

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea del CRAI-Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la CRAI-Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

**Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación, CRAI-Biblioteca
Universidad Santo Tomás, Bucaramanga**

**Estandarización de una Técnica de Obtención de Plasma
Rico en Plaquetas (PRP) en las Clínicas Odontológicas
de la Universidad Santo Tomás De Bucaramanga**

**Olga Elena Fajardo Eraso
Rene Rodríguez Hernández**

Trabajo presentado como requisito para optar el título de Especialista en Periodoncia

**Director:
Luz Elena Archila Antolinez
Especialista en Periodoncia**

**Codirectora:
Laura Viviana Herrera
Microbióloga**

**Universidad Santo Tomás, Bucaramanga
División de Ciencias de Salud
Facultad de Odontología
Especialización en Periodoncia
2018**

Tabla de contenido

1. Introducción	8
1.1 Planteamiento del problema	8
1.2 Justificación	10
1.3. Objetivos	10
1.3.1. Objetivo general.	10
1.3.2. Objetivos específicos.	11
2. Marco teórico	11
2.1. Antecedentes	11
2.2. El hueso	12
2.2.1. Características generales.	12
2.2.2. Tipos de hueso.	14
2.3. Reparación y regeneración tisular	14
2.3.1. Definición de plasma rico en Plaquetas.	15
2.3.2. Fundamentos biológicos del PRP	17
2.3.3. Aplicación del Plasma Rico en Plaquetas sobre los tejidos mesenquimales.	17
2.4. Técnicas de obtención de plasma rico en plaquetas	21
2.4.1 Obtención de plasma rico en plaquetas por técnica abierta (23).	22
3. Materiales y métodos	23
3.1. Tipo de estudio	23
3.2. Población	23
3.2.1. <i>Muestra</i>	24
3.3. Criterios de selección	24
3.3.1. Criterios de inclusión.	24
3.3.2 Evaluación de la evolución clínica.	24
3.3.3. Criterios de exclusión.	25
3.4. Variables	25
3.4.1 Variables Sociodemográficas.	25
3.4.2 Variables Clínicas.	25
3.4.3 Variables relacionadas con la eficiencia de obtención de PRP.	25
3.5. Procedimiento	25
3.5.1. Evaluación clínica (inflamación e infección).	25
3.5.2. Procedimiento para la obtención.	25
3.5.3. Recolección y procesamiento de datos.	27
3.6. Consideraciones éticas	27
3.6.1 Consentimiento informado.	28
3.7. Plan de análisis estadístico	28
3.7.1 Plan de análisis Univariado.	28

4.	Resultados.....	30
4.1	Evaluación y selección del protocolo de centrifugación para la técnica sistema abierto...	30
4.2	Protocolo 1: propuesto por Anitua y Andia (2000).....	32
4.3.1	Obtención del PRP.	33
4.3.2	Aplicación del PRP.	35
4.4	Evaluación de la evolución clínica.....	36
4.5	Establecimiento del costo para la obtención y aplicación de PRP mediante el uso de la técnica abierta acorde con el protocolo 1.....	38
5.	Discusión.....	38
6.	Conclusiones.....	41
7.	Recomendaciones.....	42
8.	Referencias	43
9.	Apéndices.....	49
	Apéndice A. Diseño de consentimientos informados.	49
	Apéndice B. Ficha clínica en Blanco.	55
	Apéndice C. Cronograma.	59
	Apéndice D.Presupuesto	60

Lista de tablas

Tabla 1. Tamaño de muestra de diversos estudios consultados.	24
Tabla 2. Protocolos reportados en la literatura para obtención de PRP.	27
Tabla 3. Operacionalización de variables: Edad y sexo.	28
Tabla 4. Resultados implementación de los protocolos.	30
Tabla 5. Volumen obtenido de PRP por protocolo.	31
Tabla 6. Comparación volumen vs concentración obtenida de PRP por protocolo.	32
Tabla 7. Resultado de la obtención del PRP.	33
Tabla 8. PRP obtenido por cada paciente.	34
Tabla 9. Resultados control de inflamación e infección a 8, 15 y 30 días.	36
Tabla 10. Costo para la obtención del PRP.	38

Lista de Figuras

Figura 1. Separación celular.....	26
Figura 2. Venopunción.....	33
Figura 3. Pipeteado de la fracción correspondiente al plasma rico en plaquetas.	34
Figura 4. Activación del PRP.....	35
Figura 5.Aplicación del PRP.....	36
Figura 6. Sutura.	36
Figura 7.Registro fotográfico de la evolución de inflamación e infección en los controles a 8, 15 y 30 días.	38

Lista de Apéndices

Apéndice A. Diseño de consentimientos informados.	49
Apéndice B. Ficha clínica en Blanco.	55
Apéndice C. Cronograma.	59
Apéndice D. Presupuesto	60

Resumen

Introducción la regeneración es un procedimiento, que se utiliza en tratamientos donde se ha perdido o dañado tejidos de soporte en el periodonto; desde el año 1980 muchos autores han publicado evidencias sobre regeneración. Con el uso adecuado de membranas reabsorbibles y no reabsorbibles las cuales actúan como barrera para el crecimiento de tejido epitelial en la zona del defecto óseo. **Objetivo** Evaluar el efecto de la regeneración tisular guiada mediante el uso de membranas de colágeno y politetrafluoroetileno en el manejo de defectos óseos secundarios a enfermedad periodontal. **Métodos** Se realizaron búsquedas en Base de datos Scopus, Embase, Pubmed y Science direct. Fueron seleccionados ensayos clínicos. Se incluyeron estudios en base a los años 2008 al 2018. Inicialmente se revisaron título y resumen de todos los estudios resultantes de la búsqueda y posteriormente en texto completo. **Resultados** Cardalopoli reporta la media de ganancia ósea en defectos verticales adyacentes a implantes con el uso de membrana de colágeno fue de 40 a 90%. Jung en 2009 comparó una membrana reabsorbible sintética PEG versus membrana de colágeno estándar donde evidenció que la membrana de colágeno estándar tuvo mayor ganancia ósea con un 96.4% vs PEG sintética 94.9%. Arbab, 2016, en su estudio comparó la tasa de reabsorción ósea en la utilización de la membrana de colágeno versus membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) y un estudio histomorfométrico donde se observó cambios a nivel horizontal y vertical. **Conclusiones** En cuanto al desenlace primario, ganancia ósea, las membranas reabsorbibles de tipo colágeno en comparación con las no reabsorbibles (PTFE) no mostraron cambios significativos. Sin embargo, al revisar los desenlaces secundarios podemos ver que las primeras tienen varias ventajas y sobresale que no requieren de una segunda intervención quirúrgica para hacer el retiro de la membrana y presentan una mejor tasa de cicatrización de los tejidos blandos.

Palabras clave: membrana, reabsorbible, colágeno, tetrafluoretileno, defectos óseos, enfermedad periodontal.

1. Introducción

El proceso de reparación de los tejidos es una compleja cascada de eventos biológicos controlados mediante diversas citoquinas y factores de crecimiento que proveen las señales necesarias en el sitio de injuria. Justo después de que se produce una lesión en el tejido, se activan varias vías de señalización intercelulares e intracelulares buscando restablecer la integridad del tejido y la homeostasis (1,2). Adicionalmente se activan componentes celulares y humorales, vías de la inflamación y la cascada de la coagulación. A partir de ello un amplio rango de células del tejido adyacente muestra marcados cambios en la expresión genética y fenotipo, provocando la proliferación, diferenciación y migración celular que inducen el desarrollo de nueva microvasculatura y microcirculación, crítica para el restablecimiento de la homeostasis y finalmente la correcta reparación y regeneración tisular (3,4).

Los diversos procesos patológicos de la cavidad oral pueden producir pérdida de tejido óseo con consecuentes problemas estéticos y funcionales para el paciente. Dada la importancia del proceso de cicatrización y reparación celular en el campo de la cirugía oral se han estudiado y desarrollado métodos que promueven el proceso de cicatrización. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) ha sido descrito como una herramienta terapéutica que ofrece ventajas para la cicatrización de tejidos blandos y regeneración ósea (5,6). El PRP se obtiene a partir de la centrifugación de la sangre anticoagulada y contiene una abundante cantidad de plaquetas que proveen una fuente de actividad mitógena y diversos factores de crecimiento y otras proteínas que estimulan la cicatrización. La estandarización de las técnicas para la obtención de PRP aporta significativamente a la eficacia en el uso clínico de esta herramienta que mejora la recuperación funcional y la estética de los pacientes. Los resultados muestran que la centrifugación a 1800 rpm por 8 minutos es el mejor protocolo en las condiciones de este estudio para lograr la mayor concentración de PRP (7-9).

Por todo lo anterior, el objetivo de la presente propuesta es estandarizar la técnica de obtención de PRP según las características e infraestructura de los laboratorios de la Universidad Santo Tomás Bucaramanga, sede Floridablanca con el fin de proveer información que permita generar una oportunidad de venta de servicios y el manejo integral a los usuarios de nuestras clínicas odontológicas.

1.1 Planteamiento del problema

Según el Estudio Nacional de Salud bucal, desarrollado por el Instituto Nacional de Salud entre los años 2013 y 2014, se reporta que las enfermedades periodontales se encuentran dentro de las principales afecciones de la cavidad oral de los colombianos (1), de igual forma estas patologías bucales se consideran de gran prevalencia dentro del ejercicio clínico diario de los odontólogos en el ámbito mundial (2). Se conoce que la distribución y severidad de la enfermedad periodontal depende de factores socioculturales y ambientales, y que el diagnóstico y tratamiento oportuno influyen directamente en la evolución de la patología hasta sus estadios severos, en donde la pérdida de estructuras dentales afecta entre el 5 y el 15% de la población general (3).

La enfermedad periodontal, considerada un proceso de tipo infeccioso-inflamatorio de la cavidad oral (encía), que puede llevar a la pérdida completa de los tejidos de soporte del diente, requiere un adecuado diagnóstico y tratamiento de acuerdo al grado de afectación del tejido (4). Su presentación clínica está directamente relacionada con la producción de factores de virulencia por parte de las bacterias que colonizan la cavidad oral, entrando en contacto con las células del epitelio del surco y especialmente con las células del epitelio de unión, a partir de allí se produce la respuesta inflamatoria mediada por defensinas y citoquinas proinflamatorias, este proceso puede generar desde una leve inflamación gingival, hasta la pérdida del hueso de la cresta alveolar (5,6), siendo este último, un desenlace de gran importancia clínica, y que requiere intervenciones terapéuticas desde diferentes enfoques en busca de la regeneración del tejido óseo perdido.

La literatura reporta diferentes indicaciones y técnicas alternativas, así como diferentes agentes biológicamente activos y biomateriales, que pueden ser utilizados para aumentar el crecimiento del tejido óseo cuando este ha perdido su integridad dentro de la cavidad bucal. Cada uno de estos tipos de materiales puede ser usado en combinación con una gran variedad de técnicas quirúrgicas, lo que permite una gran posibilidad de opciones terapéuticas con estas combinaciones, sin embargo, aún no se encuentra establecido un consenso frente a la mejor alternativa, en especial si se considera que la investigación y el desarrollo biotecnológico permiten la introducción casi de forma continua de nuevos agentes bioactivos, de hecho han sido probados injertos de hueso del mismo paciente, sustitutos óseos de tanto de origen animal (ej. hueso bovino o porcino mineralizado) así como sintéticos (ej. hidroxiapatita, sulfato cálcico) (7), se reportan diversos resultados de acuerdo a su modo de aplicación y combinación con técnicas quirúrgicas diversas.

Por otra parte, recientemente se ha venido implementando otra alternativa terapéutica que parece mostrar buenos resultados en el proceso de cicatrización de tejidos blandos y la regeneración del hueso, se conoce como Plasma Rico en Plaquetas (PRP). La acción que ejerce este, se da gracias a que estas células de la sangre son la fuente primordial de actividad mitógena en el plasma sanguíneo y aportan una cantidad importante de factores de crecimiento y otras proteínas (8-10). El PRP ha sido utilizado ampliamente como coadyuvante en la terapia de reconstrucción ósea desde 1998 cuando fue propuesto por primera vez por el Dr. Robert E. Marx (11), puede definirse como el volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ μ L), correspondiendo a una porción del plasma que después de centrifugado contiene hasta 5 veces más plaquetas que en su concentración normal. En los últimos años, el PRP ha sido una herramienta implementada en muchos procedimientos debido a sus propiedades, y por ser una opción terapéutica que aporta grandes beneficios en la evolución de procesos patológicos que no han respondido de buena manera a los tratamientos convencionales (8, 12,13).

La obtención del plasma rico en plaquetas utiliza como fundamento un proceso basado en el principio de la separación celular por centrifugación diferencial (8) este procedimiento puede llevarse a cabo a partir de kits comerciales desechables “técnica cerrada” o manualmente técnica conocida como “técnica abierta”. Las concentraciones de plaquetas, leucocitos, eritrocitos y factores de crecimiento obtenidos pueden ser variables dependientes de la técnica de procesamiento que sea utilizada (10, 12,14).

Los numerosos trabajos de investigación utilizando PRP que han sido publicados, muestran resultados controversiales del tratamiento con PRP para la regeneración ósea y procesos de reparación de la cavidad oral, bien sea que el PRP haya sido “utilizado solo o mezclado con material de injerto autólogo o heterólogo”(13), a pesar de ello, algunos estudios más optimistas han mostrado una buena eficiencia del PRP en el proceso de regeneración ósea de alveolos post extracción (15,16). No se tiene claro cuando se empezó a usar la técnica del Plasma Rico en Plaquetas en Colombia., sin embargo, pueden encontrarse algunos registros en la literatura en forma de revisión de literatura (17-19) así como algunas investigaciones (20-22), lo que hace suponer su uso, de igual forma es posible encontrar una variada oferta de kits comerciales para la extracción del PRP que se encuentran disponibles en el país, además se tiene conocimiento de que el tiempo, la velocidad de centrifugación, la Re centrifugación, así como las características propias de la centrífuga pueden ejercer efecto sobre la cantidad de PRP obtenido (8,15,22).

Este proyecto de investigación busca responder a la siguiente pregunta: ¿Cuál es el protocolo adecuado, que permita obtener la mayor concentración de plaquetas en PRP y bajo las condiciones de las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga?

1.2 Justificación

El uso del PRP en el proceso de regeneración de hueso, así como los estudios en esta área, busca obtener la formación de tejido óseo de mayor calidad y cantidad (23). Los conocimientos sobre la fisiología de la reparación del hueso así como las técnicas estandarizadas para la obtención del PRP aportan de manera significativa a la eficacia de la utilización clínica de éste, permitiendo que los pacientes a los cuales se les incorporan estos procedimientos en su intervención clínica obtengan un mayor beneficio durante su recuperación (15,16), sin embargo los costos elevados de estos materiales y la complejidad de las técnicas limitan el uso frecuente, de igual forma, estandarizar la obtención del PRP de acuerdo a las características propias del equipamiento de cada laboratorio y las condiciones en termino de volumen de sangre, tiempo y velocidad de centrifugación juegan un papel fundamental en la posibilidad de utilizar esta herramienta en la práctica clínica.

Por otra parte, la posibilidad de ofrecer o incorporar el PRP dentro de las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga, permite mejorar las capacidades profesionales de los estudiantes, al incluir en su formación el uso de técnicas novedosas que mejoran la calidad de los servicios que prestarán a sus pacientes, y de igual forma, traerá beneficios a los pacientes en los cuales sea aplicada esta técnica, por cuanto los beneficios propios de PRP que pueden mejorar el pronóstico, la evolución y la recuperación de algunas lesiones de su cavidad oral, todo esto, finalmente beneficiará al programa académico de odontología, mejorando su reconocimiento tanto por pacientes como por comunidad académica por estar a la vanguardia en la investigación y utilización de técnicas novedosas.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general.

Estandarizar una técnica de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) para los servicios de las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga.

1.3.2. Objetivos específicos.

Establecer un protocolo para la obtención de plasma rico en plaquetas en las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga, sede Floridablanca.

Implementar el protocolo de obtención y aplicación del PRP en cuatro usuarios de las clínicas odontológicas de la USTA.

Evaluar la evolución clínica de la aplicación de terapia con PRP en cuatro usuarios de las clínicas odontológicas de la USTA bajo el protocolo propuesto.

