



ARTÍCULO ORIGINAL

ISSN: 1315 2823

Efectos tisulares del plasma rico en plaquetas en la mucosa periimplantar de un grupo de individuos sanos “*in vivo*”**Tissue effects of rich plasma on platelets in the perimplant mucosa of a group of healthy individuals “*in vivo*”**Sosa Rafael¹, Ravelo Jorge², Lugo Gredy³, Correnti Tina⁴, Arreaza Alven⁴, Sosa Isabel⁵

¹Especialista en Cirugía Bucal. MSc en Implantes Dentales. Profesor Asociado, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. ²MSc. Cirujano Buco-maxilofacial. ³Especialista en Periodoncia, Profesora Agregado, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. Coordinadora del Doctorado en Educación, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. ⁴Profesora Titular Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. Doctorado en Odontología. Universidad Central de Venezuela. ⁵Estudiante de la Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. dariososa@me.com

Recibido: 11/06/2017
Aceptado: 13/07/2017**Resumen**

El propósito de esta investigación fue determinar si el Plasma Rico en Plaquetas (PRP), adicionado al momento de colocar los implantes dentales, producen algún tipo de efectos tisulares en la mucosa periimplantar que los recubre y comprobar mediante técnicas de inmunohistoquímica, los cambios moleculares implicados en el proceso de cicatrización de la mucosa periimplantar en seres humanos. Se seleccionaron pacientes parcialmente edéntulos, a quienes se les colocaron un total de 16 Implantes Dentales. A cada paciente se le colocó en un lado un implante dental más PRP y en el lado contra lateral se les colocó otro implante dental sin PRP, totalizando 8 implantes dentales con (PRP) y 8 implantes de control. Posteriormente de forma aleatoria, se tomaron muestras de mucosa periimplantar a la primera, segunda, tercera y sexta semana de acuerdo a la distribución previamente establecida; para sus respectivos estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos. Se concluye que la utilización de PRP en conjunto a la colocación de implantes dentales, a pesar de no ser estadísticamente significativa ($p=0.055$); pudiera acelerar la neoformación ósea. El uso de PRP pareciera acelerar el proceso de cicatrización en el tejido conjuntivo periimplantar, evidenciado por la localización celular en la totalidad del epitelio de la mayoría de las mucosas tratadas con PRP ($p=0.04$) mediante la expresión del anticuerpo de Proliferación Celular (PCNA).

Palabras clave: Plasma rico en plaquetas, mucosa periimplantar, implantes dentales.

Summary

The purpose of this research was to determine if the Platelet Rich Plasma (PRP) added at the moment of placing the dental implants produce some kind of tissue effects on the peri-implantar mucosa covering them and to know by immunohistochemical techniques the molecular changes involved in the process of cicatrization of this peri-implantar mucosa in humans. Partially edentulous patients were selected, to whom a total of 16 Dental Implants were placed. Each patient was placed on one side a dental implant adding (PRP) and on the side opposite side were placed another dental implant without adding (PRP), totaling 8 dental implants with (PRP) and 8 implants of control. Subsequently, samples of peri-implant mucosa were collected at the first, second, third and sixth weeks according to the previously established distribution; For their respective histopathological and immunohistochemical studies. It concludes the use of PRP in conjunction with the placement of dental implants, despite not being statistically significant ($p = 0.055$); could accelerate bone neoformation. The use of PRP seems to accelerate the healing process in the peri-implantar connective tissue, evidenced by the cellular localization in the entire epithelium of the majority of the mucosa treated with PRP ($p = 0.04$) through the expression of Cellular Proliferation antibody.

Key words: Platelet rich plasma, peri-implant mucosa, dental implants

Introducción

Uno de los recursos terapéuticos en la odontología actual para restituir zonas edéntulas en los pacientes, son los implantes. El fin primordial de la implantología dental es lograr la

integración de los implantes a los tejidos, lo cual incluye la formación de un sulcus periimplantario, la inserción epitelial y el contacto del tejido conectivo con la superficie del implante; denominándose tejidos mucosos periimplantarios al epitelio y tejido conectivo presentes alrededor del cuello de los implantes.¹

Este proceso también persigue la oseointegración, definida por Branemark como la conexión estructural funcional y directa que se logra cuando la mucosa periimplantaria cicatriza rápidamente en la región marginal, sellando las estructuras de soporte más profundas.¹

