

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología



TRABAJO FIN DE GRADO

**NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA OBTENCIÓN DE MEMBRANAS
NATURALMENTE GUIADAS PARA LA REGENERACIÓN DE
TEJIDOS BLANDOS EN CIRUGÍA ORAL**

María Díaz Carmona

Sevilla, 2017



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Departamento de Estomatología

D. JOSÉ MARÍA DELGADO MUÑOZ, Doctor en Odontología y Profesor Asociado del Departamento de Estomatología.

CERTIFICA: Que el trabajo titulado “NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA OBTENCIÓN DE MEMBRANAS NATURALMENTE GUIADAS PARA LA REGENERACIÓN DE TEJIDOS BLANDOS EN CIRUGÍA ORAL”, desarrollado por D^a María Díaz Carmona, ha sido realizado bajo mi dirección, habiendo el que suscriben revisado el mencionado trabajo y estando conforme con su presentación como Trabajo Fin de Grado para ser juzgado por el Tribunal que en su día se designe.

En Sevilla, y para que así conste y a los efectos oportunos, firmo el presente certificado a 17 de Abril de 2017.

Fdo. José María Delgado Muñoz

*A Lola, María y Raquel,
por hacer de estos cinco años
los mejores de mi vida.*

Agradecimientos

Con este Trabajo de Fin de Grado pongo punto y aparte a mi periodo de formación universitaria en el Grado de Odontología de la Universidad de Sevilla.

Quisiera dar las gracias a todas esas personas que con su aportación, han hecho más amenos estos cinco años de universidad y la realización de este trabajo, en especial, a quienes han confiado en mí y me han apoyado siempre.

En primer lugar, agradecer a mis padres, César E. y M^a del Carmen, todo el esfuerzo y sacrificio que han hecho por mí, y sin los cuales no hubiese sido posible nada de esto. Asimismo, también agradezco los aportes de mis hermanos y del resto de familiares que han estado siempre a mi lado.

En segundo lugar, agradecer a mis amigos, los de siempre, por estar ahí en todo momento, y a los que he conocido durante la etapa universitaria, el haberme regalado los mejores años de mi vida. Espero que esto no sea un adiós, sino un hasta luego, aún nos quedan muchas cosas por vivir juntos. Mencionar en especial a mi compañera de gabinete y, sobre todo, mi amiga, Lola, por aguantarme, ayudarme, enseñarme y aconsejarme en el día a día durante estos cinco años.

Finalmente, agradecer al Doctor José María Delgado Muñoz, su excelente labor como coordinador de mi trabajo de fin de grado, su gran profesionalidad y sabiduría, su interés y su ayuda constantes. Dar también las gracias al resto del equipo educativo de la Facultad de Odontología, por tener siempre la paciencia de resolver mis dudas y por proporcionarme todos los medios posibles de ayuda.

ÍNDICE

1. RESUMEN Y ABSTRACT.....	Pág. 1
2. INTRODUCCIÓN.....	Pág. 2
3. OBJETIVO.....	Pág. 11
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	Pág. 12
5. RESULTADOS.....	Pág. 14
6. DISCUSIÓN.....	Pág. 19
7. CONCLUSIONES.....	Pág. 24
8. BIBLIOGRAFÍA.....	Pág. 25

1. RESUMEN Y ABSTRACT

Introducción: Los tejidos están constantemente sometidos a fuerzas o estímulos que pueden causar daño en los mismos. La reacción natural del cuerpo humano al trauma o lesión es iniciar una cascada de procesos biológicos que conducen a la reparación del tejido. **Objetivo:** Establecer las características y diferencias existentes entre los nuevos sistemas en la obtención de membranas naturalmente guiadas para la regeneración de tejidos blandos en Cirugía Oral. **Material y método:** Un total de 18 artículos han sido estudiados para la realización de este trabajo, empleando la base de datos PubMed. **Resultados:** Se ha observado que son tres los sistemas que destacan en la regeneración de tejidos blandos: Plasma rico en plaquetas (PRP), Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) y Plasma rico en fibrina (PRF). **Conclusión:** Durante la cirugía, se ha demostrado la eficacia de estos nuevos sistemas con la disminución del sangrado intra y postoperatorio, con una cicatrización más rápida de los tejidos blandos, con una menor reacción inflamatoria, y con una mejor estabilidad inicial del tejido injertado en el área receptora.

Introduction: The tissues are constantly subjected to forces or stimuli that can cause tissue damage. The natural reaction of the human body to trauma or injury is to initiate a cascade of biological processes that lead to tissue repair. **Objective:** To establish the characteristics and differences between new systems in obtaining naturally guided membranes for the regeneration of soft tissues in Oral Surgery. **Material and method:** A total of 18 articles have been studied to perform this work, using the PubMed database. **Results:** It has been observed that there are three systems that stand out in soft tissue regeneration: Platelet-rich plasma (PRP), Platelet-rich growth factors (PRGF) and Platelet-rich fibrin (PRF). **Conclusion:** During the surgery, the efficacy of these new systems has been demonstrated with the reduction of intra and postoperative bleeding, faster healing of the soft tissues, a lower inflammatory reaction, and a better initial tissue stability grafted in the receiving area.

2. INTRODUCCIÓN

Los tejidos están constantemente sometidos a fuerzas o estímulos que pueden causar daño en los mismos. La reacción natural del cuerpo humano al trauma o lesión es iniciar una cascada de procesos biológicos que conducen a la reparación del tejido.¹

Hablamos de reparación de un tejido, cuando se produce su restauración sin que éste conserve su arquitectura original ni tampoco su función.¹ Cuando dicho tejido no recupera su estado original, se produce una cicatrización.¹ Por otra parte, se entiende por regeneración cuando la reparación de dicho tejido implica la sustitución de los componentes tisulares, idénticos a aquellos lesionados o muertos para conseguir tejidos intactos funcionales. Se produce en tejidos que son capaces de reconstruirse de forma completa tras el daño.² El problema con el tejido de cicatrización (reparación) es que no recupera todas las propiedades mecánicas ni la función fisiológica del tejido u órgano original que ha sido dañado.¹

Sabemos que la capacidad de regeneración de los tejidos es limitada y está relacionada con su grado de evolución.³ Por ello, si la lesión excede de un tamaño crítico, la neoformación de tejido se ve afectada, requiriendo intervención quirúrgica.¹

Hay una serie de estrategias terapéuticas para promover la regeneración del tejido lesionado. Un enfoque predominante es el trasplante sano de tejido autógeno.³ Mientras que los avances técnicos significativos se continúan realizando en los tratamientos del trasplante, la idea del reemplazo del tejido se remonta al siglo XVI.² A pesar de la capacidad regenerativa del injerto de tejido, todavía existen grandes problemas que interfieren con la técnica. La morbilidad en los tejidos, los sitios donantes, las complicaciones inmunitarias y la disponibilidad de donantes siguen siendo en nuestros días temas desafiantes.⁴ Es por ello, por lo que existe una gran necesidad de mejora y desarrollo de nuevas técnicas entre las que se encuentra la bioingeniería.²

En un intento de superar las deficiencias en los reemplazos tisulares y en los dispositivos artificiales y por consiguiente, de reducir la morbilidad mientras se mejora la recuperación funcional, se ha propuesto y desarrollado como nueva alternativa terapéutica, la fabricación de unas estructuras de células autógenas sembradas sobre un andamio o *scaffold* de polímero biodegradable sintético.^{1,3}

Dentro del campo de la ingeniería de tejidos encontramos:^{1,2}

1. **Biomateriales o *scaffolds***, que proporcionan estructura y sustrato para el crecimiento y desarrollo del tejido (colágeno, mineral óseo).
2. **Fuente de células** para facilitar la formación de tejido necesario (osteoblastos, fibroblastos).
3. **Factores de crecimiento** o estímulos biofísicos para dirigir el crecimiento y la diferenciación de las células dentro del *scaffold*.

