concluyeron que el gel de quitosano unido a MSCs y al BMP-2, puede guiar la neoformación ósea (15).

En el año 2012, Miranda y col. en Brasil, realizaron un estudio donde evaluaron los efectos de un andamio de gel de quitosano inseminado con las células mesenquimales de la médula ósea (BMSCs) en la curación de alveolos dentales en ratas. Las BMSCs de ratas transgénicas fueron aisladas y sembradas en un andamio de gel de quitosano, estas

preparaciones fueron cultivadas durante tres días y se analizaron por microscopía electrónica y espectroscopia de dispersión de energía. Las ratas receptoras recibieron en el alveolo izquierdo el andamio, después de la extracción del primer molar superior; el alveolo derecho sirvió como control. Los animales se sacrificaron en los días 5, 21 y 35 para su evaluación. Se demostró morfométricamente que la mayor mineralización ósea fue a los 21 y 35 días en los alveolos trasplantados. La tinción tártaro resistente de fosfatasa ácida (trampa) se llevó a cabo a los 21 días y determinó la participación de células osteoclásticas en la reabsorción del andamio como una reacción típica de cuerpo extraño. Hallazgos inmunohistoquímicos mostraron que las células BMMSCs contribuyeron a la reparación ósea vascular y epitelial. Los autores concluyeron que las células BMMSCs junto al andamio de gel de quitosano es una estrategia para el desarrollo de tejidos en ingeniería de tejido (42).

2.1.3 PRP y Quitosano

En Turquía, en el año 2010, Oktay y col., realizaron un estudio comparativo con el gel de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y una esponja de quitosano, aplicado a la regeneración de defectos craneales óseos en conejos experimentales. Se crearon 4 defectos craneales óseos en los conejos, con un diámetro de 4.5 mm, en un defecto se incorporó el gel de PRP, en otro la esponja de quitosano, en otro se aplicó el PRP y quitosano juntos y el defecto óseo restante lo tomaron como control. Los defectos óseos fueron analizados histológicamente a la cuarta y octava semana. Los resultados expuestos son los siguientes: se observó una formación más alta de hueso en el grupo de PRP comparado con la de los demás grupos en la cuarta y octava semana. La cantidad de nueva formación ósea en el grupo control fue menor en comparación al grupo de PRP y quitosano. Los defectos que fueron llenados con la esponja de quitosano demostraron una cantidad

limitada de formación ósea y una línea de demarcación fibrosa entre las partículas del quitosano y el hueso. Concluyeron que el PRP estimuló la formación de hueso; mientras que el quitosano no mejoró la calidad ni cantidad de hueso; sin embargo, los autores proponen aplicar este material con otra configuración y otra estructura (1).

En China, en el año 2010, Bi y col. realizaron un estudio donde prepararon un compuesto inyectable llamado PTC utilizando la combinación de quitosano y plasma rico en plaquetas (PRP) con el objetivo de investigar sus propiedades mecánicas y biológicas. Demostraron que al introducir el PRP al quitosano no observaron ningún efecto adverso. Se observaron altos niveles de Cbfa1 y TGF-beta y principios de MSCs inducida por el compuesto (PTC) y también se observó la formación ósea tras la expresión de colágeno tipo I, osteocalcina, osteonectina y nódulos de calcio. Por último el compuesto lo inyectaron en el defecto de hueso tibial en un modelo de cabra, y observaron su capacidad de inducir la regeneración ósea. Dieciséis semanas después de la implantación del compuesto observaron la recuperación total del hueso tibial, con significativa formación de hueso maduro y menos material residual que en el grupo control. Los autores concluyeron que el compuesto posee resistencia mecánica, biocompatibilidad y propiedades osteoinductoras para el tratamiento de defectos óseos (44).

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Tejido óseo

El tejido óseo constituye la parte más importante del esqueleto, posee gran dureza, fortaleza y el peso mínimo posible, a pesar de que es duro y resistente posee cierta elasticidad. Es una forma especializada de tejido

conectivo denso; tiene capacidad de protección. Es el sitio de inserción de músculos de sostén que le brinda al organismo fuerza de gravedad (46).

2.2.1.a Organización macroscópica del tejido óseo

El tejido óseo se organiza de dos formas distintas (46):

- Tejido óseo esponjoso, que está compuesto por finos listones u hojas que son denominados trabéculas, estas se entrecruzan formando un retículo esponjoso, cuyos espacios huecos están ocupados por médula ósea.
- Tejido óseo compacto, forma una masa compuesta sin espacios huecos visibles.

Los huesos están rodeados por una capa de tejido conectivo denso que es denominada periostio; y una capa interna de tejido conectivo rico en células, él endostio, éste recubre el espacio medular y los espacios de sustancia esponjosa. Tanto el periostio como el endostio poseen potencial osteogénico (ver figura 1) (46).

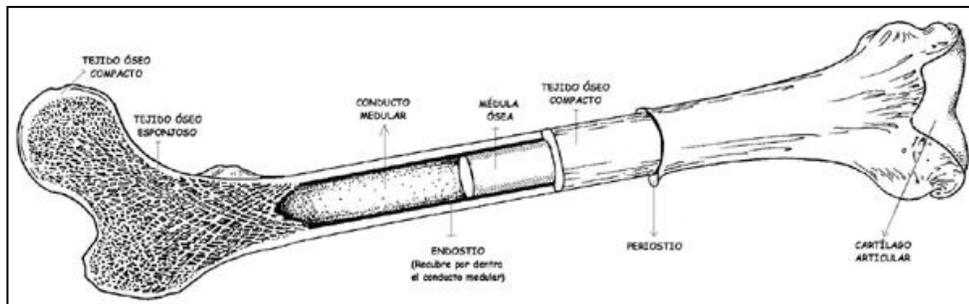


Fig. 1 Esquema de la estructura macroscópica del hueso largo. Disponible:

<http://www.mailxmail.com/curso-ejercicio-fisico/tejido-oseo>

2.2.1.b Características histológicas del tejido óseo

El tejido óseo está compuesto fundamentalmente por sustancia intercelular, sustancia fundamental, colágeno y sales minerales (hidroxiapatita y fosfato de calcio), que forman *capas* o láminas de un grosor aproximado de 5µm. Las células óseas (*osteocitos*) se encuentran en pequeños espacios alargados, las lagunas, ubicadas entre las láminas o en ellas; los osteocitos tienen numerosas prolongaciones que pasan a canales estrechos, los canalículos; éstas prolongaciones salen a las lagunas y se unen con canalículos de lagunas vecinas y con canales ricos en vasos del tejido óseo; de esta manera los osteocitos son capaces de intercambiar sustancias con el torrente sanguíneo, ya que la difusión a través de la matriz no es posible debido a su calcificación (ver figura 4) (46).

En el hueso compacto, las láminas están dispuestas en forma concéntrica rodeando canales longitudinales del hueso denominados *conductos de Havers*, por lo que se forman los llamados sistemas de Havers u osteonas, éstas contienen paquetes vasculonerviosos. Los conductos de Havers están comunicados por medio de los *conductos de Volkman* (ver figura 2), y a su vez con los vasos del periostio y el endostio (46).

En el hueso esponjoso también se componen de láminas dispuestas paralelamente en dirección longitudinal con una trabécula; pero no se encuentran formando sistemas de Havers, ya que las trabéculas normalmente no son tan gruesas como para impedir la nutrición de los osteocitos por difusión de la superficie endóstica (46).

La capa externa del periostio se compone de tejido conectivo denso. Contiene menor número de vasos sanguíneos pero éstos son de mayor calibre, y se ramifican hacia los conductos de Volkman. Haces de fibras de colágeno pasan desde la capa externa hacia la capa interna del hueso, estas fibras son denominadas Fibras de Sharpey y unen al periostio con el hueso subyacente (46).

El endostio es mucho más fino que el periostio y está compuesto fundamentalmente por una única capa de células aplanadas con potencial osteogénico (46).

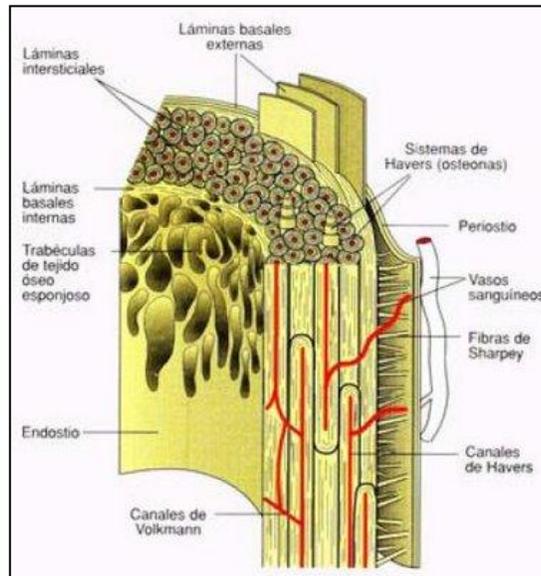


Fig. 2 Esquema de la diáfisis de un hueso largo. Disponible:

<http://morfoudec.blogspot.com/2008/07/microscopa-virtual-hueso-compacto-y.html>

2.2.1.c Células óseas

En el tejido óseo existen varios tipos de células que se encuentran dentro del estroma conjuntivo de la medula ósea rico en células mesenquimales pluripotenciales (*stem cells*) indiferenciadas, las cuales pueden dar origen a cinco tipos de células diferentes: fibroblastos, osteoblastos, condroblastos adipocitos y mioblastos: las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos (ver tabla 1) (47).

Tabla 1: Células Óseas (47)

ESTROMA MEDULAR	TEJIDO ÓSEO
Stem cells hematopoyéticas	Osteoblastos
Stem cells mesenquimales	Pre-osteoblastos
Adipocitos	Osteocitos
Macrófagos	Osteoclastos
Mastocitos	Pre-osteoclastos
Células endoteliales	Células linfoides

- Células osteoprogenitoras: son células madres relativamente indiferenciadas. Durante la formación de los huesos las células osteoprogenitoras sufren división y transformación a células formadoras de hueso u osteoblastos (46).
- Osteoblastos: son las células formadoras de hueso, ellas sintetizan y secretan la matriz ósea. En las zonas donde hay formación ósea los osteoblastos forman una capa de células cilíndricas bajas, parecido a un epitelio, y están en contacto entre sí por medio de prolongaciones cortas y finas. El citoplasma es fuertemente basófilo y contiene cantidades importantes de fosfatasa alcalina. Los osteoblastos retornan al estado de osteoprogenitoras al detenerse la formación ósea, y simultáneamente se disminuye el contenido de fosfatasa alcalina (47).
- Osteocitos: ésta es la verdadera célula ósea. Emiten finas prolongaciones o canaliculos que hacen que se unan todos los osteocitos entre sí, los osteocitos provienen de los osteoblastos que durante la formación del hueso quedan atrapados en la matriz ósea. Estas células son capaces de degradar la matriz ósea que se encuentre a su alrededor, esto lleva a la reabsorción del mineral óseo

y debido a esto desempeñan un papel importante en la hemostasia del calcio (47).

- Osteoclastos: son las células que degradan el hueso. Los osteoclastos son células gigantes multinucleadas con forma y tamaño variable, su citoplasma es ligeramente basófilo en células jóvenes y con el tiempo se vuelve acidófilo. El citoplasma de estas células es muy vacuolado, contiene varios complejos de Golgi y numerosos centriolos, muchas mitocondrias pero escasos retículo endoplasmático. La mayoría de las vacuolas son lisosomas primarios que dan reacción histoquímica positiva para la fosfatasa ácida. Los osteoclastos empiezan a desintegrar la matriz mineral y la matriz osteoide por medio de la fosfatasa ácida y enzimas proteolíticas, liberando mineral óseo y fragmentos colágenos, quedando unos vacíos llamado lagunas a las cuales se desplazarán los osteoblastos para producir nuevamente hueso (48).

2.2.1.d Histogénesis ósea

Significa formación de tejido óseo u “osificación”. Se produce cuando se diferencian las células indiferenciadas en osteoblastos que secreta la matriz ósea orgánica y que al poco tiempo se mineraliza. El sitio donde se produce la osificación se denomina centro de osificación; en la mayoría de los huesos existen varios centros de osificación que se originan en distintos momentos. El primer punto de osificación se llama centro primario de osificación y los posteriores son centros secundarios. La osificación puede originarse desde varios puntos, pero rápidamente se fusionan en un centro primario, la mayor parte del hueso se desarrolla a partir de este punto (46).

En el desarrollo embrionario se diferencian dos formas de osificación (46):

- La intramembranosa, por la cual se desarrollan los huesos planos del cráneo, parte del maxilar inferior y parte de la clavícula, pueden denominarse huesos mesenquimáticos, ya que la osificación comienza dentro de una placa densa mesenquimática membranosa. En ciertas zonas del mesénquima condensado se diferencian algunas células en osteoblastos, que poco después comienzan a secretar matriz ósea orgánica, la matriz recientemente formada no está mineralizada y se denomina osteoide, tras la formación del osteoide comienza la mineralización de ésta matriz ósea por depósito de fosfato de calcio. El centro de osificación va creciendo en tamaño, ya que durante los posteriores depósitos en la matriz se incorporan osteoblastos a la capa circundante y estos se transforman a su vez en osteocitos; lo osteoblastos incorporados a la matriz mineralizada son reemplazados por otros. El resultado del proceso es la formación del tejido óseo primitivo, vascularizado, rodeado de una membrana de mesénquima vascular que luego se transformará en periostio (46).
- La endocondral, por la cual se desarrollan la mayoría de los huesos del organismo, y se denominan complejos osteocondrales; provienen de un modelo preformado de un cartílago hialino embrionario. En este tipo de osificación se hipertrofian los condrocitos con lo que aumentan de tamaño las lagunas, esto reduce la matriz cartilaginosa hasta llegar a finos tabiques los cuales sufren mineralización, y los condrocitos degeneran y mueren como consecuencia de la ausencia de difusión en la matriz

tras su mineralización. Simultáneamente a las modificaciones del cartílago, las células del pericondrio en la parte central de la diáfisis adquieren propiedades osteogénicas, y el pericondrio se transforma en periostio. Las células que se encuentran en la parte profunda del periostio se diferencian a partir de células osteoprogenitoras que proliferan y posteriormente se diferenciarán a osteoblastos, éstas células forman rápidamente una delgada capa de tejido óseo en la parte central de la diáfisis denominada manguito o collar perióstico, además, tejido conectivo vascularizado proveniente de la porción más profunda del periostio crece a través del manguito por actividad osteoclástica y se denomina yema o brote perióstico, éste brote se ramifica y envía capilares hacia las cavidades de cada extremo del modelo cartilaginoso y a través de éstos se arrastran células mesenquimáticas que se diferencian a médula ósea primitiva o a osteoblastos. Los osteoblastos utilizan las trabéculas cartilaginosas osificadas como armazón y comienzan a secretar allí matriz ósea, estas modificaciones morfológicas se denominan centro de osificación primaria.

El crecimiento del hueso se comienza tras la formación del centro de osificación primaria, en la diáfisis se comienza a expandir el espacio medular primitivo hacia las epífisis, ésta expansión del espacio medular tiene lugar cuando los osteoclastos reabsorben las trabéculas óseas formadas al principio, ya que éstas sólo representaban un armazón temporario. Al mismo tiempo que el espacio medular alcanza los extremos epifisarios del cartílago se ordenan los condrocitos en columnas longitudinales y los pasos sucesivos del proceso de osteogénesis endocondral se producen ahora en la zonas sucesivas (46).

2.2.1.e Remodelado óseo

Durante el crecimiento óseo se mantiene aproximadamente la forma externa del hueso, esto se debe a que continuamente se produce una remodelación de la superficie del hueso, puesto que se deposita y se reabsorbe tejido óseo en distintas zonas (46).

El remodelado óseo se divide en las siguientes fases (ver figura 3) (49):

- Fase Quiescente: en esta fase el hueso se encuentra en condiciones de reposo. Los factores que comienzan el proceso de remodelado aún no son conocidos.
- Fase de Activación: el primer proceso que ocurre es la activación de la superficie ósea previa a la reabsorción, por medio de la reducción de los osteoblastos maduros existentes en la superficie endóstica. Al quedar en exposición la superficie mineralizada se produce la atracción de osteoclastos circulantes que provienen de los vasos próximos.
- Fase de Reabsorción: en esta fase los osteoclastos comienzan a reabsorber la matriz mineral y osteoide. Este proceso lo culminan los osteoclastos y permite la liberación de los factores de crecimiento contenidos en la matriz (TGF- β factor transformante del crecimiento β ; PDGF factor de crecimiento).
- Fase de Formación: en las zonas reabsorbidas existe un agrupamiento de preosteoblastos, que son atraídos por factores de crecimiento que fueron liberados de la matriz y producen la quimiotaxis y además estimulan la proliferación celular. Los preosteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se

va a unir el nuevo tejido, y expresan proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), responsables de la diferenciación. Los osteoblastos ya diferenciados sintetizarán la sustancia osteoide que llenarán la zona.

- Fase de Mineralización: a los 30 días de haber sido sintetizada la sustancia osteoide, se iniciará su mineralización, la cual acabará a los 130 días en el hueso compacto y a los 90 días en hueso esponjoso. Luego, comenzará de nuevo la fase de descanso.

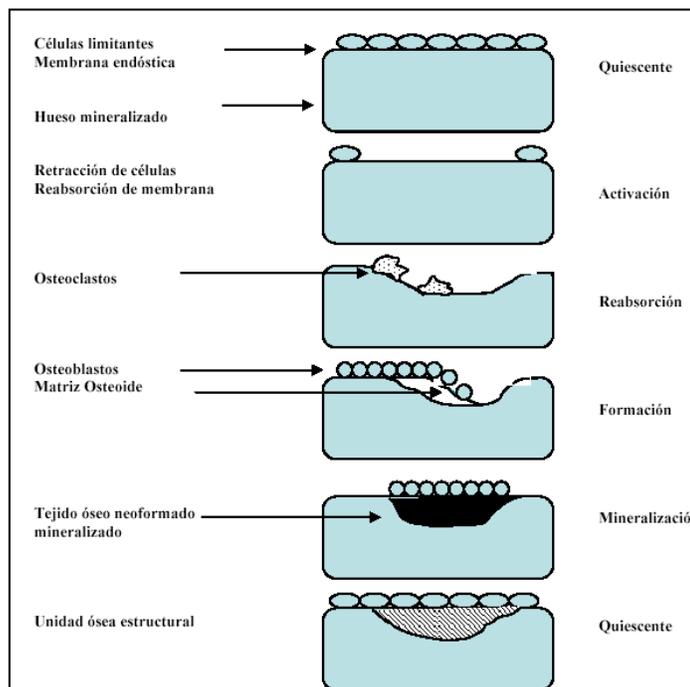


Fig. 3 Fases del Remodelado óseo (49).

