

**Aplicabilidad de la fibrina rica en plaquetas y leucocitos en los diferentes procedimientos  
endodonticos – scoping review**

**Elvia Carolina Tovar Pérez, Litza Yohanna Sanabria Contreras**

**Trabajo de grado para optar por el título de Especialista en Endodoncia**

**Directores de proyecto**

**Angela María Chaves**

**Especialista en endodoncia**

**Harrison Bastidas Neira**

**Especialista en endodoncia**

**Director metodológico**

**Oscar Mauricio Jiménez**

**Magister en administración en salud y doctor en salud pública**

**Universidad Santo Tomas, Bucaramanga**

**División de ciencias de salud**

**Posgrado de endodoncia**

**2022**

## Contenido

Introducción .....	9
1. Formulación del problema.....	11
1.1 Planteamiento del problema .....	11
1.2 Pregunta de investigación.....	11
2. Justificación .....	11
3. Marco teórico .....	13
3.1 Fibrina .....	13
3.1.1 Matriz extracelular.....	14
3.2 Células involucradas .....	16
3.2.1 Plaquetas.....	16
3.2.2 Leucocitos.....	18
3.2.3 Células rojas .....	20
3.3 Moléculas bioactivas y citocinas.....	20
3.3.1 Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).....	21
3.3.2 Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) .....	21
3.3.3 Factor de crecimiento insulínico (IGF) .....	22
3.3.4 Factor de crecimiento epidérmico (EGF) .....	22
3.3.5 Factor de crecimiento transformador-beta (TGF- $\beta$ ).....	23
3.4 Cicatrización.....	23
3.5 Fibrina rica en plaquetas (PRF).....	25
3.5.1 Preparación del PRF.....	27
3.6 Clasificación del prf y del prp por sus características biológicas .....	28
3.6.1 Plasma rico en plaquetas (PRP).....	29

3.6.2 Plasma rico en leucocitos y plaquetas (l-PRP) .....	29
3.6.3 Fibrina pura rica en plaquetas (P-PRF) .....	30
3.6.4 Fibrina rica en plaquetas y leucocitos (L-PRF) .....	30
3.7 Efectos del l-prf en la cicatrización de tejidos duros y blandos .....	30
3.8 Efectos del prf en procedimientos endodonticos.....	31
3.6 Marco referencial .....	33
4. Objetivos .....	35
4.5 Objetivo general .....	35
4.6 Objetivos específicos.....	35
5. Aspectos metodológicos .....	35
5.1 Tipo de estudio .....	35
5.2 Objeto de estudio.....	35
5.3 Población de estudio.....	36
5.4 Unidad de análisis .....	36
5.5 Criterios de selección .....	36
5.5.1 Criterios de inclusión.....	36
5.5.2 Criterios de exclusión .....	36
5.6 Operacionalización de las variables .....	37
5.7 Procedimiento.....	38
5.7.1 Pregunta problema.....	39
5.7.2 Fuentes de información y estrategias de búsqueda.....	39
5.7.3 Selección de los estudios .....	40
5.7.4 Lectura crítica y análisis del sesgo .....	40

5.8 Aspectos éticos .....	41
5.9 Conducción del estudio .....	41
6. Resultados .....	42
7. Discusión.....	52
8. Conclusiones .....	58
9. Recomendaciones .....	58
Referencias.....	58

**Lista de tablas**

<b>Tabla 1.</b> <i>Operacionalización de las variables</i> .....	37
<b>Tabla 2.</b> <i>Términos principales de búsqueda.</i> .....	39
<b>Tabla 3.</b> <i>Artículos excluidos</i> .....	42
<b>Tabla 4.</b> <i>Evaluación del riesgo de sesgo de los reportes y series de casos</i> .....	50
<b>Tabla 5.</b> <i>Evaluación del riesgo de sesgo para los estudios in vitro e in vivo.</i> .....	51
<b>Tabla 6.</b> <i>Evaluación del riesgo de sesgo para los estudios prospectivos y de cohorte.</i> .....	52

**Lista de figuras**

<b>Figura 1.</b> <i>Componentes del PRF</i> .....	26
<b>Figura 2.</b> <i>Preparación del PRF</i> .....	28
<b>Figura 3</b> <i>Diagrama de flujo de búsqueda y selección de artículos</i> .....	43
<b>Figura 4.</b> <i>Evaluación del riesgo de sesgo de los ensayos clínicos aleatorizados según la herramienta RoB2 de Cochrane.</i> .....	50

## Resumen

La fibrina rica en plaquetas y leucocitos (PRF-L) pertenece a una nueva generación de concentrados plaquetarios orientados a una preparación simplificada sin manipulación bioquímica de la sangre. Se ha demostrado que funciona como andamio, proporcionando una posición espacialmente correcta para la ubicación de las células, regulando la diferenciación, la proliferación y/o el metabolismo de las células madre en el campo de la endodoncia regenerativa.

*Objetivo:* Determinar mediante un *scoping review* las aplicaciones de la fibrina rica en plaquetas y leucocitos en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura.

*Materiales y métodos:* Se diseñó una estrategia de búsqueda de artículos de los últimos 10 años que describieran la aplicación del PRF-L en los diferentes procedimientos endodónticos encontrados en las bases de datos Pubmed, Epistemonikos, Scielo, Cochrane. La evaluación de la calidad metodológica, riesgo de sesgo y la extracción de datos se realizaron de forma independiente y por duplicado. Los resultados se expresaron utilizando la guía PRISMA.

*Resultados:* Se seleccionaron 18 estudios de los cuales seis fueron reportes de caso, tres series de casos, cuatro estudios prospectivos, un ensayo clínico aleatorizado, un estudio *in vivo*, un estudio piloto, un estudio *in vitro* y un estudio de cohorte controlado retrospectivo. Las aplicaciones del PRF-L reportadas en la literatura para procedimientos endodónticos son regeneración pulpar, cirugía perirradicular, recubrimiento pulpar directo y pulpotomía. *Conclusiones:* El resultado exitoso de los REP se evalúa o mide como la capacidad de estos para lograr cierre apical, cicatrización de la lesión periapical, aumento en la longitud radicular y/o el engrosamiento de la pared dentinaria.

*Palabras clave:* Fibrina rica en plaquetas, endodoncia y aplicaciones clínicas.

### Abstract

Leucocyte platelet-rich fibrin (L-PRF) is part of a new generation of platelet concentrates aimed at a simplified preparation with no biochemical manipulation of blood. It has been proven that it works as a scaffolding, providing a spatially-correct position of the location of cells, regulating the differentiation, proliferation, and/or metabolism of stem cells in the field of regenerative endodontics. *Objective:* To conduct a scoping review to the application of leucocyte platelet-richfibrin L-PRF in endodontic procedures documented in the literature. *Materials and methods:* A strategy was designed to search for articles in the last 10 years in which the L-PRF application were described in the endodontic procedures found on the following databases: Pubmed, Epistemonikos, Scielo, and Cochrane. The methodological quality assessment, risk of bias, and the extraction of data were conducted independently and per duplicate. The results were stated using the PRISMA guide. *Results:* 18 studies were selected, of which 6 were case reports, three case series, four prospective studies, one randomised clinical assay, one in vivo study, one pilot study, one in vitro study, and one retrospective controlled cohort study. The L-PRF applications reported in the literature for endodontic procedures are pulp regeneration, periradicular surgery, direct pulp capping, and pulpotomy. *Conclusions:* The successful REP result is evaluated or measured as their capacity to achieve apical closure, scarring of periapical lesion, increase in radicular length, and/or thickening of dentinal wall.

*keywords:* platelet-richfibrin, endodontics, and clinical applications

## Introducción

Los procedimientos endodónticos regenerativos (REP) iniciaron alrededor de 1952, cuando un odontólogo alemán llamado B.W. Hermann abogó por el uso de hidróxido de calcio como medicamento después de retirar el tejido pulpar (Harlamb, 2016). Hoy en día, muchos odontólogos todavía usan hidróxido de calcio, principalmente para la apexificación (Gawthaman et ál., 2013), aunque el MTA ha mostrado mejores resultados para convertirse en el material de regeneración pulpar más popular (Monteiro et ál., 2017). Los REP posteriores incluyen el desarrollo de procedimientos guiados de regeneración ósea o tisular y distracción osteogénica; la aplicación de plasma rico en plaquetas (PRP) para el aumento óseo; el uso de fibrina rica en plaquetas (PRF) para la cicatrización de heridas periodontales (Powell et ál., 2009); y revascularización de coágulos de sangre (BCR) para la regeneración de tejidos dentro de los conductos radiculares de dientes con pulpotomía (Hülsmann et ál., 2003).

Los REP se definen como procedimientos de base biológica diseñados para reemplazar estructuras dañadas, incluidas la dentina y las estructuras radiculares, así como las células del complejo pulpo-dentinal. El resultado exitoso de los REP se puede medir como la capacidad de lograr cierre apical radicular del diente, una respuesta de cicatrización de la lesión periapical, el aumento en la longitud radicular y el engrosamiento de la pared dentinaria, porque estos indican la regeneración de los tejidos (Shivashankar et ál., 2017).

El PRF de Choukroun denominado así por su inventor, es un concentrado de plaquetas de segunda generación que contiene plaquetas y factores de crecimiento inmersas en una red de fibrina preparadas a partir de la propia sangre del paciente libre de cualquier anticoagulante u otras modificaciones bioquímicas artificiales (Preeja y Arun, 2014). En la actualidad, varias investigaciones han demostrado su aplicación en diversas disciplinas de la odontología. Por lo

tanto, el objetivo de este *scoping review* fue determinar las aplicaciones de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura.

un preparado que no contiene anticoagulantes lo que le confiere la propiedad de ser un elemento completamente autólogo, con la posibilidad de liberar las citoquinas y factores presentes en su estructura en un tiempo aproximado de 7 días.

En el campo de la odontología, el PRF ha sido utilizado en una gran variedad de procedimientos especialmente quirúrgicos o periodontales como en elevaciones de seno maxilar, reparación de defectos intraóseos y de furca, manejo de alvéolos posteriores a la extracción, tratamiento de recesiones mucogingivales, como coadyuvante en la colocación de implantes o en la regeneración ósea guiada

Sin embargo, son escasos y poco definidos los reportes en procedimientos endodónticos (Hauser et ál., 2013). Debido a ello y a la falta de un *scoping review* sobre sus aplicaciones en los diferentes procedimientos endodónticos, se hace crucial realizar el diseño del mismo para evaluar críticamente y resumir la mejor evidencia disponible sobre el tema.

