

## Revista Odontológica Mexicana

Volumen **8**  
Volume

Número **3**  
Number

Septiembre **2004**  
September

*Artículo:*

Utilización de plasma rico en plaquetas  
para regeneración periodontal en  
un perro

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Facultad de Odontología, UNAM

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



## Utilización de plasma rico en plaquetas para regeneración periodontal en un perro

Lourdes Moreno Reyes,\* Guadalupe Marín González,<sup>†</sup> Filiberto Enríquez Habib,<sup>†</sup>  
Julio González Gómez,<sup>†</sup> Lourdes Moreno Villalay,<sup>†</sup> Luis Cisneros Sotelo,<sup>‡</sup>  
Luz María De la Sancha Mondragón<sup>§</sup>

### RESUMEN

Una de las finalidades de la terapia periodontal es la regeneración de los tejidos periodontales. Estos procesos son mediados por la acción de los factores de crecimiento (FC) que regulan la proliferación, diferenciación, quimiotaxia y síntesis de la matriz extracelular. Estas propiedades, han conducido a proponer que tales factores desempeñan un papel importante en la regeneración de tejidos blandos y duros. Del plasma rico en plaquetas (PRP) se obtienen estos factores, por lo que se ha propuesto que con su utilización se puede mejorar la regeneración de los tejidos perdidos. El propósito de este trabajo fue el de observar en un modelo animal (perro), la regeneración periodontal con la utilización de plasma rico en plaquetas. Se realizó la toma de sangre del perro para separar las plaquetas un día antes de la cirugía. Se anestesió al perro usando pentobarbital sódico para realizar la cirugía, la cual consistió en la formación de los defectos óseos a nivel de las furcas de los terceros premolares y primeros molares inferiores de ambos lados; colocación de plasma rico en plaquetas más el injerto óseo en dos sitios prueba, otro sitio con injerto solo y un cuarto sitio como control. Seis semanas después el perro se sacrificó con una sobredosis de barbitúricos. Se tomaron bloques de tejido de los sitios tratados para su estudio histológico. El hueso y el ligamento periodontal mostraron una mayor organización cuando se usó el plasma rico en plaquetas más injerto óseo. En el sitio con injerto sólo se observaron zonas de resorción y en el control se presentó invasión epitelial.

### ABSTRACT

A goal in periodontal therapy is the regeneration of periodontal tissues. This process occurs by the action of growth factors (GF), which regulate either proliferation, differentiation, chemotaxis and synthesis of the extra-cellular matrix. These phenomena have led to propose that these factors play an important role in the regeneration of soft and hard tissues. Growth factors can be obtained from platelets in the form of platelet Rich Plasma. The purpose of this study was to observe the periodontal regeneration accomplished by using Platelet Rich Plasma in an animal model (dog). The day prior to the surgery, the blood was extracted in order to separate platelets. The dog was anesthetized with sodium pentobarbital, and osseous defects were created in the furcation of bilateral mandibular third bicuspid and first molars. Platelet Rich Plasma with bone graft were used in two sides; another site was treated only with bone graft; and a fourth site was left as control. After 6 weeks, the dog was sacrificed with an overdose of barbiturates. Complete blocks were obtained for histological examination. Bone and periodontal ligament showed a better organization in sites where platelet rich plasma was combined with bone graft. In the site treated only with bone graft, zones of resorption were observed. In the control site, epithelial invasion was present.

**Palabras clave:** Regeneración periodontal, factores de crecimiento, plasma rico en plaquetas, injertos óseos.

**Key words:** Periodontal regeneration, growth factors, platelet rich plasma, bone grafts.

### INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos de la terapia periodontal es la regeneración de hueso, cemento y ligamento periodontal. Estos procesos son regulados por proteínas de adherencia así como por la acción de factores de crecimiento.<sup>1-3</sup>

Se ha estudiado que para facilitar la formación e inserción de tejido conjuntivo, se debe realizar raspado y alisado radicular durante la terapia, ya que se ha visto que en la porción radicular existen endotoxi-

\* Alumna de la Especialidad en Periodoncia de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

<sup>†</sup> Profesor de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

<sup>‡</sup> Departamento de Patología del Hospital López Mateos del ISSSTE.