2.2.2 Regeneración ósea

2.2.2.a Definición

La regeneración ósea se basa en la formación de nuevo hueso para el relleno de defectos óseos; comprende el uso de membranas con funciones de barrera aptas para evitar la infiltración en la zona de reparación de componentes celulares (células epiteliales y conjuntivas) distintos a células

osteopromotoras. Los primeros reportes científicos sobre regeneración ósea aparecen en la literatura a finales de la década de los años 50, donde se demostró crecimiento de nuevo hueso en fémur, cresta ilíaca y columna vertebral utilizando una barrera para impedir la invasión de tejidos blandos (25).

La regeneración ósea es posible de obtener mediante la combinación de tres elementos: células viables, matriz extracelular y sustancias reguladoras insolubles (factores de crecimiento); sin dejar de mencionar factores locales que también son influyentes, como los entornos mecánicos y vasculares (26).

El éxito de la regeneración ósea se relaciona con tres mecanismos (26):

- **Osteogénesis:** Proceso de formación y desarrollo de hueso nuevo. Los materiales osteogénicos se derivan o se encuentran formados por tejido implicado en crecimiento y reparación, por ejemplo, el hueso autólogo, es decir, del mismo paciente.
- **Osteoinducción:** Proceso de estimulación de la osteogénesis. Los materiales osteoinductivos son aquellos que se utilizan para mejorar la regeneración ósea, y el hueso puede crecer o extenderse por una zona donde normalmente no se encuentra. La regeneración ósea será estimulada por liberación de proteínas que facilitan la diferenciación celular. Son ejemplo de materiales osteoinductivos: el hueso autólogo en la fase de reabsorción que libera proteínas morfogenéticas; el plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) que estimulan la quimiotaxis, diferenciación y proliferación celular; y las proteínas morfogenéticas.
- **Osteoconducción:** Proporciona la matriz o estructura física apropiada para la deposición de hueso nuevo. Los materiales osteoconductores

son guías para el crecimiento óseo y permiten que se deposite el hueso nuevo, el cual se formará por sustitución progresiva. Son ejemplos de materiales osteoconductores: hueso autólogo, fibrina autóloga, hidroxiapatita reabsorbible, sulfato de calcio, fosfato tricálcico, fibrina liofilizada, hueso desmineralizado, cristales cerámicos bioactivos, entre otros.

2.2.2.b Técnicas

- Regeneración Tisular Guiada (osteopromoción): Es la capacidad de inducir la formación ósea mediante la utilización de barreras, cuya finalidad es, por medio de una barrera física, que la angiogénesis por defecto provenga a partir del lecho receptor, y evitar la llegada de vasos a partir del conectivo adyacente. Estas barreras pueden ser reabsorbibles o no reabsorbibles (26).
- Osteodistracción: Se basa en provocar una fractura y separar los fragmentos con instrumentos denominados osteodistractores, los que estirarán el coágulo de fibrina y se promoverá la formación de un puente óseo entre los fragmentos (26).

2.2.2.c Indicaciones

Para la Regeneración Ósea Guiada, se deben tener en cuenta la biocompatibilidad, la integración con los tejidos, la separación tisular y el mantenimiento del espacio (27).

Las indicaciones más comunes a la hora de proceder a realizar una Regeneración Ósea Guiada en la cavidad bucal son (27) (50) (48):

- Aumento de reborde alveolar
- Furcas clase II.
- Defectos infraóseos (2 – 3 paredes).
- Defectos en dehiscencia.

- Perforación del seno maxilar.
- Pérdida ósea provocada por absceso periapical.
- Recesión.
- Aumento de reborde para colocación de implantes.
- Con la colocación de implantes en alvéolos postextracción no inmediata.
- Con la colocación simultánea de implantes en alvéolos postextracción inmediata
- Defectos de recesiones oncológicas
- Pérdida de sustancia en etiología traumática.

2.2.2.d Contraindicaciones

La Regeneración Ósea Guiada en la cavidad bucal según algunos autores estará contraindicada en los siguientes casos (27) (50):

- Debe existir un nivel óseo interproximal adecuado y una encía queratinizada de 1 mm como mínimo.
- Paciente que presente infecciones o una mala higiene bucal.
- Pacientes fumadores.
- Pacientes con patologías sistémicas no controladas.
- Pacientes sometidos a radioterapia de cabeza y cuello.
- Pacientes con tratamientos de bifosfonatos.
- Individuos con edad avanzada donde la intervención quirúrgica pueda comprometer su salud.
- Lesiones tumorales, quistes o lesiones agresivas.

2.2.2.e Principios quirúrgicos generales para realizar Regeneración Ósea Guiada

Plasencia y col. establecieron una secuencia de pasos que se deben tener en cuenta para implementar regeneración ósea guiada por medio de membranas, sin tomar en cuenta el tipo de defecto óseo. A continuación, Suárez plantea una modificación de la secuencia establecida (48):

- Llenado de historia clínica y firma de consentimiento informado.
- Preparación del material e instrumental.
- Asepsia y antisepsia del campo quirúrgico.
- Técnica anestésica.
- La incisión inicial se debe realizar distante del defecto, para que no interfiera en la regeneración del mismo.
- Levantamiento de un colgajo mucoperióstico de espesor completo.
- Curetaje de todo el tejido de granulación o fibronectivo que exista dentro del defecto.
- Lavado y detoxificación del defecto con solución fisiológica o algún medicamento antibiótico si es necesario.
- Preparación del biomaterial a injertar.
- Relleno del defecto óseo (opcional).
- Fijación y colocación de la membrana. Se ajusta para que supere máximo 2 o 3 mm del borde del defecto.
- Se recomienda hidratar por 5 min. Antes de la adaptación para mejorar la manejabilidad. Se adapta a la forma del defecto.
- Se puede indicar una presutura para estabilizar la entrada y adaptación de la membrana.
- Reposición del colgajo sobre el defecto y sutura.
- Indicaciones y medicación postoperatoria.

2.2.2.f Condiciones indispensables para lograr el éxito tras la aplicación de Regeneración Ósea Guiada

Se ha determinado que para lograr el éxito de la técnica de regeneración, se deben dar una serie de condiciones predecibles para formar nuevo hueso (50):

- Debe evidenciarse la presencia de células osteogénicas. La regeneración ósea guiada se fundamenta en la presencia de tejido óseo en el lugar del defecto o cercano a éste.
- Es esencial un apropiado aporte vascular, éstos proceden de la superficie ósea, canales de Havers, canales de Volkman y compartimientos medulares.
- El defecto debe hallarse parcialmente estable durante el desarrollo de la regeneración.
- Se debe crear y mantener un espacio adecuado entre la superficie ósea y la membrana.
- Deben estar excluidas las células del tejido conectivo para formar un espacio donde la membrana pueda actuar como barrera semioclusiva, ya que debe tener poros para la oxigenación del tejido y la adhesión celular.
- El material implantado debe ser biocompatible.
- El material debe ser biodegradable en productos no tóxicos.
- Si el material actúa como relleno óseo debe ser totalmente reabsorbible en un tiempo que oscile entre 6 y 12 meses, ya que será sustituido por el nuevo hueso.
- El material debe ser suficientemente estable para permanecer en su sitio durante 6 semanas como mínimo.

2.2.3 Biomateriales utilizados para regeneración ósea

2.2.3.a Definición

Se denomina biomaterial a los productos empleados para reproducir la función de tejidos vivos en los sistemas biológicos de forma segura, mecánicamente funcional y aceptable fisiológicamente, que son temporal o permanentemente implantados en el cuerpo y que tratan de restaurar el defecto existente y, en algún caso, conseguir la regeneración tisular (28).

La ventaja más sobresaliente de los biomateriales como implantes, prótesis o dispositivos implantables, es su disponibilidad, reproducibilidad y adaptación biomecánica. Su desarrollo, producción y aplicación se regula a nivel internacional mediante reglas de control muy estrictas, que emanan predominantemente de las normas establecidas por la “Food and Drug Administration” (FDA) en Estados Unidos y por las normas ISO (*International Organization for Standardization*) en Europa. No obstante, el desarrollo de Biomateriales no está excluido de sorpresas, unas veces muy satisfactorias y otras no tanto, pues a pesar de los controles de experimentación antes de su aprobación en aplicaciones humanas, los modelos experimentales que se utilizan no suponen más que aproximaciones del comportamiento que se debe esperar en humanos, pero no es hasta que se utiliza en la práctica quirúrgica o en la clínica, cuando se establece una comprobación del verdadero comportamiento de un determinado biomaterial (30).

Desde tiempos lejanos existen relatos contrastados que confirman que los seres humanos han venido utilizando una amplia gama de materiales para reemplazar el hueso o los dientes perdidos. Esta variedad incluye otros dientes humanos extraídos previamente, productos de madera, rocas ígneas, marfil, hueso seco, oro, alambres de oro, aleaciones de plata y otros materiales, tales como dientes de morsa, y hasta colmillos de elefante. En la actualidad, los materiales que se utilizan para sustitución y reparación ósea se pueden clasificar atendiendo a su composición química, al espectro de su

aplicación clínica, y también por sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas (30).

2.2.3.b Características

Un biomaterial en contacto con tejidos vivos no debe producir en ellos ningún tipo de alteración, lo que limita las materias primas con las que se puede abordar su diseño. Sin embargo, los biomateriales constituyen un conjunto de materiales cuya principal característica es su gran diversidad. Entre ellos se incluyen metales, cerámicas, vidrios, acero y otras aleaciones metálicas, polímeros sintéticos de múltiples clases, polímeros naturales, tejidos biológicos modificados, etc. (28).

Junto a esta diversidad estructural existe otra funcional, ya que los biomateriales utilizados en cirugía cardiovascular son diferentes de los que se aplican en cirugía ortopédica, odontológica u oftalmológica y, a su vez, son distintos de los utilizados como suturas biodegradables o soportes para la liberación de medicamentos. Desde el punto de vista de su función, algunos biomateriales que contienen drogas son considerados medicamentos; los que incluyen células vivas constituyen los denominados “biomateriales híbridos”. También hay “biomateriales inteligentes” que incluyen compuestos capaces de responder a señales. Los biomateriales deben ser implantados o incorporados dentro del organismo; todos los sistemas que ayudan a la técnica quirúrgica (materiales para la salud), prótesis o dispositivos, como miembros artificiales en los que ningún componente se integra en el tejido, amplificadores de sonido para el oído y prótesis faciales externas, no son considerados implantes (28).

En las últimas décadas se desarrollaron biomateriales para cumplir requerimientos específicos en diferentes aplicaciones clínicas. Hay autores que describen que los materiales para implantes óseos deben observar las siguientes propiedades (29):

- **Biocompatibilidad:** integrarse al organismo hospedero sin que haya efectos citotóxicos, genotóxicos o respuesta inmune. Esta es una propiedad fundamental de los biomateriales.
- **Biodegradabilidad:** degradarse (mediante hidrólisis) a tasas que sean lo más cercanas posibles a las tasas de formación de nuevo hueso. Esto constituye un reto a la biocompatibilidad debido a que los productos de la degradación no deben ser tóxicos.
- **Resistencia y compatibilidad mecánica:** resistir cargas mecánicas según sea la posición del tejido óseo que reemplaza. Las propiedades mecánicas como el módulo de elasticidad, la resistencia a la tracción, a la fractura, a la fatiga y porcentaje de elongación, entre otros, deben ser lo más cercanas posibles a las del tejido que se reemplaza (compatibilidad mecánica) para evitar la osteopenia que se asocia al uso de implantes óseos.
- **Osteoinductividad:** promover la fijación de la formación de células específicas del tejido óseo. Esto se logra al reclutar células madre mesenquimales y osteoprogenitoras para que posteriormente proliferen y se diferencien hacia la línea osteogénica.
- **Osteoconductividad:** actuar como soporte estructural en la formación y crecimiento de nuevo hueso. Esta propiedad se combina con la biodegradabilidad pues el material del implante debe ser reabsorbido para dar espacio al nuevo tejido que inicialmente ayudó a soportar.
- **Radiolucidez:** diferenciarse radiográficamente con respecto al tejido donde se implantó.

2.2.3.c Clasificación

La clasificación de los biomateriales de regeneración puede realizarse atendiendo a su comportamiento cuando se implantan o bien atendiendo a su naturaleza química (28).

Los biomateriales de injerto óseo se pueden agrupar en tres categorías generales (30):

- Autoinjertos: obtenidos de un sitio óseo donador en el mismo sujeto.
- Aloinjertos: obtenidos de un sujeto diferente, dentro de la misma especie
- Aloplástico: materiales sintéticos, cuyo origen puede ser natural o completamente sintético.

En cuanto a la superficie de los materiales y la adherencia o interfase que se forma entre el implante y el hueso, los materiales son descritos como (30) (31):

- Bioactivos: permiten la formación de tejidos normales (hueso nuevo) en sus superficies con una unión fuerte y contigua a la interfase material/hueso.
- Bioinertes: el material no es disuelto en el organismo. Toda materia desprendida del implante no afecta a la células de ninguna forma.

A continuación se describen los materiales de injerto de acuerdo a su composición, propiedades fisicoquímicas y su comportamiento *in vivo* (30):

- Derivados del hueso:
 - Hueso Autógeno: el hueso es una excelente fuente de recursos para sustituir o regenerar hueso perdido. Cuando se obtiene de la misma persona se denomina hueso autógeno, su potencial osteogénico es alto. Su principal desventaja es la de requerir dos intervenciones quirúrgicas para obtener el hueso de sitios intraorales o extraorales.
 - Hueso seco congelado: en algunas ocasiones, el hueso que se utiliza para injertos se obtiene de otra persona diferente al que lo va a recibir, en ese caso se llama heteroinjerto. El material

recolectado se procesa de formas distintas, en una de ellas se fragmenta en partículas de 500 μm a 5mm, y se sumerge en alcohol etílico al 100%, y al final se almacena en congelación durante el tiempo indispensable para analizar los resultados de cultivos bacterianos, pruebas serológicas y ensayos de anticuerpos y antígenos directos. Si hay contaminación se esteriliza mediante sistemas de radiación gamma o de gas de óxido etileno. Realizadas las pruebas de esterilización, se muele el hueso para obtener partículas de 250 a 725 μm y se prepara para mantenerlo congelado a una temperatura de -80°C hasta el momento que se le requiera, en tal caso, se le denomina como Hueso Seco congelado (HSC).

Otra forma de procesar el hueso consiste, a diferencia de la anterior, en desmineralizar en HCL 0.6 N, con la finalidad de eliminar el material inorgánico y conservar la estructura ósea y así dejar expuesto lo que se conoce como proteína morfogenética; a este tipo de material se le llama Hueso Seco Congelado Descalcificado (HSCD).

El hueso como biomaterial también puede ser procesado a partir de especies animales diferentes al hombre, que en ese caso se le llama Xenoinjerto. La fuente más utilizada es el hueso bovino.

- Materiales obtenidos de recursos naturales: las dificultades quirúrgicas y las desventajas para obtener cantidades suficientes de hueso humano o animal para ser utilizado como injerto, llevaron a los investigadores a buscar otras fuentes. Teniendo en mente la estructura tridimensional del hueso, se observó que la estructura esquelética de ciertos corales se podían utilizar como moldes para preparar sistemas compuestos de fosfato de calcio.

- Materiales Sintéticos: este grupo de materiales representa el verdadero trabajo que han tenido los investigadores en los últimos tiempos, ya que en su desarrollo han empleado materiales de muy diversa naturaleza. En este grupo de los materiales sintéticos, la naturaleza química de los mismos se toma como parámetro para dividirlos en subgrupos; de esta manera se incluyen:
 - Vidrios bioactivos
 - Compuestos de fosfato de calcio
 - Óxidos cerámicos
 - Polímeros
 - Metales y aleaciones de los mismos.

2.2.3.d Plasma Rico en Fibrina

Las plaquetas aisladas de sangre periférica son una fuente autóloga de factores de crecimiento. Cuando las plaquetas en forma concentrada, se añaden a los materiales de injerto, se obtiene un resultado más previsible. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es una fuente fácilmente accesible de factores de crecimiento, con el fin de coadyuvar a la curación de los tejidos duros y blandos. Esto se da por los métodos en el cual se concentran las plaquetas autólogas y se añade a las heridas quirúrgicas o a los injertos y otras lesiones con la necesidad de acelerar la curación. El coágulo de sangre es el enfoque central de inicio hacia la curación de los tejidos blandos y la regeneración ósea (7).

Desde 1990 la ciencia médica ha reconocido a varios componentes de la sangre, que son parte del proceso natural de curación, cuando se añaden a los tejidos heridos o las zonas quirúrgicas tienen el potencial de acelerar la cicatrización. Los adhesivos de fibrina fueron descritos en 1970 y está formado por la polimerización de fibrinógeno con la trombina y calcio. Estos adhesivos se pueden obtener de forma autóloga del paciente o pueden

obtenerse de casas comerciales. El PRP autólogo es una modificación de los adhesivos de fibrina, que ha sido descrito y utilizado en diversas aplicaciones con aparente éxito clínico. El PRP obtenido de la sangre autóloga se utiliza para llevar los factores de crecimiento en altas concentraciones al sitio de defecto óseo o de una región que requiere aumento (7).

La preparación de un novedoso concentrado de segunda generación de plaquetas, es el Plasma Rico en Fibrina (PRF), que no es más que una mejoría con respecto a los tradicionales preparados de PRP. La preparación y el uso de PRF son muy frecuentes en Francia, aunque todavía no es muy popular en el resto del mundo (7).