## **1. Formulación del problema**

### **1.1 Planteamiento del problema**

En la medicina regenerativa se han utilizado diferentes concentrados de plaquetas como adyuvantes quirúrgicos para mejorar la cicatrización de heridas y la regeneración de tejidos (Mihaylova et al., 2017). La capacidad de las plaquetas concentradas para liberar factores de crecimiento representa el mecanismo básico que estimula estos procesos; dichos factores quedan atrapados dentro de la matriz de fibrina después de la activación, los cuales se consideran estimulantes de la respuesta mitogénica en el periostio, en la quimiotaxis y diferenciación de las células madre mesenquimales y de otras células diana que están involucradas en la cicatrización (Pavlovic et ál., 2016).

### **1.2 Pregunta de investigación**

¿Cuáles son las aplicaciones que tiene la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura?

## **2. Justificación**

El campo de la medicina regenerativa ha abordado una amplia variedad de desafíos médicos a lo largo de los años con el objetivo de reparar, regenerar o restaurar de manera predecible los tejidos dañados y enfermos (Coury, 2016). Para ello, se han adaptado muchas estrategias, y aunque los andamios de biomaterial normal y de ingeniería de tejidos son típicamente avasculares por naturaleza, hace más de 15 años se introdujeron concentrados de sangre como una

modalidad regenerativa para mejorar la red vascular y así obtener tejidos duros o blandos regenerados con éxito en sitios donde falta un suministro de sangre (Upputuri et ál., 2015).

Los concentrados plaquetarios han surgido como un material regenerativo potencial, utilizado de forma aislada o como andamiaje para otros materiales de injerto. El primer reporte data de 1970, con un concentrado plaquetario utilizado como pegamento para mejorar la cicatrización de heridas en la piel. En 1998, se usaron en cirugía oral y maxilofacial. En endodoncia existen publicaciones sobre su uso, pero la información encontrada es escasa. Se han desarrollado diferentes técnicas y una variedad de preparaciones, entre ellas, cabe destacar el plasma rico en plaquetas (PRP), fibrina rica en plaquetas y leucocitos (L-PRF) y la fibrina rica en plaquetas (PRF) (Correa-Aravena et ál., 2019).

La fibrina rica en plaquetas (PRF) pertenece a una nueva generación de concentrados plaquetarios orientados a una preparación simplificada sin manipulación bioquímica de la sangre (Dohan et ál., 2006a). Se han señalado tres componentes principales del PRF: las células huésped, una matriz de fibrina tridimensional que contiene varios factores de crecimiento y las moléculas bioactivas. Triada clave en iniciar todos los procesos regenerativos, y que ha dado lugar a una defensa mejorada contra patógenos extraños, lo que arroja resultados clínicos más favorables y tasas de infección más bajas (Martín y Leibovich, 2005).

Con este estudio se busca recopilar toda la literatura reciente con base en la evidencia científica sobre el uso de PRF en procedimientos endodónticos con el fin de informar las aplicaciones, alcances, beneficios y limitaciones existentes de este concentrado plaquetario en procedimientos endodónticos. Así los especialistas tendrán la opción de plantear más opciones de tratamiento que beneficien el tiempo de duración, pronóstico y cicatrización de los procedimientos, así como los costos y las expectativas del paciente.

### 3. Marco teórico

A lo largo del presente trabajo de investigación se abordarán los temas relevantes relacionados con la fibrina rica en plaquetas y leucocitos, desde el punto de vista histológico hasta sus aplicaciones en endodoncia.

#### 3.1 Fibrina

La fibrina es la forma activada de una molécula plasmática llamada fibrinógeno (Clark, 2001). Esta molécula fibrilar soluble está presente de forma masiva tanto en el plasma como en los gránulos plaquetarios y juega un papel determinante en la agregación plaquetaria durante la hemostasia. Esta se transforma en una especie de pegamento biológico capaz de consolidar el conjunto plaquetario inicial, constituyendo así una pared protectora a lo largo de las brechas vasculares durante la coagulación (Van Hinsbergh et ál., 2001).

Los coágulos de fibrina son redes porosas muy abiertas, lo que es importante para su función en la hemostasia, la fibrinólisis y la cicatrización de heridas. Las propiedades mecánicas de la fibrina son únicas, ya que es un polímero viscoelástico, lo que significa que tiene tanto características elásticas reversibles como propiedades plásticas o viscosas irreversibles, y sufre un endurecimiento por deformación o una rigidez creciente a altas deformaciones, lo que ayuda a prevenir daños (Litvinov y Weisel, 2016). Además, los coágulos de fibrina poseen una extensibilidad y compresibilidad extremas, de modo que pueden deformarse mucho sin romperse. Se han determinado o se están determinando los orígenes moleculares y estructurales de las propiedades bioquímicas y mecánicas de la fibrina. Además, las propiedades de la red de fibrina pueden modularse en gran medida por una amplia variedad de factores ambientales (Litvinov y Weisel, 2016).

### ***3.1.1 Matriz extracelular***

La matriz extracelular está formada por un conjunto de macromoléculas, que se localizan entre las células de un determinado tejido o en el lado externo de la membrana plasmática de cualquier célula, considerada aisladamente. Estos componentes son en general producidos por las mismas células o los aporta la corriente sanguínea. En ambos casos forman el medio donde las células sobreviven, se multiplican y desempeñan sus funciones (Arenas y de Zurbarán, 2002).

Las macromoléculas que constituyen la matriz extracelular son de cuatro grandes tipos: sistema colágeno, sistema elástico, proteoglicanos, glicoproteínas multifuncionales (laminina, fibronectina, tenascina, trombospondina y otras). Cada una desempeña funciones de manera integrada con las demás; esto hace que la matriz sea calificada como un verdadero complejo funcional. Los colágenos y el sistema elástico constituyen la arquitectura de la matriz extracelular. Las glicoproteínas actúan como moléculas de adhesión del sustrato intercelular, importantes en las interacciones célula-célula y célula-matriz. Los glicosaminoglicanos y proteoglicanos tienen un papel fundamental en el equilibrio hidroelectrolítico y ácido básico (Arenas y de Zurbarán, 2002).

**3.1.1.1 Colágenos.** Forman una gran familia de proteínas que tienen por características agruparse formando una estructura supramolecular. De modo general, las moléculas resultan de la asociación de tres cadenas polipeptídicas en una formación característica de triple hélice. Además de la triple hélice, los colágenos poseen dominios globulares, que le confieren flexibilidad y especificidad a las moléculas que los poseen (Shiiki et ál., 1996). Actualmente se conocen aproximadamente 27 tipos de colágenos con diferentes localizaciones y desempeñan diferentes funciones. Los colágenos han sido clasificados teniendo en cuenta la forma en que se agregan:

colágenos fibrilares I, II, III, V y XI y colágenos no fibrilares VI, VII, VIII, X (Gordon y Olsen, 1990).

**3.1.1.2 Sistema elástico.** Está formado por la elastina, que es un polímero insoluble, constituido por moléculas solubles de tropoelastina, y por una glicoproteína denominada fibrilina. Durante el proceso de desarrollo de una fibra elástica, el componente fibrilar es el primero en formarse, seguido de depósitos de elastina, probablemente debido a una interacción iónica entre la elastina y la superficie microfibrilar, como consecuencia de sus cargas opuestas (Cotta-Pereira et ál., n.d.).

Las microfibrillas se encuentran constituidas por fibrilina. La fibrilina es una glicoproteína rica en cisteína y presenta en su estructura una secuencia semejante al factor de crecimiento epidérmico (EGF) y otra parecida al factor de crecimiento y transformación del fibroblasto (FGβ1) (Cotta-Pereira et al., n.d.)

**3.1.1.3 Proteoglicanos.** Son complejos de macromoléculas formados por la asociación covalente entre cadenas polipeptídicas y glicosaminoglicanos. El número de cadenas de glicosaminoglicanos varía de 1 a 100; la estructura primaria está formada por un proteoglicano pequeño: serina-glicina, que presenta un núcleo proteico y 14 cadenas de glicosaminoglicanos (Turley et ál., 1990). La función de los proteoglicanos es contribuir a la adhesividad celular mediante su interacción con la superficie celular y con otros componentes matriciales. También pueden regular la diferenciación y proliferación celular en algunos tejidos, incluidos el cartílago, donde se observó aumento en la adhesión celular a medida que el condroblasto se diferencia en condrocito (Guller et ál., 2015). Además de la interacción con fibronectina, el heparan-sulfato de

los fibroblastos y de las células epiteliales sirve como mediador de interacción con colágenos, siendo esta unión más fuerte con el colágeno V (Guller et ál., 2015).

**3.1.1.4 Glicoproteínas multifuncionales.** Las glicoproteínas principales multifuncionales encontradas en la matriz extracelular son: fibronectina (FN), laminina (LN), tenascina (TN) y trombospondina (TB). Para cumplir con sus funciones estas moléculas necesitan de otras que sirven de unión entre la matriz extracelular y el citoesqueleto celular, como son: las integrinas, las caderinas, las inmunoglobulinas y las selectinas.

La fibronectina es una glicoproteína de adhesión celular, se encuentra formada por un dímero de unidades idénticas, enlazadas entre sí por puentes disulfuros (Babiarz et ál., 1996). La laminina es una glicoproteína que posee un peso molecular de 900.000 kd tiene forma de cruz y está compuesta por tres cadenas polipeptídicas diferentes, denominadas  $(\alpha 1)$ ,  $\beta 1$  ( $\beta 1$ ) y  $\beta 2$  ( $\gamma 1$ ). (Kleinman et ál., 1985).

