

Η χρήση του πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP) στη Στοματική και Γναθοπροσωπική Χειρουργική – Σύγχρονα δεδομένα.

Χ. ΜΑΓΟΠΟΥΛΟΣ¹, Φ. ΠΑΠΠΑΣ², ΕΛ. ΛΕΒΕΝΤΗ², Ι. ΔΗΜΗΤΡΑΚΟΠΟΥΛΟΣ³

Από την Κλινική Στοματικής και Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής «Γ.Π.Ν. Γ. Παπανικολάου» Α.Π.Θ.

The use of platelet rich plasma (PRP) in Oral and Maxillofacial Surgery – Current prospects

CH. MAGOPOULOS¹, F. PAPPAS², EL. LEVENTI², I. DIMITRAKOPOULOS³

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, «G. Papanikolaou Hospital», Aristotle University of Thessaloniki.

Περίληψη

Η ταχύτερη και καλύτερη επούλωση τόσο των σκληρών όσο και των μαλακών ιστών αποτελεί το ζητούμενο στη Στοματική και Γναθοπροσωπική χειρουργική. Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει προς αυτήν την κατεύθυνση με τη χρήση ποικίλων υλικών, ένα από τα οποία είναι το Πλάσμα Πλούσιο σε Αιμοπετάλια (platelet-rich plasma - PRP). Το PRP αποτελεί μια αυτόλογη ουσία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορες χειρουργικές επεμβάσεις και περιλαμβάνει σε υψηλή συγκέντρωση αυξητικούς παράγοντες, όπως ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF), ο ινσουλινομορφος αυξητικός παράγοντας (IGF), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) και ο επιθηλιακός αυξητικός παράγοντας (EGF), οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην οστική επούλωση.

Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι η περιγραφή της βιολογικής δράσης του PRP, καθώς και η ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας σχετικά με την αποτελεσματικότητά του στην επουλωτική διαδικασία και στην ποιότητα του νεοσχηματιζόμενου οστού. Επίσης, περιγράφονται η τεχνική παρασκευής και η κλινική εφαρμογή του PRP σε δύο τυπικές περιπτώσεις εγχειρητικής αποκατάστασης οστικών ελλειμμάτων των γνάθων, ενός συγγενούς αιτιολογίας (γναθοϋπερωισχιστίας) και ενός επίκτητου (ευμεγέθους οστική κύστη).

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, οστικά μοσχεύματα.

Summary

The improvement in soft and hard tissue healing procedure is a subject of research in Oral and Maxillofacial Surgery. A promising material in order to achieve this purpose is platelet rich plasma (PRP). PRP is an autologous material which can be used in many different surgical procedures. It consists of growth factors (GFs) in quite high concentrations, especially Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Insulin-like Growth Factor (IGF), Vascular Endothelial Cell Growth Factor (VEGF) and Epithelial Growth Factor (EGF) which are proved to be important in wound healing and bone regeneration.

The aim of this study is initially to perform a literature review, in order to survey the available information on the potential of PRP to enhance rate and quality of new bone formation. In addition, the PRP preparation technique is described and a clinical evaluation of its regenerative capacity is made in two different cases, concerning the application of PRP in a residual maxillary cyst and in alveolar bone grafting in cleft palate surgery.

KEY WORDS: Platelet-rich plasma, bone graft .

Στάλθηκε στις 2.6.2005. Εγκρίθηκε στις 20.7.2005.

¹ Ειδικευόμενος Στοματικής και Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής Α.Π.Θ.

² Οδοντίατρος

³ Αν. Καθηγητής

Received on 2nd June, 2005. Accepted on 20th July, 2005.

¹ Resident of Oral and Maxillofacial Surgery

² Dentist

³ Assoc. professor

Εισαγωγή

Το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (Platelet rich plasma – PRP) είναι ένα αυτόλογο μοσχευματικό υλικό το οποίο χρησιμοποιήθηκε, ευρέως, σε πολλές ειδικότητες για την επιτάχυνση της επούλωσης των μαλακών ιστών. Τα τελευταία χρόνια, η χρήση του έχει επεκταθεί και στην οστική μεταμόσχευση, αντιπροσωπεύοντας μία νέα βιοτεχνολογία στην ιστική μηχανική. Αποτελείται από αιμοπετάλια σε υψηλή συγκέντρωση και μικρή ποσότητα πλάσματος. Ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων κυμαίνεται μεταξύ 150.000/μl και 300.000/μl με μέσο όρο τα 200.000/μl, ενώ το PRP περιλαμβάνει συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων 5 φορές υψηλότερες, περίπου 1.000.000/μl. Στη Στοματική και Γναθοπροσωπική Χειρουργική, το PRP έχει χρησιμοποιηθεί σε ποικίλες επεμβάσεις, όπως σε ανύψωση του εδάφους ιγμόρειου άντρου, σε επεμβάσεις οστεοπλαστικής, σε σχιστίες, σε αύξηση του όγκου της υπολειμματικής φατνιακής ακρολοφίας, σε πλήρωση οστικών ελλειμμάτων, στη θεραπεία περιοδοντικών και περιεμφυτευματικών βλαβών, καθώς και σε πλαστικές αποκαταστάσεις μαλακών μορίων.

Βιολογία του PRP

Η δράση του PRP οφείλεται πρωτίστως στους αυξητικούς παράγοντες των αιμοπεταλίων. Επομένως με τη χρήση του αναμένεται θεωρητικά μια σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης αυτών των αυξητικών παραγόντων στην περιοχή, με αποτέλεσμα καλύτερη και ταχύτερη επουλωτική πορεία. Οι γνωστότεροι αυξητικοί παράγοντες που περιέχονται στο PRP είναι: ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF), ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας β (TGF-β), ο ινσουλινομορφος αυξητικός παράγοντας Ι (IGF-I), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ο επιθηλιακός αυξητικός παράγοντας (EGF) και ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας b (FGF-b).^{1,2}

- Ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF) ο οποίος εμφανίζεται σε τρεις ισομορφές: δύο ομοδιμερή PDGF-aa και PDGF-bb και ένα ετεροδιμερές PDGF-ab^{3,4}. Εντοπίζεται στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων⁵, αλλά και σε άλλα είδη κυττάρων, όπως στα μακροφάγα⁶, στα ενδοθηλιακά κύτταρα⁷, στα μονοκύτταρα και στους ινοβλάστες⁸. Παρουσιάζει ισχυρή μιτογόνο δράση, καθώς και χημειοτακτικές και αγγειογενετικές ιδιότητες. In vitro, οι PDGF-aa και PDGF-bb ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό πολλών σειρών άωρων οστικών κυττάρων, όπως αυτά της σειράς των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών³⁶. Η μιτογόνο δράση του PDGF στα οστικά κύτταρα φαίνεται να εξαρτάται τόσο από την ηλικία του δότη, όσο και από το στάδιο διαφοροποίησης, με αποτέλεσμα η δράση του αυξητικού παράγοντα να είναι περιορισμένη σε υψηλότερα επίπεδα κυ-

ταρικής διαφοροποίησης, ενώ παράλληλα ο TGF-β φαίνεται πως αδρανοποιεί περαιτέρω τη δράση του PDGF³⁶. Σε μελέτες για την επίδραση του PDGF σε επεμβάσεις αναγέννησης σε περιοδοντικούς και περιεμφυτευματικούς ιστούς πειραματόζων διαπιστώθηκε αύξηση του οστού σε πιθήκους⁹ και κέρδος πρόσφυσης σε σκυλιά¹⁰. Μάλιστα ο συνδυασμός IGF και PDGF σε πειράματα με πιθήκους είχε ακόμα θετικότερα αποτελέσματα¹⁰.

- Ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας β (TGF-β) αποτελεί μιτωτικό και χημειοτακτικό παράγοντα που ελκύει αδιαφοροποίητα κύτταρα στην περιοχή επούλωσης, ώστε να προκύψουν ώριμοι ινοβλάστες, οστεοβλάστες και χονδροβλάστες, ενώ συμβάλλει στην παραγωγή της οστικής θεμέλιας ουσίας^{3,4}. Παρά το γεγονός ότι ο TGF-β διεγείρει το σχηματισμό οστεοειδούς, στην πραγματικότητα εμποδίζει την επασβέστωση και τη μετατροπή του σε ώριμο οστίτη ιστό^{39,40}. Φαίνεται ότι συμμετέχει στις διαδικασίες οστεογένεσης μόνο σε πρώιμα στάδια οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει την οστική απορρόφηση εμποδίζοντας το σχηματισμό και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών¹¹.
- Ο ινσουλινομορφος αυξητικός παράγοντας Ι (IGF-I) έχει αναγνωρισθεί ως σημαντικός μιτογόνος παράγοντας για αρκετούς κυτταρικούς τύπους σε συνδυασμό με τον PDGF και τον EGF³³. Εμφανίζεται σε δύο ισομορφές, τους IGF-I και -II από τις οποίες η μορφή Ι παίζει σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες οστεογένεσης σε μετεμβρυϊκό στάδιο³⁶. Παρουσιάζει χημειοτακτικές ιδιότητες στην κυτταρική σειρά των οστεοβλαστών, ενώ συμμετέχει και στη δημιουργία της οστικής θεμέλιας ουσίας. Δεν παρουσιάζει μόνος του οστεογενετικές ιδιότητες, συμμετέχοντας μόνο στις πρώτες φάσεις της οστικής επούλωσης. In vivo ο συνδυασμός IGF I και PDGF συνέβαλε στην καλύτερη διαμόρφωση οστού γύρω από εμφυτεύματα¹³.
- Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) έχει συγγενική χημική δομή με τον PDGF και παρουσιάζει πληθώρα ιδιοτήτων μεταξύ των οποίων είναι η ενίσχυση της μιτωτικής δραστηριότητας και της προσκολλητικής ικανότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων στο εξωκυττάριο δίκτυο, ενώ δρώντας χημειοτακτικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα ευνοεί τον σχηματισμό νεόπλαστων τριχοειδών^{3,4}. Συμμετέχει στις πρώτες φάσεις της οστικής διαμόρφωσης-επούλωσης, ενώ η αγγειογενετική του δράση επηρεάζεται άμεσα από ορμόνες και μεταβολίτες (οιστρογόνα, τεστοστερόνη, TSH, Cox-2), αλλά και από αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες (PDGF, FGF, IL-1β, TNF). Ταυτόχρονα, η υποξία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους ενεργοποιητές του VEGF συμμετέχοντας

ενεργά και στην πρώτη φάση της οστεογένεσης³⁴.

- Ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας, τέλος, καθώς και οι υποδοχείς του, παίζουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση και στην οστική διαμόρφωση, προάγοντας το σχηματισμό και την διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων και ενισχύοντας τη δράση του VEGF.

Το PRP ουσιαστικά αποτελεί συνδυασμό των αυξητικών παραγόντων μέσα σε φυσικό θρόμβο που λειτουργεί ως μεταφορέας. Ο θρόμβος αυτός αποτελείται από φιβρίνη, φιβρονεκτίνη και βιτρονεκτίνη, που είναι πρωτεΐνες-μόρια προσκόλλησης (cell adhesion molecules), απαραίτητα για την κυτταρική μετανάστευση κατά τη διαδικασία της οστικής επούλωσης. Τα μόρια προσκόλλησης σε αντίθεση με τους αυξητικούς παράγοντες, περιέχονται στο PRP στις ίδιες συγκεντρώσεις με αυτές του φυσικού θρόμβου (200 μg – 400 μg/ml).

Το PRP λειτουργεί μέσα από την αποκοκκίωση των α-κοκκίων των αιμοπεταλίων που περιέχουν τους αυξητικούς παράγοντες. Η ενεργή απέκκριση αυτών των αυξητικών παραγόντων ξεκινά ταυτόχρονα με τη διαδικασία της πήξης, ενώ υπολογίζεται ότι περισσότερο από το 95% των αυξητικών παραγόντων απελευθερώνονται την πρώτη ώρα από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων^{2,33}. Οι αυξητικοί παράγοντες πριν την έκκριση τους είναι ατελείς. Κατά τη διαδικασία της έκκρισης, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια διασπείρονται στο πλέγμα φιβρίνης του θρόμβου και εκκρίνουν τους αυξητικούς παράγοντες μέσω της κυτταρικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα τα α-κοκκία προσκολλούνται στην κυτταρική μεμβράνη και η πρωτεΐνη μετατρέπεται σε ένα βιοενεργό μόριο με την προσθήκη ιστώνων και υδατανθρακικών αλυσίδων. Καθώς η δομή του θρόμβου συγκρατεί εντός του πλέγματος τους περισσότερους από τους αυξητικούς παράγοντες, κάποιοι διαφεύγουν στους περιβάλλοντες ιστούς του μοσχεύματος και της μοσχευματικής κοίτης. Αυτοί οι παράγοντες είναι υπεύθυνοι για την ενεργοποίηση και την μετακίνηση των αρχέγονων κυττάρων προς την κατεύθυνση της μεγαλύτερης συγκέντρωσης αυξητικών παραγόντων μέσα στο θρόμβο.