<sup>§</sup> Jefa del Banco de Sangre del Hospital San José Naucalpan Edo. de México.

nas bacterianas, las cuales no permiten la inserción o crecimiento de fibroblastos.<sup>3</sup>

Los factores de crecimiento son mediadores biológicos naturales que regulan la proliferación, diferenciación y quimiotaxia celular, así como la síntesis de matriz extracelular.<sup>1</sup> Estas propiedades, demostrables *in vitro*, han llevado a proponer que tales factores desempeñan un papel importante en la regeneración de tejidos blandos y duros.<sup>4</sup>

Desde hace varios años, los estudios relacionados con la regeneración se han dirigido a investigar cuál es el efecto de los factores de crecimiento sobre las células periodontales. Gran parte de los estudios se han realizado *in vitro*, utilizando factores recombinantes, es decir, factores de crecimiento elaborados en el laboratorio.<sup>5</sup>

Algunos de los factores de crecimiento que están involucrados en la regeneración periodontal son:

- Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- Factor de crecimiento de fibroblastos.
- Factor de crecimiento de transformación  $\beta$  (proteínas morfogénicas de hueso).
- Factor de crecimiento parecido a la insulina.

Se ha descrito que al iniciarse el proceso de cicatrización, cuando se forma el coágulo y las plaquetas se degranulan, éstas y otros factores de crecimiento son liberados, es decir, que si existen más plaquetas en el sitio de la herida se liberará un número mayor de estos factores. El plasma rico en plaquetas (PRP), es un volumen de plasma autólogo, no tóxico, ni inmunorreactivo, que contiene una cuenta plaquetaria cinco veces mayor (1,000,000 plaq/ $\mu$ L en 5 mL), que la que se encuentra en la sangre normal (> 150,000 plaq/ $\mu$ L). Las plaquetas se separan del plasma por centrifugación y en el momento de su colocación en el sitio de la herida son mezcladas con trombina y cloruro de calcio, para formar un coágulo que es llevado al sitio quirúrgico.<sup>6,7</sup> Este procedimiento acelera las vías naturales de regeneración, ya que libera un número mayor de factores de crecimiento, los cuales son los iniciadores universales de la cicatrización. Se ha visto también, que la presencia de un factor de crecimiento modula y regula la función de otros.

El objetivo de este estudio es demostrar en un modelo animal (perro), la formación de nuevo hueso, cemento y ligamento periodontal, así como comparar la velocidad de formación de los tejidos periodontales entre el sitio control y el sitio experimental con la utilización de plasma rico en plaquetas.

## MÉTODOS

Se utilizó un perro criollo de 11.100 kg de peso. Un día antes de la cirugía, se realizó la extracción de sangre, aproximadamente 17 mL, de la vena yugular, recolectada en un sistema de 3 vías (paquete para transfusión). La sangre fue tratada en un banco de sangre mediante el método de separación celular discontinua,<sup>7</sup> con la finalidad de separar sus elementos en una centrífuga Electromedics 500 (Medtronics) (Figura 1).

La primera centrifugación llamada dura, separó los elementos formes y el plasma. En la segunda centrifugación llamada suave, se logró separar el plasma en plaquetas y células blancas con restos de eritrocitos. Se necesitó una última centrifugación en donde las pocas células rojas restantes no obstaculizaran y permitieran la separación fina de las plaquetas para producir el PRP.

El día de la cirugía, al perro se le administró propionilpromazina 10 mg/kg (tranquilizante neuropléjico y potencializador de la anestesia) y como anestésico se usó pentobarbital sódico a una dosificación a efecto quirúrgico.