Desde hace varios años se han realizado distintas investigaciones con el objetivo de comprender y mejorar el comportamiento e interacción de los implantes dentales con los tejidos periimplantarios. Para lograr este propósito se han propuesto algunas variaciones en los implantes dentales que incluyen una diversidad de diámetros, longitudes, sistemas de manejo quirúrgicos y protésicos, múltiples superficies y variadas formas; cuerpo cilíndrico, recto, y más recientemente los implantes dentales cónicos que asemejan las raíces de los dientes, con plataforma reducida.²

Por otra parte, el uso del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se ha constituido en un promotor de la formación de tejido blando y de tejido óseo a partir de 1990.³ La utilización de factores de crecimiento del PRP en el área de cirugía bucal y maxilofacial supone hoy en día un procedimiento terapéutico de uso generalizado con resultados clínicos evidentes. No obstante, existen pocos estudios experimentales que sustenten su aplicación, probablemente por su condición autóloga y la indiscutible excelencia de sus resultados clínicos. Todo esto ha conllevado a algunos autores, a exponer dudas sobre sus propiedades y

potencialidad, precisando un desarrollo más extenso e investigaciones más específicas donde se evidencien sus beneficios.⁴

En el área de implantología odontológica, el PRP puede ser aplicado internamente al colgajo de espesor total, sobre la superficie ósea y el implante justo antes del cierre del colgajo, con la intención de lograr un mejor sellado de la zona y al mismo tiempo aumentar la velocidad de crecimiento de los capilares hacia el hueso, previniendo resorción ósea, de manera que las moléculas de adhesión estabilicen el coágulo y se constituyan en una matriz para la osteoconducción.⁵

Por todo lo anteriormente expuesto, ésta investigación pretende aclarar algunas incógnitas que se mantienen sin respuesta sobre la capacidad de los factores de crecimiento que contiene el PRP y la idoneidad de su aplicación en conjunto a la colocación de implantes dentales, al indagar sobre los cambios tisulares ocurridos en el tejido mucoso periimplantar.

La hipótesis manejada alude a que la introducción de los factores de crecimiento asociados al PRP, pueden potenciar la calidad del proceso reparativo postquirúrgico y disminuir el tiempo de cicatrización de los tejidos blandos periimplantarios a través de diversos mecanismos que controlan el reclutamiento, migración, proliferación y diferenciación celular en el lecho receptor, estableciendo un sistema de amplificación autocrina. De manera que los factores de crecimiento liberados por el PRP atraen monocitos y macrófagos activándolos para iniciar la producción y secreción de otros factores de crecimiento.⁴

Utilizando métodos de medición específicos como histología e inmunohistoquímica, se intenta evidenciar si la adición de PRP al momento de colocar los implantes dentales produce cambios tisulares en la mucosa

periimplantar a nivel del epitelio observando cuantitativa y cualitativamente su espesor, grado de queratinización, grado y tipo de inflamación, proliferación celular y en el número de vasos sanguíneos neoformados.

Materiales y métodos

La investigación fue realizada en la Facultad de Odontología, Cátedra de Cirugía Bucomaxilofacial de la Universidad Central de Venezuela en el 2016, la cual se basó en un estudio científico de tipo exploratorio, de corte cuasiexperimental con dos grupos de pacientes implantados, uno control sin PRP y otro experimental con PRP a quienes se les tomaron muestras de tejidos periimplantarios en la cirugía de la segunda fase utilizando un muestreo no probabilístico intencional.

Un total de cuatro (4) pacientes participaron en el estudio a quienes se les realizaron historia clínica, set de radiografías, fotografías, tomografía de haz cónico, en conjunto con la planificación protésica. Se les confeccionó una férula radiográfica y una férula quirúrgica. Todos recibieron información de la investigación y consintieron su participación en la investigación a partir de la aceptación de un consentimiento informado.

A cada paciente se les colocaron cuatro implantes, resultando en un total de dieciséis (16) implantes dentales de tipo cilíndricos roscados, con superficie RBM, de hexágono interno, colocados en dos hemiarcadas. En una hemiarcada se añadió PRP recolectado según protocolo de Harvest Technologies Corp., utilizando una centrifuga SmartPre 2 Platelet Concentrate System® y la otra hemiarcada se asumió como lado control.