Establecer el costo de obtención y aplicación de PRP mediante el uso de la técnica abierta acorde con el protocolo propuesto en el presente trabajo.

2. Marco teórico

2.1. Antecedentes

Disminuir la injuria causada por las intervenciones quirúrgicas es una de las prioridades de la medicina actual, de modo que en la última década los científicos han prestado atención al desarrollo de nuevas técnicas a partir de áreas de investigación interdisciplinarias en las que se enlazan los conocimientos de ingenieros, físicos, biólogos, veterinarios y profesionales de las demás áreas de la salud con el fin de impulsar el progreso de la medicina regenerativa y la ingeniería de tejidos (24).

En los años 80 la regeneración del hueso se enfocaba principalmente en la oxigenación del tejido (25) y la capacidad bactericida y fagocítica de las células del sistema inmune, también de los soportes de colágeno y otros eventos asociados a la síntesis proteica. Este continúa siendo un área de estudio fundamental en el campo quirúrgico. Sin embargo, con el paso de los años y el conocimiento cada vez mayor de las bondades de los factores de crecimiento y el plasma rico en plaquetas, el horizonte ha cambiado, volcando la investigación hacia el entendimiento de la utilidad en la regeneración del tejido óseo. Durante esta transición se ha podido establecer que la movilidad del oxígeno en el tejido mejora a partir de la estimulación de macrófagos que produzcan factores de crecimiento antigénicos y otros que ayudan con la curación y la resistencia del tejido a las infecciones (26-28).

Diversas investigaciones han demostrado que a partir de varios factores de crecimiento contenidos en las plaquetas, uno de ellos, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y el factor de crecimiento semejante a insulina (IGF), todos incluidos en concentrados de plasma rico en plaquetas (8,13,29), la diferencia y el uso potencial de estos, viene dada principalmente en el uso de una sola vía de regeneración, por lo cual su funcionalidad podría verse limitada.

Mediante el uso de técnicas radiológicas y por comparación de la dinámica de la reparación en diferentes momentos en pacientes con injertos de PRP y comparándolos con la evolución de pacientes sin el injerto de PRP, se pudo demostrar la estimulación de la formación ósea que se da

gracias al uso del plasma rico en plaquetas, estos estudios usaron como variable de cotejo un índice de maduración de injertos y la edad radiográfica (28).

se demostró también, que la combinación de injertos con plasma rico en plaquetas muestran la misma cantidad sostenida del factor de crecimiento que la que podría esperarse en un injerto maduro, a partir de anticuerpos monoclonales obtenidos de biopsias de hueso obtenidos 4 y 6 meses posteriores a la aplicación del injerto, donde se observó una alta población de células con receptores TGF-B y células que producían TGF-B dentro de estos, pudiendo interpretar esto como un incremento significativo de la presencia de stem cell y células osteoprogenitoras (30).

Por su parte, otros estudios han sido desarrollados para evaluar la utilidad del plasma rico en plaquetas en distintas especies animales, incluyendo primates no humanos, perros y roedores, mostrando resultados maso menos satisfactorios que pueden variar a partir de la técnica utilizada (28).

Desde los años 90 el empleo de plasma rico en plaquetas se ha generalizado como mecanismo para evitar la reabsorción ósea de los alveolos dentarios de pacientes con exodoncias, mostrándose como una gran alternativa al uso de injertos de hueso liofilizado, el cual actúa solo como agente osteoinductor, mientras que el plasma rico en plaquetas que ofrece la ventaja de comportarse como osteogénico.

2.2. El hueso

2.2.1. Características generales.

“El hueso es un tejido de origen mesenquimal mineralizado, que cuenta con una gran vascularización e inervación. Es rígido y tiene como función actuar como soporte de los tejidos blandos del organismo, jugando un papel vital en la homeostasis del calcio. No es un tejido permanente e inmutable, sino que está cambiando continuamente, dependiente de las necesidades del organismo y del estrés al que esté sometido” (31).

El hueso está formado por células y por una matriz.

La matriz es una mezcla de:

Sales inorgánicas (60-70%): fosfato cálcico y carbonato cálcico.

Sustancias orgánicas (20-30%): colágeno tipo I (90%), grasas, proteínas morfogenéticas o BMPs (que suponen un gran interés en la ingeniería de tejidos), productos extravasados de la sangre y factores de crecimiento.

Agua (20%)

El componente celular está formado por:

Células osteoprogenitoras: existen dos tipos de estas células, los preosteoblastos y los preosteoclastos. Los preosteoblastos provienen de células mesenquimales aun sin diferenciar están localizadas en el tejido conectivo que da lugar al periostio, el endostio y en el tejido

conectivo que rodea la vasculatura. Estos permiten la formación de los osteoblastos y a los osteocitos donde de forma significativa se detecta la fosfatasa alcalina. Los preosteoclastos son células derivadas de los monocitos o de sus precursores, y posteriormente se convertirán en osteoclastos.

Osteoblastos: estos son células con gran actividad metabólica que están ubicadas en la superficie ósea para dar lugar a la formación del hueso. En el proceso de formación de hueso, o cuando este se remodela o está en reparación, producirán factores de señalización solubles (como BMPs) y el componente orgánico de la matriz, denominada osteoide, que más tarde se mineralizará. En el proceso de remodelación, alrededor de 2-3 μm de osteoide se forma por día, alcanzando una densidad máxima de 20 μm que se mineraliza a una velocidad de más o menos 1-2 μm por día. Desde la superficie del osteoblasto que está en contacto con la sustancia osteoide germinan una gran cantidad de elongaciones del citoplasma que se implantan en esta sustancia que está aún sin mineralizar, acoplándose con las prolongaciones de los osteocitos mediante uniones conocidas como comunicantes. Los osteoblastos circundantes establecen también estas mismas conexiones entre sí mediante de estas uniones intercelulares. La fosfatasa alcalina que se forma a partir de los osteoblastos es un elemento muy importante en el proceso de mineralización, dado que al parecer inactiva las moléculas inhibitorias de la misma. En los seres humanos los osteoblastos tienen una vida media de 1 a 10 semanas, posteriormente estos, mediante mecanismos de apoptosis desaparecen, salvo un 15% que se mantendrán hasta llegar a ser osteocitos.

Osteocitos: se denominan osteocitos a los osteoblastos que quedan incluidos en la matriz después de la mineralización. La forma de estas células es estrellada y su cuerpo está situado al interior de unas depresiones conocidas como osteoceles, de allí se derivan radialmente una cantidad grande de conductillos, dentro de los cuales se encuentran las prolongaciones citoplasmáticas de los osteocitos que se conectarán con los osteocitos circundantes y con los osteoblastos que se encuentran en la superficie. Por todo lo anterior, todas estas células están intercomunicadas por medio de la microcirculación ósea. Estas células son relativamente inactivas, sin embargo, su actividad metabólica es de vital importancia para mantener viable el tejido óseo y para conservar la homeostasis del cuerpo. Se ha establecido que su vida media es larga pudiendo variar desde algunos años, hasta décadas.

Osteoclastos: son células de gran tamaño (100 μm) y con múltiples núcleos. Los osteoclastos tienen carácter fágico y pertenecen al sistema monocito-macrófago, se ubican en la superficie donde participan de la reabsorción ósea, jugando un papel fundamental en la remodelación ósea. En el proceso de remodelación, los osteoclastos y los osteoblastos interactúan de forma dinámica, mediados por factores de señalización, entre estos la vitamina D, la hormona paratiroidea (PTH) o las ILs. De esta forma acontece cuando la vitamina D hace que los osteoblastos expresen un factor de diferenciación de osteoclastos o en el caso en que los osteoblastos desaparecen de la superficie ósea como respuesta a la PTH, quedando el tejido osteoide mineralizado expuesto y de modo tal, que este puede ser atacado por los osteoclastos. El cese del mecanismo de reabsorción aún no se encuentra bien establecido.

2.2.2. Tipos de hueso.

2.2.2.1. Hueso compacto. Está dispuesto en de láminas que forman una masa sólida. Los osteocitos o células óseas están albergados allí en cavidades que se encuentran dispersas. Las láminas están dispuestas en un orden concéntrico rodeando unos conductos que están paralelos al eje longitudinal del hueso y se conocen con el nombre de conductos de Havers en los cuales se encuentra la inervación y la vasculatura que provee de nutrientes a los huesos. Se encuentran conectados entre sí con las cavidades medulares, y hacia el exterior por los canales de Volkman. El hueso compacto que se forma por un conducto central que se encuentra rodeado por laminillas óseas dispuestas de manera concéntrica es conocido como *osteón*.

2.2.2.2. Hueso esponjoso. Este tipo de hueso no presenta canales de Havers. Su disposición es tridimensional y está conformado por un entramado de trabéculas o laminillas óseas, que crean cavidades que se comunican entre sí, estas cavidades están llenas de tejido conjuntivo que es conocido como tejido medular o mielóide. Dentro de la médula ósea pueden encontrarse dos tipos de tejido: una es la médula ósea amarilla (tejido adiposo) y el otro la médula ósea roja, en la cual se generan células rojas, blancas y plaquetas. La zona externa del hueso la constituye principalmente hueso cortical y se encuentra cubierta por una membrana fibrosa de carácter vascular y de color blanco que se conoce como periostio, este se forma principalmente de hueso cortical.

2.3. Reparación y regeneración tisular

La agresión a los tejidos provoca una respuesta que activa un proceso de reparación del tejido que se ha afectado. Este proceso inicia siempre con la formación de un coágulo sanguíneo que ocupa la zona afectada y aporta las proteínas necesarias para que se produzca un tejido fibroso que posteriormente genera el tejido cicatrizal, que usualmente no corresponde ni con la arquitectura ni con funciones originales. Este proceso es conocido como reparación (32).

En ocasiones el proceso no corresponde a una reparación sino a la génesis de un tejido con características similares al original que tiene una distribución y función exactamente igual, es a este proceso al que se le denomina regeneración.

Desde la antigüedad el objetivo se ha centrado en aportar de forma natural los factores que intervienen en la cicatrización, a través de la historia se han propuesto diferentes métodos, algunos muy extravagantes, como son los descritos en antiguos trabajos en los que se usaban gusanos buscando contribuir con la curación de las heridas. En los tiempos de Napoleón incluso estos eran utilizados para impedir la sobreinfección mediante la remoción del tejido necrosado, promoviendo la cicatrización de las heridas que los soldados sufrían durante las batallas. El primer estudio que reporta datos importantes acerca de la regeneración tisular ósea se reporta en 1965, describiendo la importancia de las proteínas morfogenéticas óseas en la regeneración de tejidos. En 1994 se publican importantes estudios sobre el papel fundamental de la fibrina adhesiva autóloga (AFA) como mecanismo intrínseco de la respuesta celular que podría aplicarse a la regeneración de los tejidos, allí se describió la adaptación de la fibrina que forma parte del suero para vehiculizar al injerto en cirugía (33). Luego de extraer sangre de los pacientes, se añadían anticoagulantes, posteriormente se llevaba al proceso de centrifugado, con lo cual los

elementos formes de la sangra terminaban depositándose en el fondo del recipiente, obteniendo de esta manera el suero con la fibrina. Las plaquetas por ser las células de menor peso entre las células sanguíneas quedaban dispuestas por encima del resto de elementos formes de la sangre y por tanto quedaban embebidas en dicha fibrina. Se encontró que en cirugía la combinación de fibrina más plaquetas permitían obtener resultados óptimos.

Posteriormente en la década de los 90, Robert Marx (34) acuñó un nuevo término a la literatura científica, plasma rico en plaquetas (PRP). Su obtención consiste en un procedimiento similar al de la obtención del compuesto de fibrina autóloga. El conocimiento del comportamiento de las células sanguíneas y de los fluidos, junto con algunos parámetros del proceso de centrifugado, permite decantar las células sanguíneas con mayor peso en el fondo y las de menor peso justo por encima. De este modo, es posible conseguir que los eritrocitos, que son los de mayor peso, caigan al fondo del tubo, seguido de la serie leucocitaria, e inmediatamente por arriba de ellos las plaquetas, que quedarán justo antes del suero que contiene la fibrina (27,35).

En 1997, se propone la utilización del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), y que dichas proteínas tienen propiedades como, la migración celular dirigida (quimiotaxis), proliferación y diferenciación celular. Todos estos procesos claves en la reparación y regeneración tisular (36).

2.3.1. Definición de plasma rico en Plaquetas.

“El PRP se define como una fracción de plasma obtenido de sangre autóloga que tiene una concentración de plaquetas superior a la del plasma cuando se encuentra en sus condiciones normales” (27, 32,35). En función del sistema utilizado para su obtención puede variar la concentración de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento del preparado. En consecuencia, la nomenclatura PRP engloba las diferentes fracciones que se pueden obtener en función del método empleado: preparado rico en factores de crecimiento (PRGF), plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento (PRPGF), plasma rico en plaquetas (PRP), plasma pobre en plaquetas (PPP), plasma rico en plaquetas y rico en leucocitos (LR-PRP), plasma rico en plaquetas y pobre en leucocitos (LP-PRP).

“El PRP contiene no solo un alto nivel de plaquetas, sino también de los factores de crecimiento que son secretados activamente por las plaquetas. Además, el PRP también es rico en proteínas que actúan a nivel de la adhesión celular (fibrina, fibronectina, y vitronectina), por lo que proporciona el soporte estructural necesario para la migración celular, y para la proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa. El PRP tiene efectos no solo directamente sobre las células diana para los factores de crecimiento, sino también como matriz extracelular para la estimulación de la reparación y/o regeneración del tejido de un modo global” (35).

2.3.1.1. Activación plaquetaria. “La activación plaquetaria en respuesta al daño tisular y vascular provoca la formación de un tapón plaquetario y un coágulo hemático cuyas funciones son la consecución de la hemostasia, y la secreción de proteínas biológicamente activas (factores de crecimiento) involucradas en el proceso de curación tisular” (32). Fisiológicamente las plaquetas circulan inactivas, expresando en su superficie muchas de las moléculas que al

momento de pasar a su estado activo facilitarán la interacción con otras plaquetas y células circundantes. De igual forma, en las plaquetas se encuentran diversos tipos de gránulos que liberan diferentes factores almacenados en ellos y que a su vez estimulan aún más la actividad de la propia plaqueta cuando estas se activan (37). Estos factores poseen además efectos biológicos hacia otras células del entorno plaquetario. De esta forma puede mencionarse que en las plaquetas se pueden encontrar 3 tipos de gránulos: los gránulos densos, los gránulos α y los lisosomas (12,13).

2.3.1.2. Los gránulos α de las plaquetas. Los gránulos α de las plaquetas tienen un efecto importante en el proceso de cicatrización y regeneración de los tejidos, dado que actúan como reservorios de proteínas, incluyendo factores de crecimiento y moléculas de adhesión o receptores que son utilizados por las plaquetas para comunicarse e interactuar con otros tipos celulares. Se incluyen allí las glucoproteínas (GP) $Ib\alpha$ y $I Ib\beta 3$. La P-selectina es otra de las moléculas de adhesión contenidas en estos gránulos, su función está relacionada con permitir la interacción de las plaquetas con las células endoteliales, los leucocitos y otras células inmunitarias. La $GPIb\alpha$ hace su efecto en la fase inicial, deteniendo las plaquetas sobre la pared vascular. La $GPIb\alpha$ es expresada de forma constitutiva en la superficie plaquetaria y comienza el proceso de adhesión plaquetaria juntándose con el colágeno y con el factor von Willebrand (FvW). La interacción transitoria entre el FvW y la $GPIb \alpha$ permite que las plaquetas se desplacen hacia la zona del vaso que ha de repararse (32).

“Como resultado, las proteínas contenidas en la pared vascular, fundamentalmente el colágeno, inducirán la activación de las plaquetas y su adhesión firme a la pared, de tal manera que el colágeno y el FvW forman una especie de unidad funcional para la formación inicial del trombo, en el que el FvW contribuye a la captura inicial de las plaquetas en la superficie del vaso y el colágeno permite que se establezca una unión más estable con las plaquetas.”

