

Revisión actualizada de los concentrados plaquetarios.

Updated revision on platelet concentrates .

Malpartida-Carrillo, Violeta¹, Tinedo-López, Pedro L.², Guerrero-Acevedo, María E.³

RESUMEN

Los concentrados plaquetarios (CPs) tienen efecto significativo en la hemostasis y en la cicatrización de las heridas ya que liberan factores de crecimiento y citoquinas relacionados con la regeneración de los tejidos. Comúnmente los conocemos bajo los términos de PRP (Platelet-Rich Plasma) o PRF (Platelet-Rich Fibrin). Existe una clasificación desarrollada con la finalidad de identificarlas evitando así confusiones. En las últimas décadas se han incrementado las técnicas de centrifugación para la obtención de CPs autólogos modificando los protocolos establecidos en cuanto a concentraciones, materiales, revoluciones, tiempos y velocidades de centrifugación los cuales podrían alterar sus efectos positivos. En esta revisión de la literatura detallaremos los orígenes, las generaciones, los protocolos de obtención, las utilidades clínicas, las ventajas y desventajas de los CPs así como el aspecto relacionado a la parte comercial y a los nuevos CPs aún en investigación.

Palabras clave: Plaquetas; Fibrina; Adhesivo de Tejido de Fibrina; Plasma Rico en Plaquetas.

ABSTRACT

Platelet concentrates (PCs) have a significant effect on hemostasis and wound healing because they release growth factors and cytokines related to tissue regeneration. We commonly know them under the terms of PRP (Platelet-Rich Plasma) or PRF (Platelet-Rich Fibrin). There is already a classification developed for PCs identification avoiding confusion. In the last decades, the centrifugation techniques have been increased for obtaining autogenous PCs modifying the established protocols in terms of concentrations, materials, revolutions, times and spin speeds which could alter its positive effects. In this review of the literature we will detail the origins, the generations, the standard protocols, the clinical utilities, the advantages and disadvantages of the PCs as well as the commercial part and PCs still under investigation.

Keywords: Blood Platelets; Fibrin; Fibrin Tissue Adhesive; Platelet-Rich Plasma.

La investigación clínica actual tiene como desafío el desarrollo de agentes biológicos o aditivos quirúrgicos bioactivos que tengan la capacidad de simular e inducir eventos naturales regulando así la inflamación y la cicatrización de los tejidos. Los agentes biológicos son sustancias producidas a partir de un organismo vivo o de sus productos los cuales se utilizan en la prevención, el diagnóstico o en el tratamiento de una enfermedad.

En este sentido, la utilización de tales biomateriales debería resultar en una cicatrización más rápida y con resultados regeneradores mejorados. Los agentes biológicos más estudiados para regeneración periodontal y para la mejora del lecho implantológico son: Factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante humano-BB, matriz derivada del esmalte, PRP "Platelet-rich plasma" (Plasma Rico en Plaquetas), PRF "Platelet-rich fibrin" (Fibrina Rica en

1,2. Alumnos de la Maestría en Implantología Oral. Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

3. Coordinadora del Programa de Maestría en Implantología Oral. Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

Correspondencia: Violeta Malpartida Carrillo. **Dirección:** Av. Paseo de la República N° 5544 - Miraflores. **Teléfono:** (511) 6106400 Anx. 324 / 990070420. **Correo electrónico:** viletayu_30@hotmail.com

Plaquetas) y L-PRF “Leukocyte- and platelet-rich fibrin” (Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos)¹.

PRP, PRF y L-PRF son denominados comúnmente concentrados plaquetarios (CPs), los cuales se obtienen mediante centrifugación a partir de una muestra sanguínea recolectada en tubos de vidrio o de plástico. El objetivo principal de los CPs es la separación de los componentes sanguíneos para descartar elementos no útiles (glóbulos rojos) y para concentrar los elementos que puedan ser usados en aplicaciones terapéuticas (fibrinógeno/fibrina, plaquetas, factores de crecimiento, leucocitos, células circulantes en solución y plasma)². En las últimas décadas se han incrementado las técnicas para la obtención de CPs autólogos que sirvan como vehículos y como estimuladores metabólicos obteniendo resultados positivos en cirugía oral y maxilofacial, cirugía de nariz y de garganta, cirugía plástica, cirugía ortopédica, cirugía cardiovascular, medicina deportiva, ginecología y oftalmología^{3,4}.