Para la creación de las lesiones, se utilizó el modelo de defectos supraalveolares diseñado en



**Figura 1.** Sistema de tres vías, separación de los elementos sanguíneos.

1994 por Wikesjö. Se inició con incisiones intrasurales, usando hoja de bisturí del No. 12 y levantando colgajos mucoperiosticos, tanto bucal como lingual de la parte distal del canino a la parte mesial del segundo molar inferiores. Para hacer los defectos (*Figura 2*), se emplearon cinceles y fresas de bola de carburo del No. 4, de baja velocidad con irrigación continua. La reducción del hueso fue de 5 mm a partir de la unión cemento-esmalte. Se quitó la tabla externa para localizar la furca y ya localizada se hizo el defecto de vestibular a lingual, removiendo el hueso que se encontraba por debajo de la misma, delimitando la lesión con la lima de Sugarman. Se incluyó la extracción del segundo premolar mandibular y la amputación del segundo molar a nivel de la cresta.<sup>8</sup>

Para la aplicación clínica del PRP, se prepararon 10 mL de cloruro de calcio al 10% [Injection, USP NDC007449] con 10,000 unidades de trombina bovina tópica [Thrombin Topical (Bovine Origin) USP Jones Pharma Incorporated St. Louis MO].



**Figura 2.** Modelo de defectos supraalveolares. Modelo diseñado por Wikesjö en 1994 para evaluar y cuantificar la cicatrización.

Esta mezcla (*Figura 3a*) es la que se combinó con el PRP y el xenoinjerto óseo de bovino [Bio-Oss 0.25–1.0 mm cancellous (spongiosa) granules, Osteohealth Co].

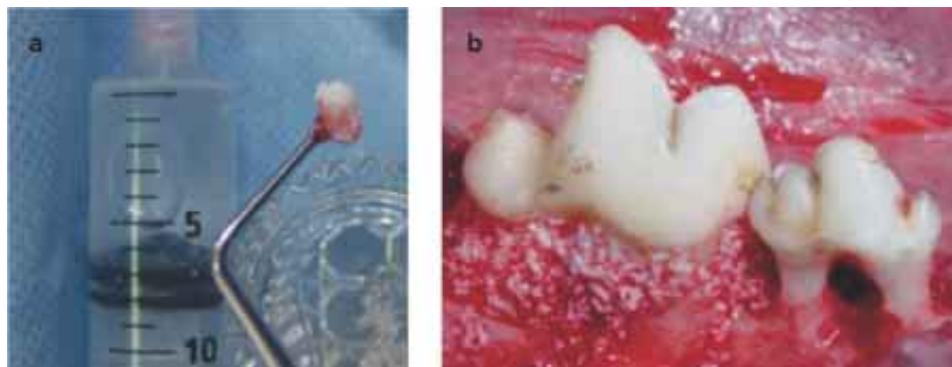
La colocación del material fue de la siguiente manera: del lado derecho, en el molar, se colocó PRP con xenoinjerto y el premolar se dejó como sitio control. En el lado izquierdo, en el molar se colocó solo el xenoinjerto y el premolar recibió PRP con xenoinjerto (*Figura 3b*). Se reposicionaron los colgajos y se suturó con vicryl 4-0.

En el posoperatorio, el perro fue mantenido con un control químico de placa, utilizando una vez al día (5 veces/semana), aplicaciones tópicas de gluconato de clorhexidina al 0.12% (Oral B Gingivitis Gillet Oral Care Inc) y la alimentación fue con dieta blanda para minimizar el trauma mecánico. Después de seis semanas, se sacrificó al animal con sobredosis de pentobarbital sódico. Se tomaron bloques de tejido para ser procesadas en el laboratorio de histopatología aplicando el método de ciego para los patólogos, siendo la identificación del bloque como derecho e izquierdo, sin informar los materiales utilizados.

Los bloques se fijaron en formalina al 10% y se descalcificaron con ácido fórmico al 5% durante 12 días, después los especímenes fueron rehidratados y embebidos en parafina.