En la interacción entre plaquetas y colágeno se hacen partícipes dos receptores plaquetarios, la $GPVI$ y la integrina $\alpha 2\beta 1$. La degranulación, hace que los gránulos α se conjuguen con la membrana celular plaquetaria, allí las proteínas secretoras, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) (que incluye los isómeros $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ y $\alpha\beta$), el factor de crecimiento transformante (TGF)- β (que incluye los isómeros $\beta 1$ y $\beta 2$) se modifican y se transforman a su estado activo mediante la adición de histonas y cadenas laterales de carbohidratos. De esta manera, las proteínas se secretan, dando lugar a que se enlacen a los receptores de las células diana dentro de las cuales se encuentran, células madre mesenquimales, osteoblastos, fibroblastos, células endoteliales, o células epidérmicas. Después de la unión a los receptores que atraviesan la membrana, son activadas las proteínas que dan señales intracelulares, permitiendo la expresión secuencial de genes (diferentes según el tipo celular) que coordinan la proliferación celular, la formación de la matriz, la producción osteoide, la síntesis de colágeno, y otras acciones, de acuerdo al tipo de célula sobre la cual estén ejerciendo su acción.

Las plaquetas comienzan la secreción de estas proteínas activamente alrededor de los 10 minutos posteriores a la formación del coágulo, alcanzando el 95% de secreción de los factores de crecimiento pre sintetizados al transcurrir cerca de 1 hora. Luego de la liberación inicial de proteínas, las plaquetas sintetizan y secretan proteínas adicionales durante toda su vida útil

(variando entre 5 y 10 días). Posteriormente, los macrófagos que son traídos por el torrente sanguíneo gracias a la estimulación o señalización de las plaquetas, asumen la responsabilidad de regular el proceso de cicatrización, esta vez usando factores propios. Es así como las plaquetas, de gran manera establecer la orientación en el lugar de reparación de la injuria (8,38).

2.3.2. Fundamentos biológicos del PRP.

La formación de un tapón plaquetario y un coagulo hemático obedecen a la activación de las plaquetas tras el daño tisular, su función consiste en provocar la homeostasia y secretar proteínas con actividad biológica relacionada con la reparación del tejido. Las proteínas que se producen son conocidas como factores de crecimiento, que provienen básicamente de la estructura plaquetaria, sin embargo no son exclusivos de estas células, ya que pueden secretarse también por otros tipos celulares como los fibroblastos (13,35).

Según la literatura, el plasma rico en plaquetas tiene numerosos usos clínicos, dentro de los cuales se destaca la curación de úlceras, la cirugía maxilofacial y espinal. Los estudios desarrollados hasta ahora proporcionan evidencia suficiente para alentar su uso; a pesar de ello, pocas investigaciones incluyen controles que permitan cuantificar y determinar la magnitud de los efectos derivados del uso de PRP. De igual forma, aun no se tiene un consenso sobre el proceso de obtención y caracterización del PRP, lo que ha impedido que pueda usarse bajo los estándares necesarios y propios del rigor científico (39,40).

De acuerdo a los distintos métodos empleados pueden obtenerse diferentes fracciones de plasma:

- Preparado Rico en Factores de Crecimiento (PRGF)
- Plasma Rico en Plaquetas y Factores de Crecimiento (PRPGF)
- Plasma Rico en Plaquetas (PRP)
- Plasma Pobre en Plaquetas (PPP)
- Plasma Rico en Plaquetas y Rico en Leucocitos (LRPRP)
- Plasma Rico en Plaquetas y Pobre en Leucocitos (LPPRP)

2.3.3. Aplicación del Plasma Rico en Plaquetas sobre los tejidos mesenquimales.

El funcionamiento biológico del plasma rico en factores de crecimiento he llevado a que este sea utilizado en diversas ramas de la biología, la medicina, la odontología, la cirugía, entre otros. Su acción centrada especialmente en los receptores ubicados en el citoplasma de varios tipos de celular, especialmente en aquellas células de estirpe mesenquimal, aunque también tienen atributos proliferativos en otras células como las gliales y renales. Los análisis de caracterización celular han permitido identificar que las células mesenquimales expresan el mayor número de receptores para factores de crecimiento que son secretados por los gránulos de las plaquetas. El tejido mesenquimal proviene del mesodermo (la lámina intermedia del disco embrionario trilaminar) durante el desarrollo embrionario.

El mesénquima es el tejido primitivo mesodérmico del cual proceden gran parte de los tejidos orgánicos. El mesénquima en conjunto es un tipo de tejido conectivo laxo, de consistencia viscosa, rico en colágeno y fibroblastos; este dará lugar, mediante el proceso de diferenciación

tisular, a vasos sanguíneos y órganos cardiovasculares, músculo liso, mesotelio, así como al sistema linfático y al tejido conectivo propiamente dicho.

El tejido mesenquimal, está conformado también por una sustancia fundamental (muy tenue, con apenas fibras y fibroblastos activados). El mesénquima se refiere a su vez a los tejidos de sostén o de relleno que conforman los órganos, en contraposición al parénquima o tejido principal de un órgano.

Las principales funciones del tejido mesenquimal son:

- Proveer soporte estructural.
- Facilitar el intercambio de sustancias.
- Contribuir con la defensa y protección del organismo
- Formar un lugar para el depósito de tejido graso.

El tejido mesenquimal se caracteriza por estar formado de células madre pluripotenciales, a partir de su diferenciación y especialización da origen a diferentes tipos de tejidos: en general todo el tejido conectivo y sus diversos tipos, musculatura, y algunos de los tejidos epiteliales. Se encuentra también tejido mesenquimal no especializado, conocido en general como tejido conectivo. El tejido conectivo se clasifica en 2 tipos, laxo y denso.

El *tejido conectivo laxo*: su función es básicamente proveer sostén a los órganos y mantener el epitelio en su lugar, sus fibras están conformadas por una diversidad grande de proteínas, dentro de las cuales se encuentran el colágeno y la elastina; este tipo de tejido conectivo forma el estroma, sobre el cual está el parénquima de cada uno de los tejidos.

El *tejido conectivo denso*: está constituido por una gran cantidad de fibras colágenas, tiene una menor flexibilidad que el tejido conectivo laxo, sin embargo, suele ser más resistente a la tracción. Este tejido conectivo presenta dos subtipos: el modelado o regular, y el no modelado o irregular. El primero de estos, se caracteriza por que todas sus fibras colágenas se orientan en una sola dirección; este se encuentra en estructuras como tendones y ligamentos, por su parte, el irregular tiene sus fibras colágenas en forma multidireccional, se encuentra en la dermis profunda, el periostio y pericondrio. Puede encontrarse también tejidos mesenquimales altamente especializados, por ejemplo, el tejido adiposo, tejido cartilaginoso, tejido óseo, tejido hematopoyético y muscular (35).

2.3.3.1. Concentración de plaquetas necesaria. Pueden existir diversas variables que afecten la acción del PRP sobre el proceso de cicatrización de una herida, entre estas pueden mencionarse la concentración de plaquetas, el volumen de PRP empleados, el tamaño, tipo y origen de la injuria y la condición general de salud del paciente.

Todas estas variables y la posible interacción entre varias de ellas puede ser el motivo por el cual no se establezca una única recomendación sobre el nivel de concentración que debe dar origen al PRP a partir de la línea base inicial para poder obtener los mejores efectos por su utilización. Varios investigadores aseguran que debería alcanzarse una concentración de entre 3 a 5 veces superior a la normal, sin embargo, el número de plaquetas usadas y su beneficio clínico

aún están sin establecer. Los investigadores sugieren que pueden alcanzarse concentraciones menores de 2 hasta 8,5 veces mayores que el nivel normal, y que puede ser posible que cada paciente requiera concentraciones diferentes de plaquetas para obtener un mismo beneficio clínico (23, 27,41).

Aunque es imposible predeterminar la magnitud del efecto estimulador del proceso de curación de las heridas mediante el empleo de PRP por la gran variabilidad interindividual y la influencia de factores propios de cada caso y de cada herida en particular, lo que sí está científicamente demostrado es la correlación estadísticamente positiva entre la aplicación del mismo y el acortamiento temporal del proceso, gracias a su riqueza en factores de crecimiento, y a sus propiedades mitogénicas y quimiotácticas. El PRP contiene una alta concentración de plaquetas, y consiguientemente es rico en factores de crecimiento y de la coagulación (35).

2.3.4. Utilidad clínica del PRP en odontología y cirugía maxilofacial.

En el contexto de investigaciones bioquímicas para contrarrestar los procesos celulares del envejecimiento, se empezó a estudiar y a utilizar el plasma rico en plaquetas (y rico a su vez en factores de crecimiento derivados de las plaquetas) por sus propiedades moduladoras y estimuladoras de la proliferación de las células derivadas de células madre de origen mesenquimal (fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, células epiteliales, adipoblastos, miocitos, y condrocitos, principalmente), y como un útil elemento auxiliar para mejorar la regeneración tisular (36,42). El PRP se usó inicialmente en algunas especialidades quirúrgicas buscando sanar heridas iatrogénicas o lesiones de evolución recalcitrante. Actualmente su aplicación va mucho más allá de la reparación de las heridas quirúrgicas y la regeneración de los tejidos lesionados, dado que existen muchas razones para que el PRP se haya popularizado y sea utilizado en otras ramas del área médica (35). Los tejidos tanto duros como blandos se regeneran a partir de una compleja serie de procesos tanto a nivel celular como molecular, que se regulan en gran parte por proteínas de señalización, este proceso aún no está totalmente dilucidado, sin embargo, se conoce que las plaquetas desempeñan un papel fundamental (35).

En la ocupación diaria del odontólogo existen tratamientos que producen la pérdida del tejido óseo, lo que provoca problemas desde el punto de vista estético y funcional, todo ello conlleva a la reducción del soporte, lo que hace difícil la rehabilitación usando implantes o prótesis bien sean osteointegrados o prótesis convencionales. Seguido de los procedimientos de exodoncia se inicia una respuesta reparadora caracterizada por una reabsorción en la superficie alveolar y depósito de tejido nuevo en los alveolos que quedaron vacíos, todo este proceso de regeneración se da a lo largo de un periodo que usualmente oscila entre 4 y 6 meses (1,5,6,43).

A partir de lo anterior, es importante evaluar la utilización de biomateriales que favorezcan a la rápida recuperación de los tejidos, mejorando el proceso de regeneración del hueso en las zonas de extracción, para ello se ha recurrido al uso de sustitutos e injertos de hueso en el área que debe ser reparada, a pesar de ello, los altos costos de los materiales y la necesidad de técnicas complejas limitan su inclusión en la práctica clínica diaria. Todo ello ha llevado a que se busquen alternativas de biomateriales de bajo coste, que no tengan efecto tóxico y que sean fácilmente manipulables con un marcado efecto de mejoría en la regeneración de los tejidos duros en menor tiempo, con buena cantidad y calidad. El plasma rico en plaquetas es un

preparado autólogo, caracterizado por contener una gran cantidad de proteínas, conocidas como factores de crecimiento, que influyen en el proceso de cicatrización ósea y que poseen acción sobre la proliferación celular, quimiotaxis, diferenciación y síntesis de matriz extracelular. Al PRP se le reconocen funciones de acelerar el ritmo y grado de formación ósea (28). También inhibe la formación de osteoclastos, los cuales son el principal determinante de la tasa de reabsorción. Los factores de crecimiento que son liberados por las plaquetas, juegan un papel importante en la cicatrización de la lesión, provocando una cascada de eventos celulares y moleculares regulados y coordinados; in vitro se han podido obtener resultados prometedores que han sido la base para posteriores investigaciones en humanos. El uso de PRP busca mejorar la evolución quirúrgica, reforzando y potenciando el proceso de reparación fisiológica, además de permitir una regeneración más rápida y de mayor calidad en los tejidos dañados.

Los efectos estimulantes del PRP sobre los fibroblastos de la estructura periodontal y la mucosa oral, y sobre los osteoblastos del hueso alveolar han sido la pieza fundamental para la gran popularidad alcanzada por este preparado autólogo que fue iniciada en la cirugía oral y odontológica.(7, 36,42). Además, La evidencia obtenida a partir de estudios clínicos respecto a la mejoría en la cicatrización de los alveolos permite ver que cuando se usa PRP, tanto a nivel de la regeneración ósea subyacente como del recubrimiento de partes blandas es mucho mejor. Anitua et al (26) se consideran como unos de los mayores impulsores del preparado de PRP, y establecieron la técnica más sencilla y más utilizada actualmente para la preparación del mismo. Anitua et al publican un gran número de estudios, la mayoría de ellos en el campo de la implantología dental, en los que demuestra mejores resultados de regeneración ósea, osteointegración y ganancia de partes blandas cuando se usa el preparado de PRP de manera aislada y/o combinado con otras sustancias como los sustitutos óseos (35). Sus efectos pro regeneradores del tejido óseo también se han usado ampliamente en el campo de la cirugía maxilofacial.

Matras (23) en el inicio de la década de los 80, relató las características y aplicaciones del gel rico en plaquetas en la cirugía maxilofacial como sellante de tejidos, alto potencial hemostático en alteraciones de tejidos blandos, y adyuvante de la consolidación fracturaria y de la fijación de injertos cutáneos.

Posteriormente Fennis et al (44), en estudios desarrollados utilizando cabras y luego en humanos evaluaron el efecto del PRP en cirugía maxilofacial y lo describen como una herramienta importante en este tipo de cirugías, siendo los principales aportantes de evidencia científica dentro de la literatura sobre el papel del PRP en la regeneración ósea (35).

Estos trabajos “evidencian, a nivel histomorfométrico, una menor encapsulación fibrosa de los injertos óseos de córtico-esponjosa particulados usados en la reconstrucción de defectos óseos mandibulares, y un recuento más elevado del número de capilares neoformados; y, a nivel clínico-radiológico, observan una mejor unión ósea de los injertos óseos al hueso mandibular, una mayor formación de callo óseo, y una mayor densidad ósea” (35).

Asimismo, este grupo “ha presentado estudios en los que se han demostrado los efectos regeneradores del PRP sobre el hueso en situaciones tan adversas para la adecuada regeneración ósea como son: usando córtico-esponjosa de cresta inguinal anterior previamente irradiada, o

usando injertos de ácido poliláctico, y demostrando en ambos casos una regeneración ósea mandibular lo suficientemente aceptable como para conseguir el soporte estructural suficiente para sustentar el emplazamiento de implantes dentales”.

Finalmente es importante mencionar las investigaciones de Kim, quien llevó a cabo un ensayo controlado utilizando implantes dentales de titanio en caninos aplicando polvo de hueso desmineralizado asociado o no a PRP, posteriormente observó a nivel histológico una osteointegración significativamente superior de los implantes dentales cuando el polvo óseo se combinaba con PRP cuando era comparado con el grupo control (35).

2.4. Técnicas de obtención de plasma rico en plaquetas

Diversos protocolos para la obtención de PRP han sido empleados desde que fueron descritas sus aplicaciones clínicas, usualmente en función de las necesidades de su uso (40). Inicialmente el PRP se obtenía mediante la técnica de aféresis, luego, al ampliarse las indicaciones de uso del PRP en cirugía maxilofacial, la técnica fue simplificada, requiriendo cantidades menores de sangre que era extraída por venopunción (39,40).

A pesar de que los métodos son diferentes, el proceso secuencial es el siguiente:

Punción venosa
Extracción de la sangre
Separación celular (centrifugación)

Antes de iniciar el procedimiento quirúrgico se realiza la punción venosa en la región antecubital para la obtención de la sangre, la cantidad de sangre que se extrae puede variar de acuerdo al tamaño y el tipo de lesión a tratar, seguidamente la sangre se introduce en tubos de ensayo estériles con citrato sódico al 3,8% como anticoagulante (evita que el calcio se ionice y active la cascada de la coagulación). La utilización de este anticoagulante ofrece ventajas frente a otros, por ejemplo el uso de EDTA puede inducir modificaciones en la conformación morfológica de las plaquetas, tendiendo fragmentarlas, por su parte el ACD por su pH inferior a 6.5 obstaculiza la agregación plaquetaria (13, 32,35).

Para la separación o centrifugación, se describen distintos métodos, clasificados tres grandes grupos. El primero es la aféresis plasmática que requiere de la utilización de equipos con mayor tecnología, este por consistir en un proceso totalmente cerrado y automatizado que se realiza necesariamente en ambientes hospitalarios, es más aceptado por la comunidad científica.