En conjunto, estos componentes forman lo que se conoce como la Tríada de Ingeniería de Tejidos (Figura 1).

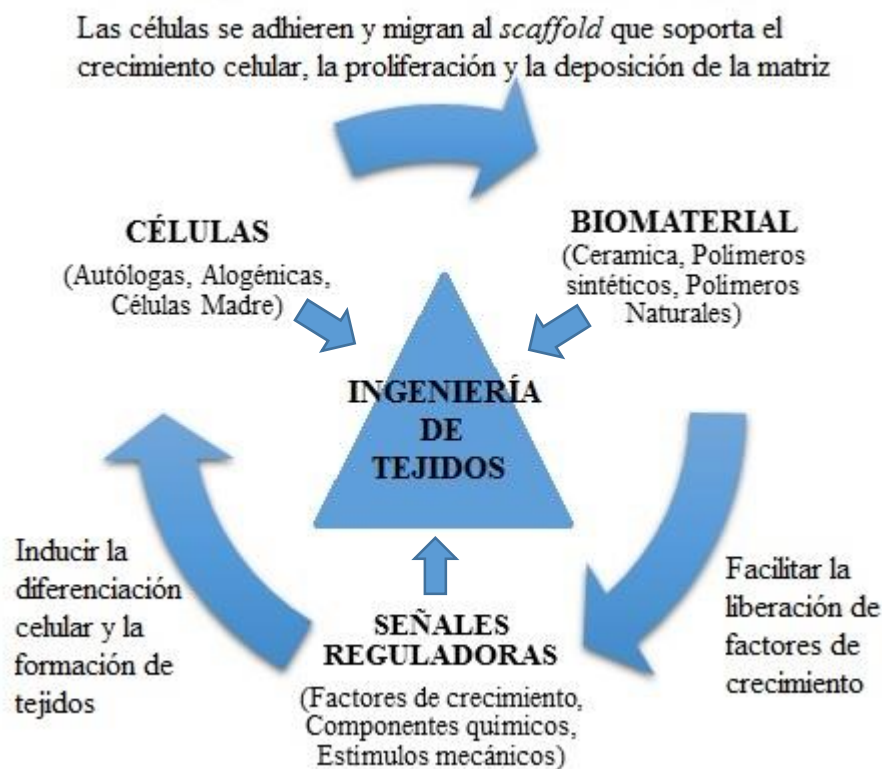


Figura 1. Tríada de ingeniería de tejidos.¹

En el campo del diseño de los *scaffolds*, son cruciales la biocompatibilidad y la biodegradabilidad del biomaterial utilizado, así como las propiedades mecánicas para evitar el colapso de los tejidos y la estructura similar a la del tejido a regenerar.^{1,2}

El término biocompatible se refiere a la capacidad de un *scaffold* para soportar el crecimiento celular y la regeneración tisular *in vivo*, sin provocar una respuesta inflamatoria o inmunogénica que pueda dar lugar a su rechazo.^{1,2,5} La inflamación local limitada puede promover la cicatrización y la neovascularización, mientras que la inflamación crónica y/o una respuesta inmune adversa pueden comprometer tanto al tejido como al paciente.^{1,5}

Por otro lado, y de manera “ideal”, la biodegradación debe ocurrir durante un período de tiempo que permita que el *scaffold* desaparezca en concordancia con la formación del tejido.²

En el contexto de la ingeniería del tejido blando, la regeneración es impulsada biológicamente por células progenitoras que son capaces de formar nuevos fibroblastos.⁵ Estos progenitores, pueden surgir desde dentro del tejido dañado o de los tejidos nativos circundantes, o pueden ser suministrados exógenamente como parte de la solución de la ingeniería de tejidos.²

El comportamiento celular está fuertemente influenciado por señales reguladoras, que son el tercer componente de la tríada de ingeniería de tejidos.^{1,2,6} Estos incluyen estímulos bioquímicos y/o biofísicos de la matriz extracelular (MEC) para inducir y regular la formación de tejido tanto *in vitro* como *in vivo*.^{1,2,7,8} Los estímulos bioquímicos modulan los procesos de señalización celular que regulan la migración, la adhesión, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular. Los factores de crecimiento y citocinas pueden funcionar local o sistémicamente para cambiar los patrones de expresión génica en las células diana.^{1,5}

Todos estos componentes los podemos encontrar en las plaquetas.⁶ Las plaquetas son organismos sin núcleo, de forma discoide, con conductos membranosos que se prolongan hacia el interior de la célula. Tienen una vida media de 7-10 días y un tamaño de 2’5-3 micras de diámetro. Su valor normal en sangre es de 150000-300000 unidades por microlitro.⁹ Presentan gránulos en su interior los cuales se dividen en 3 tipos: gránulos alfa, gránulos densos y gránulos liso-somales. Los que nos van a interesar son los primeros, pues en ellos podremos encontrar los factores de crecimiento, que son un grupo de proteínas capaces de actuar sobre los receptores de la superficie celular y dirigir la actividad celular implicada en la cicatrización de las heridas (Tabla 1).^{4,5,10}

PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Promueve indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis. ▪ Activador de macrófagos. ▪ Mitógeno de células mesenquimales. ▪ Facilita la formación de colágeno tipo I.
TGF-Beta (Factor de crecimiento transformante B)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proliferación y diferenciación de los osteoblastos. ▪ Inhiben los osteoclastos. ▪ Proliferación de fibroblastos e inducción de la secreción de fibronectina por estos. ▪ Pro-angiogénesis por acción quimiotáctica sobre células endoteliales.
IGF-1 (Factor de crecimiento insulínico tipo I)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento. ▪ Síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo I por los osteoblastos.
VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Quimiotaxis y proliferación de células endoteliales ▪ Hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos.
EGF (Factor de crecimiento epidérmico o epitelial)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mitógeno, proapoptótico, quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.
FGF (Factor de crecimiento fibroblástico ácido-básico)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proliferación y diferenciación de los osteoblastos. ▪ Inhiben los osteoclastos. ▪ Proliferación de fibroblastos e inducción de la secreción de fibronectina por estos. ▪ Pro-angiogénesis por acción quimiotáctica sobre células endoteliales.

