

**ULTRAESTRUCTURA DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS CON
HIDROXIAPATITA: UN ENSAYO PRECLÍNICO PARA LA PROPUESTA DE SU
EMPLEO EN DEFECTOS OSEOS PERIODONTALES**

**María Murillo¹, Dubraska Suárez¹, Agni Mantilla¹, Gladys Velazco¹, Anajulia
González¹.**

**1. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Centro de Investigaciones
Odontológicas. Mérida, Venezuela**

Correspondencia: Od. Msc. Dubraska Suárez. Facultad de Odontología. Edificio del Rectorado. Calle 23, entre Avenidas 2 y 3, Departamento de Investigación, Universidad de Los Andes, Mérida (5101), Venezuela.

E-mail: dubraskitasuarez@gmail.com.

RESUMEN

Al producirse la reabsorción crónica del hueso, es posible que exista una regeneración de tejido autosustentable más efectiva con la utilización de materiales que logren inducir dicho proceso en los tejidos periodontales. Esto ha llevado a los especialistas a recurrir a procedimientos de regeneración tisular y ósea guiada. Investigaciones clínicas y radiográficas, afirman que existe una estimulación tanto en la cicatrización de los tejidos blandos como en la regeneración ósea de alvéolos dentarios, recesiones gingivales y lesiones periodontales, mediante la utilización de plasma rico en plaquetas (PRP) y el

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

plasma rico en fibrina (PRF) de manera individual o combinados con otros materiales de regeneración pero aún es incierto si la combinación PRP o PRF con Hidroxiapatita (Hap) es un combinado bioactivo o si la incorporación de los cristales de Hap rompen las plaquetas, alteran la forma, tamaño o papel del biomaterial. El objetivo de este estudio radica en describir la ultraestructura del PRP y el FRP individualmente y la ultraestructura de ambos, cargados con hidroxiapatita sintética. En esta investigación se utilizó la técnica de observación directa, donde se compararon los datos mediante estadísticas descriptivas y se analizaron ambos biomateriales en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Microscopía Electrónica de Trasmisión (MET). Los resultados mostraron que los concentrados plaquetarios parecen no verse afectados por la incorporación de hidroxiapatita, ambos elementos se unen mostrándose en un andamio caracterizado por fibras entrelazadas, organizadas y acompañados de núcleos de hidroxiapatita. Se concluye que ambos biomateriales combinados con hidroxiapatita mantienen los elementos celulares ultraestructurales primordiales para promover la formación de hueso.

PALABRAS CLAVE: Plasma Rico en Fibrina, Plasma Rico en Plaquetas, Hidroxiapatita.

**ULTRA-STRUCTURE OF PLATFORM CONCENTRATES WITH HYDROXYPATITIS: A
PRECLINAL TEST FOR THE PROPOSAL OF THEIR EMPLOYMENT IN
PERIODONTAL OSELOS DEFECTS**

ABSTRACT

At take place the chronic reabsorption of the bone, it's possible that there be a regeneration of tissue self-sustainable more effective with the use of materials that achieve induce said process in the periodontal tissues. This has moved to the specialists' recourse to procedures of tissue and osseous regeneration guided. Clinics and radiographic investigations, affirm

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

that exist a stimulation as much as the cicatrization of the soft tissues as in the osseous regeneration of dental alveolus, gingival recession and periodontal lesions, using platelet rich plasma (PRP) and fibrin rich plasma (FRP) individually or combined with the other materials of regeneration bus still is uncertain if the combination PRP or FRP with Hydroxyapatite (Hap) is a bioactive combined or if the incorporation of the crystals of Hap break the platelets, alter the shape, size or paper of the biomaterial. The objective of this study resides in describe the ultrastructure of the PRP and the FRP individually and both ultrastructure, charged with synthetic hydroxyapatite. In the research was used the direct observation technic, where compared the data by means of descriptive statistics and analyzed both biomaterials in Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM). The results show that the platelet concentrates seem to not be affected by the incorporation of hydroxyapatite, both elements join showing in a scaffold characterized by entangled fibers, organized and accompanied of hydroxyapatite nucleus. It concludes that both biomaterials combined with hydroxyapatite maintain the primordial ultrastructural cell elements for promote the bone formation.

KEY WORDS: Fibrin Rich Plasma, Platelet Rich Plasma, Hydroxyapatite

INTRODUCCIÓN

La reabsorción ósea es una consecuencia de la enfermedad periodontal avanzada, siendo la pérdida de inserción y la misma reabsorción lo patognomónico en esta entidad patológica; se puede presentar como defectos óseos horizontales y verticales o angulares. En ocasiones esta

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

pérdida ósea llega a ser tan avanzada que involucra la furca de los dientes multiradiculares, agravando el pronóstico reservado de dichas piezas dentarias. Al producirse la reabsorción crónica del hueso, es posible que exista una regeneración de tejido autosustentable más efectiva con la utilización de

materiales que logren inducir dicho proceso en los tejidos periodontales. Para ello, es necesaria la combinación de 3 elementos: células viables, matriz extracelular y sustancias reguladas insolubles (factores de crecimiento), sin dejar de mencionar factores locales influyentes como entorno vascular. La combinación de dichos elementos generará un ambiente apropiado para la regeneración (1).