El PRF fue desarrollado en Francia por Choukroun y col. Esta segunda generación de concentrado de plaquetas elimina los riesgos asociados con el uso de trombina bovina. Un informe de los ensayos clínicos que comparan el contenido del factor de crecimiento del PRF y PRP fue presentado por Wiltfang en el Segundo Simposio Internacional de Factores de Crecimiento, celebrado en mayo de 2005 (7).

Factores de crecimiento presentes en las plaquetas

Bioquímicamente el concentrado plaquetario se compone de suero, leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento, La presencia de todos estos elementos benefician la acción del concentrado, los elementos fundamentales que desarrollan la función de regeneración son los factores de crecimiento, los cuales son (ver tabla 2) (52):

- PDGF (Factor de crecimiento de origen plaquetario): promueven indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos por un mecanismo de quimiotaxis; es activador de macrófagos; es mitógeno de células mesenquimales; facilita la formación de colágeno tipo I.

- TGF-Beta (Factor de crecimiento de transformación Beta): ayuda a la quimiotaxis; proliferación y diferenciación de células mesenquimales; síntesis de colágeno por los osteoblastos; proangiogénesis; inhibe la formación de osteoclastos; inhibe la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores.
- FGF (Factor de crecimiento fibroblástico): proliferación y diferenciación de los osteoblastos; inhiben los osteoclastos; proliferación de fibroblastos e inducción de la secreción de fibronectina; proangiogénesis por acción quimiotáctica sobre las células endoteliales.
- IGF (Factor de crecimiento similar a la insulina): proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento; síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo I por los osteoblastos.
- VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular): quimiotaxis y proliferación de células endoteliales; hiperpermeabilidad de vasos sanguíneos.
- EGF (Factor de crecimiento epidérmico): mitógeno, proapoptótico, quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.

Tabla 2 Factores de crecimiento del concentrado plaquetario (52)

	Proliferación pre/osteoblastos	Proliferación fibroblastos	Quimiotaxis	Síntesis de matriz extracelular	Vascularización
PDGF	++	++	+	+	*
TGFB	+/-	+/-	+	++	*
EGF	-	++	+	*	-
IGF	++	+	++	++	-
VEGF	+		-	-	++

++ Gran Aumento; + Aumenta; - Sin efecto; * Efecto indirecto (4).

O. Ortega

A. Paredes

Preparación:

Las ventajas del PRF sobre las del PRP es que su preparación es más simple y a diferencia del PRP no necesita de manejo bioquímico de la sangre (anticoagulante trombina bovina, tubos estériles con citrato sódico, cloruro cálcico), ni de separación por medio de pipetas ya que el PRP arroja 3 fracciones de plasma (ver tabla 3) (7) (51).

La técnica de preparación del PRF, fue descrita por Choukroun y col. esta técnica se debe realizar 20 minutos antes de la cirugía, recogiendo 10 ml de sangre venosa en tubos de ensayo estériles secos (sin anticoagulante). Luego se realiza una centrifugación inmediata a 2.030 rpm durante 10 minutos, el plasma pobre en plaquetas se acumula en la parte superior y debe ser descartado. El PRF se disecciona aproximadamente 2mm por debajo de su conexión a la red de corpúsculos que se encuentran por debajo para incluir las plaquetas restantes, estos corpúsculos están dispuestos para localizar el cruce entre el PRF y los hematíes (7) (9).

El producto resultante se compone de las siguientes tres capas (7):

- La capa más consistente de Plasma Pobre en Plaquetas, acelular
- Coágulo de PRF en capa media
- Glóbulos rojos en la parte inferior

El PRF está en la forma de un gel de plaquetas y puede ser utilizado en combinación con los injertos óseos, que ofrece varias ventajas, incluida la promoción de la cicatrización de heridas, el crecimiento y la maduración ósea, la estabilización del injerto, el cierre de la herida y de la hemostasia y la mejora de las propiedades de manejo de materiales de injerto. El PRF también puede ser utilizado como una membrana. Los ensayos clínicos sugieren que la combinación de injertos óseos y los factores de crecimiento

que figuran en el PRP y PRF pueden ser adecuados para mejorar la densidad ósea (7).

El PRF tiene muchas ventajas sobre PRP (7) (51):

- Se elimina el proceso de adición de anticoagulantes, así como la necesidad de neutralizarlo.
- Se elimina la adición de trombina de origen bovino para promover la conversión del fibrinógeno en fibrina en la obtención de PRP.
- La eliminación de estos pasos reduce considerablemente la manipulación bioquímica de la sangre, así como los riesgos asociados con el uso de la trombina de origen bovino, los cuales pueden desarrollar anticuerpos contra los factores V y XI, dando lugar a la aparición de coagulopatías mortales; aunque otro autores exponen que la trombina bovina se utiliza para gelificar la preparación fuera del cuerpo y por lo tanto no representa riesgos para el paciente.
- La conversión del fibrinógeno en fibrina, se lleva a cabo lentamente con pequeñas cantidades de trombina presente fisiológicamente en la muestra de sangre.

Tabla 3. Comparación de la técnica de obtención entre el PRF y el PRP (fuente propia, con base en citas 7, 9, 51)

PRF	PRP
Tiempo de centrifugación: 2030 rpm durante 10 min. Una sola centrifugación	Una sola centrifugación: 1200 rpm durante 10 min. Dos centrifugaciones: la segunda se realizará a 2000 rpm
Se utilizan Tubos de ensayo estériles secos, sin anticoagulante	Se utilizan tubos de ensayo con anticoagulantes (citrate sódico al 38%)
Resultan dos capas de concentrado plasmático	Resultan tres capas de concentrado plasmático
Se obtiene un coagulo luego de la centrifugación activado mediante procesos fisiológicos	Se obtiene un coagulo luego de la centrifugación que es activado agregándole cloruro cálcico al 10 % o Trombina Bovina
Para la obtención del PRF se disecciona el coagulo de la red de hematíes	Para obtener el PRP se separan las fracciones de plasma utilizando pipetas

2.2.3.e Quitosano

El quitosano es un polisacárido catiónico lineal compuesto por unidades de β -(1 \rightarrow 4)-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa (d-glucosamina) y β -(1 \rightarrow 4)-2-desoxi-2-acetamido-D-glucopiranososa (N-acetyl-D-glucosamina) (ver figura 5). Es poco frecuente en la naturaleza y se obtiene mediante desacetilación extensiva de la quitina, un homopolímero β -(1 \rightarrow 4) enlazado de la N-acetil-D-glucosamina (ver figura 4), presente en los exoesqueletos de crustáceos, moluscos, en las cutículas de insectos y como constituyente de las paredes celulares de muchos tipo de hongos (30).

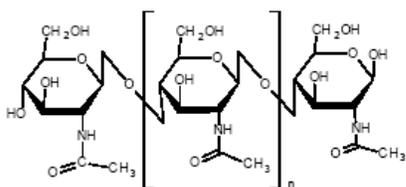


Fig. 4 Estructura molecular de la quitina (30)

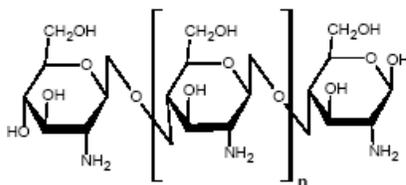


Fig. 5 Estructura molecular del quitosano (30)

Este polisacárido es biodegradable, biocompatible y no tóxico, características que unidas a su naturaleza policationica, han estimulado su empleo en diversas aplicaciones biomédicas (30).

Los ensayos *in vitro* utilizando cultivos celulares de diferentes tipos de células sobre quitosano han demostrado su excelente citocompatibilidad. Debido a su carácter catiónico, el quitosano es mucoadhesivo y las células

se adhieren fuertemente al mismo, generalmente con buena proliferación. Este material ha demostrado ser osteo y neocondrogénico, además soporta y modula el crecimiento y proliferación de células vasculares, neuronales, fibroblastos, células epiteliales, además de osteoblastos y condrocitos (30).

Obtención:

El procedimiento químico para obtener la quitina y el quitosano se refleja en el siguiente esquema (32):

Conchas de crustáceo



- a. Reducción de tamaño.
- b. Desproteización (NaOH diluido)
- c. Desmineralización (HCl diluido)



Obteniéndose: La Quitina

- a. Desacetilación (con NaOH concentrado o enzimática)
- b. Lavados con agua



Obtención: Hojuelas de Quitosano



- a. Moliéndola → Quitosano en polvo
- b. Disolución con ácidos, filtración y deshidratación → sales de quitosano.

Aplicaciones:

Las aplicaciones del quitosano en la actualidad, que están en relación con nuestro país, son las siguientes (32):

- Aplicaciones biomédicas:

El quitosano en su forma más pura se ha utilizado en la rama biomédica, ampliándose a la Medicina humana y Medicina veterinaria; sus aplicaciones principales se basan en el tratamiento de quemaduras de la piel, producción de suturas quirúrgicas, como apósito de protección de heridas ya que tiene actividad hemostática y antiinfecciosa además acelera la cicatrización de heridas y la neoformación ósea, también contribuye a la regeneración de cartílago articular (33).

Este polímero catiónico se le puede atribuir la capacidad de ser vehículo de liberación controlada de fármacos como, factores de crecimiento, antibióticos y antiinflamatorios; así mismo puede unirse fácilmente a otros materiales de regeneración. Al quitosano se le atribuyen aplicaciones clínicas variadas por sus presentaciones en gel, polvo o solución (33) (34).

- Aplicaciones en agricultura:

El quitosano en este campo es útil para el recubrimiento de las semillas para su conservación durante el almacenamiento, para los sistemas liberadores de fertilizante, y como agente bactericida (32).

- Tratamientos de aguas:

Se utiliza como coagulante primario para aguas residuales de alta calinidad y turbidez, floculante para la remoción de partículas, coloidales sólidas y aceite de pescado, captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas (32).

- Aplicaciones cosméticas:

Se emplea en la fabricación de cápsulas para adelgazar, también como aditivo bactericida de jabones, champúes, pastas dentales, etc., y agente hidratante para la piel (32).

- Biosensores

Se aplica en sensores para la glucosa en sangre humana, en sensores para la detección de fenoles en aguas de desechos de plantas industriales, sensores basados en la inmovilización de nanopartículas especialmente ordenadas (32).

2.2.4 Extracción dental

Es el área de la cirugía bucal y maxilofacial que se encarga de realizar la extracción de una pieza dentaria o fragmento de ella, rigiéndose por técnicas, principios, indicaciones y circunstancias que deben rodear a cualquier tipo de exodoncia (35)

2.2.4.a Tipos

- Exodoncia simple: Se entiende como exodoncia dental simple al acto quirúrgico que conlleva a la extirpación de un diente habitualmente erupcionado, sin deterioro de los tejidos blandos ni del contorno del hueso alveolar (1), se lleva a cabo con la técnica básica de fórceps y elevadores, existe un empleo de fuerza controlada. (36)

El éxito de la técnica consiste en la expansión del proceso alveolar, la ruptura del ligamento periodontal y la separación de la inserción epitelial (36).

- Exodoncia Complicada: Se considera exodoncia complicada aquella que no puede realizarse según la técnica clásica con fórceps ya que no es posible visualizar correctamente la pieza a extraer debido a la presencia de algún obstáculo óseo dentario que impida su prehensión y luxación, es necesario el abordaje quirúrgico con levantamiento de colgajo, ostectomía y/o odontosección (35).

2.2.4.b Indicaciones

Las exodoncias simples están indicadas en los siguientes casos:

- Dientes con gran destrucción coronaria que no permite su restauración; en estos casos la caries severa es la principal causante de la pérdida de estructura dental; existe patología pulpar evidente que no es posible tratar endodónticamente o se han originado infecciones odontogénicas que se han difundido a otras regiones anatómicas (35).
- Dientes afectados por enfermedad periodontal avanzada; en estos casos los dientes presentan movilidad debido a la pérdida en las estructuras de soporte. Cuando no es posible la conservación del diente mediante técnicas específicas hay que recurrir a la extracción del mismo (35).
- Dientes temporarios que prevalecen en los maxilares dentales después de transcurrido su tiempo normal de recambio, sin embargo, hay que tener especial cuidado con esta indicación y tener en cuenta la cronología exacta de los tiempos de erupción dentaria además de hacer un examen radiográfico exhaustivo ya que en algunos casos la prevalencia en boca del diente deciduo puede deberse a la agenesia del permanente (35).
- Dientes sanos con casos de mal oclusión, tanto en tratamientos ortodóncicos como en rehabilitaciones protésicas; en tratamientos ortodóncicos para conseguir espacio y en dientes inclinados o extruidos para posibilitar el correcto diseño y estabilidad de la prótesis (35).
- Fractura de raíces (36).
- Dientes retenidos y supernumerarios (36)

- Dientes afectados por procesos infecciosos, con el fin de prevenir procesos generales que puedan desencadenar o agravar diversos estados patológicos (35).

Por otro lado, las exodoncias complicadas presentan las siguientes indicaciones (36):

- Intento infructuoso de exodoncia simple.
- Caries dental en especial caries cervicales.
- Morfología de las raíces: largas, finas, divergentes y dilaceradas.
- Esclerosis óseas.
- Reabsorción dentinaria.
- Proximidad a estructuras anatómicas importantes, (canal dentinario, seno maxilar).
- Dientes con tratamientos endodónticos .

2.2.4.c Contraindicaciones

Las contraindicaciones de la exodoncia no son totales, pueden dividirse en contraindicaciones sistémicas y locales (36).

Contraindicaciones Locales:

- Infección odontógena: Es una infección polimicrobiana, su tratamiento se basa en la antibiótico terapia. La selección del antibiótico es empírica basándose en criterios epidemiológicos, función del cuadro clínico, bacterias implicadas y las características individuales clínicas de cada paciente (37), partiendo del tratamiento podemos decir q la infección odontógena no es una contraindicación absoluta de la exodoncia, el cuadro clínico de infección debe mejorar al extirpar la pieza infectada, siempre que no se implique levantamiento de colgajo o remoción de hueso (36).

- Pericoronaritis: Es un proceso infeccioso agudo que se caracteriza por la inflamación del tejido blando que rodea al diente retenido, la infección se asocia habitualmente con el tercer molar inferior y es producida por el crecimiento bacteriano en el espacio del tejido blando que cubre la corona del molar, esta área se caracteriza por conservar humedad, tibieza, protección, alimentos y oscuridad, un medio ideal para que se dé el crecimiento bacteriano (38). La extracción de un molar incluido en este momento aumenta el peligro de una infección postoperatoria (36).
- Dientes incluidos en tumor: La exodoncia podría diseminar las células tumorales (36).
- Dientes que han recibido radioterapia: Cuando los pacientes son irradiados en la región cervico-facial. Es conveniente esperar al menos un año a que se recupere el hueso. Si no es posible, se debe utilizar una técnica poco traumática (36).
- Gingivitis ulcerativa necrosante aguda (GUNA): La GUNA es un trastorno inflamatorio grave causado por bacterias presentes en la placa dental, es de progreso rápido, avanza con destrucción tisular masiva, sigue un curso agudo e implica aparición de úlceras y tejido necrótico en la zona afectada (39). Aparece una afección oral generalizada así como un deterioro del estado general del paciente (36).

Contraindicaciones Sistémicas:

Se encuentran (36):

- Infarto agudo al miocardio. Tiempo de espera prudencial 6 meses después del incidente.

- Enfermedades metabólicas descompensadas tales como: insuficiencia suprarrenal, diabetes *mellitus*, insuficiencia renal.
- Embarazo: primer y último trimestre.
- Coagulopatías no controladas.
- Leucemias y linfomas no controlados.
- Hipertensión arterial descompensada; existe un mayor riesgo de hemorragia.

2.2.4.d Técnicas

- *Colgajos*: Es aquella porción de tejido delimitada por una incisión quirúrgica que posee su propia vascularización permite un buen acceso quirúrgico y puede reponerse a su sitio de origen (36).

Principios básicos (36):

- Los colgajos deben tener mayor amplitud en la base para asegurar el aporte vascular.
- Debe poseer suficiente envergadura para permitir un buen acceso para que al reposicionar el colgajo éste descansa sobre tejido óseo sano.
- El espesor debe ser completo (mucoperióstico) ya que solo se pretende eliminar hueso y para su sanación, se precisa la existencia de periostio.
- El colgajo se debe realizar con extrema precaución para así evitar lesionar estructuras anatómicas cercanas.

Tipos de colgajos (36):

- *Envolvente*: Circula por el surco gingival extendiéndose un diente por detrás y dos por delante de la pieza a extraer.

- Triangular: Parecido al colgajo envolvente pero con una descarga anterior o posterior.
- Trapezoidal: Colgajo igual al envolvente pero con dos descargas una anterior y otra posterior.
- Semilunar: Consiste en una incisión curva que se traza en mucosa libre, justo en el límite de la encía adherida, de concavidad superior en maxilar y concavidad inferior en mandíbula.

Técnica:

Dichas incisiones se realizarán con una hoja de bisturí número 15, el desplazamiento del colgajo mucoperióstico se efectúa con periostótomos que se harán deslizar directamente sobre el hueso con la finalidad de no lastimar los tejidos blandos. Una vez obtenido el colgajo, se mantendrá mediante un separador tipo Farabeuf (35).

- *Ostectomía*: Consiste en sacrificar parte del tejido óseo que rodea al diente a exodonciar, con el fin mejorar el acceso de los instrumentos y servir de punto de apoyo a los mismos (36).

Técnica:

La alveolectomía se puede realizar con escoplo o con fresas quirúrgicas siendo esta última la más aconsejable, debido a su mayor rapidez y menor traumatismo, se utiliza baja velocidad y buena irrigación para evitar complicaciones postoperatorias. Generalmente se efectúa por mesio-vestibular de la raíz que se desea extraer, sin embargo, si se desea extraer el tercio apical la ostectomía se realizará a nivel del ápice (36).

- *Odontosección:* Es el mecanismo mediante el cual se intentan individualizar las raíces de un molar con el objetivo de actuar sobre cada raíz de manera separada (35)

Indicaciones (35):

- Dientes habitualmente multiradiculares o impactados.
- Raíces divergentes y curvas.
- Hueso interradicular atrapado.
- Dilaceraciones radiculares
- Proximidad con estructuras anatómicas importantes y peligro de lesión a las mismas.
- Anquilosis.