Tabla 1. Principales factores de crecimiento (FC) presentes en las plaquetas.^{5,6,8}

Hasta que no tiene lugar la formación del coágulo, no se liberarán estos factores de crecimiento,⁵ por lo que es importante conocer el proceso de hemostasia y coagulación que darán lugar a la formación del mismo. Entendemos por hemostasia como el mecanismo de defensa que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular.^{10,11} Este se divide en primer lugar en hemostasia primaria, en la que participan fundamentalmente las plaquetas a través de los procesos de adhesión, reclutamiento, activación y agregación para la formación del tapón hemostático inicial, y en segundo lugar, en fase de coagulación sanguínea o hemostasia secundaria.^{7,11}

Según el modelo celular actual de la hemostasia, el proceso de coagulación fisiológica depende de la exposición del factor tisular (FT) que se pone en contacto en el lugar de la lesión con el factor VII y del ensamblaje de las reacciones de coagulación a nivel de la superficie celular de las plaquetas, en las que la trombina pasa a fibrinógeno y el fibrinógeno a una malla de fibrina, que junto con las plaquetas y los fosfolípidos, dan lugar a la formación de un coágulo estable de fibrina, de estructura tetragonal.^{7,10,12,14}

Las plaquetas transportan los principales FC en los gránulos alfa y proteínas útiles para la regeneración y reparación tisular.¹⁰ La tromboplastina tisular o factor tisular interactúa con las plaquetas produciendo la actividad plaquetaria dentro de nuestro organismo.⁸ Al activarse las plaquetas tras recibir un estímulo, adquieren una forma esferoidal y espinosa con movimientos de pseudópodos y dan lugar a la expulsión de unos gránulos que liberan a su vez los factores de crecimiento.¹⁰

En pacientes en tratamiento con AINES, obtenemos plaquetas activadas con pocos factores de crecimiento y de mala calidad, por lo que no se recomienda la aplicación de ninguna de las tácticas terapéuticas de las que hablaremos a continuación.^{8,9}

Plasma rico en plaquetas (PRP):

La técnica terapéutica del PRP se fundamentaría en la modulación y aceleración de los procesos cicatriciales mediante los factores de crecimiento presentes en las plaquetas, que son los iniciadores universales de la mayoría de los procesos de regeneración, reconstruyendo la forma y restaurando la función de los tejidos.^{5,6}

Para obtener el efecto terapéutico y unos mayores beneficios, hay que concentrar el número de plaquetas, que se encontrarán por encima de las 800000 unidades por microlitro.¹³ Para ello, realizamos una extracción de sangre venosa del paciente, y la sometemos a un proceso de centrifugado. Tras este proceso, podremos apreciar 3 capas muy bien diferenciadas, de abajo a arriba:⁶

1. Zona de glóbulos rojos.
2. Capa fina de leucocitos.
3. Zona plasmática, que a su vez se divide en 3 zonas hipotéticas:
 - 3.1. Zona de plasma rico en plaquetas.
 - 3.2. Zona de cantidad normal en plaquetas.
 - 3.3. Zona de cantidad pobre en plaquetas.

Los tubos de centrifugado en la técnica del PRP contienen citrato de sodio al 3'2% (anticoagulante). También los hay al 3'8%, pero la Sociedad Americana recomienda 3'2% en una proporción 1 anticoagulante: 9 sangrevenosa.¹³ El anticoagulante capta los iones calcio presentes en la sangre y los inactiva, formando un compuesto conocido como quelato.⁸ El calcio queda inactivo y las plaquetas no se activan, conservando su función y su estructura.¹⁰

Los preparados de PRP son estables en las soluciones anticoaguladas durante 8 horas. Dentro de estos tubos, el tiempo de vida media aproximado de las plaquetas es de 24 horas, sin centrifugar; por el contrario, si centrifugamos, el tiempo de vida media de las plaquetas será de 15 minutos.¹⁴ La activación de las plaquetas por el trauma mecánico debido al manejo de la muestra provoca una liberación del 90% de los factores de crecimiento en los primeros 10 minutos. Dado que la mayoría de estos FC tienen una vida media corta, su mayor eficacia resultará en el momento de la inyección o justo un momento antes.

Para la preparación del PRP, se extrae la sangre del paciente en un tubo de centrifugado con citrato trisódico (3,2%).¹³ Las agujas que se usan han de ser de diámetro menor a 22 milímetros, tanto para la extracción como para la inyección del PRP, para evitar la activación accidental de las plaquetas (estímulo traumático).⁷

Según los diferentes autores consultados, existen dos opciones de protocolo de centrifugado para el PRP: una única centrifugación o una doble centrifugación.⁸ Con un único centrifugado conseguiríamos un menor número de plaquetas mientras que con el doble centrifugado conseguiríamos un plasma puro rico en plaquetas (P-PRP), con mayor número de estas. La concentración normal de las plaquetas en el hematocrito es de 33-40% de plaquetas, pero tras el proceso de doble centrifugado se puede obtener una concentración de plaquetas de 330% aproximadamente.⁸

Debido al estado líquido inherente del PRP, las preparaciones se convierten antes de su uso clínico a un estado en forma de gel.⁷

El P-PRP es una técnica alternativa derivada del PRP, que difiere de este último en que es semi-sólido, requiere de un doble pipeteado, contiene mayor número de plaquetas, no tiene leucocitos y tiene la necesidad de ser reinyectado cada día, aunque sus aplicaciones clínicas son las mismas que las del PRP.⁹

Las aplicaciones clínicas del PRP en Cirugía Oral son:^{9,13}

- ✓ Estabilización de injertos.
- ✓ Sellado de heridas (aproximación de colgajos).
- ✓ Cicatrización de heridas (regeneración de tejidos blandos).
- ✓ Hemostasia (detención del sangrado capilar y de potenciales hematomas).
- ✓ Implantología.
- ✓ Otras aplicaciones:
 - Traumatología y ortopedia: lesiones óseas y de tejidos blandos.
 - Transportador de fármacos.

Es importante recordar que el plasma rico en plaquetas puede ser un PRP con factores de crecimiento o un PRP sin factores de crecimiento. La diferencia del PRP con factores de crecimiento es que las plaquetas no han sido activadas. En este sentido, el PRGF es el nuevo término que tenemos para este PRP con plaquetas sin activar.¹⁵ Nos interesa obtener plaquetas sin activar llenas de factores de crecimiento.

Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF):

El PRGF fue introducido por Anitua en 1999.⁷ Este preparado no contiene leucocitos, a diferencia del anterior, y su concentración de plaquetas y, por tanto, factores de crecimiento, es menor.

El protocolo de preparación del PRGF sigue un proceso de centrifugado de 8 minutos.^{7,15} Los tubos usados, al igual que para el PRP, también contienen citrato trisódico, en este caso, al 3,8%.¹⁷ Tendremos que usar un activador de plaquetas para inducir la liberación de factores de crecimiento, cloruro cálcico¹⁵ y/o trombina humana (no bovina).⁷ Después de 15 minutos fuera de la centrifugadora, obtendremos un gel de PRGF.¹⁵

Las aplicaciones clínicas del PRGF son:⁷

- ✓ Cirugía oral y maxilofacial:
 - Reduce la inflamación y el dolor.
 - Mejorar la bioseguridad y la previsibilidad de los implantes dentales.
 - Reduce el riesgo de infección y de cualquier otra complicación post-cirugía.
- ✓ Ortopedia y medicina deportiva.
- ✓ Tratamiento y regeneración tisular.

