

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA OBTENIDA CON
QUITOSANO Y PLASMA RICO EN FIBRINA
COMPARATIVE ANALYSIS OF THE OBTAINED BONE REGENERATION WITH CHITOSAN AND
PLASMA RICH IN FIBRIN**

*Recibido para Arbitraje: 12/07/2013
Aceptado para Publicación: 10/06/2014*

Paredes, A., Sonrimer Odontología -Mérida,Venezuela. **Ortega, O.,** Sonrimer Odontología - Mérida,Venezuela **González, A.,** Centro de Investigaciones Odontológicas. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. **Bustillos, L.,** Centro de Investigaciones Odontológicas. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. **Velazco G.,** Centro de Investigaciones Odontológicas. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

CORRESPONDENCIA: gvelazco@ula.ve .

RESUMEN

La regeneración ósea guiada (ROG) es un procedimiento que consiste en el incremento de la cantidad del hueso empleando materiales poliméricos biocompatibles como por ejemplo, el quitosano y el plasma rico en fibrina (PRF); los cuales se han valorado de manera individual con excelentes resultados. En este estudio, se propone analizar radiográficamente la regeneración ósea de ambos polímeros sobre alvéolos dentales postextracción. Se seleccionaron 5 pacientes con indicación de extracción de cordales inferiores bilaterales y a un alvéolo se aplicó quitosano y al otro PRF; se realizaron radiografías periapicales a los 15, 30, 60 y 120 días. Posteriormente, se analizaron las radiografías para observar el nivel de regeneración ósea y los resultados mostraron que ambos biomateriales regeneraron los tejidos, pero con la siguiente diferencia: la ROG con PRF ocurrió en menor tiempo mientras que la ROG con quitosano tuvo una mejor organización estructural. Se concluye que ambos biomateriales se pueden tomar como opciones de tratamientos en la regeneración ósea guiada de tejidos.

PALABRAS CLAVE: Regeneración ósea, quitosano, plasma rico en fibrina, biomateriales, plasma rico en plaquetas.

ABSTRACT

The bone regeneration it a procedure that consists in the formation of new bony tissues using biocompatible polymeric materials, among them the chitosan (natural biopolymer) and the rich fibrin plasma (PRF) this biomaterials have been studied and used to achieve the bony regeneration obtaining excellent results. The aim of this research was to design an experiment that allowing us to compare the regenerator effect of both polymers, after the extraction of dental pieces in human beings, using periapical radiography's. Five patients, with indication of extraction of the lower bilateral wisdom dental pieces were selected. Chitosan and PRF were applied on different dental sockets after surgery. To register the information, periapical Rx were taken and analyzed,

the procedure were done monthly, for 120 days. The results for Rx showed that both biomaterials regenerated bony tissue. The PRF generated major quantity of tissue in minor time whereas the chitosan did it with better structural organization, so, it was possible to conclude that chitosan and PRF represents interesting options for the treatments where guided bony regeneration is required.

KEY WORDS:Bone regeneration, chitosan, plasma rich in fibrin, biomaterials, platelet-rich plasma.

INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea guiada es un procedimiento quirúrgico que consiste en el incremento de la calidad y la cantidad del hueso. Se han descrito métodos para incrementar la formación ósea donde se incluyen el uso de injertos autólogos, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos aloplásticos. Existen otros enfoques biológicos que son usados para la promoción de la regeneración ósea, tales como el uso de factores de crecimiento y diferenciación, aplicación de proteínas de la matriz extracelular y el uso de mediadores para el metabolismo óseo¹.

La exploración de soluciones viables a los problemas de tejido óseo hace que se origine una gran demanda de métodos para reparar o regenerar hueso de manera artificial². Recientemente, el uso de quitosano en la regeneración ósea ha despertado un interés particular; éste biomaterial se obtiene de una desacetilación extrusiva derivada del biopolisacárido quitina, el cual es un biopolímero abundante en la naturaleza y se puede encontrar en los exoesqueletos de artrópodos, en las capas de crustáceos y en las cutículas de insectos³.