La incisión para la colocación de los implantes dentales fue de tipo horizontal a nivel del

reborde alveolar ligeramente hacia lingual o palatino de cada zona con una incisión vertical diagonal liberadora hacia mesial. Se realizó el procedimiento de preparación y fresado indicado en el protocolo de la casa comercial Lifecore® tipo Renova. El cierre del colgajo fue de forma deslizante donde los bordes de la herida se confrontaron sin ninguna tensión y se suturó con seda negra Ethicon 3.0. Todos estos pacientes recibieron antibioticoterapia (Azitromicina cápsulas de 500 mg 1 diaria por 5 días) y analgesia (Nimesulide Tabletas de 100 mg 1 diaria por 3 días); no se les indicaron enjuagues bucales; además se les suministró de forma verbal y escrita, las indicaciones postoperatorias. La colocación de los implantes dentales fue realizada por un solo operador, un protocolo de obtención de PRP único y un mismo tipo de centrífuga, bajo la inspección directa de supervisor único.

Los cuatro (4) pacientes fueron seleccionados de manera aleatoria para la cirugía de la segunda fase, la cual fue realizada durante la primera, segunda, tercera y sexta semana tomando muestras de 4 mm de mucosa periimplantar en la zona coronal de los implantes e inmediatamente se les colocaron los tornillos de cicatrización respectivos. El procedimiento quirúrgico para la toma de muestras consistió en: enjuagatorios bucales con clorhexidina al 0,12 % durante dos (2) minutos, barrido mecánico con una gasa en los lugares a anestésiar, toma de radiografía periapical y panorámica para cada paciente, anestesia infiltrativa a distancia de la zona con lidocaína al 2% con epinefrina, sin bloqueo regional.

El diámetro de la muestra fue marcado inicialmente con un sacabocado de la casa comercial Lifecore® (Punch), de forma esférica, de cuatro (4) mm de diámetro. Con una hoja de bisturí Bard Parker N°15 y una pinza de disección Adson se procedió a incidir la muestra de tejido blando de 4 mm de diámetro por 0,3 mm de espesor, la cual fue tomada tanto en lado

control como en el lado experimental donde se añadió PRP. Posteriormente, se dieron las respectivas indicaciones postoperatorias a cada paciente y se citaron a las veinticuatro (24) horas y los días cuatro (4), siete (7) y quince (15) posteriores a la segunda fase quirúrgica. Las muestras obtenidas se colocaron en solución de formol buffer al 10% y entregada al patólogo y al inmunohistoquímico sin dar detalles de la procedencia de la muestra (zona control o experimental) para su estudio respectivo, de acuerdo a los protocolos para cada técnica. Para el estudio inmunohistoquímico se utilizó la técnica de detección complejo biotina-estreptavidina-peroxidasa, se utilizaron anticuerpos primarios para el reconocimiento de proteínas CD3, CD68, PCNA y VEGF, los cuales son aptos para el procesamiento inmunohistoquímico de muestras embebidas en parafina.

Las muestras fueron seccionadas con un espesor de cinco (5) um. en un micrótopo, los cortes fueron colocados en las láminas porta-objetos, las cuales previamente fueron desgrasadas y cubiertas con 3-aminopropiltrióxilane (APES). Los cortes se colocaron a 60°C durante toda la noche y luego se conservaron a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

Cada anticuerpo primario se incubó en los tejidos por espacio de treinta (30) minutos en una cámara húmeda, luego se lavaron los tejidos con PBS durante cinco (5) minutos. Posteriormente, se colocó el anticuerpo secundario biotilado a cada una de las muestras por el mismo lapso de tiempo que el anticuerpo primario.

Pasado el intervalo de tiempo, se lavó cada corte de nuevo con PBS, por cinco (5) minutos y se incubó por quince (15) minutos con el complejo Avidina- Biotina-Peroxidasa. Transcurrido el tiempo, se lavaron las láminas con PBS durante cinco (5) minutos y se procedió al revelado utilizando una mezcla de cromógeno-sustrato y

peróxido de hidrógeno al 3%. Se contrastó con hematoxilina de Mayers y se diferenció con agua de uso común. Los cortes en las láminas se cubrieron con gelatina glicerizada y se les colocó un cubre-objeto para preservarlas y observarlas al microscopio de luz y se obtuvieron los análisis respectivos.