De los dos sistemas anteriormente descritos, nació el plasma rico en fibrina (PRF), perteneciente a la nueva generación de concentrado de plaquetas, orientado a simplificar su preparación sin ningún añadido químico.⁴

Plasma rico en fibrina (PRF):

El PRF fue descrito por primera vez por Choukroun y cols. en Francia en 2001.³

En la literatura vemos la distinción de esta técnica terapéutica de la del Plasma rico en fibrina con leucocitos o L-PRF, pero la realidad es que ambas técnicas no difieren en nada. Por ello, englobaremos ambas en el término PRF, técnica muy rica en plaquetas y leucocitos.¹⁶

Dentro del PRF podemos diferenciar entre A-PRF e i-PRF,⁷ siendo el primero el coágulo o la membrana de PRF, y el segundo el inyectable de PRF. Ambos tipos difieren en su preparación, aunque la finalidad y sus aplicaciones clínicas van a ser las mismas.

Para su preparación, se extrae la sangre del paciente en los tubos de centrifugado, sin anticoagulante ni ningún otro añadido químico, lo que la diferencia de las dos técnicas anteriores.³

El A-PRF será centrifugado 8 minutos a 1300 rpm y el i-PRF durante 3 minutos a 700 rpm. Pasado el centrifugado, el A-PRF se dejará reposar unos 3 minutos para que asienten las capas.⁷ Cuando esto ocurra, se toma el coágulo haciendo uso de una varilla de vidrio o pinza estéril, separándolo cuidadosamente del corpúsculo rojo, dado que la capa de leucocitos se encuentra en esa zona.^{3,7} Una vez tengamos listo el coágulo, se procede a la formación de la membrana de PRF con la presión del mismo durante unos pocos minutos (existen cajas quirúrgicas para ello).¹⁰ Esta membrana de PRF se puede suturar y puede quedar expuesta en la cavidad oral.⁴ El suero sobrante al comprimir el coágulo y convertirlo en la membrana de PRF, puede ser añadido a la misma preparación o a otras que vayan a ser realizadas al mismo paciente.¹⁶

En el caso del i-PRF emplearemos toda la parte de arriba hasta la interfase, sirviéndonos de una jeringuilla para su recolección e inyección.⁴

Las aplicaciones clínicas del PRF en Cirugía Oral son:^{4,17}

- ✓ Manejo de tejidos blandos
- ✓ Recesiones gingivales
- ✓ Preservación del alveolo
- ✓ Elevación de seno
- ✓ Implante inmediato
- ✓ Injerto óseo

En la siguiente tabla se exponen las 3 técnicas terapéuticas tratadas, haciendo una visión de las diferencias existentes entre ellas (Tabla 2).

	PRP	PRGF	PRF
Protocolo	Muy complejo	Complejo	Fácil
Velocidad	Lento	Muy lento	Rápido
Reproductibilidad	+/-	Pipeteado	Automática
Uso de anticoagulantes	Sí	Sí	No
Cantidad obtenible	Suficiente	Pobre	Buena
Velocidad de formación de fibrina	Alta	Alta	Fisiológica
Cantidad de leucocitos	0-50%	0%	65%
Propiedades inmunomoduladoras	Pobre	No	Sí
Potencial osteoconductor (scaffolding)	+	++	+++++
Propiedades mecánicas (líquido-gel-membrana)	Suficiente	Pobre	Buena
Liberación de factores de crecimiento	Inmediato	¿¿??	Lento 7-15 días

Tabla 2. Comparativa de las diferentes técnicas terapéuticas.¹⁷

3. OBJETIVO

El objetivo de esta revisión sistemática es establecer las características y diferencias existentes entre los nuevos sistemas para la obtención de membranas naturalmente guiadas para la regeneración de tejidos blandos en Cirugía Oral, estudiadas entre 2006 y 2017.

4. MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio, se han expuesto las características de cada una de las diferentes técnicas actuales para la obtención de membranas naturalmente guiadas.

Esta revisión se ha realizado en orden cronológico de los artículos seleccionados en función de la fecha de publicación de los artículos.

La búsqueda de artículos se hizo con una serie de criterios de inclusión y exclusión: “*last 10 years*” y “*humans*”.

Esta búsqueda fue realizada utilizando la base de datos MEDLINE (PubMed) mediante una serie de palabras claves: “*growth factor*”, “*tissue healing*”, “*platelet*” y “*oral surgery*”.

La fórmula para llevar a cabo la búsqueda fue la siguiente: (“*growth factor*” AND “*oral surgery*”) OR (“*tissue healing*” AND “*oral surgery*”) OR (“*platelet*” AND “*oral surgery*”), dando como resultado 462 artículos. Aplicando un filtro para que aparecieran los artículos publicados en los últimos 10 años y sólo de estudios realizados en humanos, la cifra se redujo a 184 artículos. De estos 184 resultantes, tras la aplicación del filtro, se hizo una selección analizando el título y se excluyeron 129 artículos. Los abstracts fueron evaluados y se excluyeron 37 artículos ya que no cumplían con los criterios de inclusión. De esta forma un total de 18 artículos fueron seleccionados para ser revisados a texto completo.

Para la obtención de los artículos a texto completo se utilizó MEDLINE (Pubmed), CATALOGO FAMA (recurso electrónico de la biblioteca de ciencias de la salud) y el PRÉSTAMO INTERBIBLIOTECARIO (para aquellas revistas a las que no se podía acceder a través de ninguno de los dos medios anteriores). Una vez obtenidos los 18 artículos a texto completo, fueron revisados aplicando los criterios de inclusión y exclusión. Con esto último, se vio que todos ellos reunían los criterios de inclusión y por lo tanto, fueron utilizados en este estudio.