Στη συνέχεια, καθώς τα κύτταρα αυτά μετακινούνται μέσα στο πλέγμα φιβρίνης του θρόμβου, μόρια φιβρονεκτίνης δρώντα ως μόρια προσκόλλησης, τα δεσμεύουν μέσω ειδικών υποδοχέων της κυτταρικής τους μεμβράνης και τα ακινητοποιούν. Σε αυτή τη φάση αρχίζουν τη δράση τους οι αυξητικοί παράγοντες του θρόμβου, οι οποίοι προσκολλώνται τόσο στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης των κυττάρων του μοσχεύματος όσο και των παρακείμενων κυττάρων της μοσχευματικής κοίτης, μέσω ειδικών υποδοχέων. Μελέτες έχουν αποδείξει ότι οι οστεοβλάστες, οι κυτταρικές σειρές των ινοβλαστών, των ενδοθηλιακών και των επιδερμικών κυττάρων εκφράζουν τους υποδοχείς

των αυξητικών παραγόντων του PRP. Οι υποδοχείς αυτοί, μετά τη σύνδεση του αυξητικού παράγοντα, προάγουν περαιτέρω την ενδοκυττάρια μεταβίβαση του σήματος και τη μεταγωγή του μέχρι τον πυρήνα, όπου αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένες αλληλουχίες γονιδίων-στόχων για τη διαίρεση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Τα αιμοπετάλια συνεχίζουν την παραγωγή και έκκριση των αυξητικών παραγόντων περίπου για τις πρώτες 7 ημέρες, οπότε το έργο τους συνεχίζουν τα μακροφάγα, τα οποία μετακινούνται χημειοτακτικά προς χαμηλότερες μερικές πιέσεις O₂, όπου μπορούν να παράγουν μερικούς από τους αυξητικούς παράγοντες³⁴. Θεωρητικά, επομένως, ο αριθμός των αιμοπεταλίων στο αιμόπηγμα στην περιοχή του μοσχεύματος, είναι καθοριστικός για την πορεία της επούλωσης και με τη χρήση του PRP, ο αριθμός αυτός αυξάνεται σημαντικά. Συγκεκριμένα, παρουσιάζεται μια αύξηση του PDGF κατά 30 φορές, του TGB-β κατά 7 φορές και του EGF κατά 10 φορές¹.

Στην κλινική πράξη το PRP χρησιμοποιείται, σήμερα, σε πληθώρα θέσεων στη Στοματική και Γναθοπροσωπική χειρουργική με τη βοήθεια τυποποιημένης διαδικασίας και κατάλληλου εξοπλισμού που εξασφαλίζουν την υψηλή πυκνότητα των αυξητικών παραγόντων στο παραγόμενο αυτόλογο προϊόν. Στη συνέχεια περιγράφεται η διαδικασία παρασκευής του PRP, και αναφέρονται δύο περιπτώσεις όπου χρησιμοποιήθηκε PRP για την κάλυψη οστικών ελλειμμάτων από επεμβάσεις στις γνάθους.

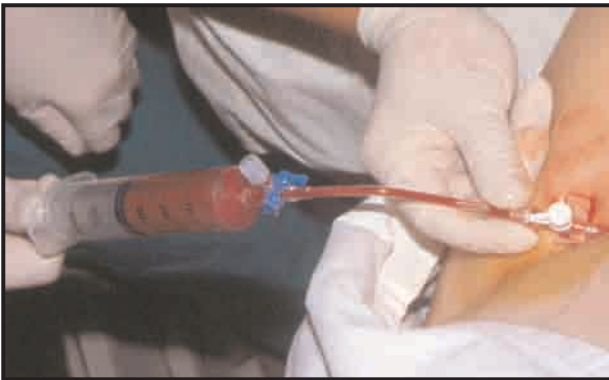
Τεχνική παρασκευής του PRP

Έχουν περιγραφεί διάφορες τεχνικές παρασκευής του PRP στη βιβλιογραφία, οι οποίες στο σύνολό τους στηρίζονται στη διαδικασία διπλής φυγοκέντρησης φλεβικού αίματος του ασθενή που λαμβάνεται λίγο προ της χειρουργικής επέμβασης. Κατά την τεχνική Smart Prep της εταιρίας Harvest Technologies αρχικά αναρροφούνται 9 κ.εκ. αντιθρομβωτικού με βάση το κιτρικό άλας σε σύριγγα 60 κ. εκ. (Εικ. 1) και εγχύονται 2 κ. εκ. από αυτά στο ειδικό φιαλίδιο πλάσματος. Στη συνέχεια,



Εικ. 1. Αναρρόφηση 9 κ. εκ. αντιθρομβωτικού με βάση το κιτρικό άλας.

λαμβάνεται φλεβικό αίμα του ασθενούς έως τα 60 κ. εκ. της σύριγγας (53 κ. εκ. ολικού αίματος και 7 κ.εκ. αντιθρομβωτικού) για τις γυναίκες, και τα 55 κ.εκ. (48 κ.εκ. ολικού αίματος και 7 κ. εκ. αντιθρομβωτικού) για τους άντρες, σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (Εικ. 2). Εγχύεται, κατόπιν, το περιεχόμενο της σύριγγας στο ειδικό φιαλίδιο αίματος (κόκκινο χρώμα) (Εικ. 3) και τοποθετείται συσκευή φυγοκέντρησης μαζί με το κατάλληλο αντίβαρο, στις ειδικές υποδοχές (Εικ. 4). Κατά τη διαδικασία της διπλής φυγο-



Εικ. 2. Διαδικασία αιμοληψίας.



Εικ. 3. Εγχυση του περιεχομένου της σύριγγας στο ειδικό φιαλίδιο αίματος



Εικ. 4. Τοποθέτηση των φιαλιδίων στη συσκευή φυγοκέντρησης μαζί με το κατάλληλο αντίβαρο.