La odontosección y la osteotomía son dos técnicas que se complementan, siendo necesario llegar a un correcto equilibrio entre ambas (36).

Técnica:

Se debe realizar la sección del puente dentinal, dicha sección se realizará mediante fresas quirúrgicas. En los molares inferiores se obtendrá la separación de las raíces haciendo una ranura en el puente dentinal que se extiende de vestibular a lingual con una profundidad variable dependiendo de la ranura de la furcación, en el caso de los molares superiores la odontosección se efectuará de la misma forma para separar las raíces mesio y distovestibulares, añadiendo después una sección en sentido mesiodistal para conseguir la separación de la raíz palatina (35).

2.2.4.e Procedimiento quirúrgico:

El primer paso, consiste en posicionar al paciente dependiendo del maxilar en el que se realizará la cirugía. Si el acto quirúrgico se llevará a

cabo en el maxilar inferior el plano oclusal debe ser paralelo al suelo y debe quedar a la altura del codo del cirujano; si por el contrario el acto se llevará a cabo en el maxilar superior el paciente debe estar a la altura del hombro del operador y el plano oclusal deberá formar un ángulo de 45°, y posteriormente se llevará a cabo la técnica anestésica pertinente al caso (35).

Cuando se tiene al paciente posicionado y anestesiado se comienza con el acto quirúrgico propiamente dicho, el operador libera el diente a nivel de cuello y en todo su contorno de las inserciones ligamentosas que unen a la pieza con la encía, con la ayuda de un instrumento denominado sindesmotomo que es introducido en el surco gingivo-dentario y recorre todo el contorno de la pieza este procedimiento es llamado sindesmotomía (35).

Las balas del fórceps son introducidas lo más profundamente posible debajo de la encía separada con el objeto de presionar el diente a nivel de su cuello y de esta manera evitar el desmenuzamiento o fractura de la corona dentaria (35).

La desarticulación del diente se conseguirá al romper las fibras del ligamento periodontal y al producirse la dilatación del alveolo, para ello se deben ejercer movimientos de lateralidad vestibulo linguales o vestibulo palatinos, esta maniobra de vaivén se hace progresivamente mayor hasta conseguir la ruptura de las fibras periodontales y la dilatación del alveolo; en dientes monoradiculares pueden realizarse movimientos de torsión en torno a su eje longitudinal, así como, en cualquier caso movimientos extrusivos, hasta conseguir la extracción de la pieza (35).

Manejo del alveolo tras la exodoncia:

Una vez finalizada la exodoncia se realiza la limpieza del alveolo, posteriormente se realiza el curetaje, esta maniobra solo se llevará a cabo si

existen restos evidentes de restauraciones o fragmentos dentales dentro del alveolo o si en la radiografía periapical preoperatoria se mostraba presencia de lesiones periapicales (36).

Se procede a hacer compresión digital de las tablas óseas con el fin de devolver al hueso su posición original, deben eliminarse los tejidos blandos sobrantes en especial los de tipo inflamatorio, posteriormente se debe palpar la zona en busca de espículas óseas y de dado caso de estar presentes deben ser eliminadas para evitar molestias al paciente (36).

Una vez suturado el alveolo la hemostasia se consigue colocando una gasa en el espacio que ocupaba la pieza dentaria, al entrar en oclusión se realiza una presión vertical sobre el alveolo que facilitará la cicatrización, se debe mantener la gasa presionada durante 20 o 30 minutos (36).

2.2.5 Impactación de terceros molares

El estudio radiográfico de la posición anatómica del tercer molar, permite la clasificación de la impactación (41).

- Clasificación de Pell y Gregory (ver figura 6) : tiene en cuenta la relación del tercer molar con la rama ascendente mandibular, la profundidad relativa del tercer molar y la posición del tercer molar en relación al eje axial del segundo molar.

Relación del tercer molar con la rama ascendente mandibular:

- *Clase I:* El espacio entre la superficie distal del segundo molar y la rama ascendente mandibular es mayor que al diámetro mesiodistal del tercer molar.

- *Clase II:* El espacio entre la superficie distal del segundo molar y la rama ascendente mandibular es menor que el diámetro mesiodistal del tercer molar.
- *Clase III:* El tercer molar esta parcial o totalmente dentro de la rama ascendente mandibular.

Profundidad relativa del tercer molar:

- *Posición A:* La parte más alta del tercer molar esta en el mismo nivel o por encima del plano de la superficie oclusal del segundo molar.
- *Posición B:* La parte más alta del tercer molar esta en el mismo nivel o por encima del plano de la línea oclusal del segundo molar.
- *Posición C:* La parte más alta del tercer molar esta en el mismo nivel o por encima del plano de la línea cervical del segundo molar.

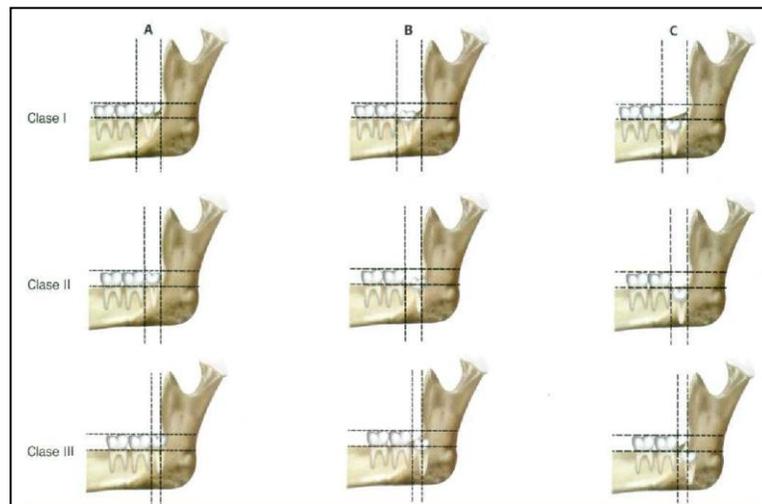


Fig. 6 Clasificación de Pell y Gregory. Disponible:

<http://dc310.4shared.com/doc/NCtSfJyV/preview.html>

- Clasificación de Winter (ver figura 7): Considera la posición del tercer molar en relación con el eje axial del segundo molar: mesioangular, distoangular, vertical, horizontal, bucoangular, linguoangular e invertido.

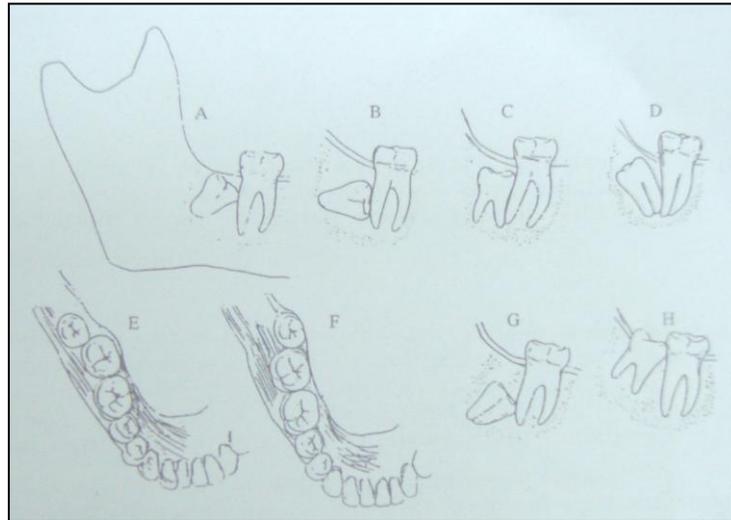


Fig. 7 Clasificación de Winter (41)

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se dará a conocer la metodología que se llevó a cabo en este trabajo, describiendo el tipo de investigación, diseño y enfoque. Se expondrá el número de la muestra, los equipos, materiales a utilizar y el procedimiento que se realizó para obtener los datos necesarios y cumplir los objetivos propuestos de este estudio.

3.1 Enfoque, tipo y diseño de la investigación

La presente investigación es cuantitativa de tipo descriptiva, experimental y prospectiva. Se define como cuantitativa ya que utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico. (16).

Este estudio se ubica dentro de la metodología de investigación descriptiva, que consiste en la caracterización de un hecho o fenómeno para establecer su comportamiento (17), se determinaron características observadas de la Regeneración Ósea en dos grupos de estudio y se observó y comparó el comportamiento de los dos biomateriales.

Además se considera experimental, ya que hubo manipulación directa de las variables (16), donde se analizó el comportamiento de la Regeneración Ósea bajo la conducta de los dos biomateriales a emplearse en los defectos óseos. A su vez, el diseño de la investigación es prospectivo ya que se

recolectaron los datos a lo largo del tiempo del experimento. Se considera prospectivo si los sujetos de estudio están libres del evento de interés al iniciar el estudio y la ocurrencia del evento se registró a lo largo del tiempo del mismo (21).

3.2 Variables

Una variable es una cualidad susceptible de sufrir cambios (17), las variables presentes en este estudio son de tipo independiente y dependiente, la variable independiente fueron el quitosano y el plasma rico en fibrina utilizados para la regeneración ósea, la dependiente fue la Regeneración ósea, siendo ésta la que se modificó al implantar cualquiera de los dos compuestos de regeneración en los distintos defectos óseos, para así obtener variación en la regeneración ósea, dependiendo ésta del tipo de biomaterial que se haya utilizado.

3.3 Población y muestra

La población estuvo constituida por los pacientes que acudieron al Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO) y Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular (LIBCEM) ubicado en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, con indicación de extracción en las piezas dentarias. Se seleccionó una muestra de dicha población, la cual estuvo formada por 10 alveolos dentarios, para obtenerla se partió de un muestreo de tipo no probabilístico a conveniencia de los investigadores, se escogieron cinco pacientes con dos piezas dentales a extraer (terceros molares). Para el estudio se escogieron las piezas dentales de un mismo maxilar (maxilar inferior) que se encontraran en posición similar, donde se aplicó en un alveolo post extracción quitosano y en el otro plasma rico en fibrina.

Los pacientes seleccionados cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión establecidos en este estudio.

Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos géneros con terceros molares con indicación de extracción en un mismo maxilar, y ambos en posición similar, los cuales manifestaron a través del consentimiento informado su disposición de participar en este estudio.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que presenten compromiso sistémico bajo terapias farmacológicas con anticonvulsivantes, bloqueadores de los canales de calcio e inmunosupresores.
- Pacientes con hábitos tabáquicos o chimóicos.
- Pacientes embarazadas o en período de lactancia
- Piezas dentarias que se encuentren en posición C, Clase III de Pell y Gregory.

3.4 Técnica(s) e instrumentos de recolección de datos

Para cumplir con los objetivos planteados, los datos se obtuvieron bajo la observación directa y estructurada, fue de tipo estructurada debido a que se establecieron los aspectos a investigar con anterioridad, para de esta manera poder captar de forma precisa lo que interesa del evento (18), como lo es la presencia de células osteoprogenitoras y la neoformación ósea, a través del uso de dos biomateriales empleados, así como también se observó la calidad y la cantidad de radiopacidad en el alveolo en la valoración radiográfica.

Todo instrumento de recolección de datos debe cumplir tres requisitos esenciales: confiabilidad, validez y objetividad; la confiabilidad se refiere al grado en que su aplicación repetida al mismo individuo produce resultados iguales. La validez se refiere al grado en que un instrumento realmente mida la variable que pretenda medir. La objetividad se refiere al grado en que el instrumento es permeable a la influencia de los sesgos y tendencias de los investigadores que lo administran o interpretan (16).

El instrumento de recolección de datos fue la lista de cotejo, que se fundamenta en una lista de aspectos relacionados con el suceso de investigación, la cual permite medir si se registra o no durante la observación (22). Esta lista fue aplicada para evaluar la regeneración ósea mediante la observación de la radiografía periapical.

La lista de cotejo utilizada fue la de Suárez (2011) y consta de cuatro ítems (23), que se le aplicaron a cada muestra, y son:

- **0: Defecto radiolúcido:** Sin variación radiográfica del defecto.
- **1: Limitado relleno óseo:** el defecto óseo aparecerá radiolúcido con la excepción de la aposición de hueso neoformado en los márgenes del defecto.
- **2: Relleno óseo parcial:** el defecto óseo será parcialmente radiopaco, con regiones de radiolucidez y radiopacidad, que indicarán la formación de hueso nuevo desde los márgenes del defecto sin establecer una continuidad.
- **3: Relleno óseo completo:** el defecto óseo será radiopaco en su totalidad.

3.5 Materiales y procedimientos

Materiales:

- Membranas de Quitosano
- PRF
- Sutura reabsorbible (30 KatGut)
- Anestesia
- Iodo
- Solución fisiológica
- Analgésicos (Post quirúrgicos)

Instrumentos:

- Turbina, micromotor y pieza recta (KAVO)

- Fresa quirúrgica
- Bisturí
- Hoja de bisturí
- Forceps
- Elevadores
- Cureta de Lucas
- Jeringa carpule
- Aguja larga para anestesia
- Separadores de tejidos
- Sindesmótomo
- Pinza mosquito
- Pinza de Adson
- Tijera quirúrgica
- Guantes estériles, Tapaboca, batas quirúrgicas, gorros quirúrgicos
- Gasas.

Equipos:

- Aparato de Rx (Belmont)
- Centrifuga (Digisystem, Taiwan)
- Microscopio Electrónico de Barrido (*HITACHI S2500*)

Procedimiento Clínico:

Los procedimientos clínicos se llevaron a cabo en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, dentro del Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular de la misma. Se examinaron los pacientes clínicamente, los cuales presentaron indicación de exodoncia de terceros molares inferiores y cumplimiento con los criterios de inclusión y exclusión de esta investigación, se les dio a conocer los objetivos de este trabajo mediante el consentimiento informado con el propósito de solicitarles su colaboración para esta investigación. A continuación se les hizo saber por

escrito el plan de tratamiento, fecha, hora de la cirugía y de las siguientes citas control. Para culminar, los investigadores estudiaron los hallazgos radiográficos para luego compararlos mediante la lista de cotejo al finalizar el estudio. Los defectos óseos fueron los reportados post exodoncia, mediante la toma de radiografías periapicales. Se colocaron membranas de quitosano en un alveolo post extracción y PRF en el otro alveolo, de un mismo paciente, ubicados en la misma arcada dentaria. Para el registro de los datos se tomaron 40 radiografías periapicales en total, a los quince, treinta, sesenta y ciento veinte días después de la implantación de lo biomateriales. El control radiográfico se comenzó a los quince días de la cirugía. Para el análisis de las radiografías se contó con la colaboración del Od. Edgardo Morales, profesor de la cátedra de Radiología Oral y Maxilofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes.

El estudio se llevó a cabo de la siguiente manera:

Primera Cita:

- Entrega del consentimiento informado al paciente
- Realización de historia clínica
- Exploración clínica y radiográfica de la zona
- Planificación de las citas control.
- Se llevó a cabo el procedimiento quirúrgico de la siguiente manera:
 - Anestesia de la zona (ver Figura 8)



Fig. 8 Anestesia de la zona quirúrgica

- Toma de sangre para la obtención de la membrana de PRF, (Figura 9).



Fig. 9 Toma de la muestra de sangre

- Centrifugación de la muestra sangre para la obtención del PRF, (figuras 10 y 11).



Fig. 10 Muestra de sangre en tubo de ensayo



Fig. 11 Centrifugación de la muestra de sangre

- Luxación de las piezas dentarias (ver figura 12)



Fig. 12 Luxación de la pieza dental

- Extracción propiamente dicha de las piezas dentarias (ver figura 13)



Fig. 13 Extracción de la pieza propiamente dicha

- Limpieza y curetaje de los alveolos (ver figura 14)

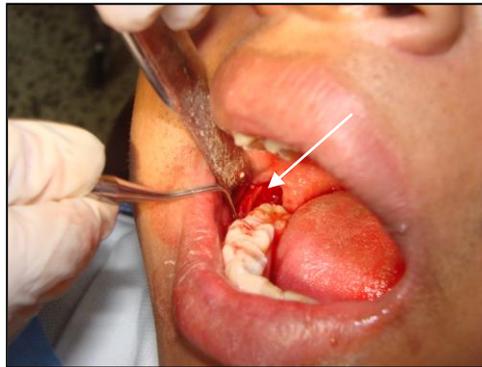


Fig. 14 Limpieza y curetaje del alveolo.

- Colocación de la membrana de quitosano (ver figura 15) en un alveolo post extracción y PRF en el otro (ver figura 16).

QUITOSANO



Fig. 15 Implantación del Quitosano

PRF

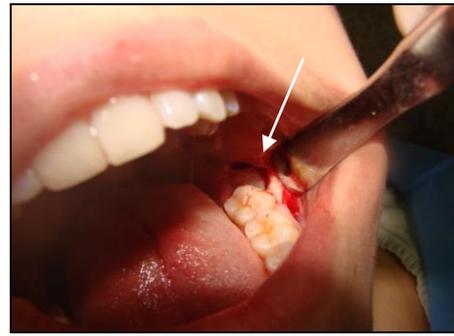


Fig. 16 Implantación del PRF

- Sutura de los alveolos con sutura reabsorbible, (figura 17).



Fig. 17 Sutura del alveolo.

- Indicaciones post operatorias

Segunda Cita:

Se realizó quince días después de la exodoncia. Se tomó la primera radiografía control de la zona. Se analizaron los datos por medio de la lista de cotejo.

Tercera Cita:

Se realizó treinta días después de la exodoncia. Se tomó la segunda radiografía control de la zona. Se analizaron los datos por medio de la lista de cotejo.

Cuarta Cita:

Se realizó sesenta días después de la exodoncia. Se tomó la tercera radiografía control de la zona. Se analizaron los datos por medio de la lista de cotejo.

Quinta Cita:

Se realizó ciento veinte días después de la exodoncia. Se tomó la cuarta radiografía control de la zona. Se analizaron los datos por medio de la lista de cotejo. Se dio de alta paciente.

Procedimiento para el análisis en microscopía electrónica de barrido de las muestras de Quitosano y PRF:

Se realizó el análisis de las muestras de PRF y quitosano en el Laboratorio de Análisis Químico y Estructural de Materiales (LAQUEM) de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, en un Microscopio Electrónico de Barrido marca *HITACHI S 2500*.