El quitosano tiene excelentes propiedades, incluyendo la actividad antimicrobial, el bajo costo de producción y la biocompatibilidad debido a que su estructura es similar a la glucosamina de la matriz extracelular. Este biopolímero puede ser usado en la inhibición de fibroplasia, curación de heridas, promoción de crecimiento óseo, incremento de la proliferación salival, inmunopotenciación antihipertensiva, inhibición del crecimiento de bacterias cariogénicas, potenciación de la respuesta antiinflamatoria; además del reclutamiento de agentes bioactivos como factores de crecimiento^{4,5,6,7}. Las diversas presentaciones del quitosano (polvo, gel y solución) permiten su utilización como vehículo y liberador de fármacos y péptidos, así como potenciador de la absorción, siendo un candidato para aplicaciones clínicas interesantes en los tratamientos de tejidos blandos, apósitos de protección de heridas, actividad hemostásica y antiinfecciosa, además de acelerar la cicatrización de heridas y la neoformación ósea y cartilaginosa⁸.

Los factores de crecimiento se conocen como intermediarios biológicos que se encargan de la proliferación, diferenciación y quimiotaxia celular, así como también de la formación de matriz extracelular, estos factores juegan un papel importante en la regeneración de tejidos duros y blandos. En el proceso de cicatrización, los factores de crecimiento son liberados cuando las plaquetas se degranulan, por lo tanto si existe un mayor número de plaquetas en el sitio de la lesión, se liberará mayor número de estos factores y la cicatrización será más rápida, éste es una de las ventajas de usar concentrados plaquetarios en la regeneración ósea⁹.

Entre estos concentrados plaquetarios se encuentran el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y el Plasma Rico en Fibrina o Fibrina rica en plaquetas (PRF), ambos formas autólogas de obtener un elevado número de plaquetas y por consiguiente factores de crecimientos a partir de sangre periférica. La concentración de plaquetas autólogas es la guía central de inicio aplicada a las

heridas quirúrgicas o a los injertos y otras lesiones, con la finalidad de acelerar la curación de tejidos duros y blandos ¹⁰. El PRF se considera como una segunda generación de concentrado plaquetario que exhibe algunas ventajas sobre el PRP, entre las cuales se destaca la facilidad de preparación y poco manejo bioquímico de la sangre, lo cual origina una preparación totalmente autóloga ¹¹.

Aunque se han estudiado el quitosano y el plasma rico en fibrina de manera individual, nuestro objetivo fue comparar ambos biomateriales como regeneradores de tejidos duros posterior a su implantación en alvéolos dentales empleando radiografías periapicales para su evaluación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron cinco pacientes con indicación de extracción de terceros molares inferiores, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión de la Tabla I. Se les informó a los pacientes las particularidades de la investigación seguida de la solicitud por escrito del consentimiento informado, el cual exponía los principios bioéticos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) basados en las normas de Helsinki ¹².

Tabla I. Criterios de inclusión y exclusión del estudio

<i>Criterios de inclusión</i>	<i>Criterios de exclusión:</i>
Pacientes de ambos géneros con terceros molares con indicación de extracción en un mismo maxilar (maxilar inferior), y ambos en posición similar, los cuales manifestaron a través del consentimiento informado su disposición de participar en este estudio	Pacientes que presenten compromiso sistémico bajo terapias farmacológicas con anticonvulsivantes, bloqueadores de los canales de calcio e inmunosupresores
	Pacientes con hábitos tabáquicos o chimóicos
	Pacientes embarazadas o en período de lactancia
	Piezas dentarias que se encuentren en posición C, Clase III de Pell y Gregory.