El presente artículo de revisión tiene por objetivo detallar los orígenes, las generaciones, los protocolos de obtención, las utilidades clínicas, las ventajas y desventajas de los CPs así como el aspecto relacionado a la parte comercial y a los nuevos CPs aún en investigación.

Plaquetas

Las plaquetas son células pequeñas (2 a 4 μ m), irregulares y anucleadas derivadas de los megacariocitos que tienen una vida media de 8 a 12 días con valores sanguíneos normales entre 150000 y 450000 plaquetas/ μ l. Son fundamentales para la hemostasia y para la cicatrización de las heridas ya que son una fuente natural de factores de crecimiento como: Factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), factor de crecimiento vascular endotelial (FCVE), factor de crecimiento de insulina (FCI) y factor de crecimiento transformante β (FCT- β); los cuales se encuentran almacenados dentro de sus gránulos alfa⁵. En el 2001 Mosesson y col. definen fibrina como la forma activada de la molécula plasmática fibrinógeno el cual está presente en el plasma y en los gránulos alfa de las plaquetas jugando un rol importante en la agregación plaquetaria durante la hemostasia, fase inicial para el proceso de cicatrización⁶. El fibrinógeno en forma de proteína soluble es el sustrato final de todas las reacciones de coagulación, luego se transforma en una fibrina insoluble mediante la trombina mientras que la fibrina polimerizada en forma de gel constituye la primera matriz cicatrizal en el sitio lesionado⁷.

En la literatura, los resultados clínicos y

experimentales de los CPs son frecuentemente controversiales y difíciles de interpretar debido a la gran variedad de familias a menudo mal agrupadas bajo el término genérico e inexacto de PRP. Una novedosa terminología y clasificación reagrupó a los CPs en 4 familias dependiendo de la arquitectura de la fibrina y de su contenido celular sean puros (P) o con leucocitos (L): P-PRP, L-PRP, P-PRF y L-PRF^{2,8-10}. P-PRP y L-PRP son suspensiones plaquetarias que pueden gelificar en un “fibrin glue” o pegamento de fibrina luego de activarlas. P-PRF y L-PRF solo existen en forma de gel de fibrina fuertemente polimerizada. Ambos, P-PRP y P-PRF no contienen leucocitos ni otros cuerpos celulares aparte de plaquetas, mientras que L-PRP y L-PRF contienen leucocitos y poblaciones de células circulantes¹¹.

Los precursores de todos los CPs fueron los sellantes o adhesivos de fibrina, los cuales evolucionaron posteriormente hacia la primera y segunda generación de CPs. A continuación detallamos los orígenes y las generaciones de Cps:

1. Sellantes o adhesivos de fibrina: La fibrina homóloga se usó inicialmente como agente hemostático y adhesivo quirúrgico. Matras y col. en 1970 y 1985 publicaron los primeros artículos sobre CPs usando el pegamento de fibrina para mejorar la cicatrización de heridas cutáneas^{12,13}. Este material biológico también era aplicado como osteoconductor para mejorar la consistencia de los injertos^{14,15}. Luego, Toyapongsak y col. en 1994 usaron fibrina autógena obtenida mediante crioprecipitación para reforzar los injertos óseos de reconstrucciones mandibulares. Sin embargo, era necesaria la recolección de la sangre 1 a 3 semanas antes de la intervención además de requerir 2 días de procesamiento¹⁶. Tres años después, Whitman y col. introdujeron el término “platelet gel” o gel de plaquetas en cirugía oral y maxilofacial mejorando la técnica¹⁷. Los sellantes o adhesivos de fibrina fueron bien documentados en el pasado y en sus inicios se derivaron del plasma humano. Algunos adhesivos comerciales como Tisseel (Baxter, Deerfield, IL, USA) fueron muy utilizados pero el riesgo de infección cruzada llevó al desarrollo de adhesivos autógenos; los cuales por la complejidad de sus protocolos de producción obtuvieron resultados poco reproducibles y con propiedades menos satisfactorias (**Figura 1**). Se utilizaron para el control del sangrado, en cirugía plástica, cardioráica y vascular, en aumento de tejido blando y de reborde alveolar, en tratamientos de defectos intraóseos y recesiones, regeneración ósea con implantes, levantamiento de piso de seno maxilar y alveolos postexodoncia^{18,19}.