Procedimiento para el Análisis del PRF:

Las muestras biológicas son malas conductoras de iones, esto hace que se dificulte su análisis, por lo que se llevo a cabo un procedimiento para la manipulación de las muestras con el fin de lograr su correcto manejo.

- Toma de la muestra de sangre para la obtención del PRF (ver figura 18).



Fig. 18 Toma de la muestra d sangre.

- Se separó el coagulo de Fibrina seccionándolo en 3 partes de aproximadamente 2 mm cada una (Ver figuras 19, 20 y 21).



Fig. 19 Separación del coagulo de Fibrina.

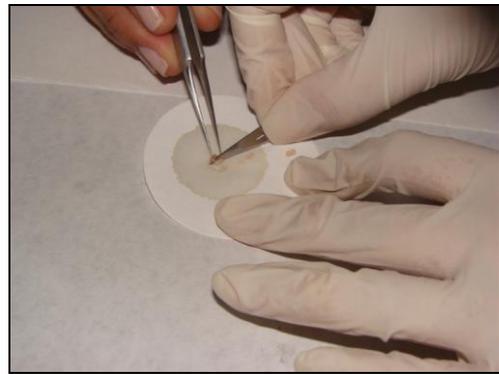


Fig. 20 Sección del coagulo de Fibrina.



Fig. 21 Coagulo de Fibrina seccionado

- Se sumergieron dos de las muestras durante cinco minutos en solventes puros tales como acetona y etanol (ver figura 22), para lograr su deshidratación, la muestra sobrante no fue manipulada, dejándose sobre el papel absorbente (ver figura 23). Este procedimiento se realizó con la finalidad de comparar en que medio se comportaron mejor.

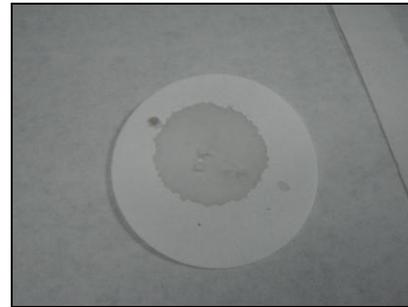


Fig. 22 Muestras sumergidas en solventes puros **Fig. 23 Muestra en papel absorbente**

- Las muestras fueron enumeradas y dispuestas en una placa portadora de muestras sobre un trozo de grafito (carbón) el cual sirvió como conductor de iones (ver figura 24).

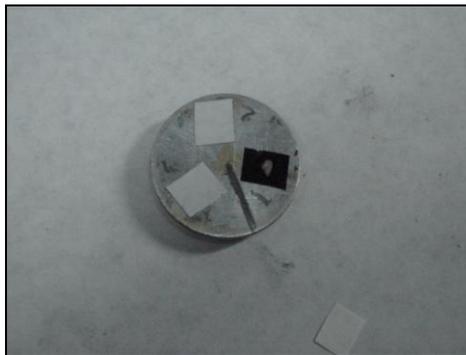


Fig. 24 Muestras sobre la placa

- La placa con las muestras fue introducida en un Recubridor Iónico (Blanco de Oro puro) marca SPI – MODULE Sputter Coater (ver figura 25, 26 y 27) por 100 segundos con el fin de que éstas sean recubiertas del metal, logrando un grosor de 300 Åmstrong. Estas muestras biológicas son malas conductoras, por ésta razón requieren un recubrimiento con un metal conductor, en éste caso se utilizó el oro por sus propiedades conductivas y poco oxidativas (ver figura 28).



Fig. 25 Placa con las muestras preparadas.



Fig. 26 Placa introducida en el Recubridor Iónico.



Fig. 27 Recubridor Iónico (SPI – MODULE Sputter Coater).



Fig. 28 Placa con las muestras recubiertas en oro.

- Finalmente las muestras fueron introducidas en el Microscopio Electrónico de Barrido (*HITACHI S2500*) para su análisis (ver figura 29).

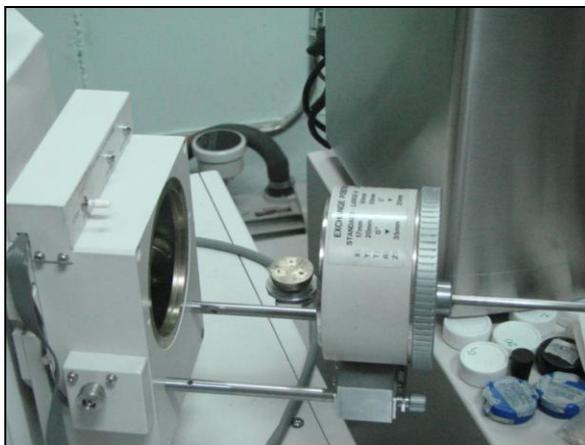


Fig. 29 Placa dentro del Microscopio Electrónico de Barrido (*HITACHI S2500*).

Procedimiento para el Análisis de las membranas de Quitosano:

El análisis de la membrana de Quitosano fue llevado a cabo en el Laboratorio de Análisis Químico y Estructural de Materiales (LAQUEM) en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, en un Microscopio Electrónico de Barrido marca *HITACHI S2500*. El procedimiento para realizar éste análisis fue el mismo empleado para la muestra de Fibrina, exceptuando el uso de solventes, ya que la membrana de Quitosano es una muestra sin contenido de agua. Dicha muestra fue recolectada en el LIBCEM (Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular) de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (ver figura 30).

Después de preparar la muestra en la placa portadora, se procede a realizar el recubrimiento iónico en el blanco de Oro puro, con el fin de hacerla mejor conductora de iones, para su análisis.



Fig. 30 Membrana de Quitosano

3.6 Consideraciones bioéticas

Siguiendo los parámetros nacionales e internacionales mencionados en el reglamento de la Comisión de Bioética del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C.) (24), se les informó a los pacientes las particularidades de la investigación, seguido de la solicitud por escrito del consentimiento informado para la participación en la misma, tomando en cuenta lo siguiente:

- Que la investigación esté respaldada por principios científicos que la justifiquen, se presentó una posibilidad concreta de responder preguntas relevantes.
- El presente estudio siguió una metodología adecuada.
- Siempre prevalecieron los beneficios esperados sobre los posibles riesgos.

3.7 Análisis de Resultados.

Los resultados que se obtuvieron a través de la lista de cotejo, fueron examinados mediante un análisis estadístico descriptivo. Igualmente se utilizó una tabla de distribución de frecuencia, para establecer asociaciones

estadísticas entre variables categóricas y diferencia de medidas entre variables cuantitativas, correspondientemente; y los datos fueron procesados a través del programa Excel 2007.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo, se describen de forma clara, precisa y completa, los resultados obtenidos y la discusión del trabajo experimental realizado. Estos se presentan siguiendo una secuencia lógica, para analizarlos y luego compararlos con los antecedentes encontrados.

4.1 Resultados y discusión de la evaluación radiográfica

Para la realización del análisis radiográfico cualitativo, es imprescindible comprender dos parámetros tomados en cuenta, *la radiopacidad*, es una imagen radiográfica clara, se refleja en cuerpos de gran densidad que son sometidos a tomas radiográficas, *la radiolucidez*, es una imagen radiográfica oscura, correspondiente a cuerpos de menor densidad.

Esta investigación se realizó a boca partida, donde el 100% de las muestras son 10 alveolos postextracción, los cuales se dividen 50% para el PRF y 50% para el quitosano. Para mejor comprensión de los resultados se totalizan las muestras a un 100% por cada lado tratado, siendo entonces, 5 alveolos tratado con PRF el 100% del lado izquierdo, y 5 alveolos tratados con membranas de quitosano el 100% del lado derecho.

Al realizar la primera evaluación radiográfica a los 15 días, se demostró que el 60% de las muestras que fueron tratadas con PRF obtuvieron un nivel de regeneración grado 1 (Limitado relleno óseo) y 40% obtuvieron nivel de regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial). Por otra parte, el 80% de las muestras donde se implantó las membranas de quitosano obtuvieron nivel de regeneración ósea grado 1 (Limitado relleno óseo) y en un 20% no se observa radiopacidad, obteniendo grado 0 (Ver gráfico 1).

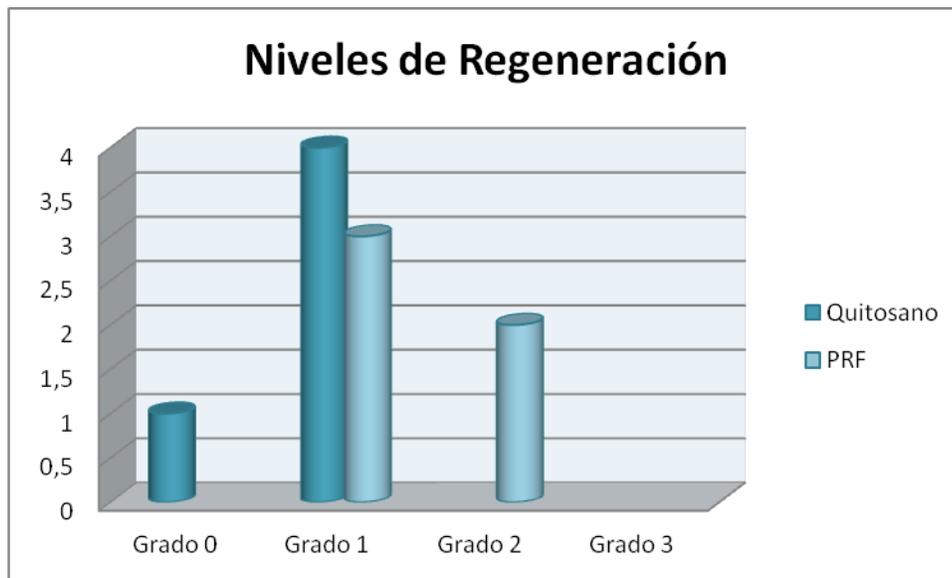


Gráfico 1: Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 15 días.

En la segunda evaluación radiográfica a los 30 días después de la implantación de los biomateriales, se reveló que el 80% de las muestras tratadas con PRF obtuvieron nivel de regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial) y el 20% alcanzó grado 3 (Relleno óseo completo); finalmente en las muestras tratadas con las membranas de quitosano se evidenció que el 80% alcanzaron grado 2 (Relleno óseo parcial) y un 20% se clasificó en grado 1 (Limitado relleno óseo) (Ver gráfico 2).

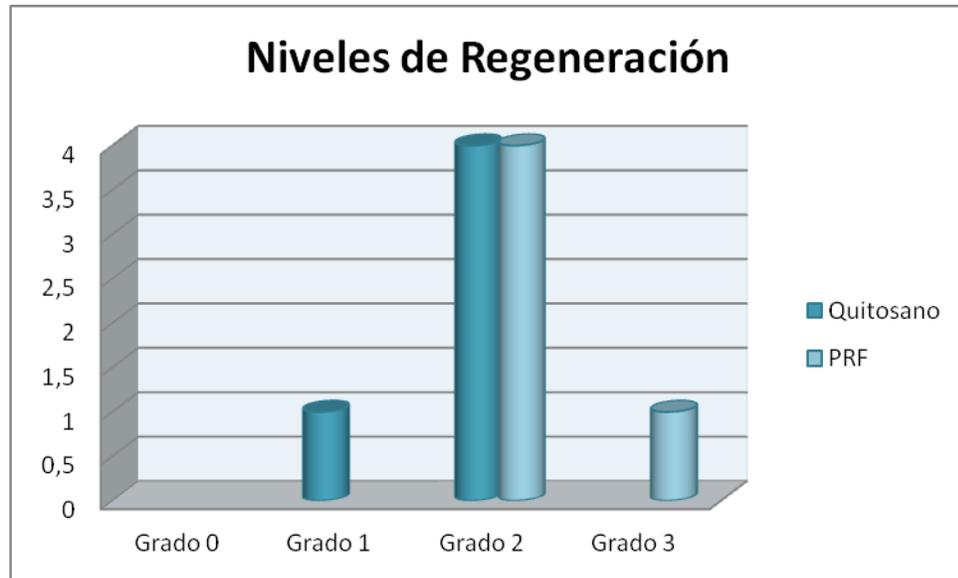


Gráfico 2: Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 30 días.

En la tercera evaluación radiográfica realizada a los 60 días de la implantación de los biomateriales, se evidenció que del 100% de las muestras tratadas con PRF, 60% alcanzaron nivel de regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial) y 40% obtuvieron nivel de regeneración grado 3 (Relleno óseo completo); por otro lado, se evidencia que el 100% de las muestras tratadas con membranas quitosano arrojaron nivel de regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial) (Ver gráfico 3).

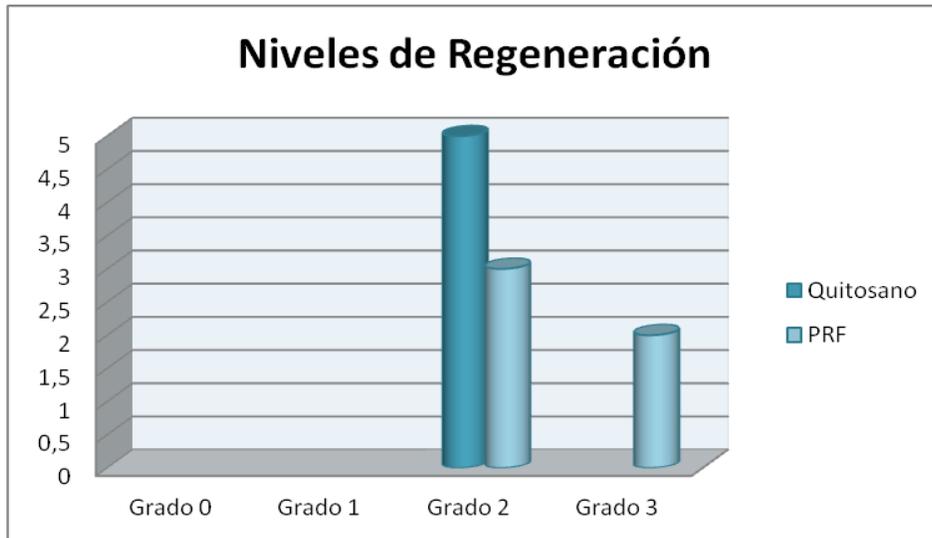


Gráfico 3: Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 60 días

La cuarta evaluación radiográfica efectuada a los 120 días después de implantados los biomateriales, mostró que de las muestras tratadas con PRF, 80% alcanzaron nivel de regeneración grado 3 (Relleno óseo completo) y un 20% obtuvo nivel regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial). En los alveolos donde fue implantada la membrana de quitosano se demostró que 60% de ellos reflejaron nivel de regeneración grado 2 (Relleno óseo parcial) y 40% alcanzaron nivel de regeneración grado 3 (Relleno óseo completo) (Ver gráfico 4).

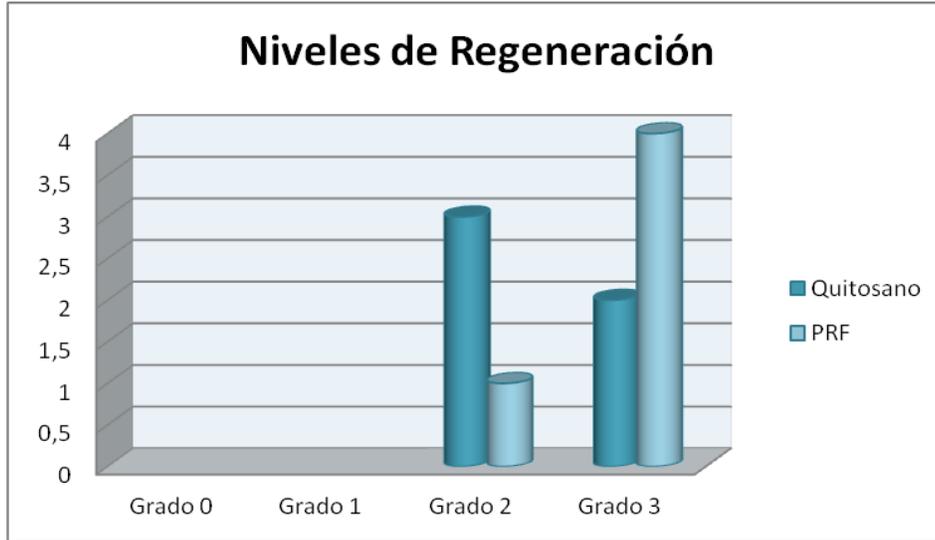


Gráfico 4: Niveles de regeneración ósea. Evaluación radiográfica a los 120 días

Los resultados demuestran que los niveles de regeneración obtenidos superan los esperados por reparación convencional, debido a que la literatura reporta que fisiológicamente el tejido óseo alcanza grado 1 después de 130 días del traumatismo (49). Los grupos estudiados con ambos materiales demostraron un comportamiento proliferativo de tejido óseo evidente radiográficamente. Estos resultados pueden atribuirse a la capacidad que tienen los materiales utilizados en esta experiencia de unirse a los osteoblastos y promover la maduración ósea en concordancia con lo reportado en la literatura (7, 13, 15, 20, 40, 42, 43, 44).

Por otra parte el 80% de las muestras tratadas con PRF alcanzaron nivel de regeneración grado 3 (ver gráfico 5), este biomaterial se caracteriza por ser autólogo, lo que hace que el organismo lo reconozca más rápidamente, promoviendo adecuadamente el proceso de regeneración; estas afirmaciones presentan correspondencia con los estudios de Fernández y col. (2005), Sunitha y col. (2008), Anilkulmar (2009) y Pradeep y col. (2012)

quienes afirman que el PRF es un biomaterial autólogo prometedor para la regeneración de tejidos.