Fuente: Propia

La obtención de los biomateriales y los procedimientos clínicos se llevaron a cabo en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, dentro del Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular y el Centro de Investigaciones Odontológicas. Se examinaron los pacientes clínicamente y posterior a la extracción de los terceros molares, se implantaron membranas de quitosano en los alvéolos derechos, cortadas con un tamaño aproximado al del alvéolo post exodoncia (Figura 1a), las membranas fueron elaboradas a partir de quitosano en polvo para aplicación médica (marca GUINAMA, España) en solución de ácido acético 99 ± 1%, preparada con agua ultrapura de 18 MΩcm¹³. En los alvéolos izquierdos se implantó el PRF, este biomaterial fue colocado de la misma forma que se adquirió luego de someter la muestra de sangre al procedimiento de obtención del coágulo de fibrina (Figura 1b), siguiendo la técnica descrita por Chokroun y col., 2001¹¹, la cual se debe realizar 20 minutos antes de la cirugía, recogiendo 10 ml

de sangre venosa en tubos de ensayo estériles secos (sin anticoagulante). Luego se realizó una centrifugación inmediata a 2.030 rpm durante 10 minutos. El coágulo de fibrina se diseccionó aproximadamente 2mm por debajo de su conexión a la red de células blancas, éstas se encuentran dispuestas para localizar el cruce entre el PRF y los hematíes^{10, 14}.



Figura 1. Implantación de los biomateriales. Implantación de membranas de quitosano (1a). Implantación de PRF (1b).

Para el registro de los datos se tomaron 40 radiografías periapicales en total, éstos registros se realizaron en cuatro meses, y se dividieron en 4 citas a los quince, treinta, sesenta y ciento veinte días después de la implantación de lo biomateriales. Los datos se analizaron por medio de una clasificación que describe la regeneración del hueso mediante la observación radiográfica según lo indica la Tabla II¹³:

Tabla II: Clasificación del grado de regeneración ósea en la observación radiográfica:

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

Fuente: Campo M y col, 2011

Se realizó un análisis estadístico descriptivo, para establecer asociaciones estadísticas entre variables categóricas y diferencia de medidas entre variables cuantitativas, correspondientemente.

RESULTADOS

Una vez realizado el procedimiento quirúrgico se procedió a la evaluación radiográfica y se clasificaron las radiografías periapicales correspondientes a cada control radiográfico, a los quince, treinta, sesenta y ciento veinte días de la implantación de los materiales, de acuerdo al nivel de regeneración ósea según se muestra en la Figura 2.

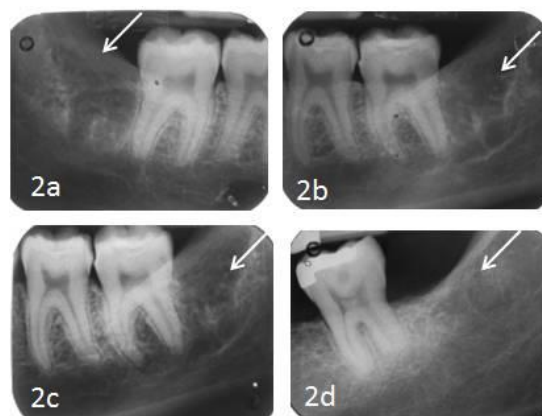


Figura 2. Radiografías periapicales representativas a la clasificación de la regeneración ósea: Grado 0 (2a), Grado 1 (2b), Grado 2 (2c) y Grado3 (2d).

En la Tabla III se resumen los porcentajes de regeneración ósea posterior a la aplicación de los biomateriales, cabe resaltar que en ambos casos hay una progresión en los niveles de regeneración ósea a medida que transcurre el tiempo de evaluación. Con ambos materiales (PRF y quitosano) se produce un nivel de regeneración ósea Grado 1 a los 15 días con un 60% y 80% respectivamente, pero hay un 40% de las muestras tratadas con PRF que se ubican en un nivel Grado 2.

A los 30 días hubo un 80% de las muestras que obtuvieron un nivel de regeneración ósea Grado 2 para ambos biomateriales; sin embargo, un 20% de las muestras tratadas con PRF se ubicaron en un nivel Grado 3 a diferencia del 20% de las muestras implantadas con quitosano que permanecieron o avanzaron a un nivel Grado 1.

A los 60 días, el 100% de las muestras tratadas con quitosano alcanzaron un nivel de regeneración ósea Grado 2 a diferencia de las muestras implantadas con PRF cuyos niveles de regeneración ósea fueron 60% Grado 2 y 40% Grado 3; los cuales aumentaron a 80% Grado 3 a los 120 días posterior a la implantación de PRF. En cambio, solo un 40% de las muestras tratadas con quitosano alcanzaron un nivel grado 3 a los 120 días de evaluación.