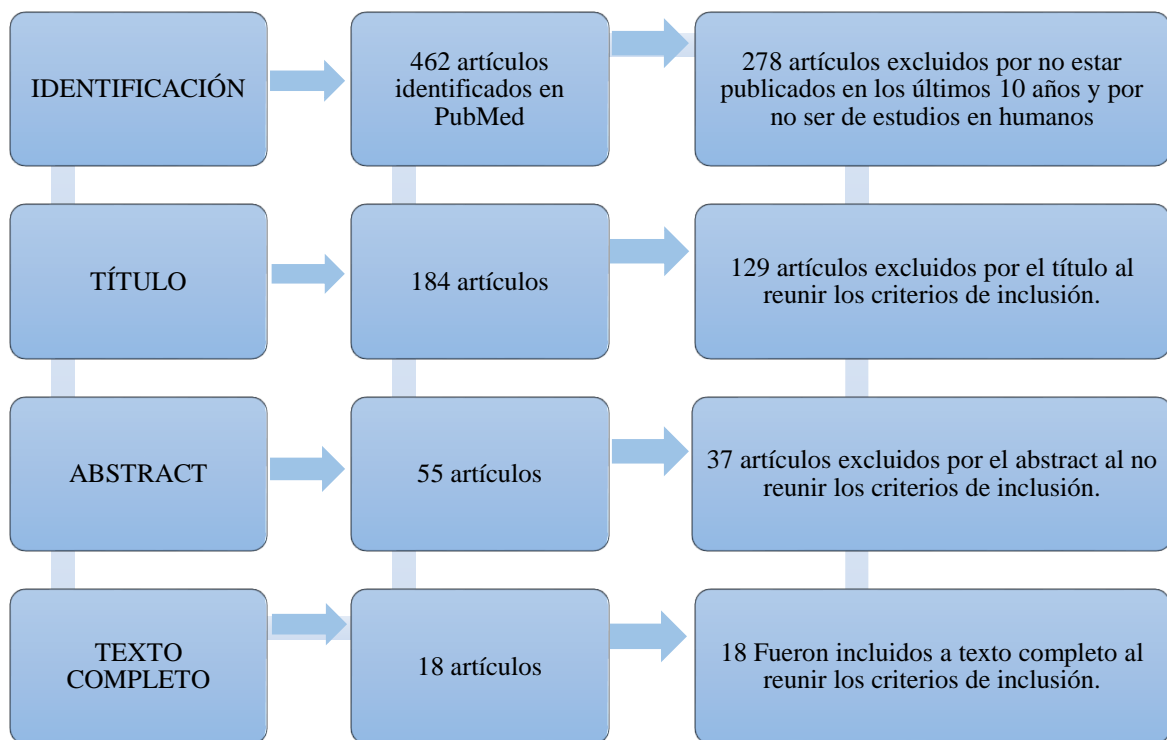
DIAGRAMA DE FLUJO DE LA INFORMACIÓN

Figura 2. Esquema de búsqueda bibliográfica de artículos

5. RESULTADOS

Fecha Publicación	Revista	Autor	País	Resumen	Importancia
2006	Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics	Choukroun & cols. ⁴	Estados Unidos	Artículo que presenta los efectos clínicos del PRF en la curación tisular.	El PRF mejora la regeneración de los tejidos duros y blandos en el área del defecto. Permite optimizar la remodelación tisular, la cicatrización de heridas y la angiogénesis mediante la entrega local de factores de crecimiento, favoreciendo así los resultados clínicos. Posee propiedades inmunológicas.
2007	Avances en Periodoncia	Beca T. y cols. ⁸	España	Revisión bibliográfica del PRP	El Plasma Rico en Plaquetas es un producto autógeno, atóxico y no inmunorreactivo. La integración de los injertos de biomateriales no se ve favorecida de forma estadísticamente significativa cuando se aplican asociados al PRP. Existen ciertos riesgos como la carcinogénesis, la capacidad de metástasis y la transmisión de patógenos en la aplicación de los concentrados plaquetarios.
2009	Growth Factors	Dohan Ehrenfest & cols. ¹²	Estados Unidos	Estudio sobre la liberación de los FC en la técnica de PRF de Choukroun.	La membrana de PRF sostiene una liberación lenta de FC durante al menos una semana tras la aplicación de la membrana. Gran potencial en la cicatrización de heridas y uso como agente antihemorrágico.
2010	Journal of Periodontology	Dohan Ehrenfest & cols. ¹⁴	Estados Unidos	Artículo que nos habla de PRF de Choukroun, de su composición celular y de la organización tridimensional de este biomaterial autógeno. Se evalúa la influencia de diferentes tubos de recolección (vidrio seco o tubos de plástico revestidos de vidrio) y procedimientos de compresión (fuertes o blandos) en la arquitectura final de la membrana PRF.	Protocolo fácil que permite la producción de coágulos y membranas ricos en leucocitos y fibrina a partir de extracción de sangre venosa del paciente. No hubo diferencias significativas en la arquitectura del PRF entre los grupos que utilizaban diferentes tubos de recolección.

Fecha Publicación	Revista	Autor	País	Resumen	Importancia
2010	Microscopy Research and Technique	Fabrizio & cols. ⁶	Estados Unidos	Artículo que nos habla de los concentrados de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento. Compara dos técnicas, el PRF y el concentrado de factores de crecimiento (CGF), usándolas en 6 pacientes.	El CGF tiene una compleja arquitectura, similar al PRF, rico en plaquetas, fibrina, leucocitos y factores de crecimiento. Existen muy pocos datos sobre las características biológicas y el uso de CGF.
2012	Current Pharmaceutical Biotechnology	Dohan Ehrenfest & cols. ¹⁸	Alemania	Se propone una clasificación para los concentrados plaquetarios de uso quirúrgico: P-PRP o PRGF de Anitua, L-PRP, P-PRF y L-PRF o PRF de Choukroun.	P-PRP y L-PRP se refieren a la forma líquida no activada de estos productos, siendo sus versiones activadas denominadas respectivamente geles P-PRP y geles L-PRP. Se puede activar con cloruro de calcio para obtener un PRGF en forma de gel.
2012	Indian Journal of Dental Sciences	Sood & cols. ¹⁵	India	Esta revisión clasifica los diferentes concentrados plaquetarios en cuatro categorías, dependiendo de su contenido en leucocitos y fibrina: P-PRP, L-PRP, P-PRF, y L-PRF, tal como el PRF de Choukroun. Se habla también del PRGF de Anitua. Se hablan de diferentes sistemas y protocolos de los mismos.	El P-PRP se puede obtener mediante métodos automatizados o manuales. El L-PRF y el PRF se producen sin anticoagulantes ni agentes gelificantes. La sangre venosa se recoge en tubos de vidrio secos (sin anticoagulantes) y se centrifuga a baja velocidad.
2012	The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry	Jankovic & cols. ¹⁹	Estados Unidos	Describe el caso de una paciente de 21 años que presenta una recesión gingival de 3mm en un canino superior derecho y es tratada aplicando la técnica de PRF.	No se usa anticoagulantes. Proceso de centrifugado a 3000 rpm durante 10 min. La técnica de PRF tiene la ventaja de evitar el procedimiento quirúrgico del sitio donante, la cicatrización avanzada del tejido durante las primeras 2 semanas del postoperatorio, y una disminución importante del malestar del paciente tras la cirugía.

