

Utilización de geles plaquetarios en la curación de los defectos óseos. Estudio experimental.

D. BONETE LLUCH, F. GOMAR SANCHO, J. CARRASCO LUNA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE VALENCIA.

Resumen. Los factores de crecimiento pueden considerarse biomateriales que poseen actividad en los procesos de reparación y regeneración de los seres vivos. Esta capacidad puede utilizarse para favorecer, asegurar y aumentar las fases de reparación del tejido óseo. En este trabajo se ha estudiado la reparación de defectos óseos utilizando geles plaquetarios. Hemos realizado un estudio experimental prospectivo, interviniendo quirúrgicamente 30 conejos raza Nueva Zelanda, con defectos cavitarios de 6 mm de diámetro en la metafisis proximal de tibia y un defecto diafisarios de 6 mm en el peroné. Los animales fueron divididos en 2 grupos de 15 animales que recibieron como tratamiento plasma rico en plaquetas (PRP) o plasma pobre en plaquetas (ppp) en sus tibias y peroné derechos. La tibia y peroné izquierdo se utilizó como grupo control. Los resultados se valoraron por medio de estudios radiológicos, TAC e histológicos a las 8, 12 y 16 semanas. El estudio de reconstrucción por TAC, densidad mineral ósea y el análisis cualitativo de la histología reveló una mejoría del grupo tratado con plasma pobre en plaquetas (ppp) sin reflejar esta mejoría diferencias estadísticamente significativas. El proceso de reparación se realizó mediante una osificación membrana sin observarse focos de osificación endocondral. El estudio estadístico no presentó ninguna diferencia significativa, ($P < 0.05$) con respecto al grupo control. El plasma rico en plaquetas, sustancia autóloga, en nuestro modelo experimental no se comportó como un sustitutivo óseo con capacidad osteoinductora ni osteopromotora.

Platelet rich plasma in the healing of bone defect. Experimental study.

Summary. *Introduction:* Growth factors and others molecules with osteoinductive capacity could be considered biomaterials with an important role in the biological process of healing in the human body. These properties could be potentially employed to enhance bone healing. Platelet rich plasma and growth factors alone were studied in an experimental bone defect model in this PhD Thesis. *Material and method:* A prospective, comparative bilateral and controlled experimental study was performed. A bone cavitary defect of diameter 6 mm. in the proximal tibial metaphyseal and a 6 mm diaphysal fibula defect was made on 30 New Zealand white rabbits. The animals were divided in two groups of 15 rabbits that received, as treatment of the defect, platelet rich plasma (PRP) or platelet poor plasma (ppp) in the right tibia and fibula. The left tibia and fibula were untreated as a control group. The results were evaluated with a radiological, CTS-can and histological studies at 8, 12 and 16 weeks. *Results:* The 3D images from CT-scan reconstruction, bone mineral density (BMD) and qualitative histological studies demonstrated an improvement in the platelet poor plasma group (ppp) without statistically significant differences. The bone regeneration was obtained from a membranous process without endocondral reaction. The statistical study of different variables in relation to time and type of treatment revealed no significant differences ($P < 0.05$). *Conclusion:* Platelet rich plasma, easy to obtain, safe and autologous compound does not work as bone substitute with an osteoinduction capability in our bone defect experimental animal model.

Correspondencia:
Daniel Bonete Lluch
Avd^a Cortes Valencianas 37 A-3
46015 Valencia
e-mail: lluch@comv.es

Introducción

La biología del hueso suele ser suficiente para reconstruir fracturas habituales y defectos óseos menores, no obstante, en pérdidas mayores de masa ósea y situaciones especiales (pseudoartrosis) es imprescindible recurrir a los biomateriales óseos para obtener la reparación¹⁻³.

Así ciertas proteínas y factores de crecimiento (FC), como; el factor β transformador del crecimiento, las proteínas óseas morfogenéticas, los factores de crecimiento de fibroblastos, los factores de crecimiento tipo insulina y los factores de crecimiento derivados de plaquetas⁵, son los tipos más usuales de sustancias utilizados^{4,6}.

Estas sustancias almacenadas en las plaquetas juegan un importante papel en los procesos de reparación.

Los factores de crecimiento derivados de las plaquetas y los diferentes geles plaquetarios han ganado gran popularidad en los últimos años. Se ha utilizado en gran variedad de patologías quirúrgicas y en campos donde se precisa de regeneración tisular^{7,4}. Por este motivo, la hipótesis de trabajo que ha conducido al desarrollo del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es que en un producto con mayor concentración de plaquetas, los niveles de factores de crecimiento aumentarían en relación lineal con el número de plaquetas⁸. La producción de este gel permitiría por tanto una liberación sostenida de los factores de crecimiento. Estas proteínas que actúan como factores señalizadores para las células y funcionan como parte de una trama de comunicaciones celulares que actúan influyendo sobre funciones especiales como división celular, síntesis de la matriz y diferenciación tisular, tales como formación de hueso y cartílago, consolidación de fracturas y reparación de otros tejidos del aparato locomotor⁹.