Se realizaron cortes seriados de 7 µm de espesor, en un plano mesio-distal a lo largo de toda la extensión bucolingual. Cada 14 secciones (aproximadamente 100 µm), fueron teñidos con hematoxilina-eosina (H/E). Las observaciones se hicieron en un microscopio de doble cabeza (Axiostar, Carl-Zeiss), con objetivos de 5x, 10x y 40x.

Se observó al microscopio en forma descriptiva las siguientes estructuras: epitelio, grado de maduración del tejido conjuntivo, formación de nuevo cemento y hueso.



**Figura 3. a)** Mezcla plasma rico en plaquetas más el xenoinjerto. Se combinan el cloruro de calcio con la trombina, el plasma rico en plaquetas y el injerto óseo. **b)** en el molar se colocó injerto más plasma rico en plaquetas y el premolar fue usado como sitio control.

**RESULTADOS**

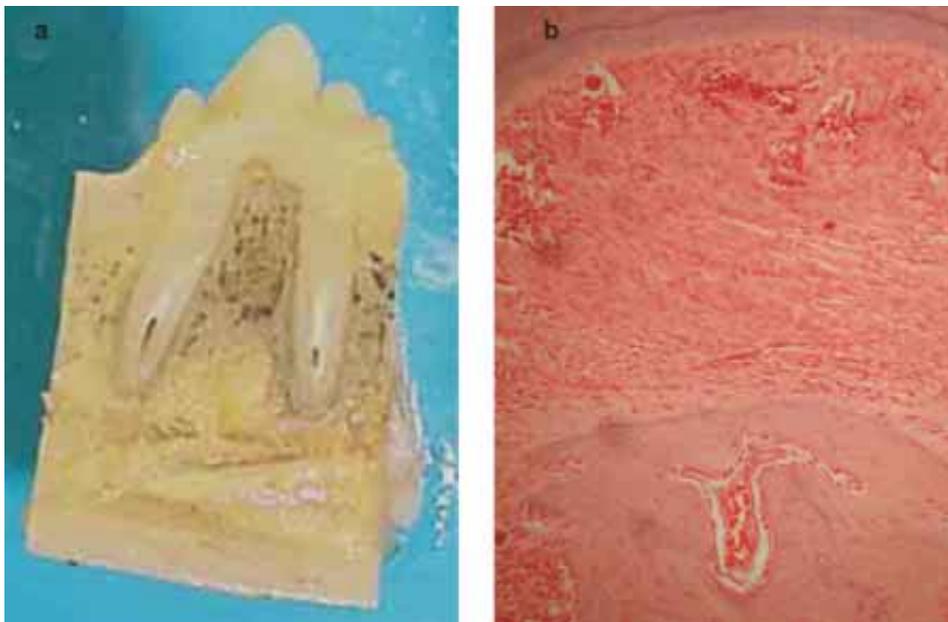
Se observó a las seis semanas, en el premolar donde se colocó el injerto óseo más PRP, una organización óptima de tejido conjuntivo (*Figura 4*) en donde inclusive, se pudo observar el anclaje de las fibras en la superficie radicular (*Figura 5*). El molar que recibió injerto óseo más PRP, se contaminó con pelo del animal, se localizaron zonas de necrosis y aún se pueden observar partículas óseas acelulares sin proceso degenerativo (*Figura 6*). En el sitio donde sólo se colocó el injerto, se encontró invasión del

epitelio, inserción en la porción más coronal y zonas de resorción (*Figura 7*). El sitio control mostró invasión del epitelio y no se encontró regeneración.