Tabla III: Niveles de Regeneración de los biomateriales.

Control	PRF	QUITOSANO
---------	-----	-----------

15 días	60% Grado 1 40% Grado 2	80% Grado 1 20% Grado 0
30 días	80% Grado 2 20% Grado 3	80% Grado 2 20% Grado 1
60 días	60% Grado 2 40%Grado 3	100% Grado 2
120 días	80% Grado 3 20% Grado 2	60% Grado 2 40% Grado 3

Fuente: Propia

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que los niveles de regeneración obtenidos superan los esperados por reparación convencional, debido a que la literatura reporta que fisiológicamente el tejido óseo alcanza grado 1 después de 130 días del traumatismo ¹⁵. Los grupos estudiados con ambos materiales demostraron radiográficamente un comportamiento proliferativo de tejido óseo. Estos resultados pueden atribuirse a la capacidad que tienen los materiales utilizados en esta experiencia de unirse a los osteoblastos y promover la maduración ósea en concordancia con lo reportado en la literatura ^{10, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22}.

Por otra parte el 80% de las muestras tratadas con PRF alcanzaron nivel de regeneración grado 3 a los 120 días, este biomaterial se caracteriza por ser autólogo, lo que hace que el organismo lo reconozca más rápidamente, promoviendo adecuadamente el proceso de regeneración; estas afirmaciones presentan correspondencia con los estudios de Fernández y col. (2005)¹³, Sunitha y col. (2008)¹⁰, Anilkulmar (2009)¹¹ y Pradeep y col. (2012)²⁰, quienes afirman que el PRF es un biomaterial autólogo prometedor para la regeneración de tejidos.

Finalmente, los resultados obtenidos con las membranas de quitosano demostraron, radiográficamente, que 40% de ellos alcanzaron nivel de regeneración grado 3 a los 120 días. Los datos obtenidos sugieren que el quitosano cumplió con sus propiedades osteoconductoras y regeneradoras de tejido tal como lo describe Shin y col. (2005)¹⁷, Stephan y col. (2010)¹⁶, Miranda y col. (2012)¹⁹, Bi y col. (2010)²¹, quienes afirman que el quitosano es un biomaterial compatible que conduce la formación de hueso.

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

CONCLUSIONES

El PRF utilizado como biomaterial para la regeneración ósea en alveolos dentales postextracción, demostró tener la capacidad de regenerar el mineral óseo de manera rápida, alcanzando grado 3 a los 30 días de ser implantado. La membrana de quitosano como biomaterial aloplástico para regeneración ósea, utilizada en los alveolos postextracción, alcanzó nivel de regeneración ósea grado 3 a los 120 días de ser implantado, éstos resultados difieren con los encontrados en el PRF, ya que el quitosano alcanzó este nivel de regeneración en un menor número de muestras, sin embargo, se observan características radiográficas que demuestran que la neoformación ósea conducida por este biomaterial continúa. Ambos biomateriales resultaron ser efectivos en el