κέντρησης διαχωρίζονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια από το πλάσμα και τα αιμοπετάλια συγκεντρώνονται με τη μορφή σφαιρικής μάζας στον πυθμένα του φιαλιδίου του πλάσματος (Εικ. 5). Όλη αυτή η αυτοματοποιημένη



Εικ. 5. Κατά το πέρας της φυγοκέντρησης διαχωρίζονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια από το πλάσμα και τα αιμοπετάλια.



Εικ. 6. Αναρρόφηση των 2/3 του εναιωρήματος του PPP.



Εικ. 7. Τοποθέτηση του PPP στο ειδικό φιαλίδιο.

διαδικασία διαρκεί περίπου 12 λεπτά. Ως εναιώρημα παραμένει μικρή συγκέντρωση αιμοπεταλίων, το πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (PPP-Platelet poor plasma). Περίπου τα 2/3 του εναιωρήματος του PRP, αναρροφώνται (Εικ. 6, 7) και χρησιμοποιούνται ως αυτόλογη μεμβράνη, ή ως αιμοστατικό, ενώ το υπόλοιπο μαζί με τη μάζα των αιμοπεταλίων στον πυθμένα σχηματίζει το PRP (περίπου 7 κ. εκ.) (Εικ. 8, 9). Τα διαλύματα τόσο του PRP, όσο και του PPP ενεργοποιούνται από 5.000 U θρομβίνης βοείου τύπου σε 5 κ. εκ. διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου 10% μέσα σε ειδική σύριγγα



Εικ. 8. Αναρρόφηση του PRP μέχρι πλήρους εκκένωσης του φιαλιδίου.



Εικ. 9. Τοποθέτηση του PRP στο ειδικό φιαλίδιο.

ανάμειξης 20 G, καθιστώντας τα έτοιμα προς χρήση (Εικ. 10, 11, 12, 13, 14).

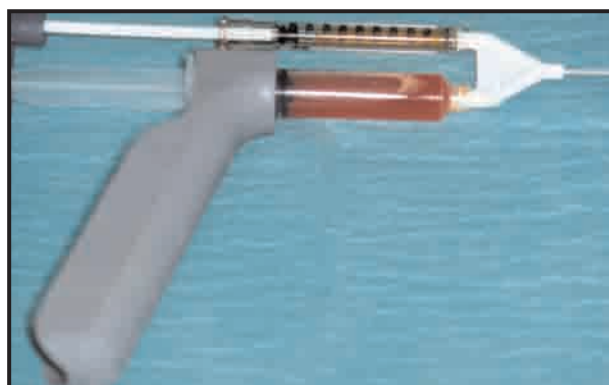
Κατά τη διαδικασία αυτή παρασκευής του PRP περίπου το 68% των αιμοπεταλίων του αίματος επιβιώνουν, ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης των αυξητικών παραγόντων αγγίζει το 600% για τον PDGF, το 727%



Εικ. 10. Τοποθέτηση 5.000 U θρομβίνης και 5 κ. εκ. διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου 10%, στο ειδικό φιαλίδιο.



Εικ. 11. Αναρρόφηση του PRP και του διαλύματος θρομβίνης σε σύριγγες ανάμειξης.



Εικ. 12. Τοποθέτησή τους στην ειδική συσκευή ανάμειξης.

για τον TGF-β, το 428% για τον VEGF και το 550% για τον EGF³³.

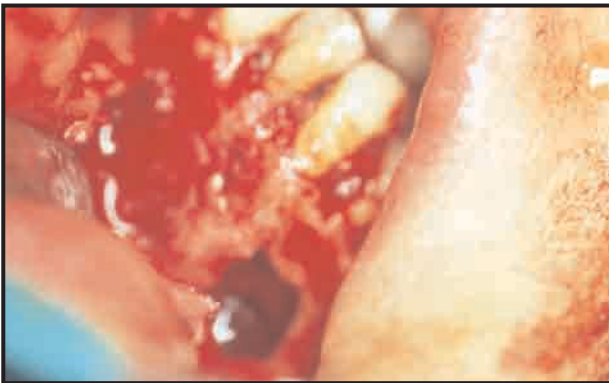
Σε δύο περιστατικά στην Κλινική της Στοματικής και Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής του Α.Π.Θ., χρησιμοποιήθηκε το PRP, το οποίο παρασκευάστηκε με την



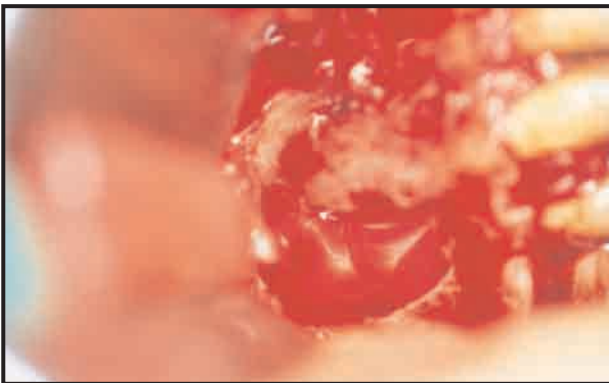
Εικ. 13. Το PRP έτοιμο προς χρήση.



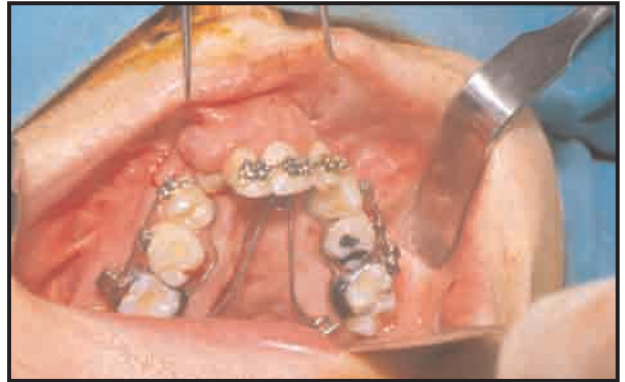
Εικ. 14. Το PRP στο χειρουργικό λεκανίδιο.