La técnica de recolección de datos fue a partir de la observación y análisis histopatológico e inmunohistoquímico con microscopía de luz, específicamente con un microscopio Zeiss con epifluorescencia, retículo Merz Schaenk y micrómetro ocular de las cuarenta y cinco (45) láminas a estudiar. El instrumento para la recolección de datos fue una guía de observación diseñada por los investigadores e histopatólogos, directamente relacionado con los indicadores planteados en la operacionalización de las variables, lo que permitió recolectar toda la información necesaria para analizar las variables de estudio.

El análisis estadístico fue realizado mediante el uso del Programa SPSS versión 13.0 y las variables comparadas usando Chi² y T de Student, ejecutándose un modelo de análisis de significancia $p < 0,05$ para evidenciar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con o sin PRP. Las variables cuantitativas fueron comparadas mediante la prueba de T de Student y el nivel de significancia (p) fue estimado como representativo por debajo de 0.05. Las variables cualitativas fueron estimadas y los datos comparados mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney con un nivel de significancia (p) estimado como representativo por debajo de 0.05.

Consideraciones bioéticas

En este estudio se diseñó un consentimiento informado, el cual fue firmado por los pacientes

que participaron en esta investigación y se siguieron las consideraciones bioéticas exigidas por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela (aval N° 024-2008).

Resultados

En trece (13) de las dieciséis (16) muestras de tejido epitelial estudiadas, se encontró un aumento en el epitelio o hipertrofia lo que corresponde a más de las 2/3 partes del total de las muestras estudiadas, siete (7) de las cuales pertenecen al grupo de tejido tratado con PRP.

Cuando se comparó el comportamiento del grupo experimental (GE) con el grupo control (GC), se evidenciaron diferencias en el espesor del epitelio en tres (3) muestras de tejido. Estas diferencias se encontraron en la segunda semana (14 días) para ambos pacientes estudiados, quienes en el tejido control exhibieron un espesor de epitelio normal y en la tercera semana (21 días) para el paciente número 2.

Once (11) del total de las muestras estudiadas presentaron paraqueratina, tres (3) ortoqueratina y paraqueratina y dos (2) ortoqueratina.

Cuando se comparó el comportamiento de ambos grupos, se encontró que el grupo tratado con PRP presentó diferencias en cinco (5) de las ocho (8) muestras analizadas; correspondiendo dos (2) casos a la formación de paraqueratina, dos (2) casos a ortoqueratina y uno (1) a ortoparaqueratina.

Estas diferencias en la queratinización del epitelio se encontraron a lo largo de todas las semanas estudiadas y en tres (3) de los cuatro (4) pacientes integrantes de la muestra.

Del total de muestras de tejido observadas se encontró, que en nueve (9) de ellas, el grado de

inflamación se ubicó en la categoría leve, correspondiendo ocho (8) de estas a la tercera semana (21 días) y a la sexta semana (42 días).

Es importante precisar que para estas dos semanas no hubo diferencias en el comportamiento de los dos grupos investigados.

Los cambios evidenciados se registraron en la primera semana (7 días) en el paciente número uno (1), donde se evidenció un cambio de inflamación de moderada en su grupo control a severa para el tejido tratado con PRP, y en la segunda semana (14 días) en el paciente número dos (2) quien presentó inflamación moderada para el tejido control y leve para el tejido tratado con PRP.

El comportamiento fue similar para ambos grupos con relación al tipo de inflamación durante las distintas semanas en que fueron observados. El tipo de inflamación que evidenciaron las muestras correspondió a inflamación de tipo crónica.

Con relación al número de vasos sanguíneos neoformados se puede señalar que en la primera semana (7 días) existió un mayor número de vasos sanguíneos en los tejidos tratados con PRP cuando se le comparó con el grupo control (GC). Para la segunda semana (14 días) y tercera semana (21 días), en la muestra del paciente uno (1) tratado con PRP, se observó un mayor número de vasos sanguíneos neoformados que en la muestra control.

En el paciente número dos (2), se encontró que en la segunda y tercera semana, en el tejido control se evidenció un mayor número de vasos sanguíneos neoformados que lo observado en el tejido tratado con PRP.

En la sexta semana (42 días), ambos pacientes evaluados mostraron en los tejidos control mayor número de vasos sanguíneo neoformados. Es importante señalar que en las observaciones de

mayor tiempo, se evidenciaron menor cantidad de vasos sanguíneos neoformados para los dos (2) grupos estudiados.