Dentro de esta gama de biomateriales biocompatibles en la actualidad se prefiere los autólogos conocidos como concentrados plaquetarios, de manera que sean mínimas las posibilidades de que se presenten reacciones alérgicas a dichos biomateriales, el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y la Fibrina Rica en Plaquetas (FRP) ricos en factores de crecimiento; ambos concentrados se han combinado con hueso autólogo o sustitutos de hueso como la hidroxiapatita (Hap) para que constituyan un soporte celular o andamio que actúe como centro

de osificación, estimulando la osteoinducción y osteoconducción para la neoformación ósea, teniendo como ventaja su preparación simplificada y la poca manipulación bioquímica de la sangre.

La ingeniería tisular es un nuevo campo encaminado a la regeneración, reparación o reemplazo bioartificial de tejidos y órganos propios del cuerpo humano. Las técnicas de la ingeniería tisular incluyen el uso de matrices biológicas o aloplásticas reabsorbibles, solas o sembradas con células vivas, para fabricar estructuras tridimensionales que sirvan como material para implantar (2,3). Los andamios usados como biomateriales de implantación en estos defectos periodontales, deben gozar de propiedades biológicas que permitan la bioestimulación del tejido; el plasma rico en plaquetas (PRP) y la fibrina rica en plaquetas (PRF), se comportan como excelentes andamios para el crecimiento celular (4, 5,6).

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

Investigaciones clínicas y radiográficas, afirman que existe una estimulación tanto en la cicatrización de los tejidos blandos como en la regeneración o reparación ósea de alvéolos dentarios, recesiones gingivales y lesiones periodontales, mediante la utilización de PRP y PRF manera individual y combinados con otros materiales de regeneración (7,8,9,10), pero aún es incierto si la combinación PRP o PRF con Hap es un combinado bioactivo o si la incorporación de los cristales de Hap rompen las plaquetas, alteran la forma, tamaño o papel que este biomaterial juega. Es por esta razón, que surge la iniciativa de realizar una investigación, con el fin de describir la ultraestructura de los concentrados plaquetarios (plasma rico en plaquetas y fibrina rica en plaquetas) individualmente y la ultraestructura de estos al incorporarles hidroxiapatita sintética, observados a través de las técnicas de microscopía electrónica de

transmisión y de microscopía electrónica de barrido.

METODOLOGÍA

Se realizó una investigación de tipo descriptivo y diseño de laboratorio o de ambiente creado.

Los elementos que integraron el grupo de estudio fueron 4 preparados: 2 en forma de membrana y 2 en forma de coágulo de diferente espesor; divididos de la siguiente manera:

Grupo A: coágulo de PRP

Grupo B: coágulo de PRP con hidroxiapatita

Grupo C: membrana de FRP

Grupo D: membrana de FRP con hidroxiapatita

PROCEDIMIENTO

Para la recolección de los datos se llevaron a cabo los siguientes pasos:

Toma de muestra: Se realizó en el Laboratorio Integrado de Biología Celular

y Molecular (LIBCEM) de la Facultad de Odontología de la ULA. Se le colocó al paciente un torniquete unos centímetros más arriba de la región anticubital, se le realizó la extracción de aproximadamente 10 ml de sangre que luego fueron depositados en 2 tubos de ensayo previamente etiquetados: 1 con citrato sódico al 3,8% (anticoagulante para la obtención de PRP) y 1 sin anticoagulante (para obtener el PRF).

Obtención del plasma rico en plaquetas:

Este proceso se realizó en una centrífuga digital que la cual cumplía con los parámetros de tiempo y de velocidad adecuados (10 minutos a 2000 rpm). Posterior al centrifugado se separó el plasma en fracciones mediante un pipeteado muy meticuloso: los primeros 0,5 cc correspondieron al plasma pobre en plaquetas (PPP), los siguientes 0,5 cc correspondieron a un plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica y la fracción del plasma rico en plaquetas se encontró

encima de la serie roja. Finalmente, al obtener la muestra del PRP se dividió en cantidades iguales y se depositarán en tubos de estériles eppendorf de 1,5ml donde se procedió a la activación mediante la agregación de las plaquetas con cloruro de calcio al 10%. (11)

Para la incorporación de la hidroxiapatita se combinó la muestra del PRP obtenido con 0,0099 gr de hidroxiapatita revolviendo el líquido hasta obtener una mezcla, se dejó reposar por 8min; hasta que se formó un coágulo para la observación microscópica.