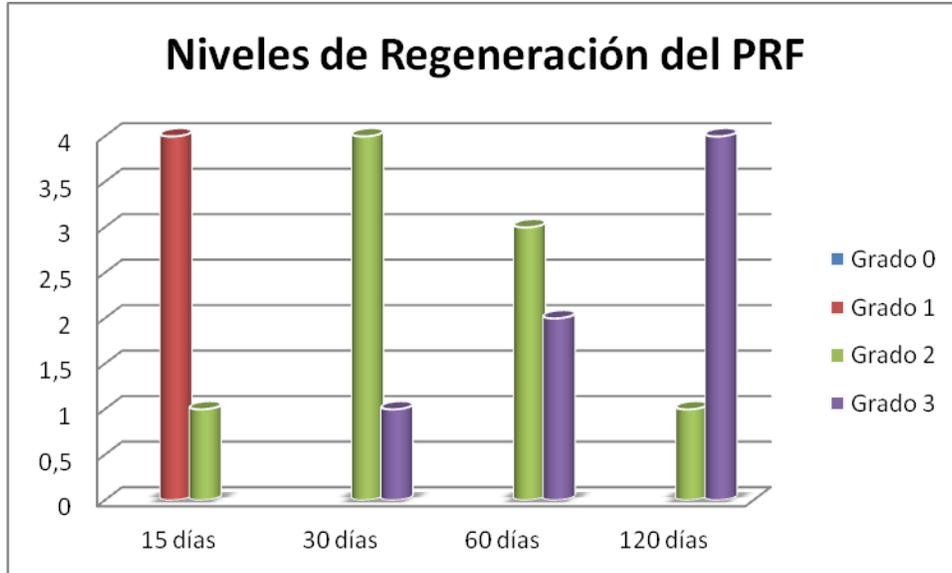


Gráfico 5: Niveles de regeneración ósea del PRF.

Finalmente, los resultados obtenidos con las membranas de quitosano demostraron radiográficamente, que 40% de ellos alcanzaron nivel de regeneración grado 3 a los 120 días, los 60% restantes alcanzaron nivel de regeneración grado 2 en el mismo período de tiempo (Ver gráfico 6). Los datos obtenidos sugieren que el quitosano cumplió con sus propiedades osteoconductoras y regeneradoras de tejido tal como lo describe Seung-Yun y col. (2005), Stephan y col. (2001), Miranda y col. (2012), Bi y col. (2010), quienes afirman que el quitosano es un biomaterial compatible que conduce la formación de hueso.

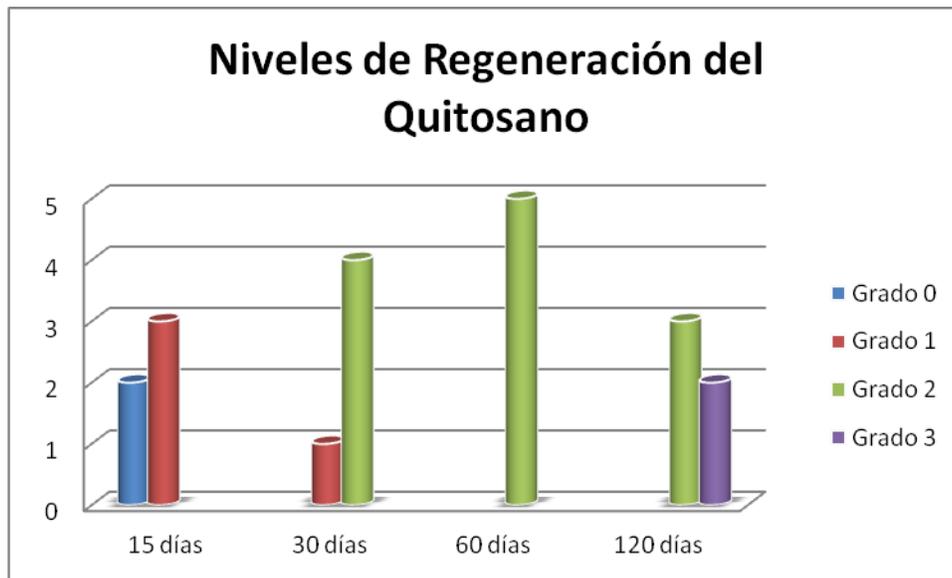


Gráfico 6: Niveles de regeneración ósea del Quitosano

Es importante resaltar, que el mayor número de muestras que alcanzaron relleno óseo completo se evidencian en el grupo donde se implantó el PRF, sin embargo, el grupo tratado con membranas de quitosano mostró relleno óseo completo en menor número de muestras, evidenciándose que ambos biomateriales se comportaron como conductores de tejido óseo, con diferencia en el tiempo de regeneración, esto pudiera atribuirse a la naturaleza de los materiales.

4.2 Evolución de la regeneración ósea

A continuación, se presentan las imágenes donde se describe la evolución de la regeneración ósea en los pacientes que fueron sometidos al acto quirúrgico para la implantación de los biomateriales (Ver figuras 31, 32, 33, 34 y 35)

Paciente 1. (Masculino)

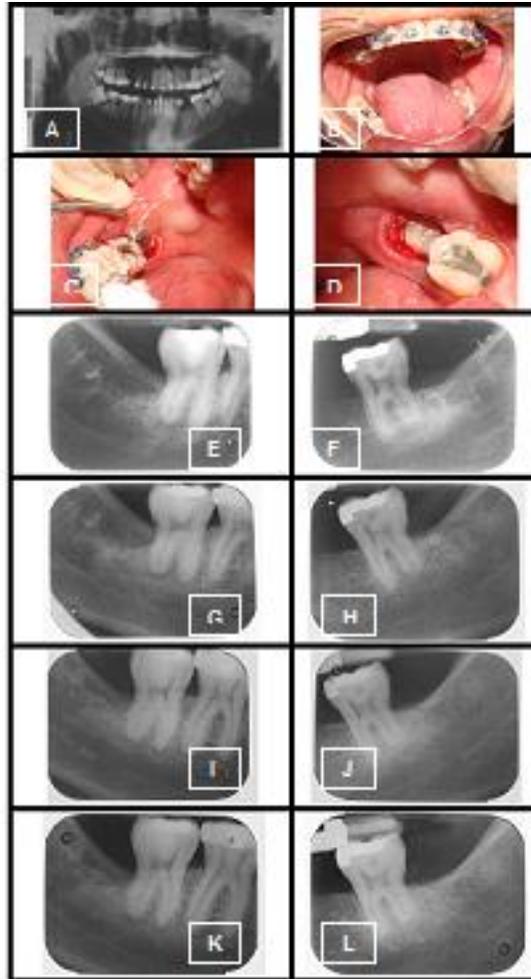


Fig. 31 Evolución de la Regeneración ósea. Paciente 1. A: Rx Panorámica preoperatoria. B: Foto intraoral preoperatoria. C: Implantación de la membrana de quitosano. D: Implantación del PRF. E: Control Rx Derecho 15 días. F: Control Rx Izquierdo 15 días. G: Control Rx Derecho 30 días. H: Control Rx Izquierdo 30 días. I: Control Rx Derecho 60 días. J: Control Rx Izquierdo 60 días. K: Control Rx Derecho 120 días. L: Control Rx Izquierdo 120 días.

Paciente 2. (Femenino)

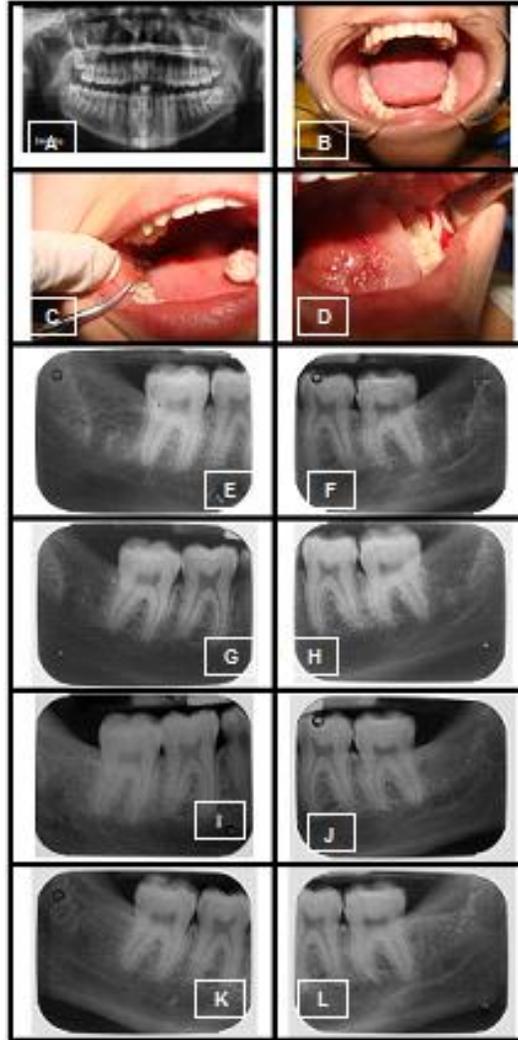


Fig. 32 Evolución de la Regeneración ósea. Paciente 2. A: Rx Panorámica preoperatoria. B: Foto intraoral preoperatoria. C: Implantación de la membrana de quitosano. D: Implantación del PRF. E: Control Rx Derecho 15 días. F: Control Rx Izquierdo 15 días. G: Control Rx Derecho 30 días. H: Control Rx Izquierdo 30 días. I: Control Rx Derecho 60 días. J: Control Rx Izquierdo 60 días. K: Control Rx Derecho 120 días. L: Control Rx Izquierdo 120 días.

Paciente 3. (Masculino)

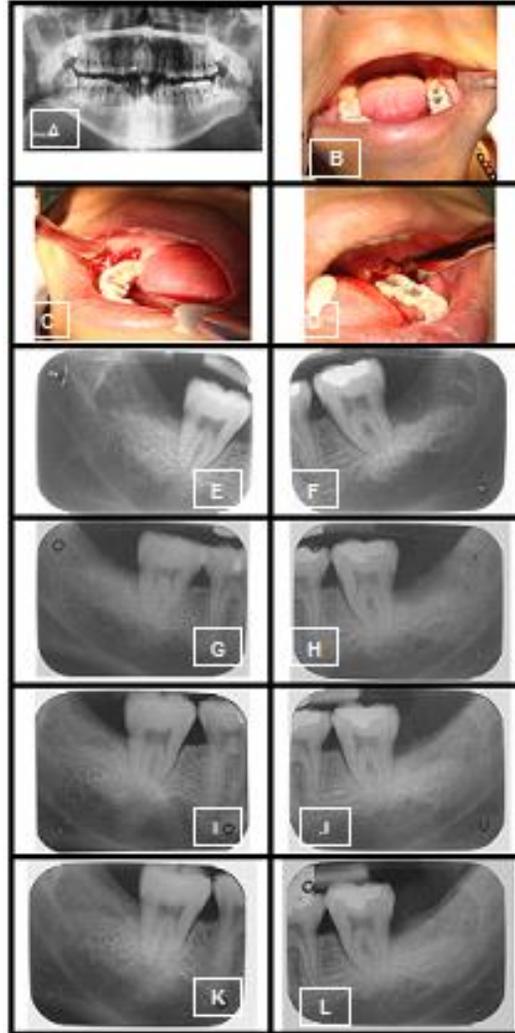


Fig. 33 Evolución de la Regeneración ósea. Paciente 3. A: Rx Panorámica preoperatoria. B: Foto intraoral preoperatoria. C: Implantación de la membrana de quitosano. D: Implantación del PRF. E: Control Rx Derecho 15 días. F: Control Rx Izquierdo 15 días. G: Control Rx Derecho 30 días. H: Control Rx Izquierdo 30 días. I: Control Rx Derecho 60 días. J: Control Rx Izquierdo 60 días. K: Control Rx Derecho 120 días. L: Control Rx Izquierdo 120 días.

Paciente 4. (Femenino)



Fig. 34 Evolución de la Regeneración ósea. Paciente 4. A: Rx Panorámica preoperatoria. B: Foto intraoral preoperatoria. C: Implantación de la membrana de quitosano. D: Implantación del PRF. E: Control Rx Derecho 15 días. F: Control Rx Izquierdo 15 días. G: Control Rx Derecho 30 días. H: Control Rx Izquierdo 30 días. I: Control Rx Derecho 60 días. J: Control Rx Izquierdo 60 días. K: Control Rx Derecho 120 días. L: Control Rx Izquierdo 120 días

Paciente 5. (Femenino)

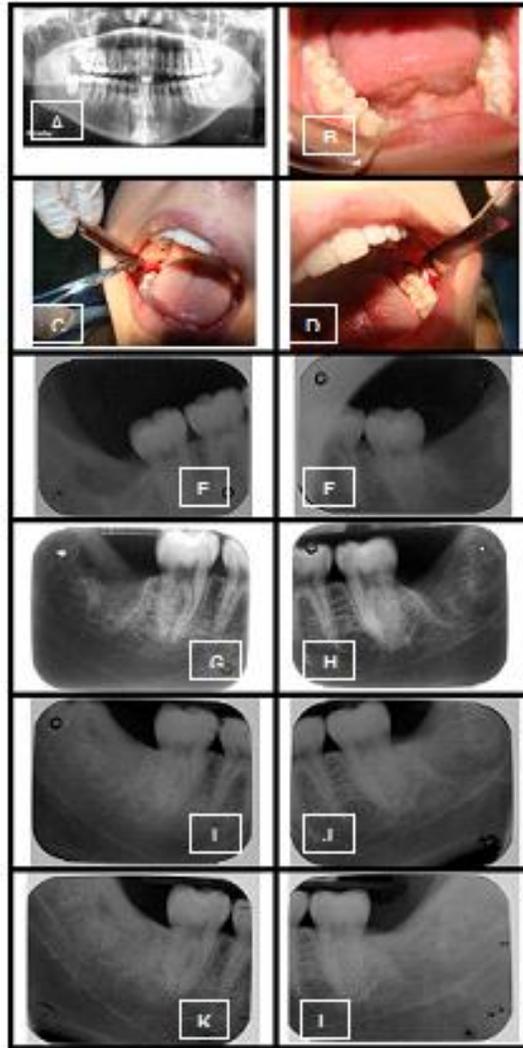


Fig. 35 Evolución de la Regeneración ósea. Paciente 5. A: Rx Panorámica preoperatoria. B: Foto intraoral preoperatoria. C: Implantación de la membrana de quitosano. D: Implantación del PRF. E: Control Rx Derecho 15 días. F: Control Rx Izquierdo 15 días. G: Control Rx Derecho 30 días. H: Control Rx Izquierdo 30 días. I: Control Rx Derecho 60 días. J: Control Rx Izquierdo 60 días. K: Control Rx Derecho 120 días. L: Control Rx Izquierdo 120 días.

Partiendo de esta evolución de regeneración ósea guiada, es importante resaltar, que a pesar de que los pacientes fueron sometidos a

controles radiográficos en un período de tiempo igual y que cada uno de ellos cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión de la investigación, hubo variaciones de la regeneración entre paciente y paciente, estas podrían deberse a las características personales de cada individuo, tales como sexo, cambios hormonales, nutrición y hábitos, así como también, al tipo de técnica de extracción, posición de los molares y la cantidad de osteotomía que se les realizó a cada uno de ellos

4.3 Análisis y discusión de las microfotografías del PRF y Quitosano

Las muestras de Quitosano y del PRF se obtuvieron en el LIBCEM (Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular) de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes. Para el análisis de las muestras, se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido (*HITACHI S2500*) del LAQUEM (Laboratorio de Análisis Químico y Estructural de Materiales) en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes.

El coagulo de fibrina fue seccionado en tres partes de 2mm aproximadamente, sumergiendo dos en solventes puros tales como acetona y etanol, dejando la última sin manipulación en un papel absorbente. Al momento de analizar las muestras se alcanzó un aumento de hasta 5000X por cada una, los resultados de las microfotografías muestran:

Muestra 1 (Deshidratada en papel absorbente)

La figura 36 es una muestra de fibrina sin desecar cuyo tratamiento previo a la Microfotografía Electrónica de Barrido (MEB) fue la colocación de la misma sobre un papel absorbente para eliminar el exceso de agua. Se comenzó el análisis a una magnificación de 100X, se observa el área exterior

con superficie rugosa y bordes irregulares en su totalidad, además se evidencia una zona donde aparecen pequeñas fibrillas entrelazadas, dando un aspecto de nudo (A).

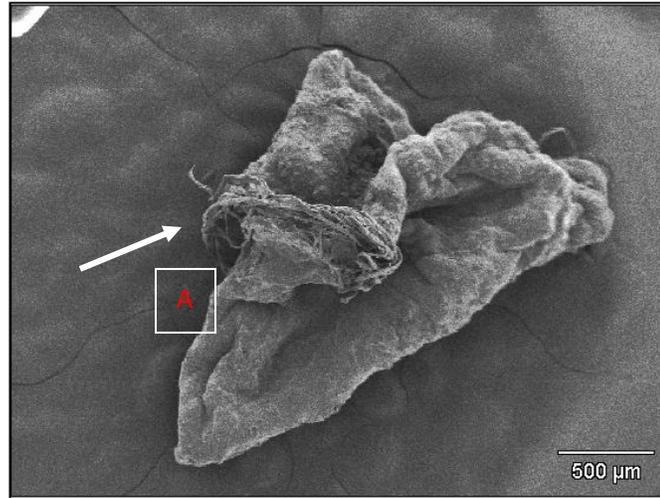


Fig. 36 MEB del coagulo de Fibrina deshidratada sólo con papel absorbente. X:100

La figura 37 es una muestra tomada a una magnificación de 500X. En esta MEB se observa una fibra de fibrina gruesa (A) de la que se derivan múltiples fibras de menor grosor, que dan el aspecto de nido organizado (B). En el fondo del nido entre la continuación de la fibra principal y el entrelazado se observa una zona homogénea, redondeada de bordes delimitados que se corresponde con una célula blanca (C).