Los factores de crecimiento plaquetarios, se han demostrado como un método eficaz en implantología maxilar favoreciendo o promoviendo la respuesta osteogénica¹⁰⁻¹². Los resultados obtenidos en el campo de la cirugía maxilofacial han despertado gran interés para realizar aplicaciones de este estímulo osteogénico en otras localizaciones.

En cirugía ortopédica y traumatología se utilizan en defectos óseos, reparación de partes blandas y como aumentador de la formación del callo óseo. Los cirujanos utilizan la capacidad del gel plaquetario para realizar un aporte exógeno masivo de factores de crecimiento al foco de lesión para aumentar los procesos de reparación tisular. Actualmente con el desarrollo de las nuevas tecnologías somos capaces de utilizar moléculas proteicas que consiguen aumentar o facilitar las fases de reparación.

El tratamiento quirúrgico de las fracturas no consolidadas a menudo requiere el uso de materiales osteogénicos en la presencia de una adecuada estabilización para establecer una continuidad ósea. El P15-BGS parece ofrecer una alternativa segura, económica y clínicamente útil al autoinjerto en la reparación de este tipo de fracturas¹³.

Numerosos estudios han sido desarrollados en los últimos años para identificar los mecanismos íntimos de la reparación y regeneración tisular^{4,14-16} pero no existen resultados concluyentes y quedan cuestiones por resolver como, la seguridad de estas sustancias, cantidad necesaria, métodos de preparación, concentraciones y equilibrios entre los distintos factores. Continuando con esta línea de trabajo, hemos planteado realizar un estudio experimental que nos permita profundizar en el conocimiento del comportamiento biológico de los factores de crecimiento plaquetarios en la reparación ósea¹⁷⁻²⁴.

El propósito de nuestro estudio es evaluar la capacidad osteoinductora u osteoformadora del PRP de forma aislada en un defecto óseo en el conejo de experimentación.

Material y método

Animales y diseño experimental. Hemos utilizado como animal de experimentación 30 conejos machos adultos albinos de la raza Nueva Zelanda (*Oryctolagus Cuniculi*), con un peso entre 3.500 y 4000 g. Todos los animales fueron sometidos a dieta estándar. Los procedimientos quirúrgicos fueron aprobados por el comité de ética de la Facultad de Medicina de Valencia. Los animales fueron cuidados y mantenidos en el estabulario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia, bajo condiciones ambientales de temperatura entre 18 y 25 ° C y una humedad entre 50 y 70 %. El régimen alimentario estándar fue liofilizado, con un contenido de 16,5 % de proteína pura, 13,5 % de fibra, 1,2 % de calcio, 0,65 % de fósforo, enriquecido con 10.000 UI de vitamina A y 2.000 UI de vitamina D3 por cada kg. de comida. Se administró agua a demanda. Los animales ingresaron al estabulario una semana antes de la intervención quirúrgica, período en que permanecen en cuarentena, para su adaptación.

Todos los conejos se utilizaron de forma conjunta como grupo control y experimental. Se realizaron defectos óseos a nivel de la metafisis proximal medial de la tibia de 3 mm de diámetro y un defecto cortical a nivel del peroné de 6 mm de longitud. Los defectos en la extremidad derecha fueron tratados con dos tipos de plasma plaquetarios:

- a) plasma rico en plaquetas (PRP)
- b) plasma pobre en plaquetas (ppp).

Los defectos de la extremidad izquierda configuraron nuestro grupo control. La eutanasia se realizó a las 8, 12 y 16 semanas para estudios de imagen e histología.

Preparación de los geles plaquetarios. Se extrajeron 10 cc de sangre autóloga de la vena auricular del

conejo y se almacenaron en tubos estériles anticoagulantes con citrato sódico al 3.8% de 2 ml. El ppp se obtuvo mediante un centrifugado simple de 8 minutos a 280 giros obtenido de la fracción primera del plasma aislado mediante pipeteado. El PRP se obtuvo aislando la fracción profunda del plasma y concentrada mediante un segundo centrifugado en las mismas condiciones. La mitad fue utilizada para el defecto peroné y la otra mitad para el defecto tibial. Se realizó recuento básico plaquetario de sangre periférica y de todos los geles obtenidos.