Fecha Publicación	Revista	Autor	País	Resumen	Importancia
2012	Current Pharmaceutical Biotechnology	Dohan Ehrenfest & cols. ²⁰	Alemania	Clasificación de los concentrados de plaquetas en 4 familias: P-PRP, L-PRP, P-PRF y L-PRF. El P-PRP, (aquí el PRGF de Anitua) y el L-PRF (aquí el método de Choukroun) son dos familias de extremos opuestos en términos de arquitectura de fibrina y contenido de leucocitos.	El contenido de leucocitos y la estructura de fibrina son dos características clave de todos los concentrados de plaquetas. Las membranas de L-PRF liberan mayores cantidades de Factores de crecimiento que las membranas de gel de P-PRP. Las membranas de gel de P-PRP se disuelven completamente en el medio de cultivo después de menos de 5 días, mientras que las membranas de L-PRF están todavía intactas después de 7 días.
2013	Immunity & Ageing	Albanese & cols. ¹³	Estados Unidos	El uso del PRP demuestra numerosos resultados en diferentes tratamientos dentales y Cirugía Oral (extracciones dentales, cirugía periodontal, cirugía de implantes).	El uso del PRP en Cirugía oral es ciertamente capaz de mejorar la cicatrización de tejidos blandos, reducir el sangrado e influir positivamente en la regeneración ósea, pero este último efecto parece disminuir unos días después de la extracción. El PRP produce mejores resultados asociado a otros materiales que cuando se usa solo.
2013	Journal of Conservative Dentistry	Naik & cols. ²¹	India	Artículo que nos habla de un PRF basado en el PRF de Choukroun.	Ventajas del PRF sobre el PRP: sin tratamiento bioquímico de la sangre, proceso simplificado y rentable, uso de trombina bovina y anticoagulantes no requeridos, cicatrización favorable debido a polimerización lenta, migración y proliferación celular más eficientes, el PRF tiene efecto de apoyo sobre el sistema inmunológico y ayuda en la hemostasia.

Fecha Publicación	Revista	Autor	País	Resumen	Importancia
2014	Journal of Indian Dental Association	Mazumdar & cols. ¹⁶	India	Se presentan dos casos clínicos de cavidades quísticas en los que se hace uso de la técnica de PRF para su tratamiento.	Se usa el protocolo de Choukroun para la preparación del PRF: centrifugado a una velocidad de 3000 rpm durante 10 minutos.
2015	Journal of Medical Case Reports	Di Lauro & cols. ²²	Reino Unido	Se presentan dos casos clínicos de pacientes con hiperplasia gingival, tratados con la técnica de Plasma rico en fibrina con leucocitos (L-PRF).	El L-PRF tiene un elevado contenido de leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento, lo cual hace muy favorable la curación de este tipo de heridas en los tejidos blandos.
2015	Odontology	Kawase T. ⁷	Japón	Artículo que nos habla de los recientes avances en el desarrollo y la modificación de los biomateriales derivados de plaquetas (PRP, PRGF y PRF) y en el que se discute sobre su uso futuro.	Se usa trombina bovina en la preparación del PRP. Los FC nativos son más potentes y dan mejores beneficios que los FC recombinantes. Este PRF es el resultado de una simplificación en el protocolo de preparación del PRP y de una mejora a la forma líquida de este. La fibrina funciona como vehículo adhesivo para los factores de crecimiento, controlando su liberación y manteniendo su bioactividad durante periodos de tiempo más largos.
2015	European Review for Medical and Pharmacological Sciences	Giannini & cols. ¹⁷	Italia	Comparación entre los protocolos de las técnicas más usadas en cirugía regenerativa: PRP, PRGF y PRF.	El PRGF no necesita de trombina humana para la coagulación. 1 ml de citrato de sodio al 3,8% para 10 ml de sangre para la preparación del PRGF.

Fecha Publicación	Revista	Autor	País	Resumen	Importancia
2016	International Journal of Clinical Dentistry	Mootha & cols. ³	Estados Unidos	El PRF es un concentrado de plaquetas autógenas rico en factores de crecimiento que tiene un potencial de regeneración y cicatrización significativo. Este artículo nos habla de las aplicaciones clínicas del PRF como gel y membrana en cirugía endodóntica, cirugía post-extracción, cirugía estética, aumento de tejidos blandos gingivales y recubrimiento en exposición radicular, implantología dental, defectos de furca y en cirugía periodontal.	El PRF ayuda en la regeneración y cicatrización de los tejidos blandos. También puede utilizarse como un material autógeno con otros injertos para aumentar los beneficios clínicos. Permite al profesional optimizar la remodelación tisular, la cicatrización de heridas y la angiogénesis. Es un material barato.
2016	International Journal of Dentistry	Khorshidi & cols. ²³	Inglaterra	Estudio en el que se comparan las propiedades mecánicas del L-PRF frente a la membrana de PRGF.	Las membranas de L-PRF tienen propiedades mecánicas más fuertes que las membranas producidas por el sistema PRGF, tienen un manejo clínico más fácil, son más eficientes en los procedimientos regenerativos alternativos, muestran una mayor resistencia frente a la sutura y proporcionan un <i>scaffold</i> de mayor apoyo en la regeneración periodontal.
2017	Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial	Orión & cols. ¹⁰	España	Artículo de revisión sobre la técnica de L-PRF. Se exponen las diferencias que presenta frente al PRP.	Propone dos opciones de centrifugado: 3000 rpm durante 10 minutos o 2700 rpm durante 12 minutos. Solo precisa de un centrifugado. L-PRF contiene un mayor número de plaquetas, leucocitos y FC que el PRP. Técnica sencilla y rápida, menos de 20 minutos.

1. DISCUSIÓN

En esta revisión sistemática hemos encontrado variaciones tanto entre los diferentes sistemas de obtención de membranas naturalmente guiadas, como en la terminología usada para definir a cada uno de ellos, y casi tantos protocolos como autores a la hora de conseguir los preparados ricos en plaquetas, en el intervalo de tiempo comprendido entre 2006 y 2017.

Tal y como nos dicen Dohan Ehrenfest y cols. en 2012, los nombres que utilizan los diferentes autores a lo largo del tiempo para definir una versión específica de la tecnología de concentrados de plaquetas, no se basa en la clasificación consensual de una realidad científica, sino que sólo están conformados por la necesidad de la comunicación comercial.¹⁸

Tras la revisión de la literatura y de las diferentes clasificaciones observadas respecto a los concentrados de plaquetas en el periodo comprendido entre 2006 y 2017, se ha observado que: el P-PRP es el resultado del doble centrifugado del PRP, el L-PRP es el PRP recogido junto con toda la capa leucocitaria obtenida en el protocolo de un único centrifugado, y el L-PRF corresponde al PRF descrito por Choukroun.^{6,7,15,17,18,20}

En un principio, podríamos pensar que nuestro objetivo es encontrar el método que nos proporcione el mayor número de plaquetas. Marx y Meltzer (2000) nos indican, que al menos hemos de cuatuplicarlo,¹³ pero que no debemos olvidar que lo que queremos obtener, en realidad, son los factores de crecimiento presentes en las mismas.⁶

En la preparación del PRP, según Marx (2001) y Sood y cols. (2012), el PRP verdadero será el que se obtenga mediante un doble centrifugado: el primero a 2400 rpm durante 10 minutos y el segundo a 3600 rpm durante 15 minutos.¹⁵ Zimmermann y cols. (2003), Choi y cols. (2005) y Kawase T. (2015) nos hablan también de un doble centrifugado para el preparado de PRP, pero el primero es más intenso, para separar los glóbulos rojos del plasma y el segundo, más suave, para separar las plaquetas, los glóbulos blancos y unos pocos hematíes del plasma.⁷