Obtención del plasma rico en fibrina: la muestra se llevó a una centrífuga digital que permitió controlar los parámetros de tiempo y velocidad. El tiempo de centrifugado fue de 10 minutos a 2000 rpm. En este proceso, se activó la trombina endógena y se transformó el fibrinógeno en fibrina, obteniéndose un coágulo. Se separó el coágulo obtenido con una pinza, 1 milímetro por debajo de

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

la línea roja permitiendo así obtener una fibrina densa, elástica, suturable, totalmente biocompatible y reabsorbible que podrá ser empleada en numerosas ocasiones como membrana biológica, éste coagulo se dividió en 2 partes y fue moldeado con 2 gasas estériles o 2 portaobjetos hasta lograr una membrana.(12)

Para la incorporación de la hidroxiapatita se le añadió por un lado de la membrana 0.0093 gr de hidroxiapatita, colocando la membrana sobre la misma y así impregnándolo de dicho material.

Procedimiento de muestras de prp / prf con y sin hap para microscopía electrónica de barrido:(13) Se procedió a fijar las muestras en mezcla 3:3 (formaldehído al 3% + glutaraldehído al 3% en tampón cacodilato 0,1 M, pH 6,3) a 4° C, durante 24 horas mínimo. Posterior a ello se deshidrato con alcohol etílico en concentraciones ascendentes del Alcohol al 50% hasta llegar al 99%.

Se llevó a cabo a desecación de la muestra durante 48 horas y después que la muestra fue desecada se procedió a la metalización de la misma, con carbón, con oro o con ambos. Las muestras fueron observadas en un microscopio electrónico de barrido Hitachi S-2500.

Procedimiento de muestras de prp / prf con y sin hap para microscopía electrónica de transmisión:(13) Se procedió a fijar las muestras en mezcla 3:3 (formaldehído al 3% + glutaraldehído al 3% en tampón cacodilato 0,1 M, pH 6,3) a 4° C, durante 24 horas mínimo. Previamente las muestras se seccionaron en segmentos pequeños de aproximadamente 3 mm³. Posteriormente se lavaron las muestras con tampón cacodilato 0,1M y pH 6,3, para luego ser postfijados, durante 18h mínimo en tetraóxido de osmio al 1% preparado en la misma solución tampón. Luego se lavaron en solución tampón y se

prosiguió con el proceso de deshidratación e infiltración epoxídica.

Luego de la deshidratación e infiltración epoxídica se dejó la mezcla, a temperatura ambiente, durante un período de 2 a 3h, se colocó el tejido sobre papel de filtro, y se dejó a *temperatura ambiente* durante 5 min aproximadamente. Se colocó en un vial limpio, resina epoxídica recién preparada a 4°C, durante un período de 12 a 18h. Se dispusieron las cápsulas de inclusión con resina recién preparada, eliminando burbujas; el tejido fue colocado sobre papel de filtro y llevado a la Estufa durante 30 segundos.

Las muestras incluidas en resina epoxídica se llevaron a una estufa a 60° C, durante 48h, para garantizar la polimerización de la resina, lo cual permitió realizar cortes gruesos, de 1 a 2 µm de espesor y cortes ultrafinos de 90 nm de espesor, para ser observados con

microscopía de luz de alta resolución y microscopía electrónica de transmisión, después de ser contrastados con p-fenilendiamina y con acetato de uranilo y citrato de plomo, respectivamente. Las secciones fueron realizadas utilizando un Ultramicrotomo Sorvall Porter-Blum MT2-B y observadas a través de un microscopio fotónico Polyvar Reichert Jung, con cámara fotográfica Infinity digitalizada y de un microscopio electrónico de transmisión Hitachi H-7000.

RESULTADOS

Se observó que la muestra de PRP se caracterizó principalmente por: la presencia de fibrina homogénea abierta y compacta; también se observaron plaquetas adheridas en las diferentes etapas de adhesión y agregación plaquetaria. En la *figura 1*, se puede observar *fibrina homogénea abierta (FHA)* caracterizada por fibras gruesas

que se entrelazan entre sí dando aspecto de red, y sobre ellas *fibrina homogénea compacta* (FHC) representada como un

tronco de superficie lisa que está constituido por fibras delgadas, ubicado en el centro de la imagen.