## 3.2 Células involucradas

### 3.2.1 Plaquetas

Son células sanguíneas anucleadas pequeñas derivadas de megacariocitos de la médula ósea. Son más conocidos por su papel central en el mantenimiento de la integridad de la vasculatura (hemostasia) y por su papel patológico en la coagulación de arterias y venas (trombosis) durante el infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica y trombosis venosa profunda. Además de su papel en la hemostasia, también se ha propuesto que las plaquetas funcionan en muchos otros aspectos de la defensa del huésped. La liberación de gránulos plaquetarios inducida por estímulos contribuye a casi todas las funciones plaquetarias, incluidas la

hemostasia y la trombosis, la inflamación, la angiogénesis y las actividades antimicrobianas (Blair y Flaumenhaft, 2009). El conocimiento de las propiedades fisiológicas de las plaquetas en la cicatrización ha permitido su aplicación con fines terapéuticos; en la cavidad oral se ha reportado el uso de injertos autólogos en forma de membranas de PRF en cirugía ósea (Hauser et ál., 2013).

**3.2.1.1 Gránulos de las plaquetas.** Las plaquetas contienen tres tipos de gránulos: gránulos  $\alpha$ , gránulos densos y lisosomas. Los gránulos  $\alpha$  son el tipo de gránulos plaquetarios más abundantes. Hay alrededor de 50 a 80 gránulos  $\alpha$ /plaqueta, que varían en tamaño de 200 a 500 nm. Comprenden aproximadamente el 10% del volumen de plaquetas, 10 veces más que los gránulos densos. Los gránulos  $\alpha$  contienen una variedad de proteínas de membrana y cargas solubles que les dan una apariencia distinta cuando se tiñen con osmio y se observan mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Fitch-Tewfik y Flaumenhaft, 2013). Los gránulos  $\alpha$  son reservorios de proteínas que van desde factores de crecimiento hasta moléculas de adhesión o receptores que utiliza la plaqueta para interactuar con otras células. Entre estos receptores se incluyen las glucoproteínas (GP) Ib y  $\alpha$ IIb $\beta$ 3<sup>12</sup>. Otra de las moléculas de adhesión contenidas en estos gránulos es la P-selectina, que permite la interacción de las plaquetas con las células endoteliales, los leucocitos y otras células inmunitarias. En los gránulos  $\alpha$  hay también moléculas asociadas a la respuesta inflamatoria, como las citocinas (López Farré y Macaya, 2013).

Los gránulos densos son un subtipo de orgánulos relacionados con lisosomas (LRO). Hay entre 3 y 6 gránulos densos / plaquetas. Estos gránulos son tan densos en electrones que pueden detectarse mediante microscopía electrónica de montaje completo en ausencia de tinción. Son altamente osmofílicos cuando se ven por TEM. Los gránulos densos juegan un papel crítico en la hemostasia y la trombosis, liberando factores como ADP y epinefrina que actúan de manera

autocrina y paracrina para estimular las plaquetas en los sitios de lesión vascular. Los gránulos densos también contienen factores vasoconstrictores como la serotonina (Blair y Flaumenhaft, 2009).

Las plaquetas contienen pocos lisosomas primarios y secundarios. Estos lisosomas contienen muchas hidrolasas ácidas y catepsinas como carga y expresan CD63 y LAMP-2 en su membrana. Algunas funciones de la lisis plaquetaria no están bien estudiadas. Pueden desempeñar un papel en la digestión endosomal, como se observa en las células nucleadas (Fitch-Tewfik y Flaumenhaft, 2013).

### ***3.2.2 Leucocitos***

Los leucocitos son parte del sistema inmunitario del cuerpo y ayudan a combatir infecciones y otras enfermedades. Los tipos de leucocitos son los granulocitos, los monocitos y los linfocitos (células T y células B).

**3.2.2.1 Granulocitos.** Entre ellos encontramos los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los neutrófilos constituyen aproximadamente la mitad de la población de glóbulos blancos. Por lo general, son las primeras células del sistema inmunológico en responder a un invasor, como una bacteria o un virus. Como primeros en responder, también envían señales que alertan a otras células del sistema inmunológico para que respondan a la escena. Es posible que esté familiarizado con la apariencia de los neutrófilos, ya que son las células primarias presentes en el pus. Una vez liberadas de la médula ósea, estas células viven solo alrededor de ocho horas, pero su cuerpo produce alrededor de 100 mil millones de estas células todos los días (Mayadas et ál., 2014).

Los eosinófilos también juegan un papel en la lucha contra las bacterias y son muy importantes para responder a las infecciones por parásitos. Quizás sean más conocidos por su papel en la producción de síntomas de alergia cuando se exceden en la creación de una respuesta inmune contra algo (como el polen) que se cree erróneamente que es un invasor. Estas células representan no más del 5% de los glóbulos blancos en el torrente sanguíneo, pero están presentes en altas concentraciones en el tracto digestivo (McBrien y Menzies-Gow, 2017).

Los basófilos, que representan solo alrededor del 1% de los glóbulos blancos, son importantes para generar una respuesta inmune inespecífica a los patógenos. Quizás estas células sean más conocidas por su papel en el asma. Cuando se estimulan, estas células liberan histamina entre otras sustancias químicas. Los productos pueden provocar inflamación y broncoconstricción en las vías respiratorias (Cromheecke et ál., 2014).

**3.2.2.2 Monocitos.** Son los camiones de basura del sistema inmunológico. Alrededor del 5% al 12% de los glóbulos blancos en el torrente sanguíneo son monocitos, pero su función más importante es migrar a los tejidos y limpiar las células muertas (Karlmark et ál., 2012).

**3.2.2.3 Linfocitos.** Son muy importantes en el sistema inmunológico, y las células T son responsables de matar directamente a muchos invasores extraños. Los linfocitos B (células B), a diferencia de los otros tipos de glóbulos blancos, son responsables de la inmunidad humoral (a diferencia de la inmunidad no específica de otros glóbulos blancos). Producen los anticuerpos que "recuerdan" una infección y están preparados en caso de que su cuerpo deba estar expuesto. Los linfocitos B juegan el papel principal en la eficacia de la mayoría de las vacunas actuales, pero en algunos casos (es decir, vacunas contra la tuberculosis y la tos ferina) (Hoffman et ál., 2016).

### ***3.2.3 Células rojas***

Los glóbulos rojos (RBC) son el tipo de célula más abundante en la sangre humana. Carecen de núcleos, ribosomas, mitocondrias y otros orgánulos, que son importantes en otros tipos de células para realizar funciones específicas críticas para la supervivencia celular. Esta composición celular poco convencional ha evolucionado para permitir la acumulación de hemoglobina, una proteína responsable del suministro de oxígeno (O<sub>2</sub>) a los tejidos periféricos (Pretini et ál., 2019). En un adulto sano típico, cada segundo 2 millones de glóbulos rojos recién formados ingresan a la circulación desde la médula ósea y, al mismo tiempo, se elimina aproximadamente el mismo número (Higgins, 2015).

Después de la maduración, los glóbulos rojos adquieren la notable capacidad de ser deformables en respuesta a fuerzas externas y la utilizan para atravesar los capilares sanguíneos más estrechos. La importancia de esta característica se hace más evidente cuando los defectos y anomalías relacionados con la forma y / o la deformabilidad de los glóbulos rojos conducen a un aclaramiento celular drástico y prematuro. Estos cambios pueden proporcionar información clave para establecer un diagnóstico diferencial y categorizar diferentes enfermedades (Ford, 2013).

### **3.3 Moléculas bioactivas y citocinas**

Las moléculas bioactivas (o moléculas de señalización), incluidas las proteínas y las moléculas pequeñas, implicadas en la regeneración de tejidos juegan un papel importante en el control del microambiente. Las señales quimiotácticas de las moléculas bioactivas son responsables de inducir la movilización de la célula huésped; además, se identifica un destino anatómico de acuerdo con ciertos gradientes de concentración de sustancias químicas producidas en los sitios lesionados dentro del microambiente (Ertl et ál., 2020). Las moléculas bioactivas son

capaces de regular la migración, proliferación y diferenciación de las células hospedadoras y permiten que las células interactúen a través de receptores específicos para el reconocimiento químico con el microambiente circundante. Por tanto, la incorporación de una molécula bioactiva adecuada a través del diseño de un andamio de tejido modificado puede promover la regeneración de tejido estimulando las células trasplantadas o las células huésped adyacentes (Ertl et ál., 2020).

### ***3.3.1 Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)***

Es una de varias citocinas polipeptídicas que controlan el crecimiento, la diferenciación y la activación de una variedad de diversos tipos de células. Aunque inicialmente se caracterizó como un mitógeno derivado de plaquetas específico para fibroblastos. Se sabe ahora que las isoformas de PDGF se secretan a partir de muchas células activadas, incluidos macrófagos, fibroblastos y células endoteliales, que participan en actividades tan diversas como reparación de tejidos blandos, reparación ósea y regeneración epitelial (Pierce et ál., 1991).

### ***3.3.2 Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)***

Es único por sus efectos sobre múltiples componentes de la cascada de cicatrización de heridas, incluida la angiogénesis, la epitelización y el depósito de colágeno (Bao et ál., 2009) . Una de las funciones de VEGF en la cicatrización de heridas es la estimulación de la angiogénesis. La angiogénesis de cicatrización de heridas implica múltiples pasos que incluyen vasodilatación, degradación de la membrana basal, migración de células endoteliales y proliferación de células endoteliales. Posteriormente, se produce la formación del tubo capilar, seguida de la anastomosis de los brotes capilares paralelos (formación de asa) y, finalmente, la formación de una nueva membrana basal (Bao et ál., 2009).

### ***3.3.3 Factor de crecimiento insulínico (IGF)***

Los receptores de IGF están presentes en casi todos los tejidos de animales adultos e inmaduros (29). El IGF-1 en combinación con el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) aumenta el grosor de la nueva epidermis cuando se aplica tópicamente sobre heridas cutáneas en cerdos (Kratz et ál., 1994). La misma combinación también promueve la osteoneogénesis rápida cuando se aplica a defectos óseos periodontales en las mandíbulas de los beagles o defectos óseos en los huesos largos de cerdos en miniatura. Se ha sugerido que el IGF también afecta la diferenciación de las células (Froesch et ál., 1985). IGF-1 también estimula la síntesis de colágeno en fibroblastos y puede estar involucrado en la angiogénesis (Froesch et ál., 1985). Las heridas que cicatrizan y el líquido de las heridas contienen cantidades significativas de IGF-1 e IGF-2, algunos de los cuales parecen ser sintetizados localmente por fibroblastos (Kratz et al., 1994). La producción de IGF-1 por los fibroblastos se estimula mediante la adición de PDGF y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). El IGF derivado de fibroblastos estimula el crecimiento de queratinocitos de forma paracrina (Kratz et ál., 1994).