Procedimiento quirúrgico. Los animales fueron anestesiados mediante una combinación de tres fármacos que se administran por vía subcutánea. Hidrocloruro de Ketamina (Ketostop®), en dosis de 35 mg/kg de peso. y- Acepromazina Maleato 1.0 % (Pacifor®), en dosis de 1 mg/kg de peso. Con estas dos drogas se consiguió una excelente anestesia y relajación del animal, cuyo efecto tuvo una duración entre 45 y 60 minutos, tras realizar una extracción de sangre. Se realizó un abordaje lateral para la creación de un defecto óseo a nivel del peroné. Posteriormente se realizó un pequeño abordaje medial para crear un defecto cavitario en la metafisis tibial mediante una fresa. En los defectos de la extremidad derecha se añadió PRP o ppp de forma randomizada y los defectos de la extremidad izquierda no se realizó ningún tratamiento. Las heridas fueron suturadas con puntos sueltos reabsorbibles. Se administró de forma profiláctica antibiocioterapia. El régimen de analgesia se realizó mediante Metimazol (Nolotil 1.0 %®) en dosis de 2 mg/kg de peso administrado por vía intramuscular, cuya primera dosis se colocaba al terminar la intervención quirúrgica y luego se administraba cada 24 horas hasta completar dos días. Tras las 8, 12, 16 semanas en función del grupo de trabajo se procedió a realizar la eutanasia mediante sedación y con Clorhidrato de Xilazina 2.0 % (Xilazina®), administrando una sobredosis endovenosa de Tiopental Sódico, solución al 2.0 %, 1 g. en 50 ml. de agua bidestilada (Pentothal®) lo que provocó el exitus por paro cardiorrespiratorio. Se separaron los miembros inferiores y se almacenaron en formol para su posterior estudio de imagen e histología.

Estudios de imagen Rx y TAC. Todos los especímenes fueron sometidos a estudios de Rx simple y TAC. Se realizaron cortes de TAC para posterior reconstrucción en 3D, resolución de imagen de 512 X 512 píxeles a 16 bits. Las secuencias de imágenes fueron procesadas mediante un programa de tratamiento de imágenes de TAC y RMN (Mimics, versión 8.11, Materialise n.v.). Se

realizó la medición de la regeneración del defecto óseo y la densidad mineral ósea²⁵.

Se ha analizado la densidad mineral ósea (DMO, en mg/cm³) en las zonas del defecto de peroné en las que se apreció tejido regenerado. La DMO de dicho tejido regenerado se ha estimado a partir de los parámetros de calibración referidos por Homolka²⁵ y se asumió una correlación lineal entre el número de Hounsfield (NH) y la DMO, siguiendo la siguiente ecuación:

$$DMO \text{ (expresado en g/cm}^3\text{)} = a \times NH + b$$

Siendo $a = 0.760$ y $b = 2.8$

Estudio Histológico. Se realizó estudio histológico a microscopía óptica tras decalcificación con las siguientes tinciones: tricómico de Masson para valorar celularidad, Hematoxilina-eosina t y estudios con luz polarizada para valorar tejido inmaduro. Los resultados obtenidos se analizaron de forma cualitativa.

Variables Estudiadas

- Recuento plaquetas en sangre periférica (miles / mL)
- Recuento plaquetas en los concentrados plaquetarios (miles / mL)
- Densidad mineral defecto metafisario tibial (mg/cm³)
- Densidad mineral defecto peroné (mg/cm³)
- Tasa de regeneración ósea que fue determinada según los valores siguientes:

Defecto peroné:

- Ausencia de regeneración: defecto de 6 mm.
- Regeneración parcial: defecto de tamaño entre 6 y 1 mm.
- Regeneración total: defecto de tamaño inferior a 1 mm.

Defecto tibial:

- No regeneración: distancia entre los extremos del defecto fue 3 mm.
- Regeneración parcial: distancia entre extremos fue entre 3 y 2 mm.
- Regeneración completa: distancia entre extremos < a 2 mm.

Análisis Estadístico. Estadística descriptiva de las variables discretas (grado de regeneración) y el resto de variables cuantitativas.

Estadística analítica. Se aplicaron test paramétricos y no paramétricos en función del comportamiento de normalidad de las variables. Se realizó estudio de correla-