Figura 1. Adhesivo de fibrina comercial Tisseel, Baxter, Deerfield, IL, USA.
Fuente: <https://www.esutures.com/product/2-indate-expired/84-baxter>

2. Primera generación de concentrados plaquetarios:

Los CPs ganaron mayor interés en cirugía oral y maxilofacial con las publicaciones de Marx y col. a inicios del año 1998^{20,21}. Ellos introdujeron el término PRP para generalizar la obtención de CPs mediante centrifugación, combinando las propiedades de los sellantes de fibrina con la de los factores de crecimiento de las plaquetas. Antiguamente, los CPs para cirugía así como para transfusión hematológica se llamaban arbitrariamente PRP. Con la intención de corregir el mal uso del término se sugirieron otros nombres como: PRGF “Plasma-rich growth factors” (Plasma rico en factores de crecimiento)²² y cPRP “Platelet-rich plasma concentrated” (Concentrado de Plasma Rico en Plaquetas)²³. Se cree que el término cPRP es el más simple y más adecuado para nombrarlos¹⁸.

2.1 Técnica para obtención del cPRP: existen

distintas técnicas pero el concepto general es el siguiente¹⁸:

- Se obtiene la muestra de sangre en tubos de vidrio o de plástico conteniendo anticoagulante y se realiza una primera centrifugación (giro suave) que permite la separación de la sangre en tres capas (**Figura 2**). La parte más inferior del tubo está compuesta por los glóbulos rojos, la parte más superior es la capa capa PPP “Platelet-poor plasma” (plasma pobre en plaquetas) y entre las dos se encuentra una capa intermedia donde se ubica la mayor cantidad de plaquetas denominada capa leucocitaria, la cual formará la mayor parte del futuro cPRP.
- Con una jeringa se aspira PPP, PRP y algunos glóbulos rojos hacia un segundo tubo sin anticoagulante y se realiza otra centrifugación con mayor duración y velocidad que la primera (giro rápido) para obtener nuevamente tres capas

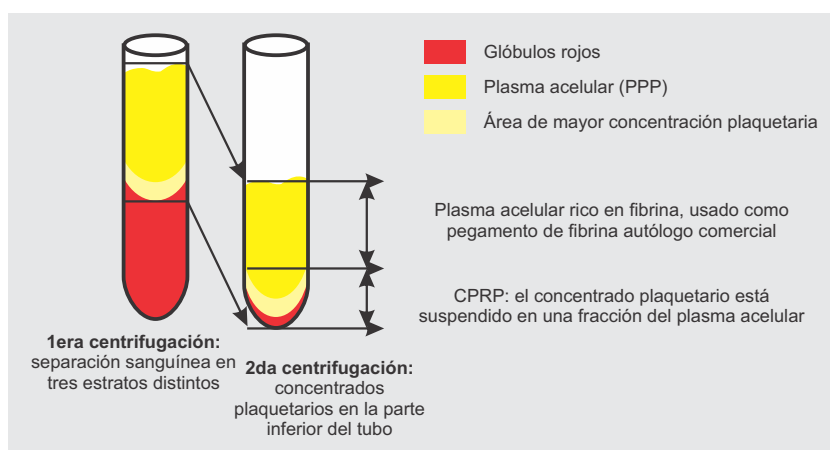


Figura 2. Proceso para obtención del cPRP. Fuente: Dohan et al. 2006¹⁸.

distintas: glóbulos rojos residuales en la parte más inferior del tubo, PPP en la parte más superior y entre los dos, "buffy layer" o cPRP inactivo.