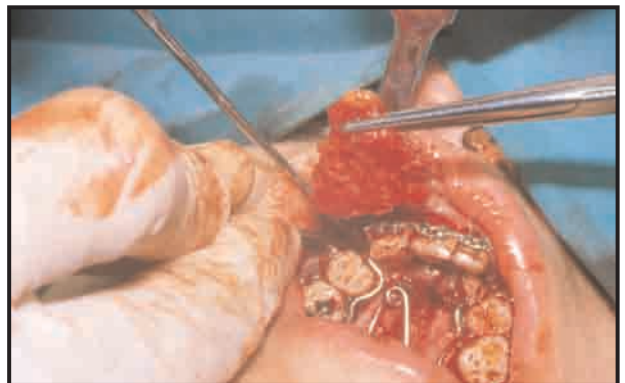
Εικ. 15. Εκτομή της κύστης.



Εικ. 16. Πλήρωση του οστικού ελλείμματος με PRP.



Εικ. 17. Γναθοϋπερωισχιστία προεγχειρητικά.



Εικ. 18. Τοποθέτηση του PRP κατά τη διαδικασία της οστεοπλαστικής.

παραπάνω μέθοδο για την πλήρωση οστικών ελλειμμάτων εκτεταμένης υπολειμματικής κύστης άνω γνάθου (Εικ. 15, 16) και οστεοπλαστικής γναθοϋπερωισχιστίας (Εικ. 17, 18). Και στις δύο αυτές περιπτώσεις, τόσο η άμεση, όσο και η απώτερη μετεγχειρητική πορεία ήταν ομαλή, ενώ τα αποτελέσματα της οστικής επούλωσης αναμένονται.

Πειραματικές μελέτες και κλινική αξία του PRP

Η πρώτη αναφορά για εφαρμογή του PRP στη Γναθοπροσωπική χειρουργική έγινε το 1997 με το άρθρο των Whitman και συν.³. Ωστόσο, η απήχηση του PRP στη στοματική και Γναθοπροσωπική χειρουργική αυξήθηκε, κυρίως, με το άρθρο των Marx και συν. το 1998¹. Από τότε έχουν γίνει πολλές έρευνες σχετικά με την αποτελεσματικότητα του PRP όσον αφορά τη συμβολή του στην καλύτερη και γρηγορότερη οστική επούλωση, σε συνδυασμό με κάποιο είδος μοσχεύματος ή ακόμη και μόνο του.

Δεν είναι πολλές οι έρευνες που είχαν ως αντικείμενο μελέτης την αποτελεσματικότητα του PRP στην πλήρωση οστικών ελλειμμάτων σε συνδυασμό με αυτογενές οστικό μόσχευμα. Από τις πρώτες σχετικές έρευνες ήταν αυτή του Marx και συν.¹, στην οποία μελέτησαν κατά πόσο το PRP βελτίωσε την ικανότητα του

αυτογενούς οστικού μοσχεύματος για επιτυχή αποκατάσταση του οστικού ελλείμματος που είχε προκύψει μετά από αφαίρεση όγκου στην κάτω γνάθο. Ο ακτινογραφικός έλεγχος σύμφωνα με τους ανωτέρω ερευνητές, είχε δείξει ότι ο βαθμός ωρίμανσης του μοσχεύματος γινόταν από 1.6 έως 2.2 φορές γρηγορότερα με τη χρήση του PRP, ενώ η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι μετά από 6 μήνες, τα δείγματα παρουσίαζαν σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό σπογγώδους οστού (74% με PRP έναντι 55% με την τοποθέτηση αυτογενούς οστικού μοσχεύματος, αλλά χωρίς τη χρήση PRP). Σε μελέτη των Fennis και συν.¹⁴ σε κασικές μετά από αφαίρεση οστού στη γωνία της κάτω γνάθου, χρησιμοποιήθηκε αυτογενές μόσχευμα από την πρόσθια λαγόνια ακρολοφία σε συνδυασμό με PRP. Ο ακτινογραφικός έλεγχος έδειξε ότι στις 3 εβδομάδες δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές. Αντίθετα, στις 6 και στις 12 εβδομάδες, με βάση τα ακτινογραφικά ευρήματα και το μεγαλύτερο βαθμό ακτινοσκοπιότητας στις συγκεκριμένες περιοχές, η εξάλειψη του ελλείμματος και η δημιουργία νέου σπογγώδους οστού ήταν πιο έντονη εκεί, όπου είχε χρησιμοποιηθεί PRP. Θετικά αποτελέσματα σε επεμβάσεις για ανύψωση του ιγμόρειου άντρου με τη χρήση PRP σε συνδυασμό με αυτογενές οστικό μόσχευμα δημοσίευσε και ο Garg¹⁵.

Εκτός της δράσης του στην οστική επούλωση, το PRP έχει αποδειχτεί ότι δρα θετικά και στην επούλωση των μαλακών ιστών. Χαρακτηριστικές είναι οι μελέτες των Man και συν.¹⁶ στην πλαστική χειρουργική, των Adler & Kent¹⁷ σε αισθητικές επεμβάσεις του προσώπου, των Abuzeni & Alexander¹⁸, καθώς και των Monteleone και συν.¹⁹, οι οποίοι χρησιμοποίησαν δερματικά μοσχεύματα με PRP και διαπίστωσαν καλύτερη επούλωση με τη χρήση του PRP.

Εκτός όμως από τη δράση του PRP σε αυτογενή οστικά μοσχεύματα, μελέτες έχουν γίνει και για τα αποτελέσματα από τη χρήση του σε συνδυασμό με άλλου είδους οστικά μοσχεύματα. Οι Kim και συν.²⁴ μελέτησαν τη χρήση του PRP σε συνδυασμό με Bio-Oss, για την πλήρωση οστικών ελλειμμάτων σε κουνέλια. Ο ακτινογραφικός έλεγχος έδειξε δημιουργία περισσότερου και καλύτερης ποιότητας οστού με τη χρήση του PRP τόσο στον ένα όσο και στους δύο μήνες μετεγχειρητικά.