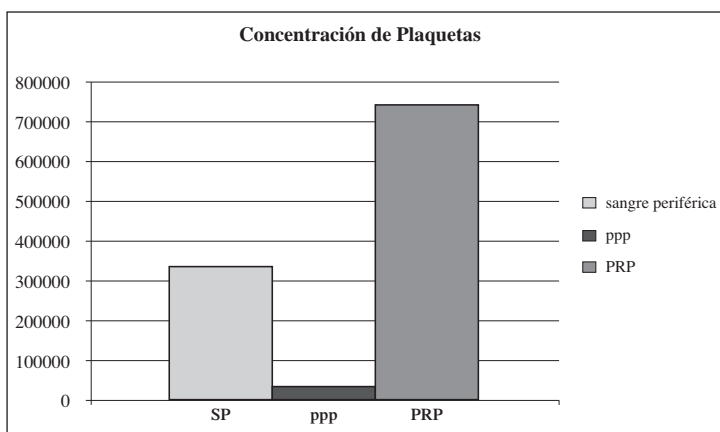


Figura 1. Concentraciones de plaquetas obtenidas

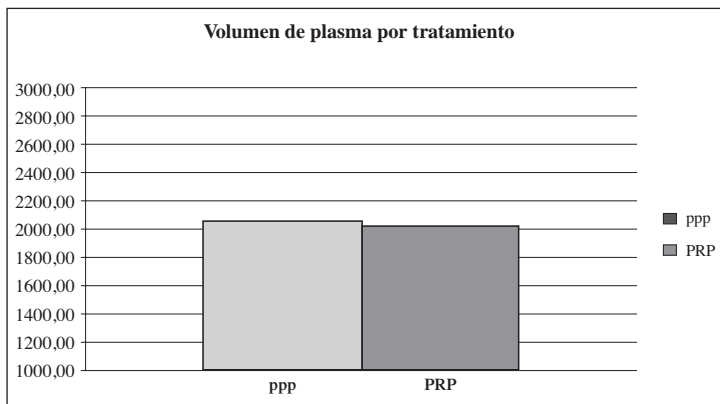


Figura 2. Volumen de plasma po tratamiento

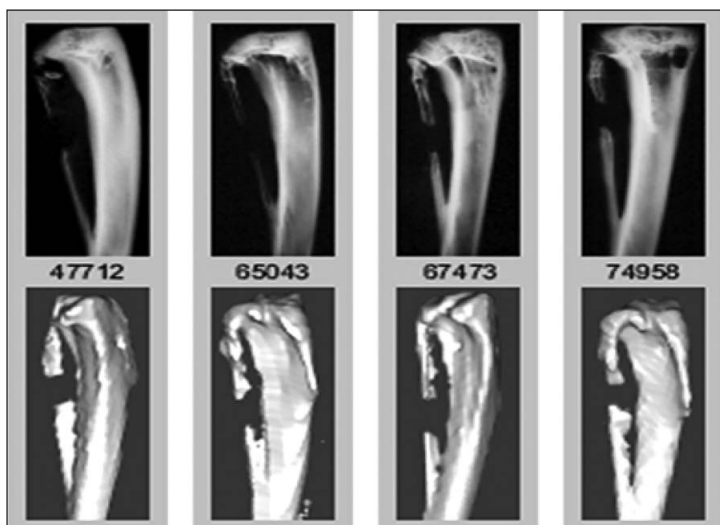


Figura 3. La reconstrucción tridimensional nos permitió gráficamente, la observación de la regeneración del defecto óseo.

ción entre la concentración plaquetar de los geles y la sangre periférica. El nivel de significación estadística se estableció al 95% ($p < 0.05$).

Resultados

Plaquetas

El valor medio del número de plaquetas en sangre periférica fue de 344.533 /μl ± 61.000 [210.000 - 473000].

El valor medio del número de plaquetas en el plasma pobre en plaquetas (ppp) fue de 36063 /μl ± 8200 [24000 - 56000]. Un 12% de la cifra en sangre periférica.

El valor medio del número de plaquetas en el plasma rico en plaquetas (PRP) fue de 756143 /μl ± 37329 [695000 - 811000]. Un 205% de la cifra en sangre periférica (Fig 1).

Volumen medio de gel

El volumen medio de gel utilizado para el defecto de peroné y tibial para los distintos grupos experimentales se describe en Figura 2.

Volumenes por grupo de trabajo:

El volumen medio de de ppp obtenido para tratamiento en los animales del grupo experimental tratados con ppp fue de 2053.00 cc ± 209.98 cc.

El volumen medio de ppp implantado en el defecto de peroné y tibial fue de 1026.50 ± 104.94

El volumen medio de de PRP obtenido para tratamiento en los animales del grupo experimental tratados con PRP fue de 2015.71 cc ± 187.65 cc.

El volumen medio de PRP implantado en el defecto de peroné y tibial fue de 1007.86 ± 93.82 cc.

Estudio TAC y Reconstrucción 3D. Estudio de imagen TAC con una resolución de imagen de 512 X 512 píxeles a 16 bits nos permitió:

1. El estudio de reconstrucción tridimensional. La compilación de las imágenes seriadas nos permitió la

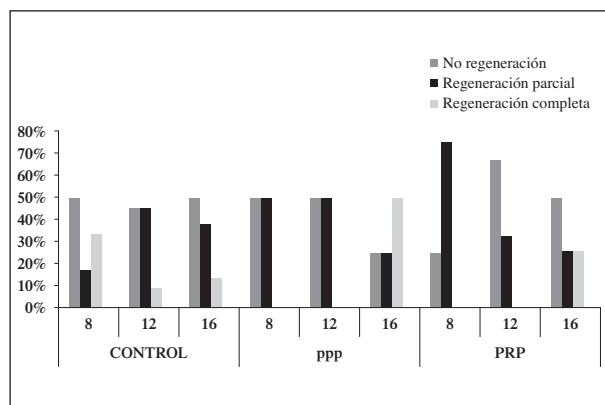


Figura 4. Regeneración en el defecto de peroné de los distintos grupos experimentales y control