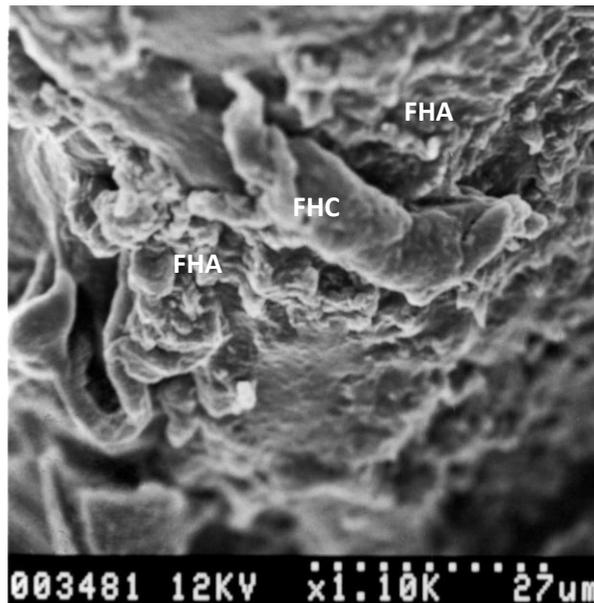


Figura 1. Microfotografía electrónica de PRP (27 μ m) denotándose fibrina homogénea abierta y compacta (FHA y FHC).

En la *figura 2* se perciben fibras gruesas en forma de red, correspondientes a *fibrina homogénea abierta* (FHA) relacionada con varias estructuras

redondas, de bordes definidos, con variación en su tamaño y ubicación, compatible con plaqueta en forma de bola (círculo).

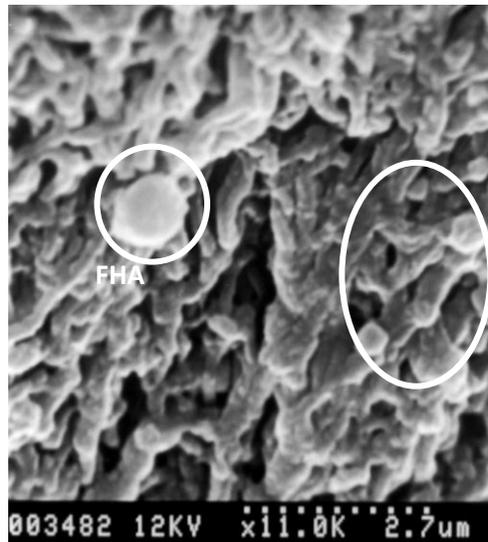


Figura 2. Microfotografía electrónica de FRP (2,7 μm). Se señala fibrina homogénea abierta y sobre ella plaquetas en forma de bola de diferentes tamaños.

Las muestras de PRP con Hidroxiapatita se caracterizaron por la presencia de aspectos estructurales como núcleos de hidroxiapatita en masa (imagen brillante, densa, concentrada, en forma granular en gran tamaño), fibrina homogénea abierta, plaquetas en forma de bola y plaquetas en forma de disco. En las microfotografías

de la *figura 3* resalta una estructura por ser más densa, granular y de gran tamaño compatible con *hidroxiapatita* (*círculo*), se encuentra sobre una superficie lisa de fibras unidas entre sí, indicativa de *fibrina homogénea abierta (FHA)* embebida en matriz que compactó durante el procesado de la muestra.

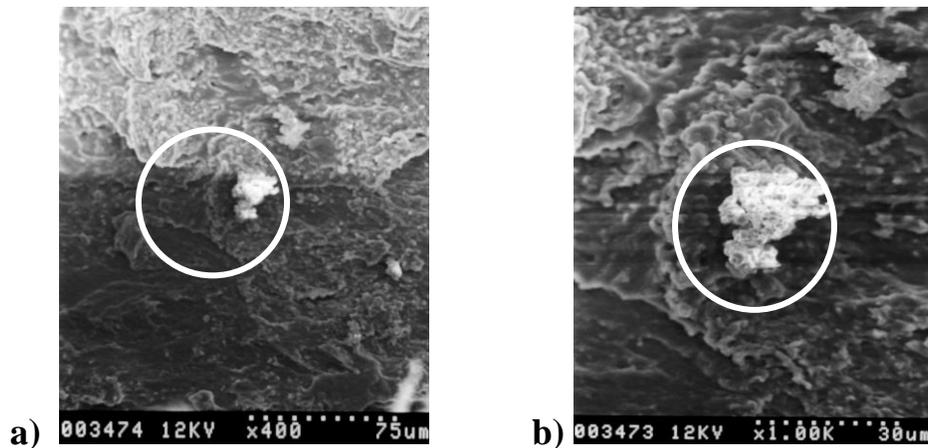


Figura 3. A) Microfotografía electrónica de PRP con Hidroxiapatita (75 μ m). Se observa un grupo de hidroxiapatita (círculo) incluida en una superficie de fibrina homogénea. B) acercamiento para mejor detalle (30 μ m).