El segundo grupo utiliza maquinarias específicas de centrifugación y utiliza una cantidad de sangre menor (50 ml en su mayoría), considerándose sistemas cerrados como:

- Curasan system ®.
- Friadent-Schützer ®.
- PDGF 90-1.
- PRGF System II. BTI ®.
- Vivostat PRF preparation Kit ®.

- PCCS plateler concentraté collection system ®.
- Haverst ® Smart Prep 2APC 60 Process

Las concentraciones de trombocitos, células blancas y factores de crecimiento contenidos en el PRP obtenido pueden variar de acuerdo al sistema de centrifugación que sea utilizado (16, 25, 39,45).

Finalmente, el tercer grupo está conformado por los denominados sistemas abiertos, en los cuales son utilizados tubos de ensayo y una menor cantidad de sangre, el volumen de sangre requerido en estos depende principalmente de la cantidad de PRP que se desee obtener. Su principal desventaja radica en que el entrenamiento del personal que realiza el procedimiento puede afectar el resultado final, además de la posibilidad de contaminación del preparado (13, 40,46).

2.4.1 Obtención de plasma rico en plaquetas por técnica abierta (23).

La sangre debe ser recepcionada en tubos estériles con citrato sódico al 3,8% como anticoagulante. Se centrifuga a 3.200 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 min. El resultado son aproximadamente 2-3 ml de plasma enriquecido en plaquetas, el cual usualmente contiene concentraciones variables de plaquetas. Dicho plasma se centrifuga de nuevo durante 8 minutos a 1.800 rpm, a temperatura ambiente. Posteriormente, las fracciones obtenidas del plasma se separan mediante pipeteado muy meticuloso para no crear turbulencias. Se comienza a pipetear desde arriba, pero la fracción más importante es la última:

Fracción 1 (PPGF): Los primeros 500 microlitros (0,5 ml.) es un plasma pobre en plaquetas y, por lo tanto, pobre en factores de crecimiento.

Fracción 2 (PGF): Los siguientes 500 microlitros corresponderán a un plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica.

Fracción 3 (PRGF): La fracción de plasma más rico en plaquetas y factores de crecimiento son los 500 microlitros que se encuentran encima de la serie blanca.

Las fracciones con mayor contenido de plaquetas son las que se encuentran inmediatamente por encima de la serie blanca (0,1 mL por encima de los hematíes). Esta fracción contiene un plasma hasta 5 veces más concentrado en plaquetas que la sangre periférica. La siguiente fracción contiene un plasma 4 veces más concentrado (12).

A partir de menores volúmenes de sangre y un equipamiento sencillo, se logra obtener una mayor concentración de Factores de Crecimiento. Con una pipeta de 500 microlitros se aspira la fracción 1 y se traslada a un tubo estéril, previamente etiquetado, donde se reunirá todo el PRGF, repitiéndose el proceso con todos los tubos procedentes de la centrifugación. Con la misma pipeta (diferente punta estéril), se aspira la fracción 2 de todos los tubos y al igual que con la fracción 1, se lleva a otro tubo estéril etiquetado, que contendrá entonces, un plasma con una concentración de plaquetas similar a la de la sangre periférica (PGF).

Para la fracción 3 se realiza un pipeteado más cuidadoso, con una pipeta de 100 microlitros, para evitar las eventuales turbulencias que se puedan producir, y de este modo no aspirar los hematíes ni la serie blanca. Se repite este proceso 5 veces, colectándose lo obtenido en un tercer tubo estéril y etiquetado, el cual contendrá el PRGF. El volumen de plasma que se obtiene tras la centrifugación varía ligeramente de un individuo a otro, obteniéndose volúmenes diferentes de cada fracción. Por lo tanto, se debe contar siempre desde la serie blanca hacia arriba, y de obtenerse más plasma, éste será PPGF, cuyo volumen puede variar entre 1 y 2 ml. Así, si tenemos 4,5 ml de sangre, 1 ml de PRGF, 1 ml de PGF y el resto PPGF.

Todo el proceso se realiza con técnica estéril, aséptica, ya que el PRP se introduce en el organismo humano. Dada la falta de estudios bien diseñados sobre la estabilidad de los distintos componentes del PRP se considera que entre la extracción de la sangre y la administración del PRP (ya preparado) no pasen más de 45 minutos. Cuando el PRP se destina a tratar lesiones de partes blandas, no se considera necesaria la activación previa, debido a que esta se produce *in situ* al contacto con el colágeno tendinoso o con el propio coágulo de la rotura fibrilar. Cuando el PRP se utiliza para facilitar osteointegración de implantes suele preferirse cierta activación (con trombina o cloruro cálcico) que, además, le confiere una consistencia gelatinosa que facilita su uso quirúrgico (12).

3. Materiales y métodos

3.1. Tipo de estudio

Es un estudio cuasi- experimental dado que este estudio no cuenta con un grupo control para llevar a cabo la comparación de la aplicación de PRP. A todos los participantes se les realizará el mismo protocolo de aplicación del plasma rico en plaquetas.

3.2. Población

Para la primera parte de estudio en la que se realizó la estandarización de la técnica de obtención del PRP, se incluyeron 9 voluntarios clínicamente sanos, a los cuales se les tomo una muestra sanguínea para llevar a cabo cada uno de los 4 protocolos de obtención de PRP propuestos. Con base en los resultados de estos protocolos, se determinó el protocolo óptimo para ser implementado en las Clínicas Odontológicas de la USTA.

Una vez definido el protocolo, se seleccionó 4 pacientes que acuden a la consulta en las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga, a los cuales se les realizo procedimiento de exodoncia simple de terceros molares, que estaban indicadas previamente dentro del plan de tratamiento odontológico, a los cuales se les aplico terapia con PRP y posteriormente se observó su evolución clínica a 8 ,15 y 30 días, con el fin de asegurar el procedimiento, para su posterior implementación en la Clínicas de Periodoncia de la USTA.

3.2.1. Muestra

Los estudios experimentales que utilizan de plasma rico en plaquetas manejan un amplio rango de tamaño de muestra, que va desde 6 (47) hasta 88 pacientes (34) (44 controles) o un número específico de alveolos (15 alveolos) (16), en este último caso el número de pacientes no fue descrito. En general, los trabajos que han sido desarrollados en pacientes que acuden a la consulta en clínicas odontológicas, el tamaño de muestra es bajo y utilizan un muestreo por conveniencia. Para el desarrollo de este proyecto de investigación, se incluirán 9 individuos sanos para la fase de determinación de la calidad de la obtención del Plasma Rico en Plaquetas utilizando 4 protocolos recomendados en la literatura como lo describe García (47), adicionalmente, para la evaluar la evolución clínica se incluirán 4 pacientes a los cuales se les aplicara PRP en alveolos postexodoncia.

Tabla 1. Tamaño de muestra de diversos estudios consultados.

Autor	Número de pacientes o alveolos
Marx y col (34)	88 (44 controles)
Oyama y col (48)	23
Anitua (15)	20
Anitua (26)	10
Kassolis (49)	15
Tugba y col (10)	20
Garay y col (50)	8
García (47)	6
Khairy y col (14)	10
Manoochehri y col (16)	15

3.2.1.1. Tipo de muestreo. Muestro no probabilístico, por conveniencia.

3.3. Criterios de selección

3.3.1. Criterios de inclusión.

Estandarización de la técnica de obtención de PRP

- Sujetos clínicamente sanos.
- Mayores de 18 años.
- Firma del consentimiento informado

3.3.2 Evaluación de la evolución clínica.

- Pacientes que acuden a la consulta para exodoncia que estaban indicadas previamente dentro del plan de tratamiento odontológico.
- Alvéolos de pacientes mayores de 18 años
- Alvéolos sanos y libres de infección.
- Pacientes que acepten participar y firmen el consentimiento informado

3.3.3. Criterios de exclusión.

- Pacientes con alteraciones sistémicas que afecten regeneración ósea como diabetes mellitus, hipertensión, alteraciones hematológicas y trastornos de coagulación.
- Pacientes con alveolos pos extracción infectados.
- Pacientes que reciban medicación inmunosupresora y anticoagulantes, AINES
- Pacientes que no se presenten a los controles.

3.4. Variables

3.4.1 Variables Sociodemográficas.

- Sexo: Masculino, femenino
- Edad: Años cumplidos

3.4.2 Variables Clínicas.

- Motivo de exodoncia: caries, por ortodoncia, u otros
- Tamaño del alveolo: diámetro del alveolo
- Pieza dentaria extraída: incisivos, premolares, molares
- Inflamación: ninguna - leve – moderada - intensa
- Infección: Abscesos -Celulitis-Supuración (de suero con inflamación, hemopurulenta, seropurulento, pus -Decoloración- olor anormal-Descomposición de la herida.

3.4.3 Variables relacionadas con la eficiencia de obtención de PRP.

- Número de muestras procesadas/ Número de PRP obtenidos
- Recuento plaquetario Número de plaquetas $\times 10^3 / \mu\text{L}$
- Volumen de sangre extraído: ml
- Volumen de PRP obtenido: μL
- Concentración de PRP obtenida: Número de plaquetas $\times 10^3$

3.5. Procedimiento

3.5.1. Evaluación clínica (inflamación e infección).

Inmediatamente después de la realización de la exodoncia de las piezas dentales indicadas y aplicado el PRP previamente activado, se procede a realizar el primer control clínico, dejando registro fotográfico del procedimiento realizado, todos los pacientes serán medicados de acuerdo a criterio del tratante con analgésico antiinflamatorio, posteriormente, todos los pacientes serán evaluados para las variables inflamación e infección de acuerdo con la escala descrita y en los intervalos de tiempo de 8, 15 y 30 días con registro fotográfico de cada uno.

3.5.2. Procedimiento para la obtención.

3.5.2.1. Extracción u obtención de las muestras. La sangre debe ser extraída del paciente siempre de la misma forma, en todos los casos, de la vena cefálica a la altura de la flexura del codo, debe recolectarse la sangre en tubo vacutainer (tubo azul con citrato trisódico), este

procedimiento se hace importante ya que minimiza el sufrimiento y la activación de los elementos formes de la sangre, el vacutainer autoaspira la sangre a una velocidad constante. Se deberá obtener entre 20 y 30 cc de cada paciente. Es ideal la utilización de agujas con calibre mayor a 22G.

3.5.2.2. Centrifugación. La centrifugación de la sangre es un proceso que debe llevarse a cabo con suma rigurosidad y debe estar protocolizado dada su importancia y los diversos factores que pueden intervenir. La centrifugación permite la separación de las diferentes fracciones de la sangre, los glóbulos rojos se concentrarán en el fondo del tubo, las plaquetas por encima de estos, en abundante plasma y los leucocitos se concentraran en la zona intermedia. La literatura reporta la utilización de centrifuga de rotor fijo a 45°, centrifugando a 580 g x 8 minutos. En caso de no estar estandarizado el proceso y no conocer los parámetros de la centrífuga debe determinarse a que gravedad real se centrifuga la sangre utilizando la siguiente formula de la fuerza centrífuga relativa (FCR):

$$\text{Aceleración} = v^2/R$$

$$\text{Fuerza centrífuga relativa} = 1,118 \times 10^{-6} R (\text{RPM}/1000)^2$$

$$V = \omega \times R = 2\pi/T \times R$$

$$A = R \times 4\pi^2/T^2 = R \times 4\pi^2 \times v^2 = R \times 4\pi^2 \times [(RPM)^2 / (60)^2]$$

$$\text{FCR} = a / g$$

$$\text{FCR} = (4\pi^2/9,8 \times 3600) \times R \times (RPM)^2 = 1,118 \times 10^{-3} R (\text{RPM}/1000)^2$$

3.5.2.3. Separación. Si el procedimiento ha sido llevado a cabo con el suficiente cuidado y siguiendo las recomendaciones, podrá observarse ahora claramente tres fases, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plasma (Ver figura 1). Vale la pena resaltar que en ocasiones la técnica de obtención de la sangre puede interferir en la separación de los elementos formes sanguíneos, principalmente cuando se ha causado hemólisis. Cuidadosamente se procede a utilizar una pipeta para la extracción del plasma rico en plaquetas (0,5 – 1 ml), es ideal realizar recuento plaquetario en el momento de la toma de sangre, así como después de la centrifugación para determinar el rendimiento y la concentración de las plaquetas.

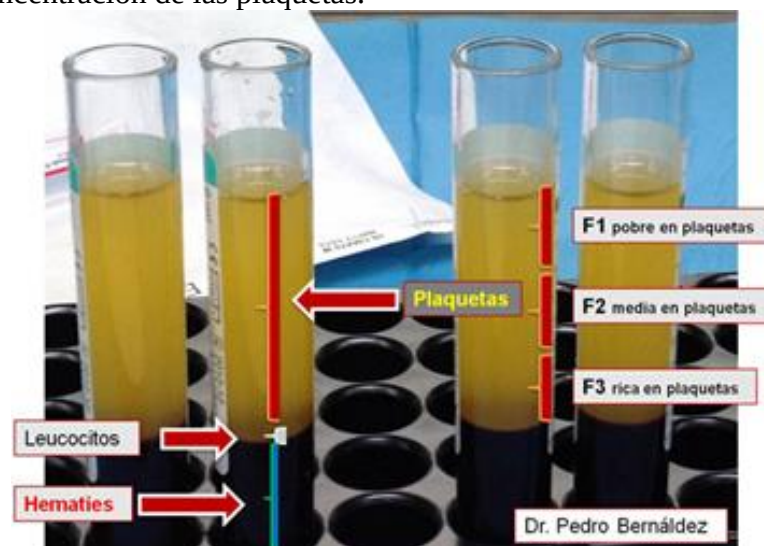


Figura 1. Separación celular.

3.5.2.4. Activación. Dado que la sangre fue obtenida en tubo con anticoagulante que impiden la coagulación quelando los iones calcio, debe revertirse el proceso, para ello se utiliza cloruro cálcico al 10% (0,05 ml/ ml de PRP). Dependiendo del uso que se vaya a dar al PRP puede manejarse en forma líquida, gelatinosa o cuando las plaquetas hayan formado una maya de fibrina, esto ocurre alrededor de los 10 minutos después de la activación.

3.5.2.5. Determinación de la eficiencia de la obtención del Plasma Rico en Plaquetas. Los diversos estudios publicados describen diferentes características de velocidad y tiempo de centrifugación para la obtención de plasma rico en plaquetas por la técnica abierta (14-17,38,47), sin embargo para cada laboratorio es esencial la estandarización de su propia técnica que permita la mayor eficiencia bajo sus posibilidades de equipamiento, ya que las características propias de cada centrífuga pueden provocar una variación en la cantidad y concentración de PRP obtenido. A continuación, en la tabla 2 se puede apreciar las características de velocidad y tiempo establecidas en 4 protocolos de centrifugación.

Tabla 2. Protocolos reportados en la literatura para obtención de PRP.

Protocolo	Centrifugado rpm/min	Re centrifugado de plasma	Autores
1	1800 rpm 8 min	No	Anitua y Andia (2000)
2	5600 rpm 6 min	No	DeObarrio y col (2000)
3	2400 rpm 10 min	3600 rpm 15 min	Camargo y col (2002) Okuda y col (2003) Kawase y col (2003)
4	1800 rpm 8 min	1800 rpm 8 min	García y col (2005)

Tomado de: García R LA. Estudio comparativo de 4 protocolos para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

3.5.2.6. Aplicación del PRP. Una vez obtenido el PRP, para provocar la formación del coágulo se añaden 50 microlitros de cloruro cálcico al 10% por cada mililitro de PRP. Luego de 5 a 8 minutos se obtendrá el coágulo, tiempo que variará en relación inversa al número de plaquetas. El coagulo tendrá una consistencia gelatinosa y deberá ser implantando antes de 10 minutos después de su activación. Posteriormente se debe tomar la cantidad de PRP activado necesaria para rellenar el alveolo aplicándolo directamente dentro de este.

3.5.3. Recolección y procesamiento de datos.

Los datos se recolectarán por medio de entrevista a cada personal, medición y evaluación clínica a cada paciente. La información obtenida se consignará en hojas de cálculo de Excel para posterior análisis de las variables de acuerdo a su Operacionalización.