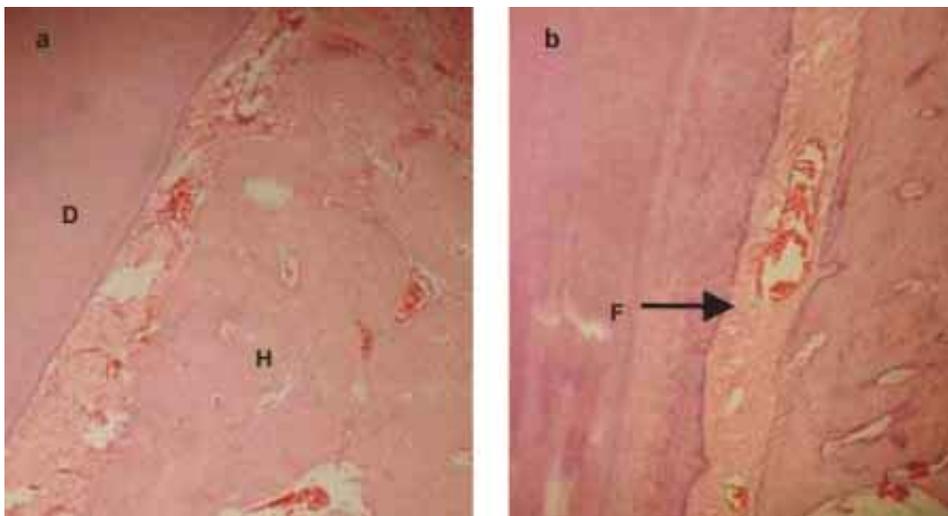
**DISCUSIÓN**

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

En esta investigación, se utilizó el modelo propuesto por Wikesjö, en el cual se puede evaluar y



**Figura 4.** Se muestra la zona de la furca (a) en donde se colocó el plasma rico en plaquetas más el injerto que existe en un tejido bien organizado con inserción de fibras (b).



**Figura 5. a)** Tejido bien organizado. D diente H hueso. **b)** anclaje de fibras con dirección adecuada. F fibras del ligamento periodontal.

cuantificar la cicatrización y someter estas observaciones a análisis estadísticos, gracias a que los vectores son multidireccionales y no varían de tamaño de sitio a sitio, sin embargo, en este estudio sólo se realizaron observaciones histológicas y no se tomaron datos histométricos para el análisis estadístico, por considerar una primera etapa descriptiva de este modelo de investigación.<sup>8</sup>

Marx y colaboradores, han demostrado que la adición de los factores de crecimiento a través del plasma rico en plaquetas a los injertos óseos, produce una mejoría significativa en comparación con injertos manipulados sin estos factores.<sup>5</sup>

En 1989 Lynch realizó un estudio en 4 perros con enfermedad periodontal natural; en el cual combinó el factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante y el factor de crecimiento parecido a la insulina recombinante, observó que en los sitios donde esta combinación fue aplicada se obtuvo regeneración periodontal completa, comparada con los con-

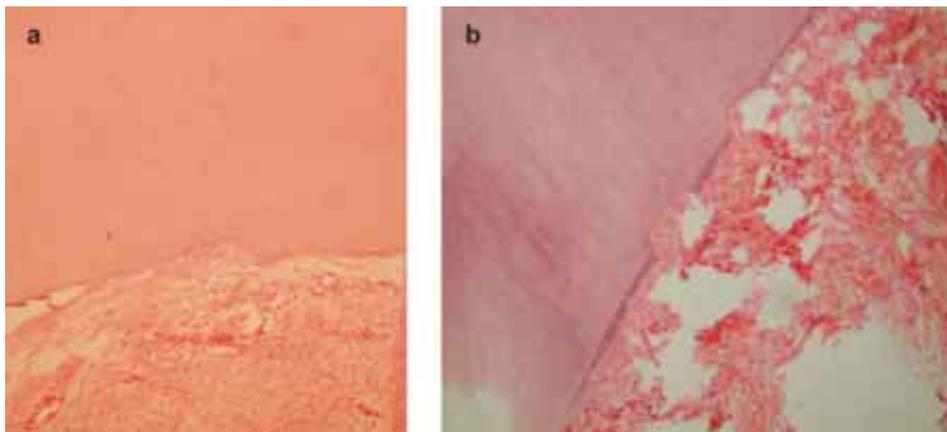
troles en donde la cicatrización fue con un epitelio de unión largo, lo más notable del estudio fue que la regeneración completa se obtuvo en un intervalo de dos semanas.<sup>4</sup>