No se observaron cambios en el tipo de queratinización y en el espesor del epitelio cuando el PRP fue aplicado, sin embargo la expresión de PCNA fue localizada en la totalidad del epitelio en la mayoría de las mucosas tratadas con PRP ($p=0.04$). Fig. 1 y Fig. 2, Gráfico 1.

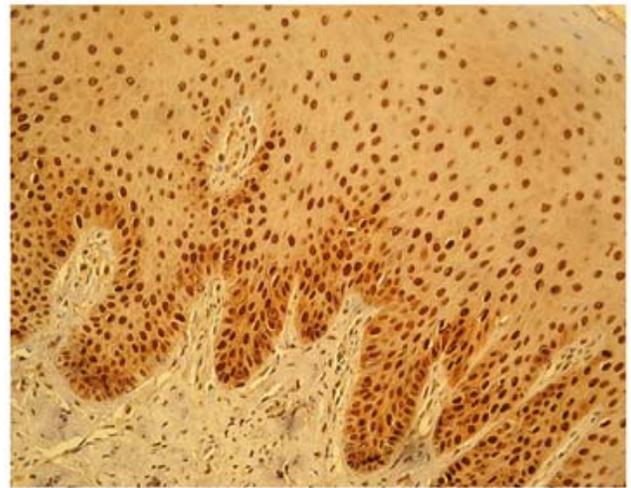


Figura 1. PCNA Epitelio sin PRP

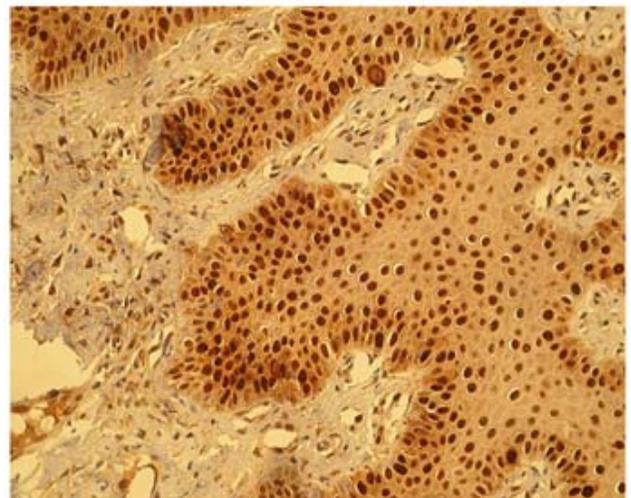
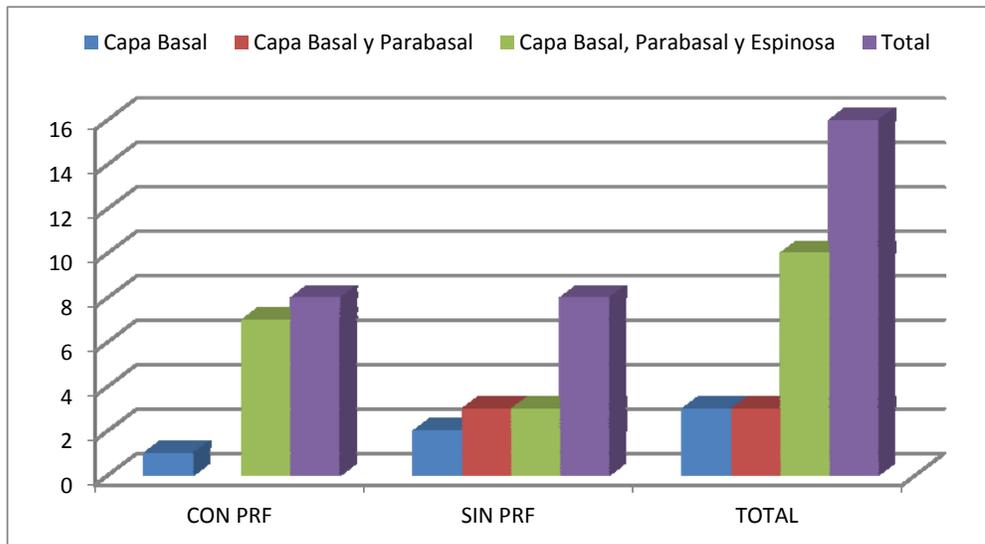


Figura 2. PCNA Epitelio con PRP



Gráfica 1. Localización de expresión de PCNA

La inflamación producida fue similar con el uso o no de PRP y fue en su totalidad de tipo crónico, conformado por linfocitos e histiocitos principalmente. La neoformación vascular fue también similar en ambos grupos, sin embargo se obtuvo un hallazgo de neoformación ósea en los casos con PRP, sin embargo no fue estadísticamente significativa ($p=0.055$) Fig. 3.