- c) Luego, se recolecta el cPRP inactivo y se mezcla con trombina bovina y cloruro de calcio produciéndose la gelificación del concentrado de plaquetas. La aplicación del cPRP puede realizarse en forma del gel o de aerosol. En ambos casos, la polimerización de la fibrina se completa a los pocos minutos.

En el año 1999, El Dr. Eduardo Anitua propuso el término PRGF para su producto de CPs describiendo su protocolo de la siguiente manera. Recomendó recolectar 10 a 20 ml de sangre en tubos de 5 ml que contenían anticoagulante. Centrifugó los tubos a 160 g (aceleración de la gravedad) por 6 minutos para separar el coágulo en tres capas: glóbulos rojos en la parte más inferior del tubo, PRGF en la parte media y plasma pobre en factores de crecimiento en la parte más superior. Recolectó el plasma y lo transfirió a tubos Eppendorf añadiendo 50 µl de cloruro de calcio al 10%. A los 15 a 20 minutos se formaba el gel de PRGF y recomendó no excederse de 5 a 10 minutos hasta su colocación en el defecto²². Luego de 2 años, el Dr. Eduardo Anitua presentó otro protocolo: Centrifugación de los tubos a 270 g por 7 minutos en una centrífuga especialmente diseñada para la técnica (PRGF system, BTI Biotechnology Institute, Vitoria, Spain) siendo el tiempo total de preparación de 10 a 15 minutos luego del cual el concentrado del plasma se almacenaba en contenedores de vidrio estériles²⁴.

El cPRP se usa para: levantamiento de piso de seno maxilar, aumento de reborde, preservación de reborde, reparación de paladar hendido, reparación de fístula oral/nasal, cirugías de reconstrucción de los maxilares, procedimientos en tejidos blandos como injertos gingivales e injertos subepiteliales²⁵. Whitman y col. mencionaron que las ventajas del cPRP sobre los sellantes de fibrina son: Preparación autógena sin preocupaciones de enfermedades transmisibles, recolección inmediata preoperatoria, presencia de plaquetas que atraen citoquinas y factores de crecimiento, se puede procesar en niños y en adultos mayores²⁷. Sin embargo, la popularidad de

los CPs se vio afectada por una variedad incontrolable de protocolos de obtención así como de nombres relacionados al aspecto comercial. En el 2014, Dohan y col. aclararon este aspecto principalmente con PRGF®-Endoret® System donde resaltaron que el Dr. Eduardo Anitua no era un investigador independiente sino el fundador, presidente y director científico de la compañía BTI (Biotechnology Institute) empresa que fabrica y comercializa el producto, además de propietario de la patente PRGF®, lo que representa un claro conflicto de intereses²⁶.

3. Segunda generación de concentrados plaquetarios: Debido a dificultades como costo, preparación prolongada, diversidad de técnicas y resultados inconsistentes del cPRP y PRGF, en el año 2001 el Dr. Joseph Choukroun introdujo la segunda generación de CPs denominado PRF. Recomendó el uso de la centrífuga PC-02 y un kit de procesamiento específico (Process, Nice, Francia)²⁷. Esta técnica no requiere de anticoagulante y es más simple.

3.1 Técnica para obtención del PRF:

- Se obtiene sangre en tubos de 10 ml sin anticoagulante para inmediatamente ser centrifugados a 3000 rpm (aproximadamente 400 g) por 10 minutos¹⁸.
- Luego de la centrifugación se obtienen tres capas: glóbulos rojos en la parte más inferior del tubo, PPP en la parte más superior y entre ellas una capa intermedia llamada capa leucocitaria o coágulo de fibrina donde se concentran la mayor cantidad de plaquetas y leucocitos^{11,18} (**Figura 3**). Este producto se puede utilizar como coágulo en contacto con los tejidos, mezclado con injertos, como tapones o como una membrana obtenida mediante compresión con gasas o con un kit especial (PRF Box)²⁸.