Μια κλινική μελέτη σε ανθρώπους είναι αυτή του Wilfang και συν.²⁵ Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 45 επεμβάσεις ανύψωσης ιγμόρειου άντρου σε 39 ασθενείς. Τυχαία, σε 22 από τις επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκε PRP σε συνδυασμό με β-φωσφορικό τριασβέστιο (β-TCP), ενώ σε 23 επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκε μόνο β-φωσφορικό τριασβέστιο. Κατά την τοποθέτηση των οδοντικών εμφυτευμάτων 6 μήνες μετεγχειρητικά, πραγματοποιήθηκε βιοψία, όπου διαπιστώθηκε ότι χωρίς τη χρήση του PRP η οστική αναγέννηση έφτασε κατά μέσο όρο το 29%, ενώ με την προσθήκη του PRP

στο β-TCP, το 38%. Η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι γύρω από το παραμένον TCP παρουσιάστηκαν νεοσχηματιζόμενες οστικές δοκίδες²⁹, ενώ μεταξύ του οστού και του κεραμικού υλικού, παρατηρήθηκε τόσο άμεση επαφή όσο και εστιακή παρεμβολή μαλακών ιστών. Δεν παρατηρήθηκε ταχύτερη απορρόφηση του β-TCP με την προσθήκη του PRP. Η σχέση μεταξύ των κόκκων του β-TCP και του νεόπλαστου οστού ήταν 13.8 % με PRP και 15% χωρίς PRP.

Οι Kim και συν.²⁶ μελέτησαν την αποτελεσματικότητα της χρήσης συνδυασμού του PRP με απομεταλλωμένη οστική θεμέλια ουσία (DBM), στη διαδικασία οστεοενσωμάτωσης οδοντικών εμφυτευμάτων σε οστικά ελλείμματα γνάθων που προκάλεσαν οι ερευνητές σε σκυλιά. Η ιστολογική εξέταση έδειξε σημαντική βελτίωση της οστεοενσωμάτωσης με τη χρήση του PRP στις 6 και 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι το ποσοστό άμεσης επαφής μεταξύ εμφυτεύματος και οστού ήταν 48 % χωρίς PRP, έναντι 74% με την προσθήκη PRP στις 6 εβδομάδες, και 56% χωρίς PRP έναντι 80% με PRP στις 12 εβδομάδες. Παρόμοια αποτελέσματα είχε και μια άλλη μελέτη της ίδιας ερευνητικής ομάδας²⁷, όπου αποδείχτηκε με ιστομορφομετρική ανάλυση, ότι η χρήση PRP σε συνδυασμό με Dentin-Plaster of Paris είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού επαφής μεταξύ του οστού και του εμφυτεύματος. Αντίθετα, οι Shanaman και συν.²⁸ σε επέμβαση αύξησης της υπολειμματικής φατνιακής ακρολοφίας με απομεταλλωμένη οστική θεμέλια ουσία σε συνδυασμό με PRP, δε διαπίστωσαν κάποια διαφορά από τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μελέτη αφορούσε μόνο 3 ασθενείς εκ των οποίων στους δύο προστέθηκε και αυτογενές οστό, ενώ επιπλέον δεν υπήρχε και ομάδα μαρτύρων.

Οι Kassolis και συν.²⁹ χρησιμοποίησαν PRP σε συνδυασμό με αλλογενές οστικό μόσχευμα (freeze-dried bone allograft) σε επεμβάσεις ανύψωσης του ιγμόρειου και αύξησης της υπολειμματικής φατνιακής ακρολοφίας για την τοποθέτηση 36 εμφυτευμάτων. Κατά την ιστολογική εξέταση 12 μήνες μετεγχειρητικά, παρατηρήθηκαν πολλές περιοχές οστεοειδούς και σχηματισμός οστού γύρω από τα κοκκία του μοσχεύματος, χωρίς ενδείξεις διήθησης από φλεγμονώδη κύτταρα.

Θετική μπορεί να χαρακτηριστεί η χρήση του PRP ως γέλη αιμοπεταλίων και του PPP (πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια - platelet-poor plasma) ως κόλλα ινικής στην πλαστική χειρουργική. Χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία σε επεμβάσεις ρυτιδεκτομής, βλεφαροπλαστικής, λιποαναρρόφησης και μεταφοράς δερματικών κρημνών, όπου διαπιστώθηκε ότι επιτεύχθηκε ταχύτερη επούλωση του τραύματος, μειωμένο ερύθημα και οίδημα της περιοχής, καθώς και ηπιότερο μετεγχειρητικό άλγος³⁵.

Το PRP έχει χρησιμοποιηθεί με θετικά αποτελέ-

σματα και σε περιοδοντολογικές επεμβάσεις. Στην μελέτη των Lekonic και συν.³⁰ μελετήθηκε η συμβολή του PRP σε συνδυασμό με κατευθυνόμενη ιστική αναγέννηση (GTR), για τη θεραπεία περιοδοντικών βλαβών δύο και τριών οστικών τοιχωμάτων. Η προσθήκη PRP είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη μείωση του βάθους των θυλάκων κατά 1.36 + - 0.32 χιλ παρειακά και 1.39 + - 0.33 χιλ γλωσσικά, και μεγαλύτερο κέρδος πρόσφυσης κατά 1.75 + - 0.96 χιλ παρειακά και 1.84 + - 1.12 χιλ γλωσσικά σε σχέση με τις βλάβες στις οποίες δε χρησιμοποιήθηκε PRP. Επιπλέον, στις οστικές βλάβες που χρησιμοποιήθηκε PRP η βλάβη πληρώθηκε κατά 4.78 + - 1.26 χιλ παρειακά και κατά 4.66 + - 1.32 χιλ γλωσσικά, ενώ χωρίς PRP οι τιμές ήταν αντίστοιχα 2.31 + - 0.76 χιλ και 2.26 + - 0.81 χιλ γλωσσικά.