### ***3.3.4 Factor de crecimiento epidérmico (EGF)***

El EGF participa en la cicatrización de heridas mediante la estimulación, proliferación y migración de queratinocitos, células endoteliales y fibroblasto y facilita la regeneración. Los primeros ensayos clínicos demostraron que la administración tópica de EGF aumentó la epitelización y acortó el tiempo de cicatrización (Bodnar, 2013).

### ***3.3.5 Factor de crecimiento transformador-beta (TGF- $\beta$ )***

TGF- $\beta$  es una familia de factores de crecimiento implicado en una serie de funciones celulares esenciales. Las tres isoformas de TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3) se secretan como precursores latentes inactivos que requieren activación antes de unirse a los receptores de TGF- $\beta$  (Penn et ál., 2012). Las tres isoformas comparten un 60-80% de homología y están codificadas por diferentes genes. Sin embargo, se cree que las isoformas activan las mismas vías de señalización intracelular. El TGF- $\beta$  participa en varios procesos de cicatrización de heridas: inflamación, estimulación de la angiogénesis, proliferación de fibroblastos, síntesis y depósito de colágeno y remodelación de la nueva matriz extracelular. Curiosamente, las heridas crónicas que no cicatrizan a menudo muestran una pérdida de la señalización del TGF- $\beta$ 1 (Penn et ál., 2012).

### **3.4 Cicatrización**

La lesión traumática causa daño capilar y hemorragia y, como resultado, se forma un coágulo de sangre. La formación de un coágulo es la respuesta inmediata a cualquier trauma. El coágulo tiene dos funciones: protege temporalmente los tejidos desnudos; y sirve como matriz provisional para la migración celular (Polimeni et ál., 2006). El coágulo de sangre consta de todos los componentes celulares de la sangre (incluidos los glóbulos rojos, blancos y las plaquetas) en una matriz de fibrina, fibronectina plasmática, vitronectina y trombosporina. La formación de coágulos va seguida de una etapa temprana de inflamación. A las pocas horas de la lesión, las células inflamatorias (predominantemente neutrófilos y monocitos) pueblan el coágulo. Estas células limpian la herida de bacterias y tejido necrótico a través de la fagocitosis y la liberación de enzimas y productos tóxicos de oxígeno. En 3 días, la reacción inflamatoria pasa a su fase tardía. Los macrófagos migran al área de la herida y, además del desbridamiento de la herida, secretan

mediadores polipeptídicos dirigidos a las células involucradas en el proceso de curación de la herida. El macrófago juega un papel importante en la formación de tejido de granulación. Los factores de crecimiento y las citocinas secretadas por los macrófagos están involucrados en la proliferación y migración de fibroblastos, células endoteliales y células del músculo liso hacia el área de la herida (Polimeni et ál., 2006).

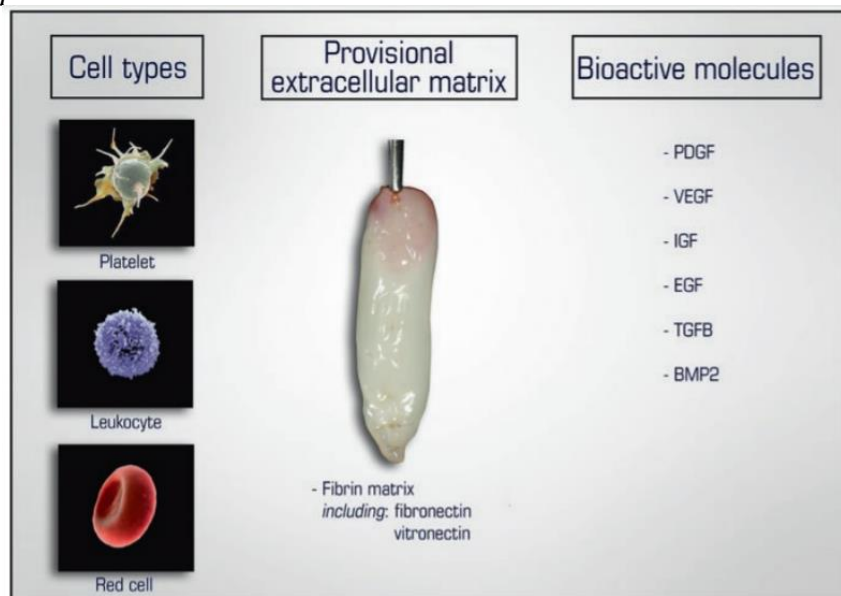
A continuación, el tejido de granulación rico en células experimenta una maduración y remodelación. Los fibroblastos responsables del reemplazo de la matriz extracelular provisional producen una nueva matriz rica en colágeno. Aproximadamente 1 semana después de la herida, y una vez que se ha sintetizado la matriz de colágeno, algunos fibroblastos se transforman en miofibroblastos y expresan actina de músculo liso  $\alpha$ . Esta transformación y síntesis es responsable de la contracción de la herida. Las células endoteliales, responsables de la angiogénesis, migran a la matriz provisional de la herida para formar tubos y asas vasculares y, a medida que la matriz provisional madura, las células endoteliales sufren muerte celular programada (apoptosis) y se reduce el número de unidades vasculares (Aukhil, 2000).

La epitelización de la herida se inicia pocas horas después de la lesión. Las células epiteliales de la capa basal proliferan y migran a través del coágulo de fibrina y finalmente se sella la brecha en el epitelio. Las células epiteliales de los tejidos gingivales normales utilizan receptores de superficie, conocidos como integrinas, para unirse a la laminina en la lámina basal. Para iniciar la migración, los queratinocitos disuelven esta unión para comenzar a expresar integrinas adecuadas para el entorno de la herida (Aukhil, 2000). La maduración del tejido de granulación conducirá a la regeneración o reparación (formación de cicatrices) de los tejidos lesionados. El que los tejidos dañados se curen mediante regeneración o reparación depende de dos factores cruciales:

la disponibilidad del tipo o tipos de células necesarios; y la presencia o ausencia de claves y señales necesarias para reclutar y estimular estas células (Chen y Culp, 1996).

### **3.5 Fibrina rica en plaquetas (PRF)**

Descrita por Choukroun et al., es un concentrado de plaquetas de segunda generación que contiene plaquetas y factores de crecimiento inmersas en una red de fibrina preparadas a partir de la propia sangre del paciente libre de cualquier anticoagulante u otras modificaciones bioquímicas artificiales (Preeja y Arun, 2014). El coágulo de PRF forma una matriz de fibrina natural fuerte, que concentra casi todas las plaquetas y factores de crecimiento extraídas de la sangre y muestra una arquitectura compleja como una matriz de cicatrización con propiedades mecánicas únicas que lo distingue de otros concentrados de plaquetas (Dohan et al., 2006c). PRF mejora la cicatrización y regeneración de heridas, siendo esta más rápida y acelerada, además es superior a otros concentrados de plaquetas como el plasma rico en plaquetas (PRP) debido a su método de preparación fácil, económico y no necesita la adición de compuestos exógenos como trombina bovina y cloruro de calcio (A. Sharma y Pradeep, 2011). Este material en forma de gel está compuesto de tres componentes principales: las células huésped, una matriz de fibrina tridimensional que contiene varios factores de crecimiento y las moléculas bioactivas (Figura 1)

**Figura 1.** *Componentes del PRF*

Tomado de Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology (2006c).

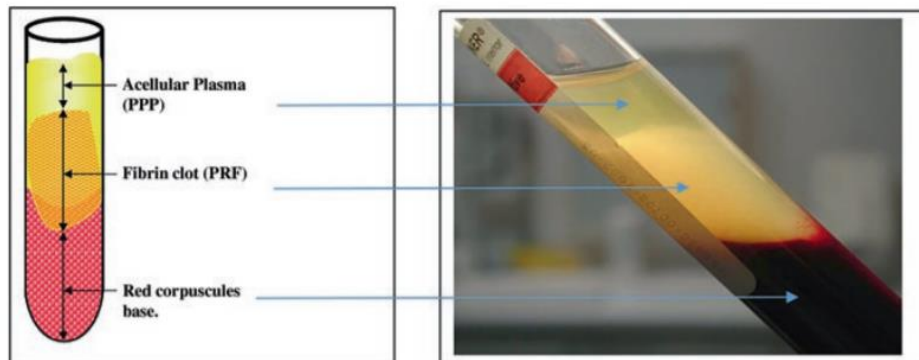
Se recolecta mediante una única centrifugación de sangre libre de anticoagulantes y no requiere activación (Ji et ál., 2015). La trombina fisiológica disponible en el PRF crea uniones equiláteras en la fibrina polimerizada, lo que da como resultado la liberación del factor de crecimiento a largo plazo (hasta 28 días) y una red de fibrina flexible, que es un microambiente apropiado para la migración celular. (Preeja y Arun, 2014). Su ventaja sobre el PRP incluye la facilidad de preparación, y que no hay necesidad de un material anticoagulante, dando como resultado una sustancia autógena y natural (Hiremath et ál., 2012). Además, la presencia de leucocitos, reduce la infección y la inflamación. La angiogénesis aumenta debido a la liberación del factor de crecimiento endotelial vascular, que juega un papel importante en la revascularización (He et ál., 2009).

Se ha comprobado que el PRF tiene una cantidad significativamente mayor de citocinas a las encontradas en muestras de plasma y suero, desde mediadores proinflamatorios, como interleucina IL1b, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a) (Subash et ál., 2016). Este activa

los monocitos y estimula la capacidad remodeladora de los fibroblastos. Además, aumenta la fagocitosis y la citotoxicidad de los neutrófilos y modula la expresión de mediadores clave como IL-1 e IL-6 (Dohan et ál., 2006c; Steeve et ál., 2004).