Tabla 1. Densidad Mineral Ósea.									
	PPP			control			PRP		
Semanas	8	12	16	8	12	16	8	12	16
DMO defecto tibial (mg/cm ³)	59.8	2.8	150.7	179.8	46.5	45.1	2.8	2.8	107.6
DMO defecto peroné (mg/cm ³)	108.8	278.2	487.3	137.2	359.4	401.5	280.4	163.9	139.1

Tabla 1. Valor medio de la densidad mineral ósea (DMO) del tejido regenerado en los defectos de peroné y metafisario tibial

Tabla 2. Regeneración Tibial.				
Semanas	No Regeneración	Regeneración Parcial	Regeneración Completa	
Control	8	50%	17%	33%
	12	45%	45%	9%
	16	50%	38%	13%
PPP	8	50%	50%	0%
	12	50%	50%	0%
	16	25%	25%	50%
PRP	8	25%	75%	0%
	12	67%	33%	0%
	16	50%	25%	25%

Tabla 2. Valor del tejido regenerado en los defectos óseos metafisarios tibiales

Tabla 3. Regeneración del Peroné.				
Semanas	No Regeneración	Regeneración Parcial	Regeneración Completa	
Control	8	50% (3)	50% (3)	0% (0)
	12	18% (2)	18% (2)	64% (7)
	16	25% (3)	50% (3)	25% (2)
PPP	8	100% (2)	0% (0)	0% (0)
	12	20% (1)	20% (1)	60% (3)
	16	50% (2)	0% (0)	50% (2)
PRP	8	25% (1)	50% (2)	25% (1)
	12	50% (3)	33% (2)	17% (1)
	16	75% (3)	25% (1)	0% (0)

Tabla 3. Valor del tejido regenerado en los defectos del Peroné

reconstrucción en 3 dimensiones del defecto óseo a estudio (Fig. 3)

2. Estudio Densidad Mineral Ósea

En la Tabla 1 se presentan los valores medios de la DMO del tejido regenerado en los defectos de peroné y metafisario tibial a partir del número de Hounsfield que se registraron directamente en las imágenes digitales del TAC.

Regeneración del defecto Óseo. En términos generales se trata de un defecto óseo crítico. No obtuvimos la curación ósea completa en ningún caso.

En peroné. En la Tabla 2 y Figura 3 observamos y cuantificamos el grado de regeneración ósea del defecto del peroné valorando la regeneración parcial, y completa dependiendo del tipo de tratamiento y de acuerdo a la serie temporal.

En la tibia. En la Tabla 3 y Figura 4 observamos y cuantificamos el grado de regeneración ósea del defecto de la tibia valorando la regeneración parcial, y completa dependiendo del tipo de tratamiento y de acuerdo a la serie temporal.

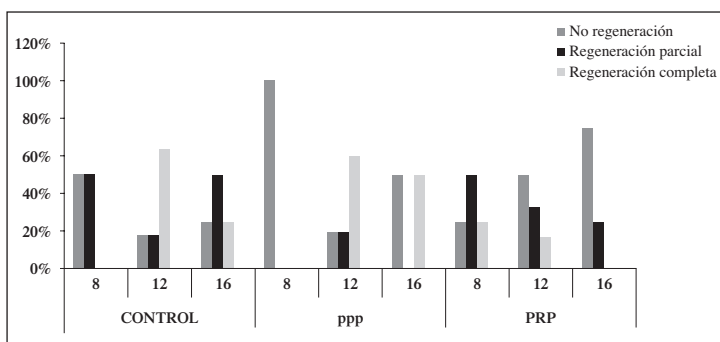


Figura 5. Regeneración en el defecto metafisario tibial de los distintos grupos experimentales y control

Estudio histológico. El análisis cualitativo de la histología mostró que la regeneración ósea se efectuaba principalmente desde los extremos del defecto con gran actividad perióstica y escasa osificación endocondral. El regenerado es fundamentalmente del tipo intramembranoso (Fig. 6).

Atendiendo a los diferentes estados histológicos en función del periodo de evolución vemos distintos estadios de madurez ósea. La regeneración ósea entre los extremos de un defecto se produjo fundamentalmente en nuestro modelo de forma centrípeta y se organizó principalmente por una osificación membranosa en los defectos del peroné, en alguno de los defectos tibiales pudimos observar una osificación endocondral muy desorganizada. (Fig. 7).

Análisis estadístico. El análisis de correlación bivariada del recuento plaquetario entre sangre periférica y los dos tipos de concentrado plaquetario indica que

no existe correlación significativa entre ambos parámetros (método Convencional, 0.139; método convencional modificado, 0.241). Este hecho parece indicar que no existe una relación directa entre el recuento plaquetario de sangre periférica y el recuento plaquetario del concentrado sanguíneo tras la utilización de cualquiera de los dos métodos empleados en aumentar el nivel de concentración plaquetaria.