Las muestras de FRP con Hidroxiapatita se caracterizaron por la presencia de aspectos estructurales como: hidroxiapatita en masa, fibrina homogénea abierta (FHA), fibrina homogénea compacta (FHC), plaquetas en forma de bola y plaquetas en forma de disco. La figura 4 permite diferenciar los 2 patrones en los que se presenta la

fibrina (FHC y FHA) caracterizados por presentarse en forma de red de fibras gruesas y en forma de tronco. La microfotografía electrónica 24 exhibe de manera clara 2 plaquetas que se encuentran relacionadas a esta red de fibrina denominadas plaquetas en forma de bola(A) (B).

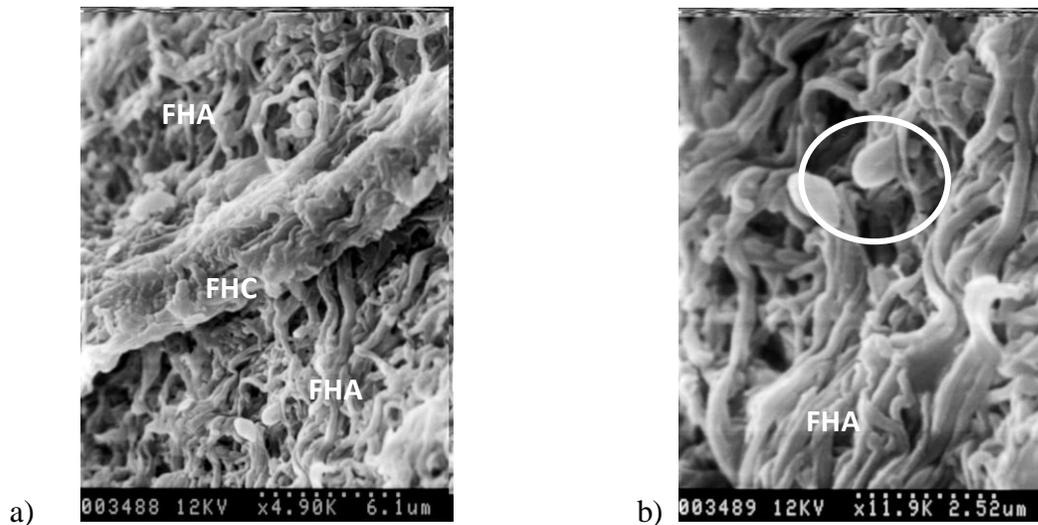


Figura 4. Microfotografía electrónica de FRP con Hidroxiapatita. A) Fibrina rica en plaquetas compacta y abierta (6,1 μ m). B) acercamiento de la FRP (2.52 μ m) detallándose plaquetas en forma de bola.

Una vez analizadas y descritas las microfotografías electrónicas, los hallazgos fueron resumidos para conocer la frecuencia con la cual aparecieron los componentes de los concentrados

plaquetarios. Esta información se presenta en la *Tabla I* que recoge los elementos ultraestructurales que fueron observados en cada una de las muestras estudiadas (PRP, FRP, PRP + Hap y FRP + Hap).

Tabla I. Frecuencia de elementos ultraestructurales en las muestras estudiadas

Muestra	PRP	FRP	PRP + Hap	FRP + Hap
Patrón				

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

FHA	2	2	2	5
FHC	2	1	1	3
Plaq. Bola	0	1	2	4
Plaq. Disco	1	0	1	0
Plaq. Adherida	1	0	0	0
Hidroxiapatita Granular	0	0	2	1
Hidroxiapatita en Capa	0	0	0	3

La compl

FHA fue el elemento ultraestructural que más se repitió en todas las muestras observadas, siendo más frecuente en aquellas que eran la combinación de FRP + Hap y constante en las muestras restantes; por su parte la FHC fue otro patrón que se logró identificar en la mayoría de las microfotografías analizadas, presentándose con mayor frecuencia en las muestras de FRP + Hap, lo que indica que la fibrina en general fue lo más común en las muestras.

En cuanto a la presencia de células, la plaqueta en forma adherida se presentó solo en las muestras de PRP, mientras que la plaqueta en forma de bola se ausentó

etamente de esta muestra de PRP y mayormente vistas en las microfotografías que correspondieron a las muestras de FRP + Hap. Las plaquetas en forma de disco fueron elementos únicos de las muestras de PRP, ya sea solo o combinado con Hap. La Hidroxiapatita se presentó de 2 maneras: granular y en forma de capa. Evidentemente la Hap solo podía observarse en las muestras que la contenían, pero en la muestra de PRP + Hap no se observó la hidroxiapatita en capa, siendo esta forma casi exclusiva de la FRP + Hap.