El éxito de la técnica dependerá de la velocidad de recolección de la sangre y de su transferencia a la centrífuga ya que sin anticoagulante la muestra empieza a coagular inmediatamente luego de contactar con las paredes del tubo¹⁸. La composición de la fibrina consiste en un ensamblaje íntimo de



Figura 3. Procesamiento para obtención del L-PRF. Fuente: *propia*.

citoquinas, cadenas de glicanos y glicoproteínas estructurales dentro de la red de fibrina polimerizada²⁹. El PRF no es solo un CP, también tiene propiedades inmunes capaces de estimular mecanismos de defensa ya que liberan citoquinas como IL-1B, IL-4, IL-6, TNF- α y factores de crecimiento como FCDP, FCVE, FCI y FCT- β en un período de 7 a 14 días³⁰. La matriz de fibrina sirve como guía natural para la angiogénesis y cobertura de los tejidos dañados, influyendo en el metabolismo de las células epiteliales y de los fibroblastos³¹. La verdadera denominación de este CP, según las clasificaciones anteriormente mencionadas^{3,8-10} es L-PRF ya que en la densa red de fibrina se encuentran plaquetas y leucocitos obtenidas mediante 2700 rpm (325 g) por 12 minutos⁸⁻¹¹. L-PRF presenta los requisitos necesarios para la regeneración ósea: células (leucocitos y otras poblaciones celulares)¹¹, andamio (coágulo de fibrina)³² y moléculas bioactivas como factores de crecimiento y otras a partir de las plaquetas, el plasma y los leucocitos³³; por eso, se describe a menudo al L-PRF como un coágulo sanguíneo natural optimizado¹¹. Es importante resaltar que el L-PRF demostró estar relacionado a la proliferación y diferenciación de osteoblastos³² y células madres mesenquimales óseas orales *in vitro*³⁴. L-PRF es por lo tanto un modelo interesante que cumple los requisitos para la regeneración ósea y ello explica probablemente el por qué ha demostrado ser exitoso en el tratamiento de defectos óseos,³⁵ así como material de injerto único para la elevación de piso de seno maxilar^{36,37}. Öncü y cols. en el 2016 mencionaron incluso que sus características biológicas podrían mejorar el proceso de oseointegración³⁸.

Las ventajas del L-PRF sobre el cPRP son la

innecesidad de anticoagulantes convirtiéndolo en una alternativa completamente segura y con un protocolo de producción estándar. En el 2011, Pracash y Thakur mencionaron las utilidades del L-PRF en: procedimientos de levantamiento de seno maxilar, preservación de reborde, cobertura de recesiones gingivales, llenado de cavidades quísticas, tratamiento de lesiones endoperiodontales, defectos de furcación y principalmente para cicatrización del tejido blando¹⁹. Recientemente, se publicó un metaanálisis³⁹ mostrando que L-PRF tiene potencial regenerativo significativo en defectos intraóseos, defectos de furcación y cirugía plástica periodontal. Además, se publicó una revisión sistemática⁴⁰ indicando que el L-PRF muestra efecto positivo en elevación de piso de seno maxilar, preservación de reborde alveolar y terapia con implantes. Las desventajas del L-PRF son la poca cantidad obtenible a partir de la sangre, inviabilidad de tener bancos de tejido debido a su contenido de células inmunes y moléculas antígenas haciéndolo específico para el donante y contraproducente como aloinjerto.