Παρά τα θετικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τις παραπάνω μελέτες υπάρχουν, ωστόσο, και ερευνητικές εργασίες οι οποίες δε διαπίστωσαν κάποια πραγματική θετική δράση από τη χρήση του PRP. Η πιο χαρακτηριστική είναι των Aghaloo και συν.²⁰, οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση του PRP σε συνδυασμό με αυτογενή μοσχεύματα για την πλήρωση οστικών ελλειμμάτων σε κουνέλια. Ο ακτινογραφικός έλεγχος έδειξε ότι το αυτογενές μόσχευμα δεν παρουσίαζε αξιόλογη διαφορά με την προσθήκη του PRP έναντι της ομάδας των μαρτύρων, ενώ η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε μικρή μόνο στατιστική διαφορά με υπεροχή του συνδυασμού μοσχεύματος με PRP. Αντίθετα, η ιστολογική εξέταση έδειξε μια υπεροχή του PRP σε συνδυασμό με το αυτογενές μόσχευμα, στη μορφολογία του οστού κατά τον ακτινογραφικό έλεγχο των 1,2 και 4 μηνών. Σε όλες τις ιστομορφομετρικές αναλύσεις η χρήση PRP ως μοναδικό μοσχευματικό υλικό είχε τα χειρότερα αποτελέσματα. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη των Aghaloo και συν.²¹ μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα του PRP σε συνδυασμό με Bio-Oss σε οστικά ελλείμματα κουνελιών. Η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι η προσθήκη PRP αύξησε σημαντικά το ποσοστό δημιουργίας νέου οστού σε σύγκριση με τη χρησιμοποίηση μόνο Bio-Oss στους 1, 2 και 4 μήνες μετά την επέμβαση, μολονότι η χρήση αυτογενούς οστού είχε τα καλύτερα αποτελέσματα.

Άλλες μελέτες, οι οποίες δε διαπίστωσαν κάποια θετική δράση από τη χρήση του PRP, είναι αυτές των Jakse και συν.²², καθώς και των Butterfield και συν.²³. Στην πρώτη πραγματοποιήθηκε επέμβαση ανύψωσης του ιγμόρειου άντρου αμφοτερόπλευρα σε πρόβατα και διαπιστώθηκε μικρή μόνο υπεροχή με την προσθήκη PRP σε αυτογενές οστικό μόσχευμα, στη δημιουργία νεόπλαστου οστού, ενώ στη μελέτη των Butterfield και συν.²³ σε κουνέλια διαπιστώθηκε ότι με την προσθήκη PRP σε αυτόλογο μόσχευμα σε επέμβαση ανύψωσης ιγμόρειου άντρου, βελτιώθηκε η τελική μορφολογία του νεοσχηματιζόμενου οστού σε σύγκριση με το αποτέλεσμα από τη χρήση, μόνον, αυτογενούς οστού. Ωστόσο, η διαφορά θεωρήθηκε από τους συγγραφείς στατιστικά

αμελητέα.

Αμφιλεγόμενα είναι τα αποτελέσματα ερευνών σχετικά με τη χρήση PRP μόνο. Οι Anitua και συν.³¹ σε μελέτη σε ανθρώπους, αναφέρουν καλύτερη επιθηλιοποίηση και μεγαλύτερη οστική πυκνότητα, όταν PRP προστέθηκε σε μετεξαστικά φατνία. Επίσης, οι Mancuso και συν.³² παρατήρησαν ηπιότερο μετεγχειρητικό άλγος και ακτινογραφικά πυκνότερο οστό, όταν το PRP προστέθηκε σε μετεξαστικά φατνία τρίτων γομφίων. Αντίθετα οι Aghaloo και συν.²⁰ σε πειράματα σε κουνέλια, όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, διαπίστωσε ότι η χρήση μόνο PRP είχε ελαφρώς χειρότερα αποτελέσματα από την ομάδα στην οποία η επούλωση έγινε χωρίς την προσθήκη κάποιου μοσχευματικού υλικού.

Οι Roldan και συν. (2004) συνέκριναν για πρώτη φορά το PRP με τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) χρησιμοποιώντας μοντέλα ποντικών σε επεμβάσεις ανύψωσης της φατνιακής ακρολοφίας της κάτω γνάθου. Χρησιμοποιήθηκε PRP ή rhBMP-7 (OP-1) σε συνδυασμό είτε με ανόργανο οστό βοείου τύπου είτε με αυτογενές οστικό μόσχευμα. Τα αποτελέσματα της ιστομορφικής ανάλυσης των δειγμάτων στις πενήντα ημέρες, μετεγχειρητικά, ήταν απογοητευτικά για τη χρήση του PRP τόσο σε συνδυασμό με ανόργανο οστό όσο και σε συνδυασμό με αυτογενές οστό. Αντίθετα και παρά το γεγονός ότι ο συνδυασμός OP-1 με αυτογενές οστό δεν παρουσίασε αυξημένες οστεογενετικές ιδιότητες, η χρήση OP-1 με ανόργανο βόειο οστό βελτίωσε σημαντικά την ποιότητα και την ποσότητα του νεοσχηματιζόμενου οστού³⁸.

Συζήτηση

Γίνεται φανερό ότι οι απόψεις για τη χρήση του PRP και τα αποτελέσματά της στην οστική μεταμόσχευση είναι αμφιλεγόμενες. Είναι γεγονός ότι το PRP διαθέτει αυξητικούς παράγοντες που συμμετέχουν στη διαδικασία της οστικής επούλωσης σε ιδιαίτερα αυξημένες συγκεντρώσεις³³. Η ακριβής όμως αναλογία και συγκέντρωση αυτών των παραγόντων, όπως και ο ακριβής αριθμός των αιμοπεταλίων στο PRP παραμένουν αντικείμενο μελέτης. Επομένως, παραμένει άγνωστος και ο τρόπος αλληλεπίδρασης μεταξύ των αυξητικών παραγόντων, καθώς και ο ακριβής χρόνος που απαιτείται από τη στιγμή της έκκρισής τους μέχρι την έναρξη της δράσης τους στα κύτταρα στόχους³⁹.

Από τα ανωτέρω συζητηθέντα, γίνεται σαφές ότι το PRP ενεργεί δρώντας οστεοεπαγωγικά στην αρχική φάση της οστεογένεσης. Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά των αυξητικών παραγόντων που περιέχει και τον τρόπο δράσης τους, η χρήση του PRP διεγείρει τη χημειοταξία των άωρων μεσεγχειματικών κυττάρων της μοσχευματικής κοίτης και του μοσχεύματος, τον πολλαπλασιασμό τους, και τη δημιουργία – μέσω της αρχικής διαφοροποίησης των οστεοβλαστών – της μεσο-

κυττάριας οστικής θεμέλιας ουσίας^{35,36,39}. Η συμβολή του PRP στη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων προς εξειδικευμένα κύτταρα, περιορίζεται σχεδόν αποκλειστικά στην πρώτη φάση της οστικής επούλωσης, προετοιμάζοντας ουσιαστικά τις σειρές των οστικών κυττάρων να εισέλθουν γρηγορότερα και κάτω από καλύτερες συνθήκες και προϋποθέσεις στη δεύτερη φάση της επούλωσης^{33,34}.