Tampoco se observa correlación significativa entre el recuento plaquetario del concentrado sanguíneo siguiendo cualquiera de los dos métodos de concentración plaquetaria y las variables densitométricas analizadas, tanto en defecto de peroné como en defectos metafisarios tibiales.

Las únicas correlaciones significativas observadas son las siguientes:

Método ppp: Densidad mineral y volumen del defecto de peroné (correlación positiva).

Método PRP: Densidad mineral y volumen del defecto de peroné (correlación positiva).

El resto de estudios estadísticos no mostró ninguna diferencia significativa únicamente destaca una diferencia "border line" en la densidad mineral ósea del regenerado a favor del grupo de trabajo tratado con plasma pobre en plaquetas (ppp).

Discusión.

En los últimos años se han descrito diferentes sustancias (factores de crecimiento) utilizadas para mejorar los procesos de cicatrización y de reconstrucción ósea^{5,10,11,13,15,24}. Numerosos estudios experimentales y clínicos en distintas especialidades han publicado la utilidad de los geles plaquetarios con factores de creci-

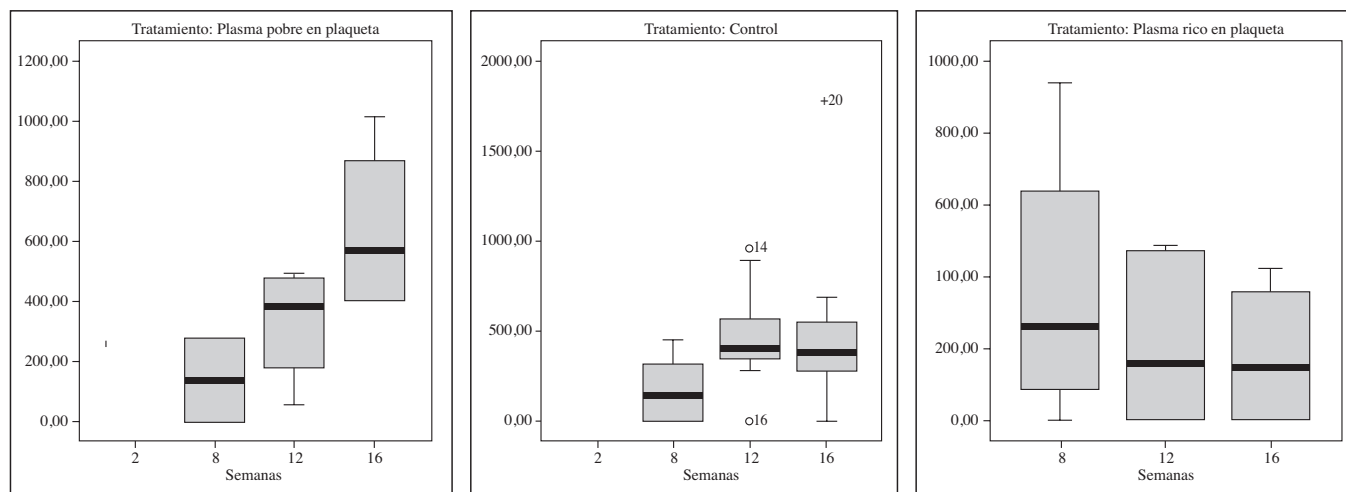


Figura 6. Valor de DMO atendiendo al tipo de tratamiento.

miento utilizados de forma muy diversa; aislados, con sustitutos y recombinantes^{19,21}. Actualmente no existen muchos estudios con elevada potencia científica que avalen su uso indiscriminado. Marx5 publicó las excelencias de los geles plaquetarios en defectos óseos maxilares. En nuestro país números trabajos han sido realizados por el equipo del Dr. Anitua tanto en patología maxilar como alteraciones de partes blandas^{10,11,17}. Tras la publicación de espectaculares resultados en el campo de la cirugía maxilo-facial, sin existir una evidencia científica muy clara sobre los procesos íntimos de la actuación de estos factores, junto al desarrollo de diferentes sistemas comerciales y el afán de encontrar sustancias osteoconductoras y osteoinductivas han favorecido la utilización en la clínica habitual de forma desmedida^{10,12,19}.

En los últimos años la literatura ha sido muy abundante en estudios con buenos y malos resultados con la utilización de concentrados de plaquetas y factores de crecimiento^{26,27,28,29,30}. En nuestro diseño experimental en conejos hemos utilizado el concretado de plaquetas descrito por el equipo del Dr. Anitua¹¹ de forma aislada en defectos óseos críticos del conejo.

En nuestro grupo experimental donde utilizamos PRP y ppp en comparación con el grupo control no encontramos diferencias en los resultados de formación ósea. En nuestro trabajo al igual que otros autores^(27,28) hemos podido demostrar que no existe un beneficio claro con el aporte exógeno de factores de crecimiento al foco lesional. Nuestro modelo experimental verdaderamente se comporta como un defecto óseo crítico ya que en ninguno de los especímenes se produce la regeneración completa en ningún animal. Los resultados que hemos obtenido han sido expuestos en el apartado previo. Para la medición de los resultados hemos utilizado variables para valorar resultados de regenerados óseos con gran validez y ampliamente descritas en la literatura. Hemos realizado reconstrucciones tras la realización de cortes de TAC, donde aplicando formulas pudimos calcularse la densidad mineral ósea²⁵.