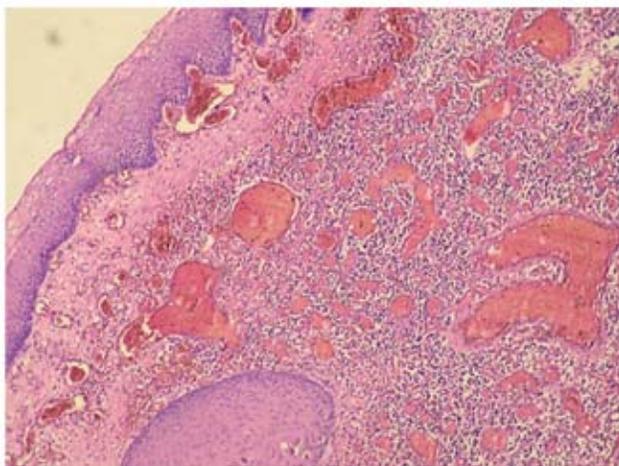


Figura 3. Inflamación crónica y neo formación ósea muestra con PRP

Discusión

Las variaciones ocurridas en el espesor y el grado de queratinización del epitelio de la mucosa periimplantar pueden ser evaluadas por métodos de medición específicos de vanguardia como lo son la histopatología e inmunohistoquímica.

Mediante la utilización del microscopio óptico de luz; no se evidenciaron cambios estadísticamente significativos al comparar la totalidad de las muestras estudiadas. Esto nos hace pensar que el PRP no tiene influencia en la variación del espesor de epitelio ni en el grado de queratinización de la mucosa periimplantar.

Seymour et al⁶ utilizaron técnicas morfométricas e inmunohistoquímicas seis (6) meses después de la colocación de implantes dentales y encontraron que tanto la mucosa del reborde como la mucosa periimplantar poseen un epitelio bucal bien queratinizado y un tejido conectivo similar en relación al colágeno y las estructuras vasculares. En las observaciones realizadas a las

muestras tratadas con PRP de la primera semana (7 días) y la segunda semana (14 días) del paciente número 2 y la muestra en la segunda semana (14 días) del paciente número1 se observó una displasia epitelial leve.

Esta displasia epitelial (DE), implica la presencia microscópica de una combinación variable de fenómenos indicativos de desorden en la maduración epitelial y una alteración en la proliferación celular. Banoczy y Csiba⁷ realizaron un estudio sobre las displasias epiteliales de la mucosa bucal y destacaron que para llegar al diagnóstico de esta patología, es necesario que existan dos o más cambios referentes a la pérdida de arquitectura y el alto número de mitosis, entre otros criterios histológicos; concluyendo que la displasia epitelial leve ocurre cuando las alteraciones se producen en el tercio basal del epitelio.

Al comparar el tipo y grado de inflamación presentes en la mucosa periimplantar de un grupo de individuos sanos a través de estudios histológicos e inmunohistoquímicos en muestras de tejidos con y sin la aplicación de PRP, se pudo observar que la inflamación producida fue similar en ambos grupos reflejando su carácter crónico y la presencia de linfocitos e histiocitos principalmente.

En relación al establecimiento de proliferación y el nivel de localización celular en el epitelio de la mucosa bucal periimplantar en muestras de tejido con y sin aplicación de PRP, mediante la expresión de PCNA, se evidenció la proliferación celular en el total de las muestras analizadas sin diferencias significativas a nivel endotelial, sin embargo, a nivel epitelial la expresión de PCNA fue localizada en la totalidad del epitelio de las muestras tratadas con PRP, en diez (10) se observó proliferación celular a nivel de las tres capas epiteliales (capa basal, parabasal y espinosa) de las cuales, siete (7) correspondieron al grupo de tejidos tratados con PRP mostrando una diferencia significativa ($p =$

0.04) con respecto a las muestras no tratadas (Fig. 1) y (Gráfico 1).