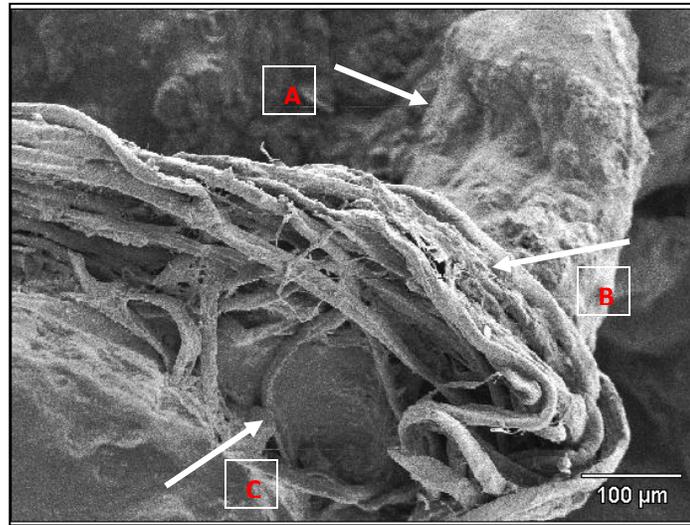


Fig. 37 MEB del coagulo de Fibrina deshidratada sólo con papel absorbente. X:500

La figura 38 es una muestra tomada a una magnificación de 2500X. Se observa un coagulo de fibrina con una arquitectura global homogénea compacta, con aspecto de malla conformada por fibras entrecruzadas, además, adheridas a la periferia de las fibras se observan imágenes pequeñas e irregulares que pudieran ser compatibles con plaquetas sanguíneas (A)

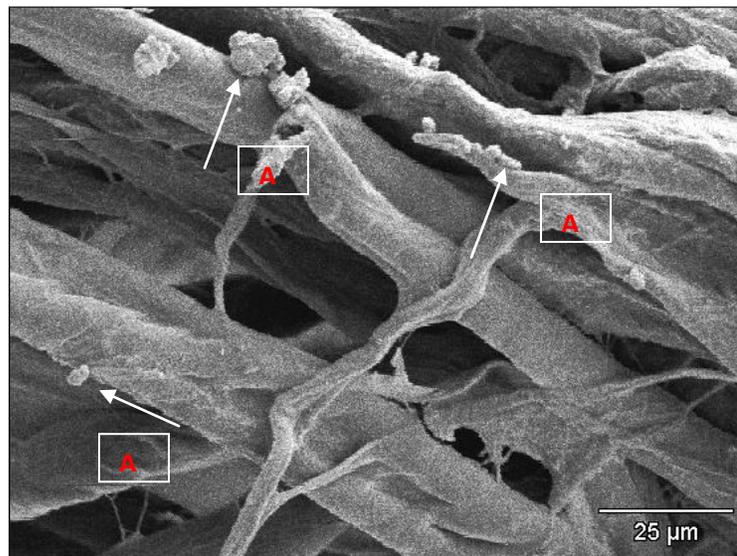


Fig. 38 MEB del coagulo de Fibrina deshidratada sólo con papel absorbente. X:2500

Muestra 2 (Deshidratada en acetona)

La figura 39 es una muestra tomada a una magnificación de 100X, deshidrata con acetona, lo que nos permite ver mayor cantidad de detalles por la eliminación de la capa de fibrina superficial. El coagulo de Fibrina se observa con una superficie rugosa y erosionada de bordes irregulares en su totalidad.

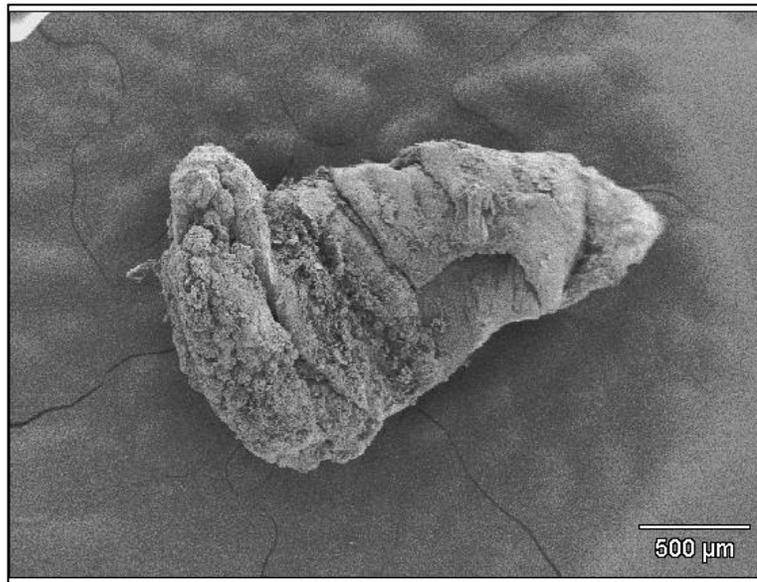


Fig. 39 MEB del coagulo de Fibrina deshidratado en acetona. X:100

La figura 40 es una muestra tomada a una magnificación de 500X. En la MEB se observan varias fibras de fibrina gruesas, sobre las que evidencia una red de células sanguíneas, entre las cuales se distinguen plaquetas (A), células blancas (B) y hematíes (C).

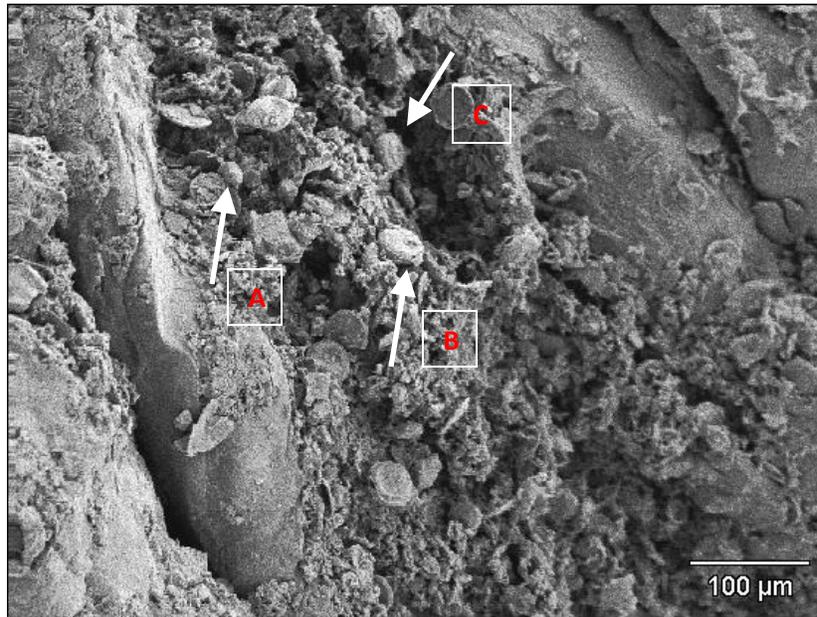


Fig. 40 MEB del coágulo de Fibrina deshidratado en acetona. X:500

La figura 41 es una muestra tomada a una magnificación de 2500X. En la MEB se evidencian gran cantidad de elementos celulares parcial o totalmente deshidratados por el tratamiento previo realizado, sin embargo, llama la atención la presencia de un elemento celular de forma redondeada de superficie porosa y de tamaño mayor al resto de los componentes celulares, características que probablemente sean de una célula blanca en estado de deshidratación (A), vale la pena acotar el hecho, de observarse en el borde superior de este elemento una conformación arquitectónica similar a la de la membrana celular cuya característica principal es la estructura bilipídica que la identifica (B). Por otra parte se encuentran elementos redondeados de superficie cóncava de aspecto poroso que pudieran ser compatible con hematíes (C). Todos ellos dentro de una red de fibrina, en la que se encuentran adosadas estas células sanguíneas.

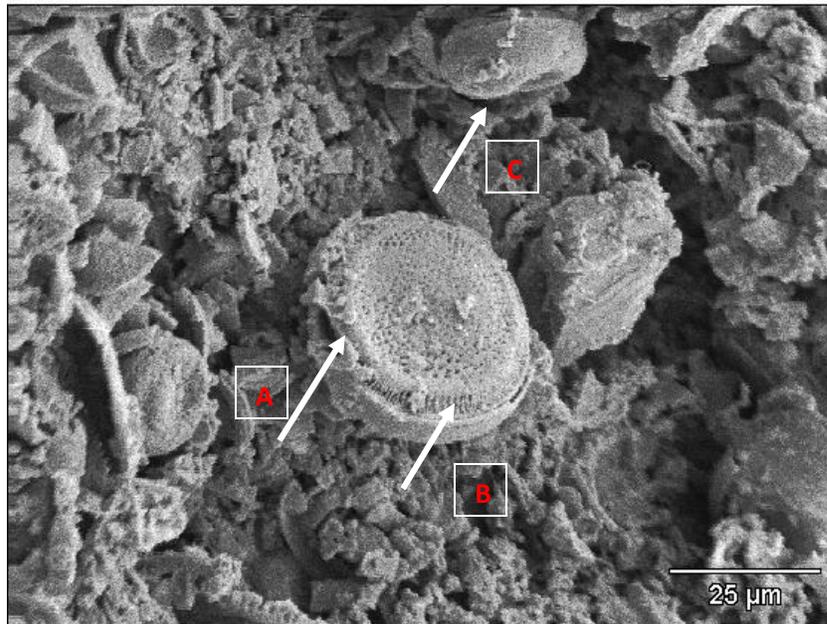


Fig. 41 MEB del coagulo de Fibrina deshidratado en acetona. X:2500

Muestra 3 (Deshidratada en etanol)

La figura 42 es una muestra observada a una magnificación de 100X. En la MEB el coagulo de fibrina se observa con una superficie lisa de bordes irregulares, dando aspecto de estructura de planos en tres dimensiones, forma compatible con un lazo entrelazado. En algunas zonas se evidencian pequeños hilos compatibles con redes de fibrillas (A).

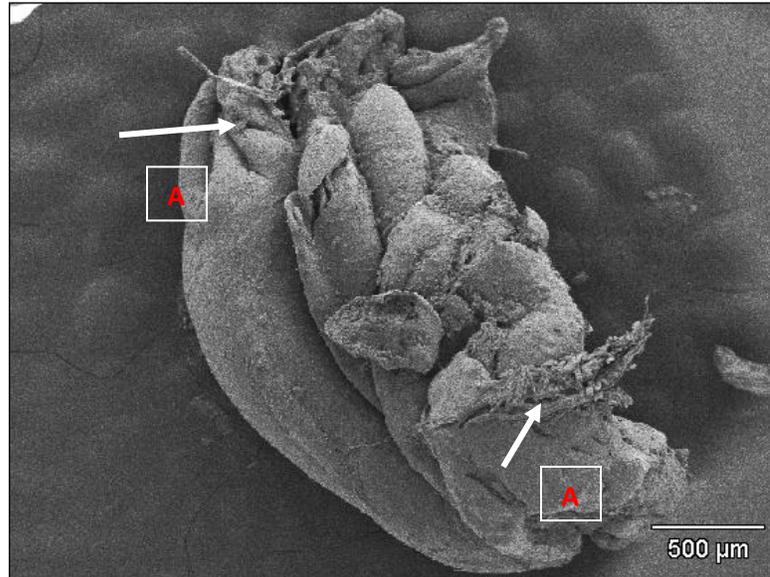


Fig. 42 MEB del coagulo de Fibrina deshidratado en etanol. X:100

La figura 43 es una muestra tomada a una magnificación de 2500X. La MEB muestra numerosas fibras entrelazadas de diferentes grosores, dando un aspecto de red, con fibras aplanadas producto del tratamiento, sobre ellas se evidencian pequeñas imágenes irregulares, que pudieran ser compatibles con plaquetas sanguíneas (A)

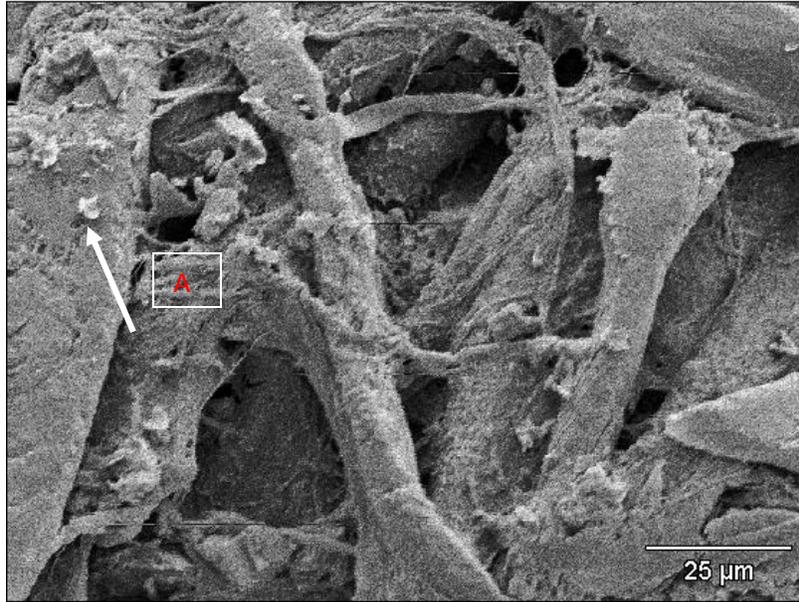


Fig. 43 MEB del coagulo de Fibrina deshidratado en etanol. X:2500

La figura 44 es una muestra tomada a una magnificación de 5000X, donde se observa una fibra de fibrina en su parte interna vista en un corte transversal, la visión de esta muestra es en sentido tubular, la malla de fibras de fibrina demuestra una arquitectura global homogénea compacta del coagulo, dando un aspecto de panal de abejas.

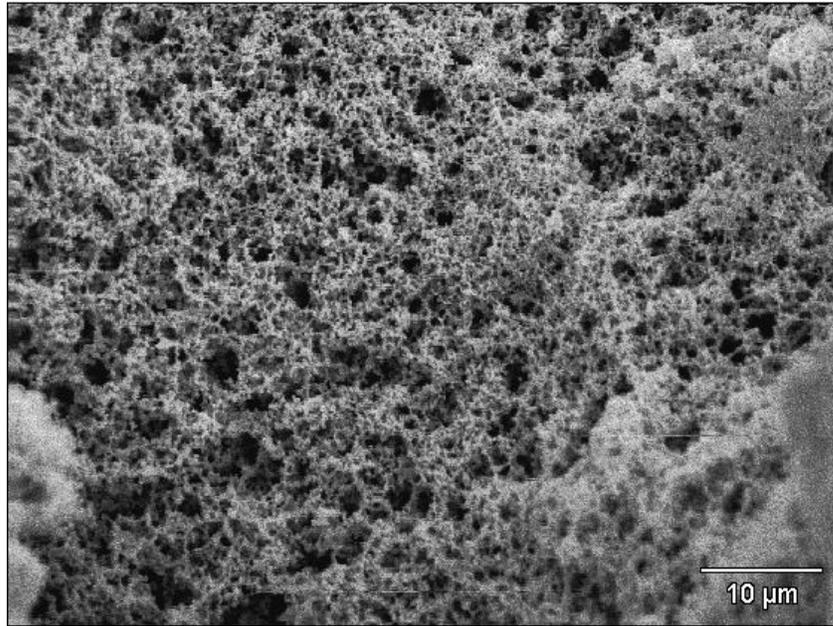


Fig. 44 MEB del coagulo de Fibrina deshidratado en etanol. X:5000

En las microfotografías obtenidas del PRF, se observan variaciones entre las tres muestras analizadas, tales como la estructura, la forma y los elementos debido al tratamiento al cual fueron sometidas para mejorar la visualización de sus estructuras. En la muestra 1 se evidencia la estructura de la fibras detalladamente en su estado natural; por otro lado, en la muestra 2 se plasman las células sanguíneas (plaquetas, células blancas y hematíes) presentes en el material autólogo; finalmente, en la muestra 3 se observa la arquitectura global del biomaterial, aunque cabe acotar que las fibras en esta muestra se encuentran más deshidratadas, lo que pudiera inferir un estado de degradación del ensamble fibrilar (53). Las características de observación en las muestras de fibrina, se tornan importantes, ya que pudieran servir de soporte estructural para las células osteoinductoras, y partir de este comenzara a sintetizar la matriz osteoide (29).

Para el análisis del Quitosano, la membrana creada fue seccionada en una muestra de 2mm aproximadamente y colocada en la placa portadora, para su observación.

Muestra de la membrana Quitosano

La figura 45 es una muestra tomada a una magnificación de 100X. La MEB muestra a la membrana de Quitosano con una superficie lisa de bordes irregulares.

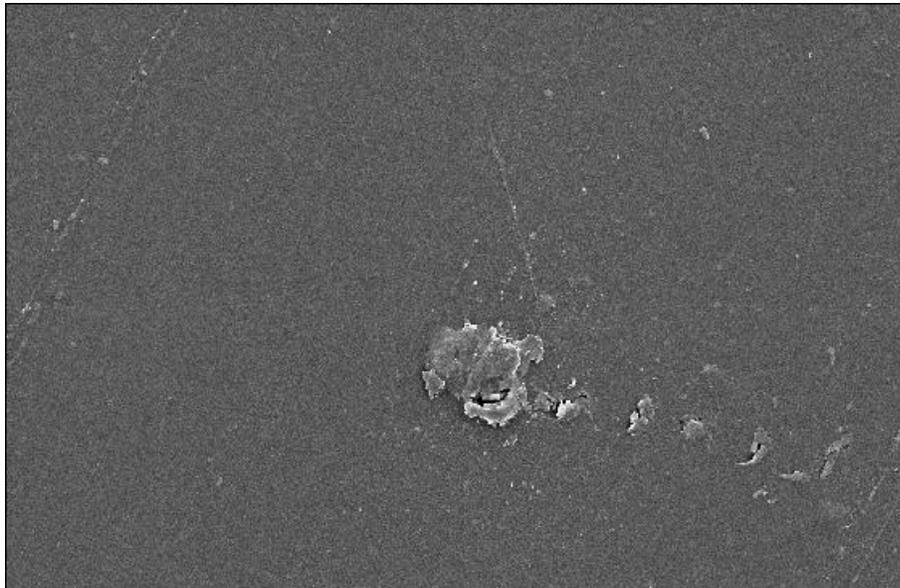


Fig. 45 MEB de la membrana de Quitosano. X:100

La figura 46 es una muestra tomada a una magnificación de 5000X. En la MEB se evidencia una serie de imágenes con aspecto de concha, de bordes irregulares, superpuestas entre sí, posicionadas en diferentes direcciones.