Desafortunadamente, debido a la facilidad de preparación y a la utilización de un método de acceso abierto, muchos decidieron extrapolar el protocolo original con dispositivos más baratos y de baja calidad. Estos equipos cuentan con tubos, centrífugas, velocidades y tiempos de centrifugación distintos sin considerar estas implicancias en la obtención de los CPs⁴¹⁻⁴³. Cabe resaltar que el único sistema comercial para preparación del L-PRF aprobado por la FDA es el sistema y kit Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca-Raton, FL, USA) que tiene un protocolo de procesamiento adaptado a 2700 rpm por 12 minutos^{2,8,9} (Figura 4).



Figura 4. Sistema y kit Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca-Raton, FL, USA). Fuente: <https://www.google.com.pe/search?q=http://shatkinfirst.com/wp/intra-spin-system-l-prf-leukocyte-platelet-rich-fibrin>

4. Nuevos productos concentrados:

Recientemente, nos es común escuchar productos novedosos que describiremos a continuación: A-PRF “Advanced PRF” (PRF Avanzado) e i-PRF “Injectable PRF” (PRF Inyectable) son productos que fueron propuestos por el Dr. Joseph Choukroun en el año 2014 denominados concentrados sanguíneos (CSs)⁴⁴. Ghanaati, et al. mencionaron la obtención de A-PRF usando 1500 rpm (100 g) por 14 minutos con tubos al vacío de vidrio estéril de tapa roja (tubos A-PRF10) en una centrífuga específica (Duo Centrifuge, Process for PRF, Nice, Francia)⁴⁵. Con A-PRF se trata de recolectar la mayor cantidad de células blancas (monocitos, linfocitos y neutrófilos) ya que han sido relacionadas a mayor y más rápida vascularización, liberación de proteínas morfogenéticas óseas y citoquinas, así como a mejor distribución de las plaquetas. Este año, Fujioka-Kobayashi, et al. propusieron el denominado A-PRF⁺ utilizando 1300 rpm (200 g) por 8 minutos con tubos al vacío de vidrio estéril y en la centrífuga antes mencionada⁴⁶. Estos autores mencionan que al utilizar menos tiempo se disminuye la cantidad de fuerza aplicada sobre las muestras de sangre lo que aumentaría el número de células contenidas en la matriz permitiendo mayor liberación de CPs y diferenciación de macrófagos. Miron, et al. publicaron también este año la obtención del i-PRF utilizando 700 rpm (60 g) por 3 minutos con tubos de tapa naranja y en la centrífuga descrita anteriormente, siendo producto de la aspiración del suero más superior del tubo mediante una jeringa⁴⁷. Se utiliza para mezclarse con los injertos óseos formando un gel-masilla de gran consistencia facilitando su transporte. Según los autores, dicho encapsulamiento tiene el beneficio de la liberación de factores de crecimiento en el lecho receptor, convirtiendo un injerto osteoconductor en osteopromotor lo que llevaría a una formación ósea más rápida y más eficiente. Algunos autores han propuesto protocolos entre 2400 - 2700 rpm por 2 minutos para recolectar el suero que se mezclará con los injertos bajo la denominación CGF “Concentrated growth factors” (Concentrado de Factores de Crecimiento)⁴⁸. Otro producto basado en los principios anteriores es “PRF block” (PRF en Bloque), el cual utiliza dos tipos de tubos L-PRF distintos (rojos y blancos). Se centrifugan ambos tubos primero a 2700 rpm (325 g) por 3 minutos, se recolecta el suero de los tubos blancos en una jeringa y se completa el proceso de centrifugación para los tubos rojos añadiendo 9 minutos más hasta completar los 12 minutos para la obtención del L-PRF (Intra-Lock, Boca-Raton, FL, USA)⁴⁹. En la literatura también encontramos el denominado PRF-L “PRF-