En 1991 Lynch realizó nuevamente el estudio, pero aumentó el número de perros utilizados a trece; de ese estudio, concluyó que la regeneración de hueso y cemento fue de 5 a 10 veces mayor que en los sitios control donde no se usaron factores de crecimiento, también observó un ligamento periodontal de dimensiones adecuadas y en ningún caso hubo anquilosis.<sup>9</sup>

La función específica que separa a los factores de crecimiento del plasma rico en plaquetas, de los factores de crecimiento recombinantes, es que los factores de crecimiento del plasma rico en plaquetas, modulan y regulan la función de otros factores de crecimiento, mientras que los factores de crecimiento recombinantes se enfocan únicamente sobre un solo camino para la regeneración. Los factores de creci-



**Figura 6.** Sitio contaminado. Se muestra contaminación por pelo del animal con zonas de necrosis y queratina.



**Figura 7.** Molar con injerto: **a)** inserción. **b)** resorción. En la zona donde se colocó sólo el injerto óseo, se observa una zona con invasión del epitelio y varias zonas con resorción.

miento recombinantes, por lo tanto, no pueden ser tan funcionales en la cicatrización por el alcance limitado de sus niveles de regulación.<sup>10-12</sup>

Estos resultados apoyan lo expuesto por Marx, el cual afirma que es mucho mejor adicionar PRP a los injertos óseos que utilizarlos solos, ya que esto acelera y mejora la regeneración.

Por otro lado, este tipo de estudios se deben apoyar con más investigaciones y recursos, ya que un sitio prueba se contaminó y la muestra fue pequeña.

### CONCLUSIONES

- En este trabajo, la utilización del plasma rico en plaquetas parece favorecer la formación de un nuevo ligamento periodontal, hueso y cemento, pero se requieren estudios adicionales para comprobar el beneficio de esta alternativa en la terapia regenerativa periodontal ya que la muestra no fue amplia.
- Desde el punto de vista clínico la manipulación de los injertos es mucho mejor.
- Los estudios en donde se demuestra la regeneración periodontal en humanos utilizando factores de crecimiento autólogos son aún escasos, pero todo parece indicar que en un futuro su uso podría ser aplicado como parte de la terapia.

### REFERENCIAS

1. Graves DT, Kang YM, Kose DN. Growth factors in periodontal regeneration. *Compend Contin Educ Dent* 1994; 18(15 Suppl): 672-7.
2. Strayhorn CL, Garrett JS, Dunn RL, Benedict JJ, Somerman MJ. Growth factors regulate expression of osteoblast-associated genes. *J Periodontol* 1999; (70): 1345-54.
3. Olson S, Arzate H, Narayanan AS, Page RC. Cell attachment activity of cementum proteins and mechanism of endotoxin inhibition. *J Dent Res* 1991; 70(9): 1272-7.
4. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniades HN. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989; (16): 545-8.
5. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; (85): 638-46.
6. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10(4): 225-8.
7. Weibrich G, Kleis WKG, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002; (30): 97-102.
8. Wikesjö UME, Kean CJC, Zimmerman GJ. Periodontal repair in dogs: Supraalveolar defect models for evaluation of safety and efficacy of periodontal reconstructive therapy. *J Periodontol* 1994; (65): 1151-7.
9. Lynch SE, Ruiz G, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Michael S, Antoniades HN. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and Insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991; (62): 458-67.
10. Lynch SE, Genco RJ. Tissue engineering applications in maxillofacial surgery an periodontics. Chicago (USA): Quintessence Publishing Co. Inc.; 1999: 18-25, 71-82.
11. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodont Res* 2002; (37): 300-6.
12. Vojislav L, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney BK. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: A reentry study. *J Periodontol* 2002; (73): 198-205.

Dirección para correspondencia:

**Lourdes Moreno Reyes**

Av. Centenario 3045 1-301

Bosques de Tarango México D.F.

Tel. 5637-8436 Cel. 0445519924910

Correo electrónico: iomore76@prodigy.net.mx