La preparación del PRGF, según nos dicen los autores Dohan Ehrenrest y cols. (2012), Sood y cols. (2012), Giannini & cols. (2015), Kawase T. (2015) y Khorshidi & cols. (2016), consta de un único centrifugado de 8 minutos. No hacen referencia en cuanto a la velocidad del proceso de centrifugado.^{7,15,17,18,20,23}

En la preparación del PRF, Dohan Ehrenfest y cols. (2010) usan un protocolo de centrifugado a una velocidad de 3000 rpm durante 10 minutos basado en el PRF de Choukroun.¹⁴ Jankovic y cols. (2012),¹⁹ Naik y cols. (2013),²¹ y Mazumdar y cols. (2014)¹⁶ coinciden con Dohan Ehrenfest y cols. (2012). En 2015, Giannini y cols. proponen un proceso de centrifugado a 3000 rpm durante 12 minutos para esta misma técnica de PRF.¹⁷ En la misma fecha, Di Lauro y cols. someten al L-PRF a un proceso de centrifugado a 2700 rpm durante 12 minutos.²² En 2016, Mootha y cols. proponen dos opciones de protocolo de centrifugado 2700 rpm durante 12 minutos o 3000 rpm durante 10 minutos.³ Esto mismo nos dicen en 2017 Orión y cols. acerca del L-PRF.¹⁰

Respecto a las características de cada uno de estos preparados de plaquetas, Albanese y cols. en 2013 y Kawase T. en 2015, dicen que el PRP en Cirugía oral es ciertamente capaz de mejorar la cicatrización de tejidos blandos, reducir el sangrado e influir positivamente en la regeneración ósea, pero este último efecto parece disminuir unos días después de la extracción.^{7,13}

En 2015, Kawase T. nos habla del PRGF, distinguiéndolo del PRP, por su formulación puramente autógena y biocompatible.⁷ Aunque lo cierto es, que no es realmente así pues, a pesar de usar la trombina autógena en vez de la bovina, sigue usando citrato de sodio como anticoagulante y cloruro de calcio como activador de plaquetas, lo que hace de este preparado que no sea puramente autógeno como nos dice el autor. En cambio, el PRF o L-PRF no contiene anticoagulantes, ni activador plaquetario, ni ningún otro tipo de añadido químico. De este si podemos decir que es puramente autógeno y biocompatible, tal y como nos reflejan los diversos autores desde Choukroun y cols. en 2006 hasta Orión y cols. en 2017.^{3,10}

En 2006, Choukroun y cols. ya exponían los beneficios obtenidos del uso clínico de la técnica de PRF, coincidiendo con Mootha y cols. en 2016, en que el PRF permite al clínico optimizar la remodelación tisular, mejora la cicatrización de heridas y la angiogénesis mediante la entrega local de factores de crecimiento, favoreciendo así los resultados clínicos. Además, la regeneración de los tejidos duros y blandos en el área del defecto es mejor.^{3,4} En 2012, Jankovic y cols. también nos hablan de las ventajas de la técnica de PRF: evita el procedimiento quirúrgico del sitio donante, hay una mayor cicatrización del tejido durante las primeras 2 semanas del postoperatorio, y disminuye de manera importante el malestar del paciente tras la cirugía.¹⁹ En 2015, Kawase T. nos dice que la principal ventaja de PRF es su protocolo de preparación simple que no requiere de anticoagulantes, reduce el número de etapas de centrifugación y elimina el proceso de fraccionamiento. Por ello, esta técnica comienza a ser de las más usadas.⁷ En 2017, Orión y cols. coinciden con todos los autores anteriores sobre de las ventajas del PRF y añaden que, hace que se reduzca el riesgo de contaminación, permite un cierre primario de lechos post-extracción amplios, disminuye el edema y el dolor post-operatorio y, por tanto, mejora el grado de satisfacción del paciente tras el tratamiento.¹⁰

En la mayoría de los protocolos, las plaquetas se activan masivamente y no existe una matriz de fibrina significativa para apoyar la liberación de los factores de crecimiento y la migración celular. En 2009 y 2010, Dohan Ehrenfest y cols. hablan del PRF de Choukroun, que muestra una densa membrana de fibrina que libera grandes cantidades de los principales factores de crecimiento.^{12,14} Según Mazumdar y cols. (2014), el coágulo de fibrina desempeña un importante papel mecánico, manteniendo y protegiendo la membrana PRF y los biomateriales injertados junto con los que se puede usar esta técnica.¹⁶

En 2012, Dohan Ehrenfest y cols. exponen que las membranas de L-PRF liberan mayores cantidades de factores de crecimiento que las membranas de gel de P-PRP.²⁰ En 2016, Khorshidi y cols. indican que las membranas de L-PRF tienen propiedades mecánicas más fuertes que las membranas producidas por el sistema PRGF, que tienen un manejo clínico más fácil, son más eficientes en los procedimientos regenerativos alternativos, muestran una mayor resistencia frente a la sutura y proporcionan un *scaffold* de mayor apoyo en la regeneración periodontal.²³

En 2012, Dohan Ehrenfest y cols. informan que las membranas P-PRP se disuelven completamente en el medio de cultivo después de menos de 5 días, mientras que las membranas de L-PRF están todavía intactas después de 7 días.²⁰ Kawase T. (2015) dice que la duración de la membrana de PRF es de 10 días.⁷

En 2013, Naik y cols. destaca la membrana de PRF por encima de las del resto de concentrados de plaquetas: tiene una consistencia de fibrina sólida y no se disuelven rápidamente, proporcionando una matriz que contiene alta concentración de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento.²¹

En 2017, Orión y cols. exponen las ventajas de la membrana de PRF: permite la liberación de factores de crecimiento durante más de 7 días *in vitro*, permite la obtención hasta 8 membranas simultáneamente, con propiedades elásticas y resistentes, lo que las hace fácilmente suturables, y se puede retrasar hasta 3 horas la inserción de estas membranas ya preparadas (sin extraerla de la caja quirúrgica del L-PRF).¹⁰

Por todo esto, al leer la literatura, hemos de valorar por qué método se ha obtenido el preparado rico en plaquetas, ya que según el método utilizado, el contenido de factores de crecimiento puede variar considerablemente.

En particular, las plaquetas son importantes, ya que liberan altas concentraciones de proteínas biológicamente activas y apoyan el reclutamiento, el crecimiento y la morfogénesis celular (Anitua et al., 2009, Nurden et al., 2008). Por el contrario, se discute el papel de los leucocitos: algunos autores sugirieron descartar los leucocitos para evitar el proceso inflamatorio (Anitua et al., 2008), mientras que otros subrayan su importancia, incluso como sustitución de tratamientos de antibioterapia.⁶

En 2006 Choukroun y cols. y Mootha y cols. en 2016, destacan las propiedades inmunogénicas del PRF, gracias a su elevado contenido en leucocitos.^{3,4} De la misma manera, Giannini y cols. en 2015 y Kawase T. en la misma fecha, nos hablan de estas mismas propiedades en el PRP, beneficiosas a la hora de su aplicación clínica.^{7,17} Sin embargo, este mismo autor también nos dice que una de las principales ventajas de la técnica del PRGF frente al PRP y al PRF es que evita los potenciales efectos pro-inflamatorios de las proteasas y las hidrolasas ácidas, ambos componentes de los glóbulos blancos (leucocitos), ausentes en este tipo de preparado.⁷ Esto nos hace dudar de si realmente, el contenido o no de leucocitos en los concentrados plaquetarios es beneficioso para el paciente.