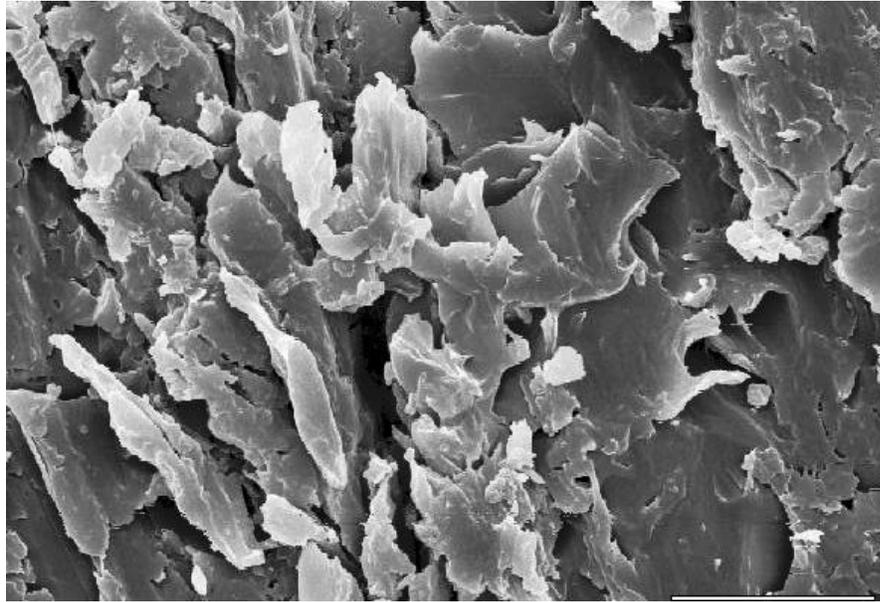


Fig. 46 MEB de la membrana de Quitosano. X:5000

Los resultados de las microfotografías de la membrana de quitosano muestran una superficie lisa a poco aumento; por el contrario, cuando ésta imagen es magnificada se evidencia una estructura sólida irregular, la cual es capaz de lograr osteoconducción y promover la formación de nuevo tejido óseo pudiendo servir como alojamiento de células osteoprogenitoras (29).

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este capítulo se expondrán las conclusiones y recomendaciones de este trabajo de investigación.

5.1 Conclusiones

- El PRF utilizado como biomaterial para la regeneración ósea en alveolos dentales postextracción, demostró tener la capacidad de regenerar el mineral óseo de manera rápida, alcanzando grado 3 a los 30 días de ser implantado, cuando fisiológicamente se requieren de 130 días para alcanzar grado 1 de regeneración (49); esto podría atribuirse a la naturaleza autóloga del material
- La membrana de quitosano como biomaterial aloplástico para regeneración ósea, utilizada en los alveolos postextracción, alcanzó nivel de regeneración ósea grado 3 a los 120 días de ser implantada, éstos resultados difieren con los encontrados en el PRF, ya que el quitosano alcanzó este nivel de regeneración en un menor número de muestras, sin embargo, se observan características radiográficas que demuestran que la formación de hueso conducida por este biomaterial continúa.

- Los hallazgos radiográficos, demuestran que en los alveolos tratados con el material autólogo se observa una estructura ósea desorganizada, en comparación con el trabeculado óseo organizado que se encuentra en los alveolos tratados con el material aloplástico, esto podría deberse a la velocidad de regeneración que reflejó el PRF en el tratamiento.
- Se encontraron diferencias en la regeneración ósea entre paciente y paciente, esto podría deberse a las características individuales de cada uno, como género, nutrición y hábitos.
- En la Microscopía Electrónica de Barrido se evidenció, que el PRF posee una ultra estructura, que lo hace capaz de servir de soporte a las células formadoras de tejido óseo, para comenzar el proceso de regeneración.
- Al analizar la membrana de Quitosano en el Microscopio Electrónico de Barrido, se observó una arquitectura organizada que muestra múltiples espacios, que son esenciales para lograr la osteoconducción.
- Ambos biomateriales resultaron ser efectivos en el tratamiento de la regeneración ósea, por lo tanto se vuelven opciones terapéuticas válidas para ser utilizadas en la curación de tejidos duros de humanos.

5.2 Recomendaciones

- Evaluar la Regeneración ósea guiada de las membranas de quitosano en alveolos dentales postextracción, en un período de tiempo mayor que el de esta investigación.
- Para estudios posteriores, se recomienda aumentar el número de muestras por grupo experimental.

- Se sugiere, realizar un estudio donde se compare la regeneración ósea, en individuos de diferentes géneros.
- Se sugiere, que para investigaciones posteriores, se estudien ambos biomateriales implantados en forma conjunta, para que el PRF actúe como catalizador y el quitosano forme una estructura ósea organizada.
- Se recomienda realizar una investigación donde la muestra del PRF se manipule nuevamente con etanol, para su análisis en el Microscopio Electrónico de Barrido

REFERENCIAS

1. Oktay, E; Demiralp, B; Demiralp, B; Senel, S; Akman, A; Eratalay, K; Akincibay, H; Effects of platelet-Rich Plasma and Chitosan Combination on Bone Regeneration in Experimental Rabbit Cranial Defects. *Journal of Oral Implantology*. (2010); Vol.36; Número 3.
2. Busser HJ; Engless E; Dijkstra RJB; Influence of a chitosan on oral bacterial adhesion and growth in vitro. *European journal of Oral Sciences*.(2008); Vol. 116; pp 493-495.
3. Mohire, N; Yadav A; Chitosan-based polyherbal toothpaste: As novel oral hygiene product. *Indian Journal Dent Res*. (2010) Vol.21; Número 3.
4. Ballal, N; Kundabala, M; Bhat, K; Acharya, S; Ballal, M; Kumar, R; Prakash, P; Susceptibility of *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* to chitosan, Chlorhexidine gluconate and their combination in vitro. *Australian Endodontic Journal*. (2009); Vol.35; pp 20-33.
5. Vallet, M. Biocerámicas: regeneradoras de hueso y portadoras de sustancias biológicamente activas. *Transatlántica de Educación*. (2007); Vol III; pp 60 – 72.
6. Moreno, L; Marín, G; Enríquez, F; González, J; Moreno, L; Cisneros, L; Mandragón, L. Utilización de Plasma Rico en Plaquetas para la regeneración peridontal en un perro. *Revista Odontológica Mexicana*. (2004); Vol 8; Número 3; pp 64-69
7. Sunitha, V; Munirathnam, E; Plasma Rico en Fibrina. Evolución de una segunda generación de concentrados plasmáticos. *Revista Indian Journal of Dental Research*. (2008); Vol 19; pp 42-46
8. Arteaga, O; Martínez, B; Martínez, E; Ortega, A. Regeneración ósea guiada en implantes osteointegrados con injerto óseo autólogo y membrana de politetrafluoretileno expandido de uso en plomería. *Revista de la Asociación Dental Americana*. (2000); Número 5; pp 165-174
9. Gürbüzer, B; Pıkdöke, L; Tunali, M; Urban, M; Küçükodacı, Z; Ecan, F. Scintigraphic Evaluation of Osteoblastic Activity in Extraction Sockets Treated With Platelet-Rich Fibrin. *Revista American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons J Oral Maxillofac Surg*. (2010); 68; pp. 980-989.
10. Freitas, R; Spin-Neto, R; Spolidório, L; Campana, S; Marcantonio, R; Marcantonio, Elcio. Different molecular weight Chitosan-based membranes for tissue regeneration. *Revista Materials*. (2011); 4; pp. 380-389.
11. Hernández, B; Inostroza, V; Carrión, A; Chaparro, P; Quintero, H; Sanz, R. Proliferación de células madres mesenquimales obtenidas de tejido gingival humano sobre una matriz de quitosano: estudio *in vitro*.

- Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral. (2011); Vol. 4; Núm. 2; pp 59 - 63
12. Torres, J; Tresguerres, I; Tamini, F; Clemente, C; Niembro, E; Blanco, L. Influence of platelet-rich plasma on bone regeneration: a histomorphometric study in rabbit calvaria. Revista Int J Oral Maxillofac Implants. (2007) Vol 22; Número 4; 563-8
 13. Anilkumar, K; Geetha, A; Umasudhakar; Ramakrishnan, T; Vijayalakshmi, R; Pameela, E. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach. Revista Journal of Indian Society of Periodontology. (2009); Vol 13, Número 1; pp 50-54.
 14. Bonete, D; Gomar, F; Carrasco, J. Utilización de geles plaquetarios en la curación de defectos óseos: estudio experimental. Revista española de cirugía osteoarticular. (2009) Vol. 44; Núm. 239; pp 93-101.
 15. Stephan, S; Tholpady, S; Gross, B; Petrie-Aronin, C; Botchway, E; Nair, L; Ogle, R; Park, S. Injectable tissue-engineered bone repair of a rat calvarial defect. Revista The laryngoscope. (2010); Vol 120; Número 5; pp 895-901.
 16. Hernández, R; Fernández, C; Baptista, P. Metodología de la investigación. Editorial The McGraw Hill. 5ta Ed. Chile, 2010.
 17. Arias, F. El proyecto de investigación Guía para su elaboración. Editorial Episteme. 3era Ed. Caracas, 1999.
 18. Sabino, C. Metodología de Investigación una introducción teórico práctica. Editorial logos. 3era Ed. Caracas, 1977.
 19. Lee, Y; Park, Y; Lee, S; Ku, Y; Han, S; Choi, S; Klokkevold, P; Chung, Ch. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponge. Journal of periodontology. (2000). Vol 71, Núm 3. Pag 410-417.
 20. Seung-Yun, S; Ho-Nam, P; Chong-Pyoung, Ch. Biological evaluation of chitosan nanofiber membrane for guided bone regeneration. Journal of periodontology. (2005) Vol 76, Núm 10, pag 1778-1784.
 21. Hernández, M; Garrido, F; López, S. Diseño de estudios epidemiológicos. Salud pública. Mexico, DF. (Online). Vol 42, Núm 2. http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003636320000200010&lng=en&nrm=iso.
 22. Hurtado, J Metodología de la investigación holística. 3era ed. Editorial Fundación Sypal. (2000) Caracas, Venezuela. Pag 453-455, 523-529
 23. Molina, F. Efecto del plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) en la regeneración de tejidos blandos y tejido óseo. Estudio experimental en conejos albinos de Nueva Zelanda. Tesis doctoral. Murcia- España (2008).
 24. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (2010). Disponible en: <http://www.ivic.gob.ve/bioetica/?mod=ejemplo1.html/>

25. Dinatale, E; Guercio, E. Regeneración ósea guiada (GBR). Revisión de la Literatura. Acta Odontológica Venezolana. (2008) Vol. 46; Núm. 4.
26. Oporto, G; Fuentes, R; Álvarez, H; Borie, E. Recuperación de la Morfología y Fisiología maxilomandibular: Biomateriales en regeneración ósea. International Journal of Morphology. (2008); Vol. 26; Núm 4; pp 853-859.
27. Bargiela, P; Torres, D; Gutierrez, J. Regeneración Ósea Guiada (ROG). Rev. Sociedad Española de Cirugía Bucal. (2009), Vol. 4; pp 1-8.
28. Lizarbe, M. Sustitutivos de los tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. Rev. De la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. (2007) Vol. 101; Núm. 1; pp 227-249.
29. Velasco, M; Garzón, D. Implantes *Scaffolds* para regeneración ósea. Materiales, técnicas y modelado mediante sistemas de reacción-difusión. Rev. Cubana de Investigaciones Biomédicas. (2010); Vol. 29; Núm 1.
30. Sastre, R; De Aza, S; San Román, J. Biomateriales. (Cooperación Iberomaericana CYTED). Editorial Faenza Editrice Iberica s.l. Italia. 2004.
31. Milosevski, M; Milosevska, R; Spaseska, D; Bossert, J; Boccaccini, A. Preparación y propiedades de materiales cerámicos bioinertes en el sistema Al₂O₃-TiO₂-SiO₂. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio. (1998); Vol 38; Núm 6; pp 455-460.
32. Láres, C. Quitina y Quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. Avances en química. (2006); Vol 1; Núm. 2; pp 15-21
33. Jorquera, R; Jorquera, O; Rivera, S. Quitosano: un material de propiedades regenerativas y su aplicación clínica. Rev. Europea de Odontoestomatología. (2008).
34. Azurra, A; Barembaum, S; Bojanich, M; Calamari, S; Aguilar, J; Battelino, J; Dorronsoro, S. Efecto del quitosano de alto peso molecular y del alginato de Sodio sobre la hidrofobicidad y adhesión de *Candida albicans* a células. Medicina y Patología Oral. (2006); Vol 11.
35. Lopez, J. Cirugía oral. (1997). Editorial McGraw-hill Interamericana de España. España Madrid.
36. Raspall, G. Cirugía oral e implantología. 2da ed. Editorial Panamericana, (2006). España.
37. Rodriguez, E; Rodriguez, M. Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica. Información terapéutica del sistema nacional de salud. (2009). Vol 33, Núm 3, pag 67-79.

38. Morán, E; Cruz, Y. Pericoronaritis. Criterios actuales, Revisión bibliográfica. Revista Cubana de Estomatología. (2001). Vol 38, Núm 3.
39. Bascos, A; Escribano, M. Enfermedad periodontal necrosante: una manifestación de trastornos sistémicos. Departamento de medicina y cirugía bucofacial estomatología III, Madrid España. (2005). Vol. 125, Núm 18, Pag 46-53.
40. Fernández, R; López, M; Ruiz, E. Plasma rico en factores de crecimiento en cirugía bucal. Presentación de un caso clínico. Revista Odontológica Mexicana. (2005). Vol. 9; Núm. 3; pp 141-146.
41. Raspall, G. Cirugía Oral. Editorial Panamericana (1994)
42. Miranda, S; Silva, G; Mendes, R; Abreu, F; Caliri, M; Alves, J; Goes, A. Mesenchymal stem cells associated with porous chitosan-gelatin scaffold: A potential strategy for alveolar bone regeneration. Journal of Biomedical Materials Research Part A. (2012); Vol. 100^a; Núm 7.
43. Pradeep, A; Rao, N; Agarwal, E; Bajaj, P. Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Three-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. Journal of Periodontology Online. (2012).
44. Bi, L; Cheng, W; Fan, H; Pei, G. Reconstruction of goat tibial defects using an injectable tricalcium phosphate/chitosan in combination with autologous platelet-rich plasma. Revista Biomaterials. (2010); Vol. 31; Núm. 12; pp. 3201-3211.
45. González, J; Jiménez, K. Cierre de fístulas nasopalatinas recurrentes con plasma rico en factores de crecimiento en pacientes con paladar hendido. Acta Otorrinolaringológica Española. (2011).
46. Geneser, F. Histología. Segunda Edición. Editorial Médica Panamericana. Mexico (1998). Pp 206-226.
47. Fernández, I; Alobera, M; Del Canto, M; Blanco, L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo. Revista Medicina oral, patología oral y cirugía bucal (internet). (2006); Vol. 11; Núm. 1.
48. Suárez, D. Principios básicos en regeneración ósea guiada. Acta bioclínica. (2012); Vol. 2; Núm. 3; pp. 89-116.
49. Fernández, I; Alobera, M; Del Canto, M; Blanco, L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. Revista Medicina oral, patología oral y cirugía bucal (internet). (2006); Vol. 11; Núm. 2.
50. De la Roa, M; Cepeda, J. Regeneración ósea guiada de cara el año 2000 consideraciones clínicas y biológicas. Revista ADM. (2000) Vol. LVII; Núm. 4; pp 147-153.

51. García, V; Corral, I; Bascones, A. Plasma Rico en Plaquetas y su utilización en implantología dental. Revista avances en Periodoncia e Implantología Oral. (2004); Vol. 16; Núm. 2; pp. 81-82.
52. Beca, T; Hernández, G; Morante, S; Bascones, A. Plasma Rico en Plaquetas. Una revisión bibliográfica. Revista Avances en Periodoncia e implantología oral. (2007); Vol. 19; Núm. 1.
53. Lauricella, A. Variabilidad de las redes de fibrina. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana (2007); Vol. 41; Núm. 1; pp. 7 – 19.

ANEXOS Y APÉNDICES

APÉNDICE A

Consentimiento informado

Yo, _____ C.I.: _____

Nacionalidad, _____ Estado Civil, _____, Domiciliado en _____

Siendo mayor de 18 años en USO pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que más abajo se indica, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte del grupo de investigadores de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, las bachilleres Orianna Ortega y Andreina Paredes, coordinadas por la Dra. Gladys Velazco y la Od. Jenair Yopez, de todos los aspectos relacionados al trabajo especial de grado titulado “ Análisis comparativo de la regeneración ósea obtenida con Quitosano y Plasma Rico en Fibrina”
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es: comparar la regeneración ósea obtenida con Quitosano y Plasma Rico en Fibrina en alveolos post extracción.
3. Haber sido informado de que mi participación en el proyecto consiste en asistir a las citas que se me han indicado para la extracción dental y colocación del Quitosano y Plasma Rico en Fibrina y los posteriores controles radiográficos.
4. Que el quipo de investigadores me han garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como de cualquier información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
5. Que estoy de acuerdo en el USO, para fines académicos, de los resultados obtenidos en el presente estudio
6. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.
7. Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionado durante las citas programadas.
8. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de lo hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.
9. Que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO: Luego de haber leído comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

- A. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores de la FOULA
- B. Reservarme el derecho de revocar esta autorización así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

FIRMA DEL VOLUNTARIO: _____

O. Ortega

A. Paredes

APÉNDICE B

Universidad de Los Andes

Facultad de Odontología

Mérida- Venezuela

Ficha Clínica:

Fecha: ____/____/____

Apellidos: _____ Nombres: _____

Edad: _____ Sexo: **M** **F**

Teléfonos: _____

Dirección: _____

Escala para determinar el grado de regeneración ósea en la observación radiográfica:

0: defecto radiolúcido	Sin variación radiográfica del defecto
1: Limitado relleno óseo	El defecto ósea aparecerá con imágenes radiopacas en los márgenes del defecto.
2: Relleno parcial	El defecto óseo será parcialmente radiopaco, con regiones de radiolucidez y radiopacidad, que indicarán la formación de hueso nuevo desde los márgenes del defecto sin establecer continuidad.
3: Relleno óseo completo	El defecto óseo será radiopaco en su totalidad.

Control de citas:

Cita	Fecha	Escala de Regeneración
Primera Cita		
Segunda Cita		
Tercera Cita		
Cuarta Cita		
Quinta Cita		

O. Ortega

A. Paredes