RECIBIDO: 15/09/2016

Aprobado: 20/11/2016

DISCUSIÓN

En el caso particular se esta investigación se analizó la organización ultraestructural de los elementos presentes en cada uno de los concentrados obtenidos y procesados bajo los protocolos descritos. Una vez analizados los resultados se pudo apreciar que en las microfotografías de PRP y FRP ya descritas se encontraron variaciones entre los concentrados plaquetarios en cuanto a la forma y arquitectura de la fibrina como en la presencia de elementos celulares, concordando con el estudio realizado por Lauricella (14) en el 2007, quien afirma que la fibrina evaluada por microscopía electrónica de barrido puede tener características ultraestructurales variables, ya que la red fibrilar no es igual en todos los casos, debido a que por diversas condiciones fisiológicas se manifiestan diferencias en la malla de fibrina, tales como la arquitectura global que puede ser homogénea o heterogénea, se pueden o no cuantificar las

ramificaciones y diferenciar los componentes celulares. La fibrina observada presentó una superficie rugosa, de bordes irregulares, organizada en forma de malla o red, con fibras gruesas, esto se asemeja a la descripción dada por investigadores, quienes evidenciaron que la fibrina observada a microscopio de barrido a pesar de haber sido sometidas a diferentes tratamientos de desecación, tiene una forma irregular, fibrilar, gruesa y entrelazada en su totalidad (15).

Las muestras a las cuales se les incorporó hidroxiapatita presentaron mejor organización de las fibras y presencia de elementos celulares aparentemente sin daños estructurales a las plaquetas, lo cual indicaría que esta mezcla de partículas surtirán su efecto en la regeneración del defecto óseo al que será implantado sin disminuir la calidad del concentrado plaquetario, lo que presenta similitud con algunos estudios clínicos donde se comparó y comprobó la eficacia clínica al momento de agregar un material cerámico

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

(Hap) a un defecto óseo, induciendo la formación de hueso nuevo y proporcionando un mejor sustrato para la regeneración ósea.(16,17,18). La fibrina rica en plaquetas, presenta una mejoría en cuanto a la preparación simplificada, sin la manipulación bioquímica de sangre (15, 19, 20) con respecto a los preparados de PRP que posee las mismas propiedades regenerativas y curativas obtenidas de los factores de crecimiento, con una arquitectura más conveniente para un andamiaje lo que permite que sean sostenibles en el tiempo necesario para la remodelación (21,22). En este estudio se observó que la fibrina rica en plaquetas presenta una arquitectura más organizada en sus fibras, también se pudo apreciar la presencia de mayor cantidad de plaquetas en diferentes formas que indican que están cumpliendo una función en la agregación plaquetaria, activando la cascada de coagulación y trabajando en conjunto para que se dé el proceso de regeneración. Con la incorporación de

biomateriales, en este caso Hap, se observó cómo se unían o se interponían estos 2 elementos sin afectarse, lo que puede indicar su compenetración para lograr un efecto más rápido y efectivo en la regeneración de tejidos. Todo esto plantea ideas a futuras investigaciones para comprobar desde el punto microscópico y clínico cual concentrado plaquetario sería el más conveniente a utilizar en diferentes defectos periodontales.

Al momento de la observación se detalló que las muestras correspondientes a microscopía electrónica de barrido (MEB) presentaban una mejor nitidez favoreciendo la observación de los concentrados plaquetarios y así identificar claramente cada uno de los componentes que en ellos se presentaba (fibras, plaquetas, matriz celular e hidroxiapatita en los casos que se le había incorporado) a diferencia de las muestras de microscopía electrónica de transmisión

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

(MET) donde las imágenes no presentaban con claridad los elementos celulares para su identificación. Investigadores realizaron un estudio donde utilizaron diferentes métodos de centrifugación para la observación a MET, concluyendo que una centrifugación excesiva puede alterar los componentes celulares presentes para su observación (23,24). Por lo tanto, se puede decir que una de las variaciones presentadas en esta investigación puede estar asociada al método de centrifugación de las muestras al momento de ser procesadas para la observación de MET, no siendo una doble centrifugación pero si mostrando una diferencia notable tanto en tiempo como en velocidad de la centrífuga utilizada. Mientras que, en otra investigación se utilizó la misma variación tanto en tiempo como en velocidad que se usó en esta investigación y logro observar de forma íntegra, nítida y completa los elementos estructurales (fibrina, plaquetas) (13,23),

afirmando que este método de centrifugación es adecuado para procesar muestras que serán observadas bajo técnicas de microscopia electrónica de barrido, protocolo que garantiza que no habrá alteración de la ultraestructuras presentes en los concentrados plaquetarios. En cuanto al proceso de elaboración de las membranas, de PRP y FRP con Hap, algunas ventajas como la facilidad de incorporación de la biocerámica, la sencilla manipulación y la rápida obtención de las muestras son atribuibles a cada presentación física, ya que la incorporación de la Hap se llevó a cabo de diferente manera en ambos casos. En el caso de PRP, la incorporación de la Hap fue sencilla pues solo se necesitaba disponer del peso exacto a incorporar y posteriormente la biocerámica se agregaba al PRP mezclando con delicadeza hasta lograr que se homogenizara. Mientras que para la fibrina, la incorporación del polvo de Hap fue diferente; se aplanó en forma de

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

membrana con una consistencia moldeable que permitiese manejarla fácilmente. Al momento de incorporar la Hidroxiapatita se presionó la membrana sobre un cúmulo de polvo de Hap hasta que ese lado de la fibrina quedase tapizado por estos pequeños cristales.