3.6. Consideraciones éticas

De acuerdo con la Resolución 8430 de 1993, este estudio se considera investigación “con riesgo mayor al mínimo”. La participación de sujetos de investigación y voluntarios participantes

en este estudio estará determinada por la aceptación a participar en el estudio a través del consentimiento informado.

Los aspectos éticos de este proyecto de investigación serán supervisados y aceptados por el comité de ética para la investigación de la Universidad Santo Tomás de Aquino sede Bucaramanga, todo lo anterior basados y pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos (CIOMS). Se respetarán los principios éticos de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia.

3.6.1 Consentimiento informado.

Para el desarrollo de este proyecto de investigación se diseñaron dos consentimientos informados, el primero de ellos para los individuos sanos a los cuales se les tomará muestra de sangre para la fase de estandarización de la obtención del PRP y el segundo para aquellos pacientes a los cuales se les aplicará PRP en sus alveolos o se incluirán como grupo control en la evaluación de la evolución clínica (ver apéndice A).

3.7. Plan de análisis estadístico

3.7.1 Plan de análisis Univariado.

Se realizará el análisis de la información mediante estadística descriptiva, para las variables cuantitativas se calcularán medidas de tendencia central (media/mediana) y dispersión (desviación estándar) de acuerdo con la distribución de los datos. En el caso de las variables cualitativas se realizarán tablas de frecuencia.

La base de datos se elaborará por duplicado en programa Microsoft Office Excel y será analizada en el software STATA 14.0.

Tabla 3.Operacionalización de variables: Edad y sexo.

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Escala	Indicadores
Edad	Tiempo de vida en años de cada paciente teniendo en cuenta la fecha de nacimiento	Años cumplidos referidos por el participante.	Cuantitativa	Continua	Número de años
Sexo	Conjunto de características físicas, biológicas, anatómicas y fisiológicas de los seres humanos, que los definen como hombre o mujer.	Hombre (1) Mujer (2)	Cualitativa	Nominal	0 Mujer 1 Hombre
Motivo de exodoncia	Razón que deriva en la necesidad de la extracción de una estructura dental en un paciente.	Revisión de la historia clínica del paciente para la determinar el motivo por el cual se ordenó el procedimiento de exodoncia.	Cualitativa	Ordinal	(1) Caries (2) Ortodoncia (3)Fractura dental (4) Otros
Tamaño del alveolo	Es el espacio resultante de la	Medida comprendida entre la tabla vestibular	Cuantitativa	Contínua	(1) $>5 \leq 10$ mm Horizontal,

extracción de una pieza dental, que se encontraba ocupado por la raíz.

y palatina o lingual en sentido horizontal, y en profundidad la medida entre la cresta y la porción apical del alveolo.

Profundidad
≤10mm
(2) >10 ≤
18 mm
Horizontal, (3)
Profundidad
>10 mm

Posición del diente	Es la referencia en términos anatómicos del lugar donde está ubicado el diente dentro del maxilar superior e inferior.	Observación del lugar del cual fue extraída la pieza dental.	Cualitativa	Nominal	(1)Zona Incisivos (2)Zona Premolares (3)Zona molares
Recuento plaquetario	Es la cantidad de plaquetas que hay en la sangre en un momento determinado.	Conteo y cálculo del número de plaquetas por mm3 mediante la utilización de cámara de Neubauer o equipo de análisis automatizado.	Cuantitativa	Discreta	Número de plaquetas/ mm3
Volumen de PRP obtenido	Se refiere al volumen de plasma rico en plaquetas recuperado a partir de la centrifugación de la sangre.	Cantidad en µl de plasma rico en plaquetas obtenidos mediante pipeteado después de la centrifugación.	Cuantitativa	Continúa	µL
Concentración de PRP obtenido (13,39)	Es la cantidad de plaquetas que se concentran en el plasma rico en plaquetas.	El número de plaquetas por 103/µl contadas mediante la utilización de cámara de Neubauer o equipo de análisis automatizado.	Cuantitativa	Continúa	Número de plaquetas x 103 /µL
Inflamación (21)	Según Robbins una reacción o proceso defensivo natural del sistema inmunológico del organismo como respuesta al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por agentes lesivos como ser microorganismos, necrosis, agentes químicos o físicos, o reacciones inmunitarias entre otros.	Se tomará en consideración la aparición de los 4 signos de inflamación: Rubor Calor Edema Dolor Presencia de proceso inflamatorio 8, 15 y 30 días después del procedimiento.	Cualitativa	Ordinal	1) Nula: ausencia de inflamación 2) Leve: inflamación intraoral en zona de la intervención. 3) Moderada: inflamación extraoral en zona de intervención 4) Intensa: inflamación extraoral que se extiende más allá de la zona de la intervención.
Infección (51)	Según Robbins el efecto de una lucha en la cual el microorganismo infectante trata de utilizar los recursos del	Se realizará la observación de las heridas para la evaluación de la presencia de Abscesos.	Cualitativa	Nominal	0. Ausencia de infección. 1.Abscesos 2.Celulitis 3. Supuración

anfitrion multiplicarse a su costa.	para Celulitis, Supuración (de suero con inflamación, hemopurulenta, seropuru lento, pus, Decoloración, olor anormal, Descomposición de la herida en el lugar de aplicación de PRP 8, 15 y 30 días después del procedimiento	(de suero con inflamación, hemopurulenta, seropurulento, pus. 4. Decoloración 5. Olor anormal 6. descomposición de la herida.
--	--	--

4. Resultados

4.1 Evaluación y selección del protocolo de centrifugación para la técnica sistema abierto

El objetivo de este punto es determinar el número de plaquetas contenidas en el PRP obtenido mediante cada uno de los cuatro protocolos de centrifugación escogidos, los cuales difieren en el número de revoluciones y en el tiempo de centrifugado entre sí (ver Tabla No.2), para conocer de esta forma cuál de ellos ofrece la mayor eficiencia en la concentración de plaquetas.

Para el establecimiento del protocolo más adecuado e idóneo para el laboratorio de la universidad se tomaron cinco (5) muestras de sangre provenientes de 9 pacientes sistémicamente sanos (los 9 pacientes seleccionados se entrevistaron y se les abrió una ficha clínica para cada uno y en base a la información suministrada por ellos se determinó la ausencia de compromisos sistémicos “Ver Apéndice B”), cuatro se sometieron al centrifugado según cada protocolo: el primero propuesto por Anitua y Andía (2000) a 1800 rpm por 8 minutos; el segundo de De Obarrio y col (2000) y Camargo y col (2002) a 5600 rpm por 6 min; el tercero de Okuda y col (2003) y Kawasey col (2003) con un centrifugado inicial de 2400 rpm durante 10 minutos, seguido de otro centrifugado de 3600 rpm por 15 minutos; y el cuarto y último protocolo propuesto por García y col (2005) con un centrifugado inicial de 1800 rpm por 8 minutos seguido por un segundo centrifugado a 1800 rpm por 8 minutos. La quinta muestra se dejó sin centrifugar para determinar el número de plaquetas en condiciones normales. Se realizó el conteo por medio del sistema de cámara de Neubauer o equipo de análisis automatizado para análisis hematológico (ver Tabla No.4).

Tabla 4. Resultados implementación de los protocolos.

Paciente	Recuento Plaquetario inicial	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4
	Plaquetas/mm ³	Plaquetas/m ³	Plaquetas/m ³	Plaquetas/m ³	Plaquetas/m ³
1	265000	387000	26000	13000	78000
		146,04%	9,81%	4,91%	29,43%
2	372000	366000	58000	13000	289000
		138,11%	21,89%	4,91%	109,06%
3	263000	295000	23000	10000	209000

		111,32%	8,68%	3,77%	78,87%
4	191000	197000	51000	52000	181000
		74,34%	19,25%	19,62%	68,30%
5	225000	179000	48000	10000	3000
		67,55%	18,11%	3,77%	1,13%
6	315000	470000	31000	35000	182000
		177,36%	11,70%	13,21%	68,68%
7	222000	503000	36000	17000	152000
		189,81%	13,58%	6,42%	57,36%
8	322000	537000	25000	12000	237000
		202,64%	9,43%	4,53%	89,43%
9	304000	261000	58000	33000	92000
		98,49%	21,89%	12,45%	34,72%
		Protocolo	Protocolo	Protocolo	Protocolo
% Volumen		1	2	3	4
Promedio		133,96%	14,93%	8,18%	59,66%
Desviación		16,51	1,80	1,87	11,07

El mayor número de plaquetas obtenido equivalente a un promedio de 133,96% del conteaje promedio inicial fue contado en el PRP obtenido según el protocolo número 1 propuesto por Anitua y Andia (2000), seguido por el número 4 de García y col (2005) con 59,66% y De Obarrio y col (2000) Camargo y col (2002) con un promedio del 14,93% y por último, el número 3 de la técnica de Okuda y col (2003) Kawase y col (2003) con un conteaje promedio de 8,18%.

En cuanto al volumen obtenido de PRP por cada protocolo arrojo los siguientes resultados promedios para los 9 pacientes: el de mayor volumen fue el protocolo 2 con 633,33 μL , seguido por el protocolo 3 con 611,11 μL , en tercer lugar, el protocolo 4 con 494,44 μL y finalmente el de menor volumen 477,78 del protocolo 1 (ver tabla 5).

Tabla 5. Volumen obtenido de PRP por protocolo.

	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4
Paciente	Número de Plaquetas x 10^3 / μL	Número de Plaquetas x 10^3 / μL	Número de Plaquetas x 10^3 / μL	Número de Plaquetas x 10^3 / μL
1	300	600	700	600
2	550	800	900	750
3	550	600	900	550
4	500	500	200	300
5	500	600	500	400
6	500	800	800	500
7	400	600	600	500
8	500	800	600	500

9	500	400	300	350
Promedio	477,78	633,33	611,11	494,44
Desviación estándar	26,50	47,14	82,40	45,22

Teniendo en cuenta el grafico 1, donde se muestra la concentración de PRP obtenido en cada protocolo en comparación con los resultados arrojados por la tabla 8, se puede deducir a simple vista que a medida que disminuye el volumen obtenido de PRP su concentración aumenta, aquí se puede evidenciar una relación de proporcionalidad inversa la cual se puede apreciar en la tabla 6.

Tabla 6. Comparación volumen vs concentración obtenida de PRP por protocolo.

Promedio	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4
	133,96			
% Concentración	%	14,93%	8,18%	59,66%
Volumen obtenido PRP				
Plaquetas x 10 ³ /μL	477,78	633,33	611,11	494,44

4.2 Protocolo 1: propuesto por Anitua y Andia (2000)

A continuación, se describe el proceso paso a paso para la obtención del PRP según el protocolo propuesto por Anitua y Andia (2000):

Realizar asepsia de la zona de punción de la vena cefálica con alcohol isopropílico.

Hacer la punción venosa en la región ante cubital para la obtención de la sangre, Se deberá obtener 5cc. Es ideal la utilización de agujas con calibre mayor a 22G.

Tomar la sangre e introducirla en un tubo vacutainer (tubo tapa azul con citrato trisódico al 3,8% como anticoagulante) y rotular con los datos del paciente.

Utilizando la centrifuga de sobremesa Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 8R Aplicar velocidad de centrifugación de 1800 rpm, 1 ciclo de centrifugado de 8 minutos a la muestra de sangre extraída del paciente.

Con una pipeta de 500 microlitros se aspira la fracción 1 y se traslada a un tubo eppendorf estéril, repitiéndose el proceso se aspira la fracción 2 estos 500 microlitros, se lleva a otro tubo eppendorf estéril etiquetado. Para la fracción 3 se realiza un pipeteado más cuidadoso, para evitar las eventuales turbulencias que se puedan producir, y de este modo no aspirar los hematíes ni la serie blanca ya que esta fracción de plasma más rico en plaquetas y factores de crecimiento son los 500 microlitros que se encuentran encima de la serie blanca, se colecta lo obtenido en este pipeteado en un tubo eppendorf estéril y es etiquetado.

Teniendo listo el PRP, en la unidad odontológica, se procede a su activación utilizar cloruro cálcico al 10% en una proporción de (0,05 ml/ ml de PRP) y cuando se observe que las plaquetas

hayan formado una maya de fibrina, esto ocurre alrededor de los 10 minutos después de la activación se procede aplicar el PRP.

Obtención del PRP bajo el Protocolo 1 y aplicación en los pacientes seleccionados

4.3.1 Obtención del PRP.

La población de estudio fueron pacientes de la ciudad de Bucaramanga que acudieron las clínicas odontológicas de la USTA, en el periodo de mayo-junio del 2018, realizando un estudio experimental, longitudinal, prospectivo, clínico no contralado, abierto y seleccionado 4 pacientes que con indicación de exodoncia por tratamiento de ortodoncia. En base a los criterios establecidos en la Tabla 3 Operacionalización de variables, se seleccionaron pacientes que cumplieran con los criterios establecidos, en donde quedaron incluidos 3 pacientes femeninos y 1 masculino, en edades comprendidas entre 20 y 24 años, los cuales comparten el mismo motivo pacientes con orden de exodoncia por tratamiento de exodoncia. (Ver tabla 7). Del total de pacientes seleccionados se llevó el proceso a buen término y no se incurrió en aplicación de criterios de exclusión.

Tabla 7. Resultado de la obtención del PRP.

Paciente	Edad	Sexo	Motivo de exodoncia
1	24	Mujer	Ortodoncia
2	24	Nombre	Ortodoncia
3	20	Mujer	Ortodoncia
4	24	Mujer	Ortodoncia

En referencia la obtención del PRP se llevó a cabo en un periodo de tiempo de 30 minutos, donde se extrajo a cada paciente 5 cm³ de una vía periférica que por su sencillez fue de la vena cefálica de la flexura del codo (figura 2). Se desinfectó la zona con alcohol de 96 grados y se realizó la venopunción mediante el uso de una aguja vacutainer eclipse® en la cual se ensambló un tubo vacutainer tapa azul de 5ml que contenía de citrato sódico como anticoagulante). De esta forma se consiguió una muestra de sangre en ambiente estéril y sin manipulación.



Figura 2. Venopunción.

Teniendo los tubos de ensayos listos con la muestra de sangre y el anticoagulante, se lleva este a la centrifuga para la obtención del PRP.

Se usó una centrífuga de sobremesa Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 8R el cual centrifugo las muestras a 1800 rpm por 8 min, se obtiene la serie roja, blanca y el plasma, en la cual mediante un pipeteado se separan las tres fracciones del plasma siendo las siguientes F1: un plasma pobre en plaquetas y en factores de crecimiento. F2 un número de plaquetas similar a la de la sangre periférica. F3: próximos a la serie blanca, es donde se encuentra el PRP y los factores de crecimiento (ver figura 4).



Figura 3. Pipeteado de la fracción correspondiente al plasma rico en plaquetas.

A continuación en la tabla 8, se puede apreciar los resultados para los 4 pacientes donde arroja que se obtiene el mismo volumen de 500 μL PRP en las mujeres y superado en 100 μL por el paciente masculino con 600 μL . En cuanto a la Concentración del PRP mas alta se obtiene del paciente 3 con 537000/ μL y la menor del paciente 1 con 470000 / μL .

Tabla 8. PRP obtenido por cada paciente.

Paciente	F3: volumen PRP obtenido μL	Recuento	Concentración obtenido de Número de plaquetas x 10^3 / μL
		del plaquetario Inicial Número Plaquetas / mm^3	
1	500	298000	470000
2	600	276000	503000
3	500	352000	537000
4	500	255000	503000

La concentración promedio del PRP obtenida fue de 503250/ μL que es 1,7 veces más del recuento plaquetario promedio 295250, lo que indica según los autores en donde Se han publicado niveles de concentración que van desde menos de 2 hasta 8,5 veces el nivel normal, que el PRP contiene una alta concentración de plaquetas, y consiguientemente es rico en factores de crecimiento y de la coagulación (35).

4.3.2 Aplicación del PRP.

El procedimiento se llevó a cabo en las instalaciones de las clínicas odontológicas de la universidad, previo a la cirugía se procedió a diligenciar la historia clínica de cada paciente, se solicitaron hemogramas recientes, junto con los consentimientos informados tanto de toma de muestra como para la aplicación del PRP.