### ***3.5.1 Preparación del PRF***

Se recogen alrededor de 5 ml de sangre venosa completa en dos tubos estériles de 6 ml de capacidad sin anticoagulante. Luego los tubos se colocan en una máquina centrífuga a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos, después de lo cual se asienta en las siguientes capas: fracción inferior de glóbulos rojos, fracción media que contiene coágulo de fibrina y fracción superior de plasma acelular (Saluja et ál., 2011). Posteriormente se retira la capa superior y se recolecta la fracción media, 2 mm por debajo de la línea divisoria inferior, siendo éste el PRF. El mecanismo generado durante la centrifugación permite que el fibrinógeno se concentre inicialmente en la parte alta del tubo y se combine con la trombina circulante para formar fibrina. Luego se obtiene un coágulo de fibrina en la parte media del tubo, justo entre los glóbulos rojos en la parte inferior y el plasma acelular en la parte superior. Las plaquetas quedan atrapadas masivamente en las mallas de fibrina (Saluja et ál., 2011).

**Figura 2.** Preparación del PRF.

Adaptado de *Annals of Maxillofacial Surgery* (2011).

El éxito de esta técnica depende por completo de la velocidad de extracción y transferencia de sangre a la centrifuga. De hecho, sin anticoagulante, la muestra de sangre comienza a coagularse casi inmediatamente al entrar en contacto con el tubo de vidrio, y se necesitan unos minutos de centrifugación para concentrar el fibrinógeno en la parte media y superior del tubo. La manipulación rápida es la única forma de obtener un coágulo de PRF clínicamente utilizable. El protocolo PRF permite recolectar un coágulo de fibrina cargado de suero y plaquetas. Al expulsar los fluidos atrapados en la matriz de fibrina, los clínicos pueden obtener membranas de fibrina autólogas muy resistentes (Saluja et ál., 2011).

### **3.6 Clasificación del PRF y del PRP por sus características biológicas**

Según la clasificación propuesta por Ehrenfest et ál. (2009), se pueden definir cuatro familias principales de preparaciones, dependiendo de su contenido celular y arquitectura de fibrina. El plasma rico en plaquetas, el plasma leucocitario rico en plaquetas, la fibrina rica en plaquetas y la fibrina leucocitaria rica en plaquetas (Dohan et ál., 2006c).

### ***3.6.1 Plasma rico en plaquetas (PRP)***

Los productos de plasma rico en plaquetas (PRP) son preparaciones sin leucocitos y con una red de fibrina de baja densidad después de la activación. El PRP es la primera generación de concentrados de plaquetas, que se pueden preparar mediante centrifugación en 1 o 2 pasos del anticoagulante de sangre total periférica (Nagaveni et ál., 2015). Las plaquetas están inactivas y tienen una forma redonda en forma de PRP, de modo que solo pueden activarse después de la inyección en el lugar de la lesión y al exponerse a las fibras de colágeno lesionadas (Nagaveni et ál., 2015). El PRP se puede activar mediante la adición de trombina bovina y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) a la solución; por tanto, se forma gel de plaquetas (PG). Las plaquetas en el PG son de naturaleza activa y liberan sus factores de crecimiento tras la implantación en el sitio lesionado (Lolato et ál., 2016). Sin embargo, el complejo procedimiento de producción, activación y polimerización repentina de fibrina son desventajas del PRP y su forma activada PG (Lolato et ál., 2016). Además, la trombina bovina como activador puede estimular las células inmunes a liberar y exponer anticuerpos a los factores V y XI y a la trombina, que afectan negativamente el proceso de coagulación (Preeja y Arun, 2014).

### ***3.6.2 Plasma rico en leucocitos y plaquetas (L-PRP)***

Los productos de leucocitos y PRP (L-PRP) son preparaciones con leucocitos y con una red de fibrina de baja densidad después de la activación. Es en esta familia donde existe el mayor número de sistemas comerciales o experimentales. En particular, se han desarrollado muchos protocolos automatizados en los últimos años, requiriendo el uso de kits específicos que permitan un manejo mínimo de las muestras de sangre y la máxima estandarización de las preparaciones (Dhurat y Sukesh, 2014).

### ***3.6.3 Fibrina pura rica en plaquetas (P-PRF)***

Las preparaciones de fibrina pura rica en plaquetas (P-PRF) o de fibrina pobre en leucocitos y rica en plaquetas no contienen leucocitos y tienen una red de fibrina de alta densidad. Estos productos solo existen en forma de gel fuertemente activado y no pueden inyectarse ni usarse como los pegamentos de fibrina tradicionales (Dhurat y Sukesh, 2014).

### ***3.6.4 Fibrina rica en plaquetas y leucocitos (L-PRF)***

Los productos de fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L-PRF) de segunda generación son preparaciones con leucocitos y con una red de fibrina de alta densidad (Dhurat y Sukesh, 2014).

## **3.7 Efectos del L-PRF en la cicatrización de tejidos duros y blandos**

El PRF se puede utilizar para promover la cicatrización de heridas, el crecimiento óseo, la estabilización del injerto, el cierre de heridas y la hemostasia. Gracias a que la matriz de fibrina está mejor organizada, y puede dirigir de manera más eficiente la migración de células madre y la cicatrización (Pierce et ál., 1991). La liberación in vitro de factores de crecimiento de la PRF y los resultados de los estudios in vivo ahora han presentado una propuesta para optimizar la aplicación clínica de PRF (Gromack et ál., 1990). Los estudios in vitro han mostrado mejores resultados de PRF sobre PRP (He et ál., 2009). Dohan et al. demostró una liberación más lenta de factores de crecimiento de PRF que PRP y observó mejores propiedades cicatrizantes con PRF (Dohan Ehrenfest et ál., 2009). Kawamura y Urist demostraron que el PRF también puede actuar como una matriz de apoyo para la proteína morfogenética ósea (Saluja et ál., 2011).

### **3.8 Efectos del PRF en procedimientos endodónticos**

Los procedimientos regenerativos son una opción factible para el tratamiento de dientes inmaduros con pulpas necróticas, especialmente porque se espera un mayor desarrollo del ápice radicular y un mayor grosor de las paredes radiculares. El sangrado inducido y los coágulos de sangre son partes integrales de estos procedimientos, ya que proporcionan un andamio apropiado y suficientes células madre (Banchs y Trope, 2004).

Tradicionalmente, los dientes permanentes inmaduros con pulpa necrótica se han tratado mediante apexificación. En 2001, Iwaya et al. informó por primera vez de un caso de revascularización de un diente inmaduro con periodontitis apical (Iwaya et ál., 2011). Desde entonces, se ha producido un cambio de paradigma en el tratamiento de los dientes permanentes inmaduros con necrosis pulpar o periodontitis apical. En la última década, varios informes han descrito el procedimiento endodóntico regenerativo (REP) (Hämmerle et ál., 2008; Hongbing et al., 2018; Torabinejad y Turman, 2011). La mayoría de estos estudios eran informes de casos o series de casos y presentaron resultados satisfactorios, incluida la resolución de las lesiones periapicales, el desarrollo continuo de la raíz e incluso la recuperación de la sensibilidad dental. Esta evidencia acumulada ha contribuido al desarrollo de las recomendaciones actuales de la Asociación Estadounidense de Endodoncistas para RET. Sin embargo, se han propuesto varios protocolos que difieren en cuanto a las concentraciones de hipoclorito de sodio (NaOCl) que se utilizan para la irrigación, los regímenes de antibióticos que se utilizan para la desinfección [5, 8] y los tipos de andamios que se utilizan para regeneración de tejidos (Banchs y Trope, 2004). Se necesita más evidencia para desarrollar recomendaciones de tratamiento en el futuro.

REP se basa en el concepto de ingeniería de tejidos, que requiere la erradicación de patógenos, la preservación de las células madre y la presencia de andamios y moléculas de señal

(Hargreaves et ál., 2008). Para crear un microambiente favorable para que las células madre migren, proliferen y se diferencien, un andamio ideal debería facilitar la orientación espacial y la liberación de moléculas de señal por parte de las células. En la mayoría de los casos de revascularización / revitalización dental, se introduce un explorador o lima endodóntica en el conducto radicular y pasa a través del agujero apical para provocar sangrado del tejido periapical hacia el conducto para formar un coágulo de sangre (BC) debajo de la unión cemento esmalte (CEJ) (Banchs y Trope, 2004). En general, esta técnica es eficaz para formar un andamio BC.

Estudios anteriores han demostrado el potencial de utilizar concentrados de plaquetas como andamiaje en la regeneración de tejidos. Los concentrados de plaquetas son autólogos, razonablemente fáciles de preparar en un entorno dental y comprenden altas concentraciones de factores de crecimiento, incluido el factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Mehta y Watson, 2008). Los estudios in vitro han documentado los efectos de estas moléculas de señalización sobre la migración celular, la proliferación, la diferenciación y la síntesis de matrices. En los últimos años, los concentrados de plaquetas se han aplicado con éxito como andamiaje en la revascularización / revitalización de los dientes. La fibrina rica en plaquetas (PRF), un concentrado de plaquetas de segunda generación tiene muchas ventajas sobre el PRP. En primer lugar, la preparación de PRF no requiere la adición de agentes exógenos, como la trombina. En segundo lugar, la PRF forma una red de fibrina organizada en la que quedan atrapadas las plaquetas y los leucocitos (Hongbing et ál., 2018). Estas células atrapadas sirven como depósito de varios factores de crecimiento para su liberación a largo plazo. Las importantes células inmunitarias circulantes y diversas citocinas en los coágulos de PRF también actúan contra la infección. Además, las propiedades mecánicas del PRF podrían facilitar la condensación del MTA

suprayacente. Por lo tanto, es lógico esperar que la PRF sea un bioandamio óptimo para la revascularización / revitalización de los dientes (Banchs y Trope, 2004).

### **3.6 Marco referencial**

Los procedimientos de endodoncia regenerativa son posibles mediante la aplicación de los principios de la ingeniería de tejidos, que requiere la orientación espacial de las células madre, las moléculas de señalización y un andamio (Wiley et ál., 2013). Dentro de los estudios que se encuentran sobre este tema Thibodeau et al informaron que la revascularización con un andamio de coágulos produjo resultados satisfactorios en muestras de animales (Thibodeau et ál., 2007).