El estudio radiográfico simple nos indicó el nivel de osteotomía y la estabilidad del defecto, donde descartamos lesiones óseas asociadas. La valoración cualitativa histológica nos demostró como la reparación ósea en los dos grupos se realizaba fundamentalmente por una osificación membranosa sin intermediarios endocondrales.

A pesar de la rotundidad de nuestros datos podemos analizar algunas observaciones. El PRP actuó acelerando la regeneración ósea en las primeras semanas, sin diferencias significativas respecto al grupo en el que utilizamos ppp y el control. Este dato es coincidente con los

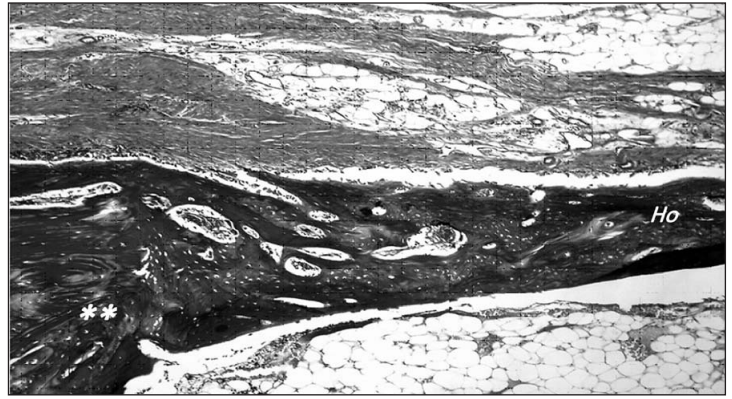


Figura 7. Imagen microscópica con tinción tricrómico de Masson (10X) donde se observa un regenerado óseo en distintas fases de maduración. El hueso más inmaduro (Ho) presenta gran desorganización, no calcificado, irregular y muy celular, al contrario del hueso más maduro (**). Se observa gran actividad celular que proviene del periostio (P).

estudios que apoyan que los factores de crecimiento actúan de forma enérgica en las primeras fases de la reparación^{16,30}. Sin embargo a partir de la cuarta semana se produjo una ralentización en el crecimiento hasta el punto de ser superado mínimamente por el grupo ppp y el control a las 8 semanas. Esta observación sumada a que hemos encontrado diferencias "border line" en la densidad mineral del regenerado a favor del grupo donde se utilizó plasma pobre en plaquetas (ppp) nos pone en sintonía con los trabajos publicados por Ranly²⁸. En nuestra opinión pensamos que estos resultados pueden explicarse por el comportamiento del ppp como conductor para mejorar la formación ósea⁽¹⁹⁾. El mal resultado del grupo donde se utilizó PRP puede explicarse por una alta concentración de factores estimulantes⁽²⁷⁾ quizá el factor transformante, por fenómenos pleiotrópicos o porque no existe una clara estimulación efectiva por parte de los factores de crecimiento. Resultados similares han sido referidos en otros estudios²⁶⁻²⁸.

Es cierto que en nuestro estudio no hemos realizado la valoración de la concentración de los distintos factores en el grupo experimental pero hemos utilizado el producto en el mismo sentido clínico que se utiliza en la práctica diaria siguiendo los trabajos del Dr. Anitua^{10,11}.

Parece cierto que los diferentes factores de crecimiento del coágulo inicial de la cicatrización trabajan de forma sinérgica para aumentar la celularidad y promover la diferenciación de estas en una línea adecuada. Actualmente los mecanismos moleculares más íntimos de la reparación se desconocen incluso la concentración plaquetar óptima del gel ya que estudios donde se muestra que elevadas concentraciones de plaquetas tiene un efecto inhibitorio^{26,27}.

Ante una falta de validación científica clara y con resultados poco específicos sobre todo en investigación animal pensamos que no existe una razón de evidencia para la utilización de forma indiscriminada de los geles plaquetarios en patología ósea.

En nuestra opinión pensamos que deben realizarse estudios experimentales básicos para conocer los procesos moleculares y las relaciones íntimas de los procesos de reparación, estudios experimentales con la determinación de las concentraciones de factores de crecimiento y realizar ensayos clínicos para aportar mayor evidencia científica.

Como conclusión en nuestro modelo experimental la utilización de plasma rico en plaquetas de forma aislada,

en un defecto óseo, no se comporta como osteoinductor ni osteopromotor. Pensamos que deben realizarse estudios básicos para determinar el mecanismo de acción de la red de factores de crecimiento que existe en un coágulo de fibrina y determinar las concentraciones activas de factores que poseen una acción positiva para favorecer los procesos de reparación.