En 2017, Orión y cols. exponen que el L-PRF es inocuo, eliminando la posibilidad de transmisión de enfermedades parenterales, por lo que no existen limitaciones éticas para su uso.¹⁰

No hay ningún caso publicado que demuestre algún efecto adverso sobre el organismo del paciente sobre el que se aplique cualquiera de estas técnicas, por lo que no existen contraindicaciones para su uso clínico.^{7,10,17,20}

No hay que olvidar que los factores de crecimiento participan en los procesos de mitosis, diferenciación y proliferación celular por lo que, como dicen Martínez y cols. (2002), por lo que no es conveniente usar el PRP, el PRGF o el PRF, en pacientes con lesiones precancerosas orales, porque aunque no puedan actuar como iniciadores del proceso de carcinogénesis si pueden favorecer la división y promoción de células previamente mutadas o iniciadas. Se ha relacionado la sobreexpresión de los factores de crecimiento y sus receptores con tejidos tumorales y displásicos, pero no existe ningún caso descrito de lo anteriormente citado y, además, este fenómeno necesitaría de dosis mayores y más continuadas en el tiempo que las que se aplican en la terapéutica convencional. Se debe tener en cuenta que los factores de crecimiento extracelulares se degradan a los pocos días.⁸

Tampoco se han de aplicar estas técnicas terapéuticas en pacientes en tratamiento de AINES, ya que obtenemos plaquetas activadas con pocos factores de crecimiento y de mala calidad, lo que no conllevará a buenos resultados clínicos.⁸

En 2010 Fabrizio y cols. hablan de una nueva técnica, el concentrado de factores de crecimiento. El CGF es un método innovador para producir una matriz de fibrina con factores de crecimiento concentrados. Informan que el CGF tiene una buena capacidad regenerativa y una alta versatilidad en el aumento de la cresta de los senos y alvéolos. Existen muy pocos datos sobre las características biológicas y el uso de este sistema.⁶

7. CONCLUSIONES

1. Los preparados de plaquetas no son productos estandarizados.
2. No hay consenso en la terminología usada a la hora de definir los diferentes concentrados plaquetarios.
3. Los estudios clínicos existentes se limitan a unos pocos casos, sin parámetros de éxito, ni grupo control.
4. La técnica de PRF es la única que no hace uso de ningún añadido químico en todo su procedimiento de tratamiento.
5. Se ha demostrado la eficacia de las diferentes técnicas de PRP, PRGF y PRF durante el proceso de Cirugía con una disminución del sangrado intra y postoperatorio, una cicatrización más rápida de los tejidos blandos con una menor reacción inflamatoria, y una mejor estabilidad inicial del tejido injertado en el área receptora debido a sus propiedades de adhesivo tisular.
6. El efecto de todas estas técnicas terapéuticas va a depender de la concentración de plaquetas, del volumen aplicado, de la extensión y tipo de lesión, y de la condición clínica del paciente.
7. No se han descrito efectos secundarios sobre ninguna de estas técnicas.
8. No se recomienda el uso clínico de los concentrados plaquetarios en pacientes en tratamiento con AINES.
9. No debe usarse ninguna de estas técnicas en pacientes que presenten algún tipo de cáncer, tumor, o lesión pre-cancerosa, sobre todo si es en el área oral.
10. Aunque la acción antibacteriana de estas técnicas sea favorable, no debe sobreestimarse ni considerarse comparable en eficacia a la terapia con antibióticos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Murphy CM, O'Brien FJ, Little DG, Schindeler A. Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad. *Eur Cells and Mater*. 2013; 26: 120-132.
2. O'Brien FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today* [Internet]. 2011 [Acceso 11 Diciembre 2016]; 14(3): 88–95. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
3. Moothal A, Thomas JT, Malaiappan S, Varghese SS, Jayakumar ND. PRF - The Magical Resort in Surgical Dentistry. *Int J Clin Dent*. 2016; 9(1): 15-21.
4. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: E56–60.
5. Chen F, Zhang M, Wu Z. Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. *Biomaterials* 31. 2010; 6279-6308. Disponible en: www.elsevier.com/locate/biomaterials
6. Fabrizio RL, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, et al. Growth Factors, CD34 Positive Cells, and Fibrin Network Analysis in Concentrated Growth Factors Fraction. *Microsc Res and Tech*. 2010; 1–6.
7. Kawase T. Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine : basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology*. 2015; 103: 126–135.
8. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Av Periodon Implantol*. 2007; 19, 1: 39–52.
9. Lagunas JG. Plasma rico en plaquetas. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2006; 28, 2 (marzo-abril): 89-99.
10. Orión ASP, Salgado-García A, Arriba Fuente L. Nuevas tendencias en regeneración tisular: fibrina rica en plaquetas y leucocitos. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac*. 2017; 39(2): 91-98.
11. Páramo JA, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. *Rev Med Univ Navarra*. 2009; 53(1): 19–23.

12. Dohan Ehrenfest DM, Peppo GMDE, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*. 2009; 27(1): 63–69.
13. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immun Ageing* [Internet]. 2013 [Acceso 10 Enero 2017]; 10 23. Disponible en: <http://immunityageing.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-4933-10-23>
14. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *J Periodontol*. 2010; 81(4): 546-555.
15. Sood V, Masamatti SS, Khatri M, Kumar A, Jindal V. Platelet Concentrates – Part I. *Indian J Dent Sci*. 2012; 4(2):119–123.
16. Mazumdar S, Joshi S, Ansari S. Experiences with the use of PRF (Plasma Rich Fibrin) in enucleated cystic cavity. *JIDA*. 2014; 8(6): 19–26.
17. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Falisi G, Derla C. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015; 19: 927–930.
18. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, et al. In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use : Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 12: 1131–1137.
19. Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, Lekovic V, Dimitrijevic B, Kenney EB, et al. Use of Platelet-Rich Fibrin Membrane Following Treatment of Gingival Recession: A Randomized Clinical Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012; 32(2): 41–50.
20. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, et al. Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(7): 1145-1152.
21. Naik B, Karunakar P, Jayadev M, Marshal VR. Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *J Conserv Dent*. 2013; 16(4): 284–294.

22. Di Lauro AE, Abbate D, Dell'Angelo B, Iannaccone GA, Scotto F, Sammartino G. Soft tissue regeneration using leukocyte platelet rich fibrin after exeresis of hyperplastic gingival lesions: two case reports. J Med Case Rep [Internet]. 2015 [Acceso 12 Diciembre 2016]; 9: 2-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13256-015-0714-5>
23. Khorshidi H, Raoofi S, Bagheri R, Banihashemi H. Comparison of the Mechanical Properties of Early Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin versus PRGF/Endoret Membranes. Int J Dent. 2016; 1-7.