Los concentrados de plaquetas son una fuente interesante de factores de crecimiento que se han utilizado para mejorar la regeneración de varios defectos tisulares, incluida la dentina y el complejo dentino-pulpar (Preeja y Arun, 2014). Las plaquetas son ricas en factores de crecimiento y citocinas (ej., Factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformante beta, factor de crecimiento endotelial vascular, interleucina [IL] -1, IL-4, IL-6, factor de necrosis tumoral alfa, etc), implicados de diversas formas en la regeneración de tejidos y con un papel importante en la diferenciación (Alsousou et ál., 2013).

Choukron et ál. utilizaron el PRF inicialmente en la cirugía de implantes para mejorar las propiedades de cicatrización ósea (Chang et ál., 2010). Según Chang et al. el PRF puede promover la cicatrización de defectos óseos mediante los siguientes mecanismos, promueve la expresión de proteína quinasa regulada por señales extracelulares fosforiladas (p-ERK) y estimula la producción de osteoprotegerina (OPG) que a su vez provoca la proliferación de osteoblastos (Chang et ál., 2010). Otro estudio de Huang et al. informo que PRF estimula la diferenciación osteogénica de las células de la pulpa dental humana regulando al alza la expresión de osteoprotegerina y fosfatasa

alcalina(Huang et ál., 2010). PRF también libera factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento transformante que promueven la regeneración periodontal (Dohan et ál., 2006b). El PRF induce la proliferación celular de osteoblastos, células del ligamento periodontal y factores de crecimiento durante un período de cultivo de 3 días y suprime el crecimiento de las células epiteliales orales. Estas acciones específicas del tipo de células pueden ser beneficiosas para la regeneración periodontal (Dohan et ál., 2006c).

Diss et ál. en un estudio prospectivo de 1 año sobre la elevación del piso del seno con osteótomo utilizando el material de injerto de fibrina rico en plaquetas de Choukroun, demostró claramente que la matriz de fibrina de PRF promueve directamente la angiogénesis (Diss et ál., 2008). El PRF cuando se usa como membrana para la regeneración tisular guiada como material de injerto crea un efecto de creación de espacio mejorado lo que facilita los eventos celulares que son favorables para la regeneración periodontal que conducen a la formación de tejido mineralizado. El PRF tiene una propiedad osteoconductora y/u osteoinductora inherente que es beneficiosa para la regeneración del hueso. Sánchez et al. en un estudio experimental compararon la influencia de PRP y PRF en la proliferación y diferenciación de osteoblastos e informó que la afinidad de los osteoblastos por la membrana de PRF parecía ser superior a la afinidad de los osteoblastos por PRP (Sanchez et ál., 2003). Sharma et al. llevaron a cabo un ensayo clínico controlado aleatorizado para el tratamiento de defectos intraóseos de 3 paredes en pacientes con periodontitis crónica con fibrina tricometálica y se reportó una mejora estadísticamente significativa en la reducción de la profundidad de la bolsa y el relleno óseo en el grupo de prueba que en los controles (A. Sharma y Pradeep, 2011).

## 4. Objetivos

### 4.5 Objetivo general

Determinar mediante un *scoping review* las aplicaciones de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura.

### 4.6 Objetivos específicos

- Identificar la literatura existente relacionada con la aplicación de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos
- Describir los resultados más relevantes del uso de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos
- Identificar las limitaciones del uso de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos

## 5. Aspectos metodológicos

### 5.1 Tipo de estudio

Se realizará un *scoping review*

### 5.2 Objeto de estudio

Aplicación de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos

### **5.3 Población de estudio**

Artículos indexados que describan la aplicación de la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos encontrados en las bases de datos (Pubmed, Epistemonikos, Scielo, Cochrane) desde el año 2011 a la fecha.

### **5.4 Unidad de análisis**

Artículo indexado en la base de datos

### **5.5 Criterios de selección**

#### ***5.5.1 Criterios de inclusión***

- Estudios donde se documente la aplicación de la fibrina rica en plaquetas en procedimientos endodónticos.
- Estudios publicados en los últimos 10 años en idiomas inglés, español y portugués.
- Artículos originales de estudios observacionales descriptivos, analíticos y experimentales.

#### ***5.5.2 Criterios de exclusión***

- Artículos no publicados en revistas indexadas
- Revisiones sistemáticas y metanálisis.

## 5.6 Operacionalización de las variables

**Tabla 1.** Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Tipo de variable	Escala de medición	Valores que asume
<b>Título artículo</b>	Nombre del artículo seleccionado	Título del artículo	Cualitativa	Politómica	Nominal	Título del artículo.
<b>Primer Autor</b>	Persona que ha realizado una obra científica, literaria o artística.	Apellido y primera letra del nombre del primer autor del artículo.	Cualitativa	Politómica	Nominal	Primer autor del artículo.
<b>Tipo de Estudio</b>	Es el esquema general o marco estratégico que le da unidad, coherencia, secuencia y sentido práctico a todas las actividades que se emprenden para buscar respuesta al problema y objetivos planteados	Clasificación del tipo de estudio según su metodología y diseño.	Cualitativa	Politómica	Nominal	Se determina según la metodología.
<b>Muestra</b>	Parte o cantidad pequeña de una cosa que se considera representativa del total y que se toma o se separa de ella con ciertos métodos para someterla a estudio, análisis o experimentación.	Muestra reportada en el estudio	Cuantitativa	Discreta	Razón	Muestra proporcionada en la metodología del artículo.
<b>Uso del L-PRF</b>	Empleo de una cosa o puesta en práctica de los procedimientos adecuados para conseguir un fin.	Aplicación dada por la fibrina rica en plaquetas y leucocitos.	Cualitativa	Politómica	Nominal	Regeneración tisular guiada Revascularización Recubrimiento Pulpar Directo
<b>Significancia estadística</b>	Evidencias estadísticas de que existe una diferencia.	Significancia reportada en el estudio.	Cuantitativa	Continua	Nominal	Significancia reportada en el estudio.
<b>Nivel de evidencia</b>	Es un sistema jerarquizado, basado en las pruebas o estudios de investigación que ayuda a los profesionales de la salud a valorar la fortaleza o	Clasificación del nivel de evidencia según los parámetros de la guía SIGN 50	Cualitativa	Politómica	Ordinal	1++,1+,1- ,2++,2+,2-,3 y 4

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Tipo de variable	Escala de medición	Valores que asume
<b>Grado de Recomendación</b>	solidez de la evidencia asociada a los resultados obtenidos de una estrategia terapéutica. Es un sistema jerarquizado, basado en las pruebas o estudios de investigación que ayuda a los profesionales de la salud a valorar la fortaleza o solidez de la evidencia asociada a los resultados obtenidos.	Clasificación de los grados de recomendación según los parámetros de la guía SIGN 50	Cualitativa	Politómica	Ordinal	A,B,C ó D
<b>Quartil</b>	Son los valores que dividen una muestra de datos en cuatro partes iguales y que permiten evaluar rápidamente la dispersión y la tendencia central de un conjunto de datos.	Quartil según scimago	Cualitativa	Politómica	Ordinal	Q1,Q2,Q3 ó Q4.
<b>Índice SJR (Scientific Journal Rankings)</b>	Índice que provee una serie de indicadores sobre la calidad y el impacto de publicaciones y revistas a partir de información de Scopus de Elsevier	Índice SJR según la revista y el año del artículo.	Cualitativa	Politómica	Ordinal	Búsqueda del nombre del artículo y la revista para determinar el índice SJR.

## 5.7 Procedimiento

Para realizar el presente scoping review se inició por establecer la pregunta problema con el fin de conocer las aplicaciones que tiene la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura, definiéndola como se describe a continuación.

### 5.7.1 Pregunta problema

¿Cuáles son las aplicaciones que tiene la fibrina rica en plaquetas en los diferentes procedimientos endodónticos documentados en la literatura?

### 5.7.2 Fuentes de información y estrategias de búsqueda

Se establecieron como bases de datos para la búsqueda Pubmed, Epistemonikos, Scielo, Cochrane. Después de esto se establecieron como términos principales de búsqueda #1 “platelet-rich fibrin”, #2 “endodontics”, #3 “clinical applications”

**Tabla 2.** Términos principales de búsqueda.

Termino principal	Descriptores Mesh - DeCS	Sinónimos
#1 Platelet-rich fibrin	platelet-rich fibrin, platelet-rich plasma, fibrin tissue adhesive	platelet rich Fibrin, platelet rich plasma, second-generation platelet concentrate, platelet pellet
#2 Endodontics	endodontics	endodontic treatment, endodontic procedure.
#3 clinical applications	procedures and techniques utilization	dental pulp capping, regenerative endodontics, revascularization, tissue healing, pulpotomy, intentional replantation, tooth replantation, pulpitis irreversible, endodontic retreatment, endodontic surgery, apexification, vital pulp therapy, non vital therapy, non vital tooth.

Con esos términos se construirán las siguientes combinaciones utilizadas para la búsqueda en cada base de datos:

#1: “platelet-rich plasma” OR “platelet-rich fibrin” OR “fibrin tissue adhesive” OR “second-generation platelet concéntrate” OR “platelet pellet”

#2: “endodontics” OR “endodontic treatment” OR “endodontic procedure”

#3: “clinical applications” OR “procedures and techniques utilization” OR “dental pulp capping” OR “regenerative endodontics” OR “revascularization” OR “tissue healing” OR “pulpotomy” OR “intentional replantation” OR “tooth replantation” OR “pulpitis irreversible” OR

“endodontic retreatment” OR “endodontic surgery” OR “apexification” OR “vital pulp therapy”  
OR “non vital tooth” OR “dental Pulp necrotic”

*Formulas:*

1. #1 and #2 and #3
2. #1 and #2
3. #2 and #3
4. #1 and #3

### **5.7.3 Selección de los estudios**

La búsqueda electrónica se llevara a cabo desde el 01/06/2021 hasta el 01/01/2022 siguiendo el diagrama de flujo sugerido por PRISMA (Urrútia y Bonfill, 2010). Posteriormente se eliminarán los artículos duplicados y se hará la selección de los artículos siguiendo los criterios de inclusión y exclusión, mediante lectura inicial del título, lectura de resumen y lectura de texto completo.