Εκεί είτε με την επίδραση των συστηματικά εκκρινόμενων ορμονών και του μηχανισμού ομοίωσης του ασβεστίου και του φωσφόρου είτε τοπικά με τη δράση των αυξητικών παραγόντων του δέκτη που συμμετέχουν στη φάση αυτή, θα ολοκληρωθεί η διαδικασία της οστικής ωρίμανσης με την είσοδο στη φάση της επαναδιαμόρφωσης (remodeling) της οστικής επιφάνειας³⁷.

Γίνεται, λοιπόν, φανερό ότι το PRP αποτελεί ένα μέσο υποβοήθησης της οστικής επούλωσης στην πρώιμη φάση της οστεογένεσης. Η ορθολογική εφαρμογή του με συγκεκριμένες ενδείξεις, περισσότερο σε συνδυασμό με αυτογενές οστό και λιγότερο με άλλα είδη οστικών μοσχευμάτων θα αναδείξει και την κλινική του αξία. Περαιτέρω, όμως, μελέτη των ιδιοτήτων του PRP θα δώσει πειστικότερες απαντήσεις στις αμφιλεγόμενες απόψεις που επικρατούν σήμερα.

Βιβλιογραφία

- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85: 638-46.
- Kevy S, Jacobson M. Preparation of growth factors enriched autologous platelet gel. *Proceedings of the 27th Annual Meeting of Service Bioaterials*, April 2001.
- Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55:1294-9.
- Steel DL. The role of growth factors in wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997; 77:575-86.
- Antoniades HN. Human PDGF: Purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Nat Acad Sci USA* 1981; 78:7314-7.
- Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF α and other growth factors in vivo: Analysis by mRNA phenotyping. *Science* 1988; 247:708-12.
- Sitaras NM, Sariban E, Pantazis P, Zetter B, Antoniades HN. Human iliac afferent endothelial cells express both genes encoding the chains of PDGF and synthesize PDGF-like mitogen *J Cell Physiol* 1987; 132:376-80.
- Antoniades HN, Calanopoulos T, Neville-Golden J, Kirtsy CH, Lynch SE. Injury induces in vivo expression of PDGF and PDGF receptor mRNA in connective tissue fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 99:565-9.
- Rutherford RB, Ryan ME, Kennedy JE, Tucker MM, Charette MF. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J Clin Periodontol* 1993; 20:537-44.
- Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin WL, Genco RJ, Cho MI. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol* 1995; 66:462-77.
- Haushka P. Growth Factor effects in bone, in Hall B (2nd ed): *The Osteoblast and Osteocyte*, Vol I. Caldwell, NJ, Telford Press, 1990; 103-70.
- Hock JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology* 1988; 122: 254-60.
- Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, et al. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin like growth factor I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol* 1991; 62:710-6.
- Fennis JPM, Stoelinga PJW, Jansen JA. Mandibular reconstruction: A clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001; 31:281-6.
- Garg AK. The use of platelet rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dent Implantol Update.* 2000; 11:17-21.
- Man D, Plosker H, Winland-Brown JE, et al. The use of autologous platelet rich plasma (platelet gel) and autologous platelet poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001; 107:229.
- Adler SC, Kent KJ. Enhancing healing with growth factors. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2002; 10:129.
- Abuzeni P, Alexander RW. Enhancement of autologous fat transplantation with platelet rich plasma. *Am J Cosmetic Surg.* 2001; 18:59-63.
- Monteleone K, Marx RE, Ghurani R. Healing enhancement of skin graft donor sites with platelet rich plasma. Presentation abstract at the 82nd Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgery, San Francisco, CA, September 22, 2000.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 60:1176, 2002.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma (PRP) in combination with xenograft materials in the rabbit cranium: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002 (suppl); 60:38.
- Jakse N, Tangl S, Gilli R, et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts: An experimental study on sheep. *Clin Oral Implant Res* 2003; 14:578.
- Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, et al. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone grafts for sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 2003 (suppl); 61:97.
- Kim ES, Park EJ, Choung PH. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: An experimental study in rabbits. *J Prosthet Dent.* 2001;

- 86:428.
25. Willtfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, et al. Sinus floor augmentation with β -tricalciumphosphate (β -TCP): Does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implant Res.* 2003; 14:213.
 26. Kim SG, Kim WK, Park JC, et al. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 60:1018.
 27. Kim SG, Chung CH, Kim YK, et al. Use of particulate dentinplaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 17:86.
 28. Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: Case reports. *Int J Periodont Restor Dent.* 2001; 21:345.
 29. Kassolis J, Rosen, P.S & Reynolds, MA (2000). Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing prp in combination with freeze-dried bone allograft case series. *J Periodontol.* 2000; 71:1654-61.
 30. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB. Comparison of prp, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus prp and bovine porous bone mineral in the treatment of intra-bony defects: a reentry study. *J Periodontol.* 2002; 73:198-205.
 31. Anitua E. Plasma rich in growth factors: Preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Impl.* 1999; 14:529.
 32. Mancuso JD, Bennion JW, Hull MJ, et al. Platelet-rich plasma: A preliminary report in routine impacted mandibular third molar surgery and the prevention of alveolar osteitis. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; (suppl) 61:40.
 33. Grageda E. Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol. *Impl Dent.* 2004; 13:301-9.
 34. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Impl Dent.* 2001; 10:225-8.
 35. Bhanot S., Alex J. Current applications of platelet gels in Facial Plastic Surgery. *Fac Plast Surg.* 2002; 18:27-33.
 36. Schliephake H. Bone growth factors on Maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 31:469-84.
 37. Kalfas I. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 2001; 10(4):1-4.
 38. Roldan C, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger D, Acil Y, Terheyden H. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone.* 2004; 34:80-90.
 39. Bonewald LF. Transforming growth factor- β . In *Principles of Bone Biology* (2nd ed) vol 2 by Bilezikian J., Raisz L., Rodan G. Academic press 2002; pp 903-918.
 40. Sims NA, White CP, Sunn KL, Thomas GP, Drumond ML, Morrison NA, Eisman JA, Gardiner EM. Human and murine osteocalcin gene expression: conserved tissue restricted expression and divergent responses to 1,25-dihydroxyvitamin D3 in vivo. *Mol Endocrinol.* 1997; 11:1695-708.