Antes de iniciar con el procedimiento quirúrgico se obtuvo la tensión arterial de cada paciente, se le realizó asepsia de la zona de punción de la vena cefálica con alcohol isopropílico. Luego se obtuvo una muestra sanguínea de 5ml con un sistema vacutainer y esta se depositó directamente en un tubo estéril tapa azul que contiene citrato sódico como anticoagulante y se rotuló con los datos del paciente.

Esta muestra se sometió al protocolo 1 de obtención de PRP previamente establecido, como se describen a continuación: se aplicaron 1800 rpm, 1 ciclo de centrifugado de 8 minutos, utilizando la centrífuga de sobremesa Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 8R.

Posteriormente, las fracciones obtenidas del plasma se separan mediante pipeteado muy meticuloso para no crear turbulencias. Este proceso va a tardar un tiempo de 5 minutos. Se comienza a pipetear desde arriba, pero la fracción más importante es la última: Con una pipeta de 500 microlitros se aspira la fracción 1 y se traslada a un tubo eppendorf estéril, siendo esta fracción un plasma pobre en plaquetas y, por lo tanto, pobre en PRP, repitiéndose el proceso se aspira la fracción 2 estos 500 microlitros corresponderán a un plasma con un número de plaquetas similar al que tiene la sangre periférica y al igual que con la fracción 1, se lleva a otro tubo eppendorf estéril etiquetado, Para la fracción 3 se realiza un pipeteado más cuidadoso, para evitar las eventuales turbulencias que se puedan producir, y de este modo no aspirar los hematíes ni la serie blanca ya que esta fracción de plasma más rico en plaquetas y factores de crecimiento son los 500 microlitros que se encuentran encima de la serie blanca, se colecta lo obtenido en este pipeteado en un tubo eppendorf estéril y es etiquetado.

Continuando con el protocolo la unidad odontológica donde se realizará el procedimiento debe estar con todas las medidas de bioseguridad, asepsia, antisepsia y campo quirúrgico estéril.

Se anestesia de la zona donde se realizará la exodoncia indicada.

Se realiza la exodoncia.

Ya teniendo listo el PRP, en la unidad odontológica, se procede a su activación para ello se utiliza cloruro cálcico al 10% en una proporción de (0,05 ml/ ml de PRP) y cuando observamos que las plaquetas hayan formado una maya de fibrina, esto ocurre alrededor de los 10 minutos después de la activación lo aplicamos en el alveolo.



Figura 4. Activación del PRP.



Figura 5. Aplicación del PRP.



Figura 6. Sutura con AssuCryl® (PGA) 5-0

Se cita el paciente a control a los 8, 15 y 30 días para hacer el seguimiento.

4.4 Evaluación de la evolución clínica

Para la presente investigación en cuanto lo que refiere a la evolución clínica de los pacientes a los cuales se les aplico el PRP se analizaron tres variables de operacionalización las cuales son; inflamación e infección.

Los controles y revisión de la evolución de cada paciente se hicieron a los 8, 15 y 30 días después de realizado el procedimiento de exodoncia y aplicación del PRP, a continuación, en la tabla 9 se puede apreciar los resultados arrojados para los 4 pacientes:

Tabla 9. Resultados control de inflamación e infección a 8, 15 y 30 días.

Paciente	Control Inflamación			Control Infección		
	8 Días	15 Días	30 Días	8 Días	15 Días	30 Días
1	Leve	Nula	Nula	Ausencia de infección	Ausencia de infección	Ausencia de infección
2	Leve	Nula	Nula	Ausencia de infección	Ausencia de infección	Ausencia de infección
3	Leve	Nula	Nula	Ausencia de infección	Ausencia de infección	Ausencia de infección
4	Leve	Nula	Nula	Ausencia de infección	Ausencia de infección	Ausencia de infección

Como se puede observar la inflamación en todos los pacientes en la primera consulta de seguimiento a los 8 días muestran un nivel 2 lo cual representa una leve inflamación intra oral en zona de la intervención además se observó heridas quirúrgicas afrontadas con punto de sutura algunos de los cuales presentaron dehiscencia.

En el control a los 15 días se observa áreas intervenidas con afrontamiento parcial de los tejidos, en proceso de cicatrización sin signos infecciosos ni inflamatorios, lo cual permite concluir que con la aplicación del PRP ayuda a la disminución y eliminación de la inflamación en un periodo igual o inferior a 15 días.

En el último control a los 30 días se observa área quirúrgica con afrontamiento total de los tejidos manteniéndose sin signos inflamatorios ni infecciosos, en donde la variable de control de la infección se resalta que en ninguna de los controles realizado a los 4 pacientes se manifestó, siendo esto un resultado muy satisfactorio para la implementación del PRP. A continuación, en la figura 9 se puede ver el registro fotográfico de la evolución del control de la inflamación e infección de los pacientes a 8,15 y 30 días.

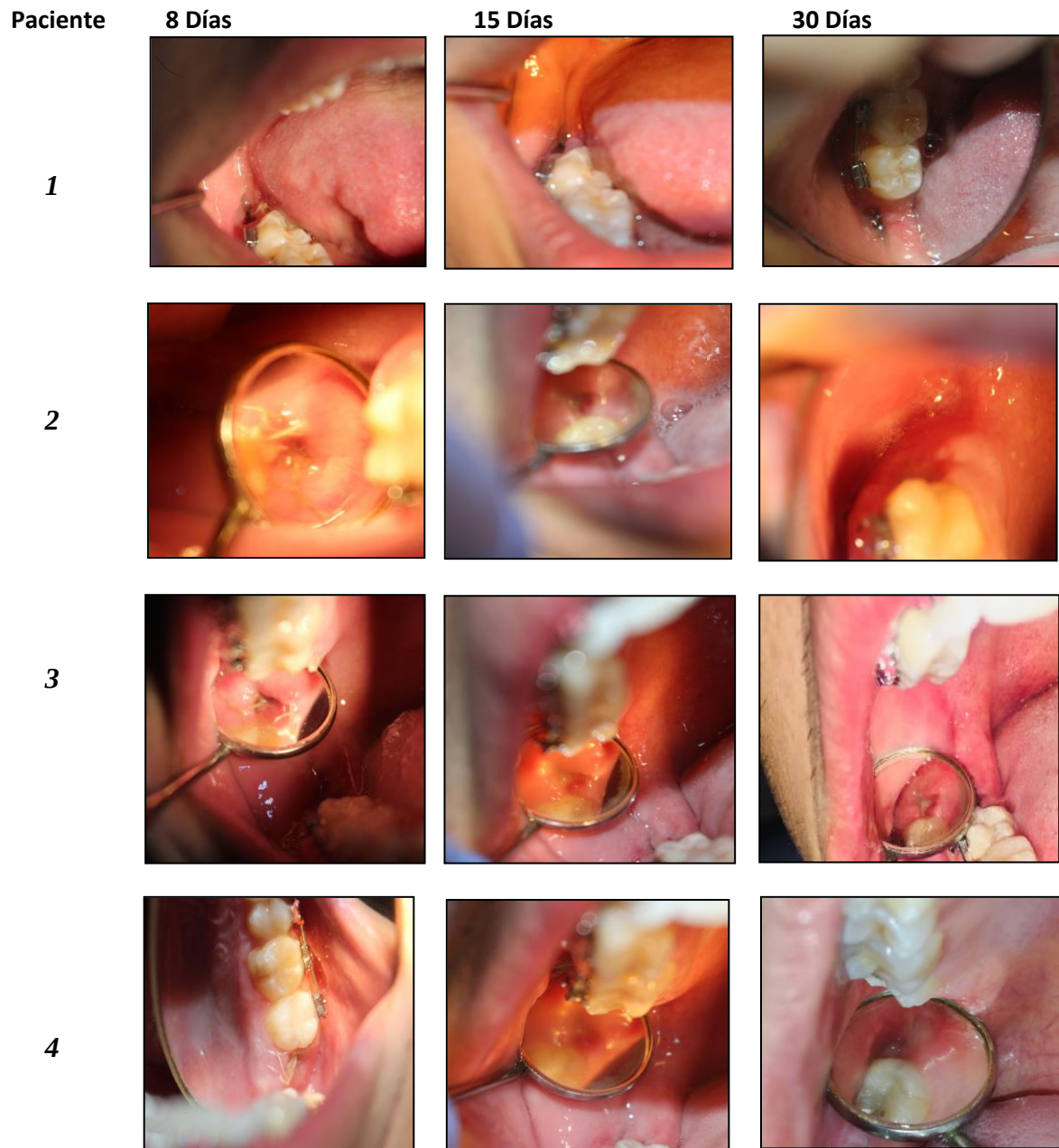


Figura 7. Registro fotográfico de la evolución de inflamación e infección en los controles a 8, 15 y 30 días.

4.5 Establecimiento del costo para la obtención y aplicación de PRP mediante el uso de la técnica abierta acorde con el protocolo 1

Se estableció el costo para obtención y aplicación del PRP mediante el paso a paso del protocolo implementado a continuación en la tabla 10 se puede ver en detalle su valor:

Tabla 10. Costo para la obtención del PRP.

Paso	Procedimiento protocolo 1	Materiales y equipos requeridos	Costo unitario	Costo Total
1	Toma de tensión arterial.	1 tensiómetro *	\$500	\$500
	Asepsia de la zona de punción de la vena cefálica con alcohol isopropílico.	1 copo de algodón	\$20	\$20
		1 cm ³ alcohol isopropílico.	\$50	\$50
2	Toma de 5ml muestra sanguínea.	1 anguja múltiple vacutainer 21G 11/2*	\$380	\$380
	Deposito de la muestra en un tubo estéril tapa azul que contiene citrato sódico como anticoagulante.	1 tubo estéril tapa azul con citrato sódico	\$600	\$600
		1 camisa Holder Venojet	\$400	\$400
3	Centrifugación de la muestra según protocolo.	1 centrífuga de sobremesa Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 8R.*	\$5000	\$5000
4	Extracción de las fracciones obtenidas del plasma mediante pipeteado.	1 Micropipeta Brand de 100 ^a 1000 µL *	\$500	\$500
	Uso de cabina de bioseguridad clase II	3 punta de micropipeta azul estándar	\$140	\$420
		3 tubo eppendorf esteriles Telstar bio II Advance	\$280	\$840
7	Activación el PRP	(0,05 ml/ ml de PRP) cloruro de calcio al 10%	\$5000	\$5000
8	Mano de obra del bacteriólogo		\$200	\$200
Sub total			\$25.000	\$25.000
Total			\$38.070	\$38.910

Nota: Se estima el costo de uso de los equipos la clínica de la universidad, más no se tiene su valor de compra a causa de que estos equipos ya fueron adquiridos por la clínica de la universidad.

5. Discusión

En el organismo el único tejido capaz de regenerarse es el hueso, después de la injuria la generación ósea debe permitirse de modo que el paciente regrese a la normalidad estructural y funcional del accidente óseo afectado. En odontología y en especial en implantología oral es importante la osteointegración y la utilización de mecanismos como el plasma rico en plaquetas que contribuyan a mejorar la recuperación funcional y estética del paciente (12, 19, 35).

El plasma rico en plaquetas ha sido utilizado con buenos resultados en terapia osteoinductora (12, 28) sin embargo, la literatura reporta una amplia gama de factores que pueden afectar la eficiencia de su obtención y por ende su utilización (20, 30, 47). El desarrollo de las técnicas de obtención de plasma rico en plaquetas se encuentra ampliamente descrito, esta investigación tuvo como objetivo estandarizar la técnica de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) para las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga.

Se pudo determinar que el protocolo más adecuado de acuerdo a la condiciones y equipos disponibles en el laboratorio de la clínica fue el propuesto por Anitua y Andia en el año 2000 (47), el cual consiste en la aplicación de una velocidad de centrifugación de 1800 rpm en 1 ciclo de centrifugado de 8 minutos a la muestra de sangre extraída del paciente, obteniendo concentración promedio de $133,96\% \pm 16,51$ plaquetas/mm³, datos que difieren significativamente de los obtenidos por García y Cols (47) quienes utilizando el mismo protocolo alcanzaron una concentración de 90,31%. Por su parte otra investigación (38) con el mismo protocolo, incluyendo 5 paciente encontró concentración de PRP de 160,63%. La observación de los datos mostrados por los investigadores permite evidenciar que la variación de gran magnitud en al menos 1 de los individuos incluidos en el estudio permitió bajar el promedio de forma importante, además en uno de los estudios se recolectó PRP a partir de 10 ml de sangre, luego todo esto apoya la hipótesis que el protocolo podría variar por diferencias individuales, además de las provocadas por el equipo utilizado y otros factores. Este estudio encontró que mediante la implementación del protocolo de Anitua y Andia se pudo obtener mayor concentración de PRP con menor cantidad de plasma respecto al de otros autores como DeObarrio y col (2000) Camargo y col (2002), Okuda y col (2003) Kawase y col (2003) y finalmente el de García y col (2005).

Algunos investigadores sugieren que el plasma rico en plaquetas debería concentrar de tres a cuatro veces la concentración normal, sin embargo, aún no se ha establecido la relación directa entre este parámetro y el beneficio clínico. Las publicaciones varían respecto al conteo celular obtenido luego de la obtención del plasma rico en plaquetas, esto podría estar influenciado por la utilización de kits comerciales, las diferencias entre los equipos que son utilizados, la cantidad de factores de crecimiento y citocinas contenidos en la sangre. Comparar la concentración de plaquetas obtenidas por distintos dispositivos y usando varios protocolos es sumamente relevante, ya que se demuestra la diversidad de resultados que pueden ser obtenidos dependiendo del equipamiento que sea usado, lo que significa que, si la concentración de plaquetas cambia de un concentrado a otro, podría esperarse que los resultados en la aplicación del paciente puedan diferir. De modo tal que se hace indispensable estandarizar la técnica que permita garantizar una mayor eficiencia en la obtención del PRP, puesto que indudablemente la óptima obtención podrá ofrecer mejores resultados clínicos.

La limitación principal estuvo en la no implementación la técnica de aféresis plasmática para la obtención de la muestra de sangre ya que esta requiere de la utilización de equipos con mayor tecnología no disponible por la clínica de la universidad en comparación del sistema abierto, que no es un proceso totalmente cerrado y automatizado. El hallazgo positivo en cuanto a la Aplicación del PRP mediante el protocolo de Anitua y Andia para los pacientes con exodoncias ordenadas por tratamientos de ortodoncia, se apreció ausencia total de infección en la zona

tratada y una leve inflamación que desaparece a los 15 días de aplicado el PRP. Con los resultados favorables obtenidos con la aplicación del PRP en pacientes con exodoncias se pudo verificar el papel del PRP en la regeneración ósea investigación anteriormente por Fennis et al (44), el cual describe al PRP como una herramienta importante en la recuperación de las cirugías maxilofaciales.

6. Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados de diferentes estudios científicos y los equipos de centrifugación disponibles en la clínica odontológica de la universidad la metodología idónea para la obtención del plasma rico en plaquetas es abierta, ya que esta permite usar equipo sencillo como la centrifuga de sobremesa Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 8R además de necesitar menores volúmenes de sangre.

El protocolo1 propuesto por Anitua y Andia (2000) logro obtener el mayor número de plaquetas por tanto fue el seleccionado para establecerlo como el indicado para la obtención de plasma rico en plaquetas en las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga.

Se evidenció una relación de proporcionalidad inversa en la obtención de PRP en los 4 protocolos, ya que a medida que disminuye el volumen obtenido de PRP su concentración aumenta.

La concentración promedio del PRP obtenida de los 4 pacientes a los cuales se les aplico el PRP fue de 503250/ μ L que es 1,7 veces más del recuento plaquetario promedio 295250, cumpliendo está en requerimiento de concentración idóneo para la implementación de la técnica.

Se logró verificar la seguridad de la aplicación del PRP en los alveolos post exodoncias, puesto que en ninguno de los pacientes se presentó infección y la inflamación desapareció en un tiempo menor e igual a 15 días.

El costo de la obtención del PRP en la clínica odontológica de la universidad es muy asequible, el cual permitirá que aumente el número de pacientes interesados en aprovechar los beneficios de la aplicación del plasma rico en plaquetas.

7. Recomendaciones

Sugerimos que futuras investigaciones se pueda determinar la influencia de la aplicación del PRP al observar una disminución de la reabsorción del tamaño del alveolo en su proceso de cicatrización.