La utilización amplia en distintas situaciones clínicas con concentrados plaquetarios no homogéneos por variabilidad individual y en función del sistema utilizado no parece una opción científica consistente actualmente.

Bibliografía:

1. Einhorn TA. The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. Clin Orthop 1998; 355s:7-21.
2. Munuera L, Cordero J. Ingeniería Tisular ósea: Cursos de actualización. 38 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatológica: 2001 Octubre Bilbao nº 65-79188.
3. Passuti N, Delecrin J, Gouin F, Heymann D. Substituts osseux. En Encycl Méd Chir Appareil locomoteur; Paris : Elsevier 1999. 14-015-B-10, 6 p.
4. Sanchez M, Anitua E, Cugant R, Azofra J, Guadilla J, Seijas R, et al. Nonunions treated with autologous preparation Rich in growth factors. J Orthop Trauma 2009; 23:68-71.
5. Lane JM, Tomin E, Bostrom MPG. Byosynthetic bone grafting. Clin Orthop 1999; 367S:107-17.
6. Gil Albarova J, Garrido Lahiguera R, Gil Albarova R, Melgosa Gil M. Materiales para la reparación y sustitución ósea; Factores de crecimiento y terapia genética en Cirugía Ortopédica y Traumatología. Mapfre Medicina 2003; 14:51-65
7. Fennis JPM, Stoelinga PJW, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographical animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet rich plasma. Int J Oral Maxillofac Surg 2002; 31:281-6.
8. Zechner W, Tangl S, Tepper G, Furst G, Bernhart T, Haas R, et al. Influence of platelet rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. Int J Oral Maxillofac Implants 2003; 18:15-22.
9. Sánchez Martín M. Injertos óseos en traumatología y Cirugía Ortopédica. Valladolid: Secretariado de publicaciones e intercambio editorial. Universidad de Valladolid. 2005.
10. Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in Oral surgery. Pract Proced Aesthet Dent 2001; 13:487-93.
11. Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de crecimiento. (PRGF). Vitoria Ed. Puesta al día S.L., 2000.
12. De Obarrio JJ, Arazus-Dutari L, Chamberlain TM. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy:platelet gel biotechnology- case reports. Int J Periodontics Restorative Dent 2000; 20:486-97.
13. Gomar F, Orozco R, Villar JL, Arrizabalaga F. P15 small peptide bone graft substitute in the treatment of non-unions and delayed union. A pilot clinical trial. Int Orthop 2007; 31:93-9.
14. Kim SG, Chung CH, Kim YK, Park IC, Lim SC. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. Int J Oral Maxillofac Implants 2002; 17:86-94.
15. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM. Platelet-rich plasma Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 85:638-46.

16. Marx R. Platelet Rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:489-96
17. Anitua E, Andia I, Ardanza J, et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004; 91:4-15.
18. Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg* 2002; 18:27-33.
19. Buchholz RW. Nonallograft Osteoconductive Bone Graft Substitutes. *Clin Orthop* 2002; 395:44-52.
20. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol* 1989; 140:530-7.
21. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing Effects on osteoblasts, osteomies and implants fixation *Acta Orthop Scand* 1998; 283(suppl): 2-37.
22. Lind M. Growth factors: possible new clinical tools. A review. *Acta Orthop Scand* 1996; 67:407-17.
23. Simpson AH, Mills L, Noble B. The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing. *J Bone Joint Surg* 2006; 88-B:701-5.
24. Slavin J. The role of cytokines in wound healing. *Pathol* 1996; 178:5-10.
25. Homolka P, Beer A, Birkfellner W, Nowotny R, Gahleitner A, Tschabitscher M, Bergmann H. Bone mineral density measurement with dental quantitative CT prior to dental implant placement in cadaver mandibles: pilot study. *Radiology* 2002; 224:247-252.
26. Roldan JC, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger DC, Acil Y, Terheyden H. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone* 2004; 34:80-90.
27. Ranly et al. Platelet-Derived Growth Factor Inhibits Demineralized Bone Matrix-Induced Intramuscular Cartilage and Bone Formation. A Study of Immunocompromised Mice. *J Bone Joint Surg Am.* 2005; 87A: 2052-2064.
28. Ranly et al. Platelet-Rich Plasma Inhibits Demineralized Bone Matrix-Induced Bone Formation in nude mice. *J Bone Joint Surg Am.* 2007; 89A: 139-147
29. Findikcioglu K, Findikcioglu F, Yavuzer R, Elmas C, Atabay K. Effect of Platelet-Rich Plasma and Fibrin Glue on Healing of Critical-Size Calvarial Bone Defects. *J Craniofac Surg.* 2009; 20:34-40.
30. Mehta S, Watson JT. Platelet Rich Concentrate: Basic Science and Current Clinical Applications. *J Orthop Trauma* 2008; 22:432-8.