En referencia a las plaquetas presentes en las muestras analizadas, se observó la presencia de un gran número, ubicadas alrededor de una red densa o un tronco de fibrina, principalmente en las muestras de FRP a las que se les incorporo Hap. Éstas células cumplen un papel importante en la liberación de factores de crecimiento, pues en la observación de los preparados se podría indicar que la presencia de ellas en grandes cantidades ayudará al proceso de regeneración de tejidos, concordando con lo afirmado por Tovar(25) en el 2011 quien afirma que las plaquetas aisladas de sangre periférica contienen un elevado número de factores de crecimiento, que pudieran ser aplicados como coadyuvante en la curación de los tejidos duros y

blandos. Por tal razón, se considera que la incorporación de Hap a los concentrados plaquetarios, como es el caso de FRP, donde hay mayor cantidad de plaquetas, el potencial regenerativo será de mayor potencial debido a la presencia de elementos celulares (plaquetas).

Dado que no se evidenció lesión celular en los preparados combinados con Hap tanto en las muestras de PRP como en las de FRP, se estima que el valor del empleo clínico de estos andamios para heridas quirúrgicas, injertos y otras lesiones como promotor de la regeneración de los tejidos y la neoformación ósea sigue reafirmandose desde la perspectiva de la investigación básica pues se trata de biomateriales bioactivos que cumplirían con la función de andamiaje para remodelación adecuada en la neoformación tisular, incluso en lesiones de furca con ausencia de paredes óseas y pudiendo sugerir su uso en el área de periodoncia (25).

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

También es importante recordar el predominio de redes de fibrina homogénea abierta que se observaron en las muestras, principalmente en aquellas muestras de fibrina rica en plaquetas. Éste predominio puede deberse a que en el proceso centrifugación hay una activación de las plaquetas y de fibrinógeno, por la liberación de Factor Crecimiento plaquetario al exterior; además las citocinas leucocitarias quedan progresivamente atrapadas en las redes de fibrina durante la centrifugación y por tanto son liberadas lentamente. Lo que lleva a los autores a considerar el coágulo FRP como un nodo de la organización inmune que trabaja como un andamio de liberación prolongada de factores derivados de plaquetas. Su capacidad de defensa contra las infecciones puede ser muy significativa, por las propiedades quimiotácticas de estas citocinas, así como por su capacidad para facilitar el acceso al sitio de la lesión. (13,22).

CONCLUSION

Las técnicas de microscopía electrónica empleadas fueron adecuadas para ambos casos, no destacó alguna ventaja de una sobre otra para recomendar su elección a la hora de caracterizar muestras de este tipo. En la Microscopía Electrónica de Barrido se evidenció, que la FRP posee una ultraestructura con fibras robustas y entramadas, que lo hace útil como soporte firme para las células formadoras de tejido óseo, para comenzar el proceso de regeneración. Los concentrados plaquetarios parecen no verse afectados por la incorporación de hidroxapatita, ambos elementos se unen mostrándose en un andamio caracterizado por fibras entrelazadas, organizadas y acompañados de núcleos de hidroxapatita, sin ser separadas completamente un elemento del otro. De acuerdo con la configuración observada el PRP y FRP combinados con hidroxapatita mantienen los elementos celulares ultraestructurales primordiales

para promover la formación de hueso en defectos periodontales avanzados.

REFERENCIAS

1. Oporto G, Fuentes R, Álvarez H, Borie E. Recuperación de la Morfología y Fisiología Maxilo Mandibular: Biomateriales en Regeneración Ósea Int. J. Morphol 2008; 26 (4):853-59.
2. Bello S, Peña J, Estrada L, Fontanilla M. Sustitutos de mucosa oral creados mediante ingeniería tisular: una alternativa para la reconstrucción de defectos de mucosa oral. Revista CES Odontología 2001; 14 (1):55-64.
3. Buckley MJ, Agarwal S, Gassner R. Tissue engineering and dentistry. Clin. Plast, Surg. 1999; 26 (4):657-62.
4. Dohan E, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, Lars R., Everts P. In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. Current Pharmaceutical Biotechnology. 2012; 13(7): 1131-37.
5. Chang Y, Wu K. Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. ELSEVIER Journal of Dental Sciences. 2011; 6 (2):181-188.
6. Alpiste F, Buitrago P, Fuenmayor V, Gil F. Peridontal regeneration in clinical practice. Medine oral pathology oral y Cir bucal. 2006; 11 (9): 382- 92.
7. Ahmed, E y Tamer E. Clinical and radiographic evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite

Recibido: 13/08/2016

Aprobado: 20/11/2016

- with or without platelet-rich fibrin membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. *J Indian Soc Periodontol.* 2015; 19(1): 61–65.
8. Nair MB, Varma HK, Menon KV, Shenoy SJ. Reconstruction of goat femur segmental defects using triphasic ceramic-coated hydroxyapatite in combination with autologous cell and platelet-rich plasma. *Acta Biomater.* 2009; 5(5):1742-55.
 9. Durmuslar MC, Alpaslan C, Alpaslan, G, Cakir M. Clinical and radiographic evaluation of the efficacy of platelet-rich plasma combined with hydroxyapatite bone graft substitutes in the treatment of intra-bony defects in maxillofacial region. *Acta Odontol Scand.* 2014; 72 (8):948-53.
 10. Ximénez X. Anatomía radicular y su relación con las lesiones de furca. *Act odontol. Venez.* 2005; 43 (3).
 11. Anitua E. The use of plasma'rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical procedures & aesthetic dentistry.* 2001; 13(6): 487-93. Recuperado el 16 de mayo del 2010 en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11544821>
 12. Anitua E, Sanchez M, Nurden A, Nurden P, Orive G, Andia I. New insights into a novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *TRENDS biotechnology.* 2006; 24(5); 277-74. Recuperado el 15 de enero de 2012 en <http://www.srorthopedics.com/docs/New-insights-into-and-novel-applications-for-platelet-rich-fibrin-therapies.pdf>

13. Requena, D. Evaluación y comparación in vitro de las características ultraestructurales de fibrina rica en plaquetas (frp) bajo microscopía electrónica en pacientes tratados en el postgrado de cirugía bucal de la UCV. [Tesis]. Caracas- Venezuela; Universidad central de Venezuela: Facultad de Odontología; 2012.
14. Lauricella, A. Variabilidad de las redes de fibrina. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2007; 41 (1): 7 – 19
15. Paredes A, Ortega O, Velazco G, González A, Solórzano E. Método de deshidratación para el análisis del plasma rico en fibrina mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Acta bioclínica. 2015; 5(9).
16. Nacopoulos, C; Dontas, I; Lelova, P; Galanos, A; Vesalas, AM; Raptou, P; Mastoris, M; Chronopoulos, E; Papaioannou, N. Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft. J Craniofac Surg. 2014; 25(6):2164-68.
17. Pineda, O; De la Portilla, L; Guerrero, F. Regeneración tisular guiada. Revista Nacional de Odontología. 2009; 3(1).
18. Bernales, D; Caride, F; Lewis, A; Lagens, M. Membranas de colágeno polimerizado: consideraciones sobre su uso en técnicas de regeneración tisular y ósea guiadas. Rev. Cubana Invest Biomed. 2004; 23(2).
19. Sharma A, Pradeep A. Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Mandibular Degree II Furcation Defects: A

- Randomized Clinical Trial. Journal of Periodontology. 2011; 82(10):1396-03.
20. Vento, D. Efecto clínico del plasma rico en fibrina (prf) como terapia conjunta a la fase quirúrgica en el tratamiento de la periodontitis crónica. [Tesis]. Perú Universidad Nacional mayor de san marcos: Facultad de odontología; 2015.
21. Dohan D, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier J. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane Periodontal. EL SEVIER. 2010; 81 (4):546-55.
22. Kiran N, Mukunda K, Tilak R. Platelet Concentrates: A promising innovation in dentistry review. Journal of Dental Sciences and Research. 2011; 2 (1): 299-303.
23. Meza, J; Castillo, L; Dávila, D; Carrero, A; González, A. Estudio comparativo ultraestructural del plasma rico en plaquetas Obtenido mediante centrifugación individual y doble centrifugación. Rev. Venez Invest Odont IADR 2013; 1 (2): 102-109.
24. García, m; Reyes, m y Gasca, J. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. Revista Especializada en Ciencias Químico -Biológicas. 2006; 9 (2): 90.
25. Tovar, J. Aplicación de fibrina rica en plaquetas en la cicatrización y regeneración post-exodoncias dentarias en pacientes con riesgo y con osteonecrosis



maxilar inducida por bifosfonatos.
[Tesis]. Caracas- Venezuela;
Universidad Central de

Venezuela: Facultad de
Odontología.2011