Realizar investigaciones a la luz de diseños experimentales tipo ensayo clínico controlado aleatorizado que incluyan periodos de seguimiento a largo plazo (a 4, 6 y más meses) y en combinación con otros materiales de regeneración para verificar la evidencia y constancia de los beneficios de este a través del tiempo.

8. Referencias

1. Fernandez-Tresguerres Hernandez-Gil I, Alobera Gracia MA, Del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Bases fisiologicas de la regeneracion osea I. Histologia y fisiologia del tejido oseo. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2006;11(1):32–6.
2. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Community Dent Oral Epidemiol 2003 Diciembre; 31 Suppl 1:3-23.
3. Pulido-Rozo M, Gonzalez-Martinez F, Rivas-Munoz F. Enfermedad periodontal e indicadores de higiene bucal en estudiantes de secundaria Cartagena, Colombia. Revista de Salud Publica 2011 Oct 1; 13(5):844.
4. Botero JE, Bedoya E. Determinantes del Diagnóstico Periodontal. Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral 2010 August 1; 3(2):94-99.
5. Arrieta Vergara KM, Díaz Caballero A, González Martínez F. Prevalencia de caries y enfermedad periodontal en estudiantes de odontología. Revista Cubana de Estomatología 2011 Mar 1; 48(1):6-13.
6. García LM, Giraldo SJ, Mossos R, Muñoz MM, Perea CL, Prado C. Prevalencia de caries y enfermedad periodontal en escolares del sector público de Cali, 2005. Colombia Medica 2008 January 2; 39(2008 Supplement 1):47-50.
7. Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. Int J Oral Maxillofac Implants 2006 Sep-Oct;21(5):696-710.
8. González, M, Arteaga-Vizcaíno, M, Benito, M, Benito, M. Aplicación del plasma rico en plaquetas (PRP) y sus derivados en implantología dental y cirugía plástica.. Investigación Clínica [Internet]. 2012;53(4):408-418. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/3729/372937690010.pdf>
9. García García V., Corral I., Bascones Martínez A. Plasma Rico en Plaquetas y su utilización en implantología dental. Avances en Periodoncia [Internet]. 2004 Ago [citado 2018 Ago 28] ; 16(2): 81-92. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852004000200003&lng=es.
10. Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Kolsuz ME, Sonmez H. Efficacy of Platelet-rich Plasma as a Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. J Endod 2015;41(1):36-44.

11. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. *Biomaterials* 2009 October;30(28):4956-4966.
12. Moreno Díaz R, Carreño MG, Torres JJ, Herreros JMA, Villimar A, Sánchez PL. Técnicas de obtención del plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. *Farm Hosp* 2015;39(3):130-136. recuperado de : <http://scielo.isciii.es/pdf/fh/v39n3/02articulospecial01.pdf>
13. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones Martínez A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Avances en periodoncia e implantología oral* 2007;19(1):39-52.
14. Khairy NM, Shendy EE, Askar NA, El-Rouby DH. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *Int J Oral Maxillofac Surg* 2013; 42(2):249-255.
15. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999 Jul-Aug; 14(4):529-535. Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/6a5c/9e3b0a7cd19466a80af024dd29813da41081.pdf>
16. Manoochchri A, Vielma M, Castillo L. Plasma rico en plaquetas (PRP) en la regeneración ósea de alvéolos post extracción. *Acta Bioclínica* 2014 /05/05; 4(7):85-105.
17. Camargo Guevara P, Sossa Rojas H. Revascularización pulpar mediante la utilización de plasma rico en plaquetas autólogo o en combinación con una matriz colágena, como posibilidades terapéuticas para dientes con ápice abierto, pulpa necrótica y/o patología periapical. *Acta Odontológica Colombiana* 2014; 4(1):113-129.
18. Ramírez Giraldo T, Sossa Rojas H. Endodoncia regenerativa: utilización de fibrina rica en plaquetas autóloga en dientes permanentes vitales con patología pulpar. Revisión narrativa de la literatura. *Acta Odontológica Colombiana* 2014;4(1):91-112.
19. Ananías García Cardona, DDC Grégory Alfonso García, Ómar Ramón Mejía, Mario Vittorino Mejía, Dianney Clavijo Grimaldi, Ciro Alfonso Casadiego Torrado. Osteobiología: aspectos novedosos del tejido óseo y la terapéutica con el plasma rico en plaquetas. *MedUNAB* 2007;10(3):212-224.
20. Arboleda Nuñez LÁ, Lozano Escobar G. Calidad del Plasma Rico en Plaquetas y sus factores de crecimiento. *Est-ética* 2010;1(2):36-45.
21. López Palacio AM, Cerón Zapata AM, Cano Acosta AE, Suárez O. AF, Grajales G. CA. Evaluación Clínica De La Oseointegración De Implantes Con Plasma Rico En Plaquetas Y Hueso Liofilizado En Pacientes Con Pérdida Dentoalveolar Por Trauma En El Sector Anterior: Primera Fase. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia* 2009;20(2):149-160.

22. Camargo J, Vanegas N, Vélez JD, López JC, Herrera JM. Plasma rico en plaquetas (PRP) como sistema de entrega local de antibióticos en infecciones óseas: estudio in vitro. *Revista Colombiana de Ortopedia y Traumatología* 2012 mar.;26(1):37-46.
23. González Lagunas J. Plasma rico en plaquetas. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial* 2006;28(2):89-99.
24. Sánchez M. El plasma rico en plaquetas: ¿Una moda o una realidad? *Archivos de medicina del deporte: revista de la Federación Española de Medicina del Deporte y de la Confederación Iberoamericana de Medicina del Deporte* 2010;27(138):252-254.
25. Jönsson K, Hunt TK, Mathes SJ. Oxygen as an Isolated Variable Influences Resistance to Infection. *Ann Surg* 1988 -12;208(6):783-787.
26. Anitua E, Sánchez M, Orive G. Potential of endogenous regenerative technology for in situ regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2010;62(7-8):741-752.
27. Zhu Y, Yuan M, Meng HY, Wang AY, Guo QY, Wang Y, et al. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis and Cartilage* 2013;21(11):1627-1637.
28. Francisco Jesús Murga López. Empleo del plasma rico en plaquetas en la regeneración ósea de alveolos dentarios post-exodoncia. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003.
29. Carrasco Luna J, Bonete Lluch D, Gomar Sancho F. Plasma rico en plaquetas vs. plasma rico en factores de crecimiento. *Revista española de cirugía osteoarticular* 2009;44(239):127-140.
30. Becker W, Urist M, Becker BE, Jackson W, Parry DA, Bartold M, et al. Clinical and histologic observations of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts. 15 human case reports. *J Periodontol* 1996 Oct;67(10):1025-1033.
31. Leonardo Ruiz Macarrilla. Efecto del plasma rico en plaquetas en la incorporación biológica de una plastia tendinosa en un túnel óseo. Universitat de Barcelona; 2011.
32. Danella M. Elaluf Morales. Estudio de los factores que pueden modificar la calidad del plasma rico en plaquetas (PRP). Universidad San Pablo CEU de Madrid; 2015.
33. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1994;52(2):161-165.
34. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 1998;85(6):638-646.

35. Rodríguez Flores Jordi, Palomar Gallego María Angustias, Torres García-Denche Jesús. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac* [Internet]. 2012 Mar [citado 2018 Ago 27]; 34(1): 8-17. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-05582012000100002&lng=es.
36. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1997; 55(11):1294-1299.
37. C. Sáez-Torres Barroso, J. Calvo Benito, A. Gayà Puig. Calidad del plasma rico en plaquetas: estudio de la activación plaquetaria Platelet-rich plasma quality: a study on platelet activation. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial* 2007 Aug 1;29(4):240-248.
38. Meza J, Castillo Leonel, Dávila D, Carrero Á, González AJ. Estudio comparativo ultraestructural del plasma rico en plaquetas obtenido mediante centrifugación individual y doble centrifugación. *Revista Venezolana de Investigación Odontológica de la IADR* 2013;1(2):102-109.
39. Javier Ramos Torrecillas. Valoración y estandarización del uso del plasma rico en plaquetas, plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras por presión Universidad de Granada; 2013.
40. AAHI –Grupo de Trabajo sobre Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Estándares para la obtención, producción y almacenamiento del plasma rico en plaquetas. 2014; Available at: <http://doczz.es/doc/3470820/para-acceder-al-documento>. Accessed May 25, 2017.
41. Ocampo BRY, González MGM. Tratamiento de periodontitis agresiva localizada con plasma rico en plaquetas y aloinjerto óseo. Un caso clínico. *Revista Odontológica Mexicana* 2015; 19(2):106-114.
42. Lemos CAA, Mello CC, dos Santos DM, Verri FR, Goiato MC, Pellizzer EP. Effects of platelet-rich plasma in association with bone grafts in maxillary sinus augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2016;45(4):517-525.
43. Bueno Rossy LA, Rodríguez Salaberry D. Tratamiento Interdisciplinario de Periodontitis Agresiva Localizada: Reporte de un Caso. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral* 2010;3(2):90-93.
44. Fennis JPM, Stoelinga PJW, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a histological and histomorphometric study on the use of autogenous scaffolds, particulate cortico-cancellous bone grafts and platelet rich plasma in goats. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2004;33(1):48-55.
45. Carrillo-Mora, P, González-Villalva, A, Macías-Hernández, SI, Pineda-Villaseñor, C. Plasma rico en plaquetas. Herramienta versátil de la medicina regenerativa?. *Cirugía y Cirujanos*

[Internet]. 2013;81(1):74-82. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66225686011>

46. Obtención de plasma rico en plaquetas. Available at: http://media.axon.es/pdf/98243_3.pdf. Accessed 25/05/, 2017.
47. Garcia R. LA. Estudio comparativo de 4 protocolos para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Revista de la Fundación Juan José Carraro 2008(27).
48. Oyama T, Nishimoto S, Tsugawa T, Shimizu F. Efficacy of platelet-rich plasma in alveolar bone grafting. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2004;62(5):555-558.
49. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. J Periodontol 2000 Oct;71(10):1654-1661.
50. Garay AE, Altuve CA, Catillo L, Gonzalez A, Yopez J. Plasma rico en plaquetas en la cicatrización de tejidos blandos de la cavidad bucal. Acta Bioclínica 2014 /05/05;4(7):66-84.
51. Cutting KF, White RJ. Revisión de criterios para la identificación de infecciones en heridas: Revisited. Gerokomos 2006;17(1):39-47.
52. Palmer DS, Aye MT, Dumont L, Dumont D, McCombie N, Giulivi A, et al. Prevention of cytokine accumulation in platelets obtained with the COBE spectra apheresis system. Vox Sang. 1998; 75 (2): 115-23.
53. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? Implant Dent. 2001; 10(4): 225-8.
54. Francesc Pardo i Camps. Eficacia de la infiltración de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en pacientes diagnosticados del Síndrome de la Fascia Plantar (SFP) desde el punto de vista clínico y funcional. Tesis Doctoral. Recuperado de: <https://eprints.ucm.es/40236/1/T38042.pdf>
55. Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Baba S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report. Int J Periodontics Restorative Dent. 2006. 08; 26 (4): 363-369.
56. Gemmel CC. Comparative performance of two platelet-concentrating cell separators. A prospective, patient-controlled, clinical evaluation. Hematology laboratories Toronto General Hospital. March, 2001: 1-8.
57. Ballester JF, Sola J, Borrás J, Ferreira J, Morales D, Arnás M, et al. Estudio comparativo de cuatro procedimientos para la obtención del coágulo concentrado en plaquetas. Revista española odontoestomatológica de implantes. 2003; 11 (1): 6-13.

58. Leitner GC, Gruber R, Neumuller J, Wagner A, Kloimstein P, Hocker P, et al. platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: A comparison of four different systems. *Vox sang.* 2006 08/21, 91(2): 135-9.
59. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J, et al. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors for local application. *Transfusion.* 2001. 10; 41 (10): 1217-1224.
60. Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: Background and process. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2002 12; 22 (6): 547-57.(61)Weibrich G, Kleis W. Curasan PRP Kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. *Clin Oral Impl Res.* 2002; 13: 437-43.
61. Lorente Pérez-Sierra A. Estudio de Microscopía Electrónica y Cuantificación de los Factores de Crecimiento Mediante un Nuevo Procedimiento de Obtención de Plasma Rico en Plaquetas. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. 2010.
62. Jovani M. El plasma rico en plaquetas en la regeneración ósea post-exodoncia. Estudio radiográfico. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. 20
63. Fernández-Barbero JE, Galindo-Moreno P, Avila-Ortiz G, Caba O, Sánchez-Fernández E, Wang H. Flow cytometric and morphological characterization of platelet-rich plasma gel. *Clin Oral Implants Res.* 2006. 12; 17 (6): 687-93.
64. Everts PAM, Hoffmann J, Weibrich G, Mahoney CB, Schönberger J PAM, Van Zundert A, et al. Differences in platelet growth factor release and leucocyte kinetics during autologous platelet gel formation. *Transfus Med.* 2006. 10; 16 (5): 363-368.
65. Everts PAM, Knape JTA, Weibrich G, Schönberger J PAM, Hoffmann J, Overdevest EP, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: A review. *J Extra Corpor Technol.* 2006. 06; 38 (2): 174-187.
66. Vassallo RR, Murphy S. A critical comparison of platelet preparation methods. *Curr Opin Hematol.* 2006 09; 13 (5): 323-30.
67. Skripchenko A, Kurtz J, Moroff G, Wagner SJ. Platelet products prepared by different methods of sedimentation undergo platelet activation differently during storage. *Transfusion.* 2008 07/13; 48 (7): 1469-1477.
68. Andrade MGS, de Freitas Brandão CJ, Sá CN, de Bittencourt TC, Borio Dos Santos C, Sadigursky M. Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma properties. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 01; 105 (1):5-12.

9. Apéndices

Apéndice A. Diseño de consentimientos informados.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACION AL ESTUDIO ESTANDARIZACIÓN DE UNA DE OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) EN LAS CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS DE FLORIDABLANCA.

Patrocinador del estudio: Universidad Santo Tomás

Investigador responsable: Rene Rodríguez
Elena Fajardo

Directora de la investigación: Dra. Luz Elena Achila

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar (o permitir participar a su hijo/hija, familiar o representado), -o no-, en la investigación odontológica de estandarización de una de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) en las clínicas odontológicas de la universidad santo tomás de Floridablanca.

Tome el tiempo que requiera para decidirse, lea cuidadosamente este documento y hágale las preguntas que desee al médico o al personal del estudio.

Usted ha sido invitado a participar en este estudio ya que cumple con nuestros criterios de inclusión los cuales son: personas mayores de 18 años, sistémicamente sanos y libres de procesos infecciosos. El objetivo general de esta investigación es estandarizar de una de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) para los servicios de las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga. Y los objetivos específicos son implementar el protocolo de obtención y aplicación del PRP en cinco usuarios de las clínicas odontológicas de la USTA, evaluar la evolución clínica de la aplicación de terapia con PRP en cinco usuarios de las clínicas odontológicas de la USTA bajo el protocolo propuesto, establecer el costo de obtención y aplicación de PRP mediante el uso de la técnica abierta acorde con el protocolo propuesto en el presente trabajo.

En el desarrollo de esta investigación se realizara la recolección de algunos datos en la ficha clínica, adicionalmente la colecta de sangre para que sea analizada en el laboratorio para la obtención del plasma rico en plaquetas, posteriormente la exodoncia del diente propuesto en su plan de tratamiento odontológico y colocación del plasma rico en plaquetas obtenido de su propia sangre. Se realizaran controles clínicos a los 8, 15, y 30 días posteriores a la exodoncia.

La toma de la muestra sanguínea se realizará con agujas nuevas y estériles que garantizan seguridad al paciente. Durante o después de la toma puede sentir un dolor leve. En algunas personas en el lugar de la toma de la muestra pueden desarrollar un hematoma o morado, que generalmente desaparece luego de una semana. De la muestra de sangre se obtendrá el plasma rico en plaqueta el cual será aplicado en el alveolo y el sobrante de la muestra será desechada.

Los datos recolectados y los resultados serán confidenciales y solo se usarán en el estudio. Bajo ninguna circunstancia los pacientes serán identificados de manera individual. De acuerdo con el artículo 11 de la resolución No.008430 del Ministerio de Salud, este estudio es de riesgo mínimo.