Lysate” que propone aislar el L-PRF mediante incubación a 37°C en 5% CO₂/95% de aire el cual se ha utilizado para revertir el daño causado por exposición crónica de fibroblastos dérmicos humanos a radiación UV⁵⁰. Recientemente, Zhang, et al. reportaron el producto Ly-PRF “Lyophilized PRF” (PRF Liofilizado) que es el L-PRF obtenido luego de congelarlo a -196°C aunque no ha demostrado mejoras en comparación al L-PRF natural⁵¹. Teniendo en consideración los tubos para la toma de muestras, Tunali, et al. propusieron el denominado T-PRF “Titanium PRF” (PRF Titanio) utilizando tubos de titanio en grado médico con un proceso de centrifugación de 2800 rpm por 12 minutos bajo la hipótesis que dichos tubos podrían ser más efectivos en la agregación plaquetaria que los tubos comunes recubiertos con sílice de las técnicas anteriores⁵². Si recordamos la clasificación de CPs^{2,8-10} reconoceremos que todos estos nuevos productos no se encuentran agrupados en ninguna de las cuatro familias descritas, encontrándose todavía en investigaciones.

Este año, Dohan, et al. presentaron una revisión recalando el impacto de las características de las centrífugas y los protocolos de centrifugación en las células, los factores de crecimiento y la arquitectura de la fibrina en el coágulo y en la membrana del L-PRF. Ellos mencionaron que las vibraciones mecánicas de las centrífugas influyen de manera significativa en las características del CP obtenido⁵³.

CONCLUSIONES

Los concentrados plaquetarios (CPs) tienen efecto positivo en la hemostasia y en la cicatrización de las heridas. Según la evidencia, L-PRF ha demostrado sus mejores efectos en la cicatrización de los tejidos blandos aunque también en procedimientos de cirugía bucal, maxilofacial e implantológica. Se debe considerar que las características de las centrífugas y los protocolos de centrifugación podrían influir en las células, en la liberación de factores de crecimiento y en la arquitectura de la fibrina y de la membrana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Suárez-López F, Monje A, Padial-Molina M, Tang Z, Wang HL. Biologic agents for periodontal regeneration and implant site development,” *Biomed Res Int* 2015;957518:1-10.
2. Dohan DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet

- concentrates (Platelet-rich plasma-PRP, Platelet-rich fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(1):3-9.
3. Bielecki T, Dohan DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-rich fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1121-30.
 4. Cieslik-Bielecka A, Choukroun J, Odin G, Dohan DM. L-PRP/L-PRF in esthetic plastic surgery, regenerative medicine of the skin and chronic wounds. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1266-77.
 5. Boyapati L, Wang HL. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. *Implant Dent* 2006;15(2):160-70.
 6. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann NY Acad Sci* 2001;936:11-30.
 7. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:426-37.
 8. Dohan DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from Pure platelet-rich plasma (P-PRP) to Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009;27(3):158-67.
 9. Dohan 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;13(7):1131-7.
 10. Dohan DM, Sammartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-rich plasma - PRP, or Platelet-rich fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO J* 2013;1(1):17-27.
 11. Dohan 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):546-55.
 12. Matras H. Die Wirkungen verschiedener Fibrinpräparate auf Kontinuität-Störungen der Rattenhaut. *Osterr Z Stomatol* 1970;67:338-59.
 13. Matras H. Fibrin seal: the state of the art. *J Oral Maxillofac Surg* 1985;43(8):605-11.
 14. Bösch P, Lintner F, Arbes H, Brand G. Experimental investigations of the effect of the fibrin adhesive on the kiel heterologous bone graft. *Arch Orthop Trauma Surg* 1980;96(1):177-85.
 15. Arbes H, Bösch P, Lintner F, Salzer M. First clinical experience with heterologous cancellous bone grafting combined with the fibrin adhesive system (F.A.S). *Arch Orthop Trauma Surg* 1981;98(3):183-8.
 16. Tayapongsak P, O'Brein DA, Monteiro CB, Arceo Dias LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 1994;52(2):161-5.
 17. 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(11):1294-9.
 18. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):37-44.
 19. Prakash S, Thakur A. Platelet concentrates: past, present and future. *J Maxillofac Oral Surg* 2011;10(1):45-9.
 20. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(6):638-46.
 21. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?. *Implant Dent* 2001;10(4):225-8.
 22. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(4):529-35.
 23. Dugrillon A, Eichler H, Kerm S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002;31(6):615-9.
 24. Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001;13(6):487-93.
 25. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE. Platelet-rich plasma: a literature review. *Implant Dent* 2009;18(4):303-10.
 26. Dohan DM, Zang Ch Q, Pinto N, Bielecki T. Merchants shall be expelled from the temple: the