tratamiento de la regeneración ósea, por lo tanto se vuelven opciones terapéuticas válidas para ser utilizadas en la curación de tejidos duros de humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Oktay E, Demiralp B, Demiralp B, Senel S, Cevdet-Akman A, Eratalay K, Akincibay H. Effects of platelet-rich plasma and chitosan combination on bone regeneration in experimental rabbit cranial defects. *J Oral Implant.* (2010); 36(3):175–184.
2. Vallet M. Bicerámicas: regeneradoras de hueso y portadoras de sustancias biológicamente activas. *Transatlántica de Educación.* (2007); III: 60–72. Disponible en: <http://www.educacion.gob.es/exterior/mx/es/transatlantica/Transatlantica03.pdf>
3. Busscher H, Engels E, Dijkstra R, van der Mei H. Influence of a chitosan on oral bacterial adhesion and growth in vitro. *Eur J Oral Sci.* (2008); 116(5):493–495.
4. Mohire N, Yadav A. Chitosan-based polyherbal toothpaste: as novel oral hygiene product. *Indian J. Dent Res.* (2010); 21(3): 380-384.
5. Patel V, Patel M, Patel K. Chitosan: A Unique Pharmaceutical Excipient. *Drug Dev Deliv.* (2008); 5(6):.1-6
6. Novamatrix Ultrapure Biopolymer Systems. Chitosan. Disponible en: http://www.novamatrix.biz/Portals/novamatrix/Content/Docs/ProductDocs/chitosan_General_info.pdf
7. Shridhar P, Harinarayana D, Devendra J, Sushant K, Shital B, Nitin K. An Attractive Biocompatible Polymer for Pharmaceutical Application in Various Dosage Forms : Chitosan. *Pharmainfo.net* (2008)20 (04). Disponible en: <http://www.pharmainfo.net/pharma-student-magazine/attractive-biocompatible-polymer-pharmaceutical-application-various-dosage--0>
8. Ballal N, Kundabala M, Bhat K, Acharya S, Ballal M, Kumar R, Prakash P. Susceptibility of *Candida albicans* and *Enterococcusfaecalis* to chitosan, chlorhexidine gluconate and their combination in vitro. *Aust Endod J.* (2009); 35(1): 29-33.
9. Moreno L, Marín G, Enriquez F, González J, Moreno L, Cisneros L, De la Sancha L. Utilización de plasma rico en plaquetas para la regeneración periodontal en un perro. *Rev Odont Mex.* (2004); 8(3): 64-69.
10. Sunitha V, Munirathnam E. Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res.* (2008); 19(1):42-46.
11. Dohan D, Choukroun J, Diss A, Dohan S, Dohan A, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* (2006); 101(3): E37-44.
12. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. El consentimiento informado. *Manual de Bioética.* (2010); Disponible en: <http://www.ivic.gob.ve/bioetica/?mod=manual.php>.
13. Campo M, Contreras C. Efectividad de membranas de quitosano con y sin hidroxiapatita para la regeneración ósea guiada. [Tesis de pregrado] Venezuela: Universidad de Los Andes, Facultad de Odontología; 2011.
14. Gürbüz B, Pıkdöken L, Tunali M, Urhan M, Küçükodacı Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *J Oral Maxillofac Surg.* (2010); 68(5): 980-989.
15. Fernández I, Alobera M, del Canto M, Blanco L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* (2006); 11(2): E151-157. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/medicorpa/v11n2/12.pdf>
16. Stephan S, Tholpady S, Gross B, Petrie-Aronin C, Botchway E, Nair L, Ogle R, Park S. Injectable tissue-engineered bone repair of a rat calvarial defect. *Laryngoscope.* (2010); 120(5):895-901.
17. Shin S, Park H, Kim K, Lee m, Choi Y, Park Y, Lee Y, Ku Y, Rhyu I, Han S, Lee S, Chung C. Biological evaluation of chitosan nanofiber membrane for guided bone regeneration. *J Periodontol.* (2005); 76(10):1778-1784.
18. Fernández R, López M, Ruiz E. Plasma rico en factores de crecimiento en cirugía bucal: Presentación de un caso clínico. *Rev Odont Mex.* (2005); 9(3):141-146.
19. Miranda S, Silva G, Mendes R, Abreu F, Caliar M, Alves J, Goes A. Mesenchymal stem cells associated with porous chitosan-gelatin scaffold: a potential strategy for alveolar bone regeneration. *J Biomed Mater Res A.* (2012); 100(10):2775-2786.
20. Pradeep A, Rao N, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik S. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* (2012); 83(12):1499-1507.
21. Bi L, Cheng W, Fan H, Pei G. Reconstruction of goat tibial defects using an injectable tricalcium phosphate/chitosan in combination with autologous platelet-rich plasma. *Biomaterials.* (2010); 31(12): 3201-3211.
22. Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R, Pameela E. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach. *J Indian Soc Periodontol.* (2009); 13(1):50-54.