Los resultados obtenidos le serán informados, al igual que a su odontólogo tratante, el que le indicará el curso de acción odontológica más adecuado para usted (o su hijo/hija, familiar o representado).

El beneficio que obtiene usted (o su hijo/hija, familiar o representado) al participar en esta investigación es mejorar la cicatrización del alveolo en la cual se le realizó la exodoncia.

Los riesgos que se pueden presentar son infección, inflamación.

A cada paciente una vez realizada la intervención se le prescribirá tratamiento antiinflamatorio (diclofenaco sódico 50 mg cada 8 horas durante 4 días) y analgésico como medida de rescate (acetaminofén 500mg cada 6 horas en caso de dolor).

En los casos en los que se documente proceso infeccioso del área quirúrgica será tratado por el Doctor Rene Rodríguez o la Doctora Elena Fajardo; como se ha indicado la investigación es de bajo riesgo pero en caso que se presente este proceso se iniciara de manejo antibiótico con cubrimiento para gérmenes comunes en infecciones odontogénicas y controles periódicos para observación clínica para evaluar evolución. El costo del manejo será cubierto por el estudio.

El costo del procedimiento de la exodoncia no es asumido por el estudio. Los costos del procedimiento de la obtención y aplicación del plasma rico en plaquetas serán cubiertos por el estudio.

La información obtenida se mantendrá en forma confidencial. Es posible que los resultados obtenidos sean presentados en revistas y conferencias médicas, sin embargo, su nombre (o el de su hijo/hija o familiar) no será conocido.

Su participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted tiene el derecho a no aceptar participar o a retirar su consentimiento y retirarse (o retirar a su hijo/hija, familiar o representado) de esta investigación en el momento que lo estime conveniente. Al hacerlo, usted (o su hijo/hija, familiar o representado) no pierde ningún derecho que le asiste como paciente de esta institución y no se verá afectada la calidad de la atención odontológica que merece.

Si usted retira su consentimiento, su muestra (de sangre) serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada.

Con base en todo lo anterior, confirmo y entiendo a cabalidad que mi consentimiento es voluntario y que al firmarlo no estoy liberando al personal de salud de Cualquier responsabilidad legal por daños causados.

Si usted tiene alguna pregunta con respecto a este estudio puede contactar al Dr. Rene Rodríguez Hernández. Correo electrónico rene.rodriguez@ustabuca.edu.com; teléfono

3115361177 o a la Dra Elena Fajardo Eraso. Correo electrónico olga.fajardo@ustabuca.edu.com; teléfono 3183121507.

Después de haber leído y entendido completamente lo que dice el documento firmo libre y voluntariamente, y me quedará con una copia.

¿Acepta usted participar en el estudio? Sí _____ No _____

Nombres y apellidos del participante:

Firma: _____

Documento de identidad _____

Nombre del encuestador _____

Firma _____

Fecha _____

En caso de tener alguna inquietud o pregunta con relación a la investigación contactar al Dr. Rene Rodriguez. Correo electrónico rene.rodriguez@ustabuca.edu.com o al Telf. 3115361177 o a la Dra. Elena Fajardo Eraso. Correo eléctrico olga.fajardo@ustabuca.edu.com o al telf. 3183121507

CONSENTIMIENTO INFORMADO- TOMA DE MUESTRA**Estandarización de una Obtención De Plasma Rico En Plaquetas (PRP) En Las Clínicas Odontológicas De La Universidad Santo Tomás De Floridablanca.**

Patrocinador del estudio: Universidad Santo Tomás

Directora del proyecto: Dar. Luz Elena Archila

Investigador responsable: Rene Rodríguez

Elena Fajardo

Nombre del donante:

El proyecto se llevará a cabo en el municipio de Floridablanca, departamento de Santander
Señor(a):

_____ La presente investigación tiene como objetivo obtener plasma rico en plaquetas para su utilización en los procedimientos odontológicos. Esta investigación se considera de riesgo mínimo para usted, ya que el estudio se hará la toma de una muestra de sangre obtenida durante la flebotomía, por tanto, la investigación se llevara a cabo en las clínicas odontológicas de la USTA, bajo las normas de bioseguridad para garantizar que no se presente ningún riesgo para usted. La muestra de sangre se utilizará para hacer la obtención del PRP. El investigador principal y los coinvestigadores en el presente estudio garantizan que su nombre, apellidos y número de identificación serán mantenidos en total confidencialidad. Yo, _____, mayor de edad (____ años), identificado(a) con _____ c.c.# _____ de _____ y con domicilio en _____ Declaro: Que el profesional: _____ Me explicó que realizara los estudios arriba mencionados en la MUESTRA DE SANGRE obtenida durante la flebotomía y como parte del proceso de donación de sangre. El profesional hizo aclaración en lo siguiente:

- La muestra de sangre se utilizará para obtener el plasma rico en plaquetas.
- Usted no tiene ninguna obligación con los investigadores, la participación es voluntaria y en cualquier momento y sin necesidad alguna de explicación, puede retirarse del estudio y revocar el consentimiento que ahora presta. El investigador está obligado a guardar reserva con los resultados obtenidos.
- La participación en esta investigación no incluye retribución económica, tampoco representa costos adicionales para usted y no presenta ningún riesgo que comprometa el estado de su salud actual.
- La responsabilidad de la persona que desea participar en la investigación queda limitada a otorgar el consentimiento informado para el uso de la muestra de sangre. El tiempo de su participación en la investigación comprende solo el de la toma de muestra y la firma de este consentimiento. Sin embargo, el uso de las muestras obtenidas de usted será hasta el momento en que decida cancelar el consentimiento informado.
- Las muestras y los datos del paciente obtenidos en esta investigación se conservarán de forma privada en los archivos del grupo; si por algún motivo se presentará el caso en que se

requieran utilizarlos en otros estudios, solo se podrá hacer con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Salud para la utilización de las muestras y de los datos previo análisis del estudio a realizar.

- La información obtenida de este estudio en todo momento será confidencial, su nombre nunca aparecerá como tal y se le asignará un número el cual será su identificación en la investigación. Los resultados obtenidos sólo aparecerán en publicaciones científicas o sólo podrían ser divulgados a las autoridades de salud en los casos que la ley estipule para ello.

- Para obtener este consentimiento informado previamente se le explicará en un lenguaje claro y sencillo lo relacionado con la investigación, en forma personal y sin presión externa por medio de una entrevista persona a persona. Usted puede realizar todas las observaciones y se le aclararán todas las dudas que plantee, además usted recibirá una copia de este consentimiento Manifiesto que estoy satisfecho(a) con la información recibida, que comprendo el alcance y los riesgos de la investigación y que no recibí ningún tipo de presión por parte del personal para participar en el estudio. Y en tales condiciones CONSIENTO Que se utilice la MUESTRA DE SANGRE obtenida durante mi flebotomía como parte del proceso de donación de sangre, para realizar en ella los estudios pertinentes para este proyecto, además que recibo una copia de este consentimiento.

Riesgos y complicaciones de la extracción de sangre.

1. Formación de hematoma: es la complicación más común de la venopunción. El hematoma se origina por el desbordamiento de la sangre en el tejido, durante o después de la punción, siendo visualizado en forma de protuberancia. Si la formación del hematoma se identifica durante la punción, se debe retirar inmediatamente el torniquete y la aguja, y después, realizar una compresión local durante al menos dos minutos. El uso de compresas frías puede ayudar a atenuar el dolor local.

Las situaciones que pueden precipitar la formación de un hematoma son:

- Existencia de vena frágil o muy pequeña en relación con el calibre de la aguja.
- Cuando una aguja traspasa la pared posterior de la vena punzada.
- Cuando la aguja perfora parcialmente la vena, no penetrándola por completo.
- Realización de diversos intentos de punción sin éxito.
- La aguja se extrae sin retirar previamente el torniquete.
- Aplicación de presión inadecuada en la zona de la punción.

2. Punción accidental de una arteria: La probabilidad de punzar accidentalmente una arteria es relativamente rara, recordándose que la elección adecuada de la zona de punción es primordial para evitar este tipo de accidente. Siempre que tenga lugar está asociado al intento de una punción venosa profunda. Se produce con más frecuencia, cuando se intenta punzar la vena basilica, que se encuentra muy próxima a la arteria braquial. La punción accidental de una arteria se puede identificar por el «rojo vivo» de la sangre y por el drenaje de la sangre a chorro, o por el ritmo pulsátil de la sangre hacia el interior del tubo. Si tiene lugar una punción inadvertida de una arteria, es importante realizar una presión local, durante, al menos, 5 minutos, además de una oclusión más eficaz de la zona de la punción.

3. Anemia yatrógena: El volumen de sangre extraído normalmente de pacientes sanos, para la realización de análisis de laboratorio, no produce ningún tipo de perjuicio al organismo.

4. Infección: La posibilidad de desarrollar un proceso infeccioso en la zona de la venopunción, aunque rara, no se debe descartar. La antisepsia del punto de punción debe ser bien ejecutada y la zona preparada para la punción no se debe tocar después de este proceso. Entre

las medidas recomendadas se encuentran: el uso de algodón hidrófilo mojado en alcohol etílico comercial, alcohol yodado o antisépticos basados en yodo, disponibles comercialmente. El intervalo entre la retirada del protector de la aguja y la venopunción debe ser el mínimo posible. El parche adhesivo debe ser abierto únicamente en el momento de la aplicación en la piel del paciente y mantenido por lo menos 15 minutos después de la extracción.

5. Lesión nerviosa: Para prevenir la lesión de algún nervio, se recomienda evitar la inserción muy rápida o profunda de la aguja. No se debe realizar la punción de una vena por medio de múltiples intentos de redireccionamiento de la aguja insertada de forma aleatoria. Si no se tiene éxito en el primer intento de punción, se retirará la aguja y se realizará una segunda punción, preferiblemente en otra zona. Se debe indicar al paciente que no realice movimientos bruscos durante la extracción.

6. Dolor: después de la punción es de baja intensidad y soportable, aunque tranquilizar al paciente antes de la extracción ayuda sobremedida en su relajación, haciendo el procedimiento menos doloroso. La zona de punción debe estar seca, si se ha utilizado alcohol para la antisepsia, lo que disminuye la sensación dolorosa.

El dolor intenso, parestesias, irradiación del dolor por el brazo, presentadas durante o después de la venopunción, indican que se ha visto afectado un nervio y requieren de medidas como tranquilizar al paciente informándole de que el 96% de las lesiones nerviosas relacionadas con la venopunción generalmente se resolvían en 1, 3 y 6 meses. Y Se establecerá un seguimiento durante 4 semanas en el postoperatorio para la evaluar la evolución, resolución o presencia de déficit neurológico residual.

En Constancia firma Participante: _____
Ciudad y Fecha _____ Cédula ciudadanía #: _____
Teléfono #: _____

Nombre investigador: _____
Firma: _____ Fecha: _____

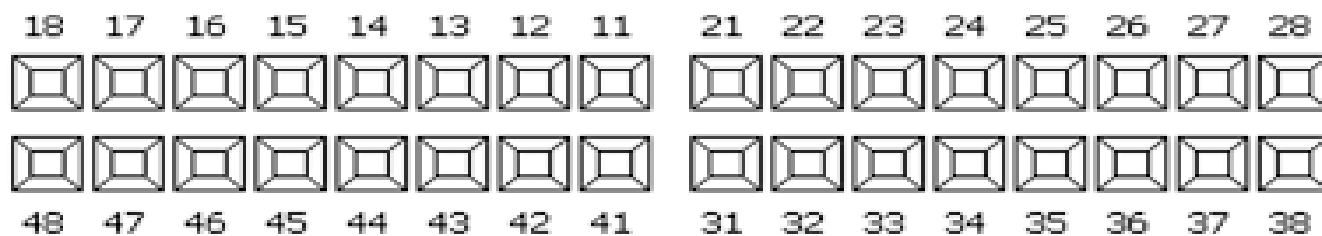
En caso de tener alguna inquietud o pregunta con relación a la investigación contactar
Dr. Rene Rodríguez Hernández. Correo electrónico rene.rodriguez@ustabuca.edu.com;
teléfono 3115361177 o a la Dra. Elena Fajardo Eraso. Correo electrónico
olga.fajardo@ustabuca.edu.com; teléfono 3183121507.

Apéndice B. Ficha clínica en Blanco.**FICHA CLINICA****Proyecto de investigación**

Estandarización de una técnica para la obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) en las Clínicas Odontológicas de la Universidad Santo Tomas de Bucaramanga.

Nombres y Apellidos						Documento de Identificación			
Fecha de nacimiento					Lugar de nacimiento		Edad		
Genero	F	M	Grupo sanguíneo			Estado civil			
Dirección de residencia					Lugar de residencia		Teléfono o celular		
Ocupación					EPS actual				
Motivo de consultas									
Antecedentes personales									
	Si	No		Si	No		Si	No	
Hipertensión			Enf. Cardiovascular			farmacodependientes			
Diabetes			Cáncer			Lesiones/ Enf. óseas			
Alteraciones hematológicas			Trastornos articulares			VIH -Sida			
Trastornos de coagulación			Inmunodeficiencias			Otras			
Descripción detallada de patología :									
Antecedentes familiares									
	Si	No		Si	No		Si	No	
Diabetes			Alteraciones hematológicas			inmunodeficiencias			
Hipertensión			Trastornos de coagulación			Otras			

Odontograma



Rojo	Caries	Verde	Mancha blanca
Azul con halo rojo	Obturación en mal estado	amarillo	Sellante
azul	Obturación en buen estado	X negra	Ausente
Halo rojo	Corona desadaptada	Halo azul	Corona adaptada
Antecedentes Odontológicos			
	Si	No	Descripción detallada
Medicamentos que tome actualmente			
Última visita al odontólogo			
Hemorragias			
Dolores			
Infecciones			
Herpes labial			
Otras			

Hábitos				
	Si	No	Veces	Descripción detallada
Fuma				
Se cepilla				
Uso de ceda dental				
Dendrítico				
Otros			CUAL	

Periodontograma

SUPERIOR																
	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Implante																
Movilidad																
Furca																
Sangrado / Supuración																
Anchura encía																
Margen gingival																
Profundidad de sondaje																
Vestibular																
Palatino																
Profundidad de sondaje																
Margen gingival																
Sangrado / Supuración																
Furca																
INFERIOR																
Furca																
Sangrado / Supuración																
Margen gingival																
Profundidad de sondaje																
Lingual																
Vestibular																
Profundidad de sondaje																
Margen gingival																
Anchura encía																
Sangrado / Supuración																
Furca																
Movilidad																
Implante																
	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8

Análisis Periodontal

Diagnostico odontológico

Análisis de exámenes de laboratorio(Hemograma)

Resultados de prueba de PRP	
Recuento plaquetario	
Volumen obtenido de PRP	
Concentración de PRP obtenido	

Firma de paciente
Nº de CC.

Firma de estudiante que llena la ficha clínica

Actividad	Año 2017									Año 2018								
	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep
Definición pregunta investigación	X	X																
Revisión bibliográfica			X	X	X													
Protocolo: Introducción, pregunta planteamiento del problema, justificación					X	X	X											
Presentación de anteproyecto								X	X	X								
Pruebas de laboratorio										X	X							
Selección de los pacientes												X	X					
Aplicación del plasma rico en plaquetas												X	X	X				
Evaluación a los 8 días												X	X	X				
Evaluación a los 15 días													X	X	X			
Evaluación a los 30 días													X	X	X			
Redacción resultados														X	X			
Discusión - Conclusiones														X	X			
Presentación proyecto para evaluadores														X	X	X	X	X
Sometimiento de publicaciones															X	X	X	X

Apéndice D.Presupuesto

CONCEPTO	CANTIDAD	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
Utilización de sala de procedimientos	6 intervenciones	\$ 95.000	\$570.000
Evaluación clínica (historias clínicas)	6	\$19.400	\$116.400
Laboratorio	6 veces	\$50.000	\$300.000
Materiales de laboratorio			\$300.000
Bacterióloga	10 horas	\$70.000	\$700.000
Estudiantes	150 horas	\$40.000	\$6.000.000
Papelería			\$100.000
Transporte			\$350.000
Base de datos			\$2.000.000
TOTAL			\$10.436.000