Cuando se compararon ambos grupos, se pudo apreciar que el grupo tratado con PRP el comportamiento varió en cinco (5) de ocho (8) muestras, presentándose estos cambios en tres (3) de los cuatro pacientes estudiados y en todas las semanas; encontrándose sólo en que el primer paciente, después de observarse a la primera y segunda semana, proliferación celular en el epitelio a nivel de todas las capas, en la tercera semana sólo se produjo proliferación a nivel de la capa basal por métodos de Inmunohistoquímica (Fig. 2).

Con respecto al nivel y locación de la neoformación vascular en el corion de la mucosa bucal periimplantar, de las muestras de tejido con y sin aplicación de PRP, a través de la expresión VEGF, se pudo observar que la formación vascular fue similar en ambos grupos.

Se observó crecimiento endotelial vascular a nivel de once (11) muestras, seis (6) de estas ubicadas en el grupo de tejidos tratados con PRP. Cuando se compararon el grupo experimental con el grupo control, se evidenciaron diferencias en cinco (5) de los ocho (8) grupos analizados, en tres (3) de estos cinco (5) grupos donde se apreció un crecimiento endotelial del grupo tratado con el PRP. Estas diferencias se evidenciaron en la primera y segunda semana en los pacientes identificados con el número1 y 2.

Un hallazgo encontrado fue la formación ósea temprana en la mucosa periimplantar en dos casos tratados con PRP, aunque este hallazgo no fue estadísticamente significativo ($p= 0.055$), con respecto al total de las muestras, sin embargo, al aplicar el Test Exacto de Fischer para la determinación de formación ósea periimplantar, se obtuvo un valor de $p= 0,007$, lo que indica que la diferencia de las muestras con PRP si son significativas (Fig. 3).

Conclusiones y recomendaciones

La aplicación de PRP como un elemento añadido a la colocación de implantes dentales no evidencia cambios en la queratinización y en el espesor del epitelio en relación a las muestras no tratadas.

La inflamación producida con el uso o no de PRP es similar, reflejado por su cronicidad y la presencia de células de tipo linfocitos e histiocitos principalmente.

La formación vascular no difiere con el uso o no de PRP aplicado a la cirugía para la colocación de implantes dentales.

La utilización de PRP en conjunto a la colocación de implantes dentales, a pesar de no ser estadísticamente significativa ($p=0.055$); pudiera acelerar la neoformación ósea (Fig. 3).

El uso de PRP pareciera acelerar el proceso de cicatrización en el tejido conjuntivo periimplantar, evidenciado por la localización celular en la totalidad del epitelio de la mayoría de las mucosas tratadas con PRP ($p=0.04$) mediante la expresión de PCNA (Fig. 1 y Fig. 2) y (Gráfico 1).

De acuerdo a la muestra utilizada en este estudio exploratorio, no se pueden hacer inferencias o generalizaciones de las evidencias, no obstante permite estimular la realización de estudios más complejos y de mayor número de muestras que permitan aclarar las dudas referentes a la utilidad del Plasma Rico en Plaquetas en el tratamiento con implantes dentales.

Referencias

1. McClary AC, West RB, McClary AC, Pollack JR, Fischbein NJ, Holsinger CF, Sunwoo J, Colevas AD, Sirjani D. Ameloblastoma: a clinical review and trends in management. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol* 2016;273(7):1649-61.
2. Listgarten M, Lang N, Schroeder E, Schroedes A. Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clin Oral Implant Res.* 2001; 2: 1-19.
3. López M. Tejido mucosos peri-implentarios. *Rev Estomatol Herediana.* 2004; 14 (1-2): 89-94.
4. Marx R, Carlson E, Eichstaedt R, Schimmele S, Strauss J, Georgeff K. Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod.* 1998; 85 (6): 638-46.
5. Whitman D, Berry R, Green D. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55 (11): 1294-1299.
6. Marx R, Garg A. Dental and Craniofacial applications of Platelet-Rich Plasma. Quintessence Publishing Co, Inc. 2005; 62 (4): 489-96.
7. Seymour G, Gemmel E, Lenz L, Henry P, Bower R, Yamazaki K. Immunological infiltrates associated with osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1989; 4: 191-97.
8. Banoczy J, Csiba A. Longitudinal studies in oral leukoplakias. *J Oral Pathol.* 1972; 1265-34.