### **5.7.4 Lectura crítica y análisis del sesgo**

Para la escritura y realización de la revisión se utilizará la guía prisma. Para la evaluación del riesgo de sesgo se utilizará la herramienta RoB 2.0 para estudios clínicos aleatorizados (ECA). Para los reportes y series de caso se creó una herramienta por parte de los autores con nueve parámetros, con base en la guía CARE (Gagnier et ál., 2013). Estableciendo que 1 es si cumple y 0 no cumple. Si el total de la sumatoria esta entre 1 a 3 será riesgo alto, 4 a 6 riesgo moderado y 7 a 9 riesgo bajo. Para los estudios *in vivo* e *in vitro* se elaboró una herramienta basada en el artículo de Faggion (Faggion, 2012), con diez parámetros. Si el total de la sumatoria estaba entre 1 a 4 será

riesgo alto, 5 a 7 riesgo moderado y 8 a 10 riesgo bajo. Para los estudios prospectivos y de cohorte se usó la escala de Newcastle-Otawwa, con ocho parámetros. Si el total de la sumatoria estaba entre 1 a 3 será riesgo alto, 4 a 6 riesgo moderado y mayor a 7 riesgo bajo. Al estudio piloto no se le realizó riesgo de sesgo. Para las dos herramientas 1 significó cumple y 0 no cumple. Al estudio piloto no se le realizó riesgo de sesgo.

### **5.8 Aspectos éticos**

Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y Protección Social, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.

Artículo 11. Para efectos de este reglamento la investigación se clasifica en la siguiente categoría: Investigación sin riesgo: Estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: revisión de historias clínicas, entrevistas, cuestionarios y otros en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta.

### **5.9 Conducción del estudio**

Lugar de Investigación: Universidad Santo Tomas Bucaramanga

Manejo de sustancias o especímenes: No aplica

Archivo de Datos y Sistematización: Los datos se recolectarán en Microsoft Excel 2016

## 6. Resultados

### 6.1 Estudios seleccionados

Para la elaboración del *scoping review* se llevó a cabo una búsqueda electrónica en las bases de datos de PubMed, Epistemonikos, Scielo y Cochrane Library obteniendo un total de 4724 artículos. Al eliminar duplicados y revisar por título quedaron 86 artículos para realizar lectura del resumen. Después de revisar el resumen y según los criterios de inclusión y exclusión quedaron 24 artículos potencialmente elegibles para lectura completa. Finalmente se eliminaron 6 artículos por alguna de estas razones: cuatro no hacían referencia a procedimientos endodónticos, a uno le falta sustento a la publicación y en uno los resultados eran inconclusos (Tabla 3), obteniendo finalmente 18 artículos (Figura 2). El rango de publicación de los 18 estudios fue desde el 2011 al 2021. Cuando se presentó desacuerdo entre los revisores, las decisiones se tomaron por consenso.

**Tabla 3.** *Artículos excluidos*

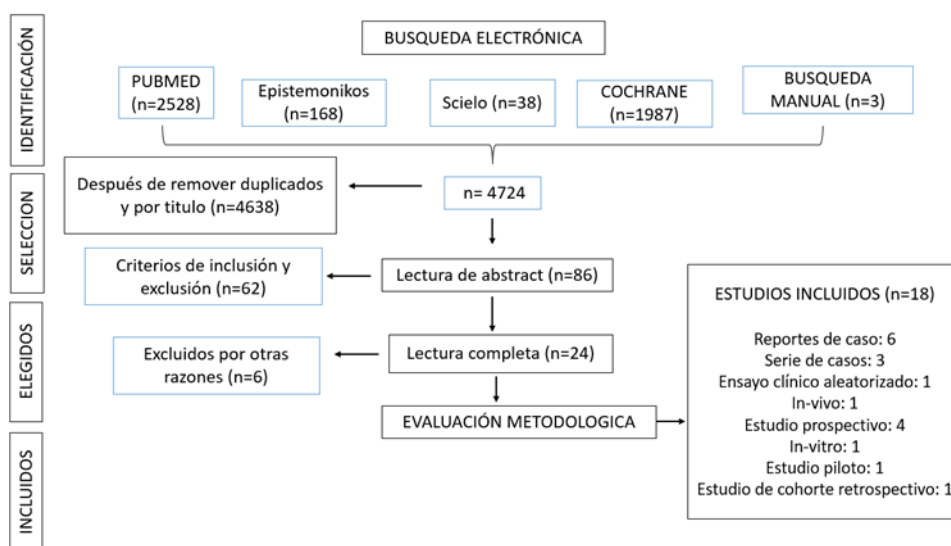
#	Estudio	Primer autor	Año	Razón de exclusión
1	Use of Platelet-Rich plasma and Platelet Rich Fibrin in Dentistry and Oral Surgery: Intruduction and Review of the Literature	Feigin K	2019	Resultados inconclusos
2	The Benefits of Platelet Rich Fibrin	Karimi K	2019	No hacía referencia a procedimientos endodónticos
3	Nuevas tendencias en regeneración tisular: fibrina rica en plaquetas y leucocitos.	Salgado-Peralvo A	2017	No hacía referencia a procedimientos endodónticos
4	Ideal Concentration of Advance-Platelet Rich Fibrin(A-PRF) Conditioned Media for Human Dental Pulp Stem Cells Differentiation.	Bagio D	2019	No hacía referencia a procedimientos endodónticos
5	Surgical Re-entry of an Intentionally Replanted Periodontally Compromised Tooth Treated with Platelet Rich Fibrin(PRF):Hopoless to Hopeful.	Ryana H	2016	No hacía referencia a procedimientos endodónticos

#	Estudio	Primer autor	Año	Razón de exclusión
6	Application of PRF in surgical management of periapical lesions	Singh S	2013	Falto sustento a la publicación

### 6.2 Características de los estudios

De los dieciocho artículos seleccionados seis son reportes de caso, tres son series de casos, cuatro son estudios prospectivos, uno es un ensayo clínico aleatorizado, un estudio *in vivo*, un estudio piloto, un estudio *in vitro* y un estudio de cohorte controlado retrospectivo. Todos ellos describieron aplicaciones de la fibrina rica en plaquetas en diferentes procedimientos endodónticos. De acuerdo con la filiación institucional del primer autor la mayor parte de los artículos provienen de India, Turquía y China, los otros corresponden a estudios realizados en Iran, Chile, EEUU, Egipto e Italia (Ver anexo #1). La patología, el procedimiento, la aplicación, el periodo de intervención, así como otras características de los estudios son descritas en el anexo #1.

**Figura 3** Diagrama de flujo de búsqueda y selección de artículos.



### *Preparación del PRF*

Para todos los estudios incluidos en este *scoping review* la membrana de PRF se preparó con el siguiente protocolo: se recogieron alrededor de 5 ml de sangre venosa completa en dos tubos estériles sin anticoagulante. Luego los tubos se colocaron en una máquina centrífuga con revoluciones variables según cada estudio, que oscilaron entre 2.700 y 3.000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 a 15 minutos, obteniendo las siguientes capas: fracción inferior de glóbulos rojos, fracción media que contiene coágulo de fibrina y fracción superior de plasma acelular (Saluja et ál., 2011). Posteriormente se retiró la capa superior y se recolectó la fracción media, 2 mm por debajo de la línea divisoria inferior, siendo éste el PRF. El mecanismo generado durante la centrifugación permite que el fibrinógeno se concentre inicialmente en la parte alta del tubo y se combine con la trombina circulante para formar fibrina.

### *Procedimientos endodónticos regenerativos*

El tratamiento de revascularización generalmente se realiza en dientes permanentes jóvenes con ápices inmaduros y necrosis pulpar, así como en presencia de lesiones perirradiculares. Los procedimientos de endodoncia regenerativa se realizan principalmente en dientes diagnosticados con infecciones pulpares que se producen debido a traumatismos, caries o anomalías del desarrollo. Los requisitos para estos son la eliminación de bacterias mediante una desinfección eficaz del conducto, la creación de un andamio para la migración de células madre/progenitoras y la prevención de la reinfección bacteriana con un buen sellado coronal (Cimen et ál., 2021).

Doce de los dieciocho estudios incluidos utilizó el PRF en dientes con necrosis pulpar con o sin compromiso periapical (Bakhtiar et ál., 2016; Cimen et al., 2021; Eltawila y El Backly, 2019; Hongbing et ál., 2018; Jayadevan et ál., 2021; Mishra et ál., 2013; Pinto et ál., 2017; Prasad et ál.,

2018; V. Sharma et ál., 2016; Tuba y Emine, 2011; Zhou et ál., 2017). En términos generales, estos describen un protocolo clínico similar para la revitalización pulpar, que incluye: en la primera cita limpieza y desinfección del conducto con hipoclorito de sodio en bajas concentraciones (1,5-2,5%), seguido de medicación intraconducto con hidróxido de calcio o pasta triple antibiótica dejada entre 2 a 4 semanas. Para la segunda cita, retiran el medicamento intraconducto con solución salina e irrigan con EDTA al 17%, luego secan con puntas de papel y proceden a llevar la membrana de fibrina 1mm más allá de los límites de la longitud de trabajo y coronalmente al nivel de la unión cemento-esmalte, proporcionando un andamiaje para el crecimiento interno de tejido nuevo. Posteriormente, colocan MTA o biodentine sobre el coágulo de PRF y restauran temporalmente el diente. Pasadas 72 horas realizan la restauración permanente con ionómero de vidrio en algunos casos y resina. Se mantiene al paciente en seguimiento a los 6, 12 y 18 meses para reevaluación de síntomas clínicos y examen radiográfico que en la mayoría de los estudios mostró resolución de la lesión periapical, cierre apical continuo, mayor desarrollo y engrosamiento radicular mostrando así las propiedades del PRF en procedimientos endodónticos regenerativos.

Aunque este es un enfoque simple, directo y facilita el uso generalizado de la terapia, también puede tener algunos inconvenientes y limitaciones. Entre ellos que la formación de un coágulo de sangre en el conducto no siempre es predecible y la sangre puede contaminar la corona del diente y causar decoloración (Shokouhinejad et ál., 2018). Además, las limitaciones en los agentes desinfectantes y la naturaleza de la dentina hacen que las bacterias permanezcan presentes después de la instrumentación. En consecuencia, la mayoría de los casos fallidos después de la revitalización se deben a una infección recurrente (Almutairi et ál., 2019).