- PRGF® (Plasma-Preparation Rich in Growth Factors)-Endoret® case. *Muscles Ligaments Tendons J* 2014;4(4):473-7.
27. Choukroun J. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2001;42:55-62.
 28. Dohan DM. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;110(3):275-8
 29. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):45-50.
 30. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates?. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):51-5.
 31. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL et al. 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(3):56-60.
 32. Dohan DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2009;108(3):341-52.
 33. Dohan DM, de Peppo GM, 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):63-9.
 34. Dohan DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol* 2010;55(3):185-94.
 35. Del Corso M, Dohan DM. Immediate implantation and peri-implant natural bone regeneration (NBR) in the severely resorbed posterior mandible using Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF): a 4-year follow-up. *POSEIDO J* 2013;1(2):109-16.
 36. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent* 2011;20(1):2-12.
 37. Theroek R, Mazor Z, Del Corso M, Dohan DM. The concept of screw-guided bone regeneration (S-GBR). Part 1: from sinus-lift to general applications in the resorbed maxilla and mandible. *POSEIDO J* 2013;1(2):69-84.
 38. Öncü E, Bayram B, Kantarci A, Gülsever S, Alaaddinoglu EE. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. *Med Oral Patol Oral Cir Buccal* 2016;21(5):601-7.
 39. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of Leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2017;44(1):67-82.
 40. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of Leucocyte- and platelet rich fibrin (L-PRF). Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation, and implant therapy. A systematic review. *J Clin Periodontol* 2017;44(2):225-34.
 41. Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar A, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R, Pameela E. Platelet-rich-fibrin: a novel root coverage approach. *J Indian Soc Periodontol* 2009;13(1):50-4
 42. Kumar AP, Fernandes B, Surya C. Platelet rich fibrin: a promising approach for root coverage. *Dep of Periodontics, St. Joseph Dental College and Hospital* 2011;1(2):115-8.
 43. Peck MT, Marnewick J, Stephen L. Alveolar ridge preservation using Leukocyte and platelet-rich fibrin: a report of a case. *Case Rep Dent* 2011; 345048:1-5.
 44. Choukroun J. Advanced PRF & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates? *J Periodontal Med Clin Pract* 2014;1(1):3.
 45. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol* 2014;40(6):679-89.
 46. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept:

- growth factor release, biocompatibility, and acellular response. *J Periodontol* 2017;88(1):112-21.
47. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (iPRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig* 2017; doi: 10.1007/s00784-017-2063-9. [Epub ahead of print].
48. Sohn DS, Heo JU, Kwak DH, Kim DE, Kim JM, Moon JW, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dent* 2011;20(5):389-95.
49. Buscador en internet: Intra-lock International. PRF-Block. [citado 28 agosto 2017]. Disponible en: <https://www.intra-lock.com/prf-block.html>
50. Wirohadidjojo YW, Budiyanto A, Soebono H. Platelet-rich fibrin lysate can ameliorate dysfunction of chronically UVA-irradiated human dermal fibroblasts. *Yonsei Med J* 2016;57(5):1282-5.
51. Zhang J, Qi X, Luo X, Li D, Wang H, Li T. Clinical and immunohistochemical performance of lyophilized platelet-rich fibrin (Ly-PRF) on tissue regeneration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2017;19(3):466-77.
52. Tunali M, Özdemir H, Küçükodaci Z, Akman E, Yaprak E, Toker H, et al. A novel platelet concentrate: titanium-prepared platelet-rich fibrin. *Biomed Res Int* 2014:209548 doi: 10.1155/2014/209548.
53. Dohan DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang BS, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets* 2017;24:1-14.