En los hallazgos encontrados el PRF tuvo éxito como andamio y puede recomendarse para el protocolo de revascularización de dientes inmaduros necróticos con o sin lesión periapical. Sin

embargo, el pronóstico del diente se puede atribuir a muchos factores, como la duración de la necrosis pulpar, el estado previo al tratamiento de la región periapical y la viabilidad de los tejidos vivos.

### *Cirugía perirradicular*

La causa principal de la cicatrización periapical fallida después de la terapia de endodoncia primaria es la persistencia de bacterias y tejido infectado en el espacio endodóntico incluso después del tratamiento y retratamiento de endodoncia convencional, en tales casos, el último recurso para mantener el diente en boca lo representa la cirugía perirradicular. Con el fin de ayudar a la regeneración ósea y la cicatrización de los tejidos blandos después del procedimiento quirúrgico se ha utilizado el PRF que puede considerarse un biomaterial cicatrizante porque está constituido por una red de fibrina compuesta por plaquetas, leucocitos, citocinas y células madre.

Además, las plaquetas en la red PRF son capaces de liberar lentamente el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) incluso hasta una semana (Angerame et ál., 2015). IGF-1 estimula la síntesis de colágeno en fibroblastos y puede estar involucrado en la angiogénesis (Froesch et ál., 1985). Las heridas que cicatrizan contienen cantidades significativas de IGF-1 e IGF-2, algunos de los cuales parecen ser sintetizados localmente por fibroblastos (Kratz et ál., 1994). La producción de IGF-1 por los fibroblastos se estimula mediante la adición de PDGF y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). El IGF derivado de fibroblastos estimula el crecimiento de queratinocitos de forma paracrina contribuyendo de esa manera en el proceso de cicatrización (Kratz et ál., 1994).

Tres estudios de este *scoping review* utilizaron el PRF en casos de cirugía apical (Angerame et ál., 2015; Dhiman et ál., 2015; Pinto et ál., 2017; Zhao et ál., 2012) con o sin afección periodontal, siguiendo un protocolo similar, inicialmente realizaron un colgajo mucoperiostico de

espesor total, osteotomía de la zona apical por vestibular con fresa redonda y abundante irrigación, debridamiento de la lesión ósea, apicectomía de aproximadamente 3 mm con un ángulo de 0 a 10° con una fresa quirúrgica cilíndrica de carburo, colocación de MTA o de un biocerámico como material de obturación apical, empleo de la membrana de PRF sobre la raíz desnuda, reposición del colgajo y finalmente la sutura. Dhiman et al (Dhiman et ál., 2015)., usaron adicionalmente microscopio quirúrgico. Las suturas se retiraron de 4 a 7 días posterior a la cirugía.

Dhiman et al (Dhiman et ál., 2015)., mostraron una tasa de éxito del 86,66%. Además de reducción significativa en la profundidad de la bolsa, el nivel de inserción clínica y el tamaño de la lesión periapical en un período de 12 meses. (Angerame et ál., 2015)., encontraron que en el grupo PRF los pacientes experimentaron menos dolor postoperatorio, así como edema, que nunca superó la inflamación moderada intraoral. La cicatrización radiográfica completa se logró después de 2 a 3 meses. Zhao J-H et al (Zhao et al., 2012)., hallaron para los dos casos una cicatrización satisfactoria de la patología periapical. En el caso dos, el defecto óseo cicatrizó completamente a los 4 meses de reingreso quirúrgico, el hueso nuevo era clínicamente muy denso y maduro.

### *Pulpotomía*

La pulpotomía es una terapia pulpar vital en la que se extirpa quirúrgicamente una parte del tejido pulpar coronal y el tejido radicular restante se cubre con un material adecuado que protege la pulpa de lesiones adicionales, permitiendo y promoviendo la cicatrización. Se han recomendado varios materiales para inducir la formación de puentes de dentina a través del potencial dentinogénico de las células pulpares.

De los estudios incluidos Hiremath H. et al (Hiremath et ál., 2012)., discutieron el éxito clínico y radiográfico de una pulpotomía con PRF en un molar permanente diagnosticado con pulpitis. Después del aislamiento, remoción de caries y exposición pulpar, se realizó pulpotomía

y el muñón a la entrada de los conductos se cubrió con PRF, sobre éste se montó una capa de MTA y se restauró inmediatamente de forma permanente. La paciente no presentó ningún tipo de sintomatología a los 6, 12, 18 y 22 meses, el diente respondió positivamente a las pruebas pulpares, el examen radiográfico reveló un espacio del ligamento periodontal normal y un patrón óseo trabecular que se aproximaba a lo normal. Al mes 22 se observó cierta obliteración del conducto pulpar en el tercio apical de la raíz mesial. Se restauró finalmente con una corona.

Singh R et al (Singh et ál., 2020)., comparó el MTA, PRF y  $\text{Ca(OH)}_2$  en 60 molares mandibulares dividiendo la muestra en tres grupos según el material usado para la pulpotomía. Se eliminó la caries con una fresa de diamante redonda estéril, se retiró la pulpa coronal y se colocó el material de recubrimiento pulpar. Las evaluaciones del tratamiento se realizaron a los 6 y 12 meses mediante examen clínico y radiográfico. La presencia de absceso, tumefacción, trayecto sinusal y dolor a la palpación denotaron fracaso clínico. La evidencia radiográfica de ensanchamiento periodontal sugirió el fracaso del tratamiento. Se observó una diferencia no significativa en la intensidad del dolor al inicio del estudio, 24 h, 1 semana, 1 mes, 3 meses, 6 meses y 1 año. Se informó una diferencia no significativa ( $P > 0,05$ ) en la tasa de éxito clínico y radiográfico registrada a los 6 meses y al año en todos los grupos.

#### *Recubrimiento pulpar directo*

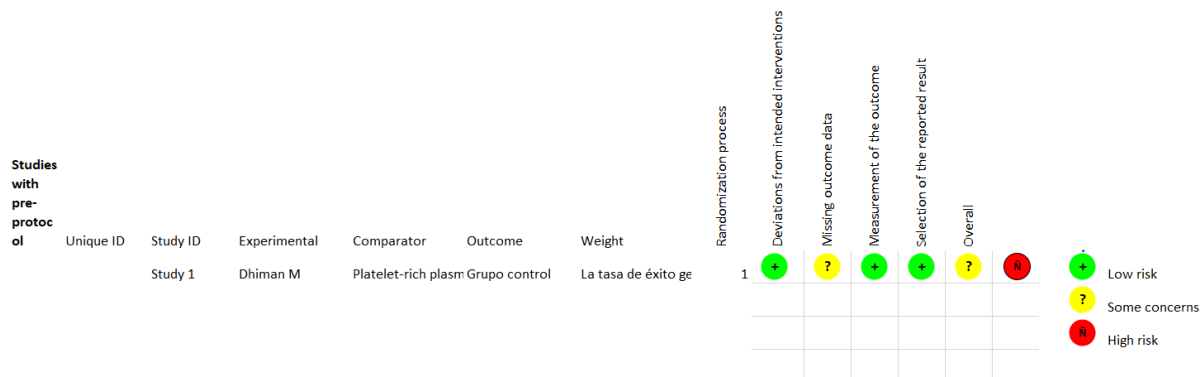
El recubrimiento pulpar directo es una de las modalidades vitales de terapia pulpar que intenta mantener la integridad del tejido. En esta técnica, se coloca un material biocompatible sobre la pulpa expuesta por caries o trauma para proteger el tejido de la microfiltración bacteriana. Esto puede promover la formación del puente dentinario y conducir al mantenimiento de la vitalidad de la pulpa (Bidar et ál., 2016).

De los estudios incluidos Dou L et al (Dou et al., 2020)., realizaron un estudio *in vitro* donde investigaron el efecto del hidróxido de calcio Ca (OH)<sub>2</sub>, agregado de trióxido mineral (MTA), iRoot BP, fibrina rica en plaquetas (PRF) y factores de crecimiento concentrados (CGF) en la proliferación, viabilidad, apoptosis y mineralización de células de pulpa dental humana (HDPC). El PRF aumentó significativamente la proliferación celular en comparación con los grupos MTA e iRoot BP en el tercer día. Todos los materiales excepto el Ca (OH)<sub>2</sub> demostraron una buena biocompatibilidad con las HDPC. Ninguno afectó significativamente la viabilidad celular, la muerte celular y la apoptosis, en comparación con el grupo de control. Cabe destacar que la toxicidad del Ca (OH)<sub>2</sub> para los HDPC fue relativamente mayor que la de los otros materiales. Con respecto a la citotoxicidad y la biocompatibilidad, MTA, iRoot BP, PRF y CGF califican para el recubrimiento pulpar dental directo en la preservación de la pulpa vital.

### **6.3 Evaluación del sesgo en los estudios individuales**

Dos revisores evaluaron de manera independiente el riesgo de sesgo en los estudios individuales, para los estudios clínicos controlados aleatorizados (ECA) se utilizó la herramienta RoB 2.0, con los 5 dominios de la guía Cochrane, obteniendo los resultados que se describen en la figura 3. Obteniendo para el estudio un riesgo de sesgo con algunas preocupaciones.

**Figura 4.** Evaluación del riesgo de sesgo de los ensayos clínicos aleatorizados según la herramienta RoB2 de Cochrane.



Para los reportes y series de casos se creó una herramienta, con base en la guía CARE y en el artículo titulado calidad metodológica y síntesis (Zhou et ál., 2017) de series e informes de casos (Murad et ál., 2018), obteniendo los resultados que se describen en la tabla 4. Los nueve estudios evaluados obtuvieron riesgo de sesgo bajo, en los parámetros donde se encontraron falencias fue en la descripción del cambio óseo postquirúrgico, en los resultados del desarrollo radicular y/o cierre apical y en la estandarización de los resultados.

**Tabla 4.** Evaluación del riesgo de sesgo de los reportes y series de casos

Autor	Título + Fenómeno de mayor interés	Presentación del caso	Descripción de la aplicación del PRF	Describe la forma de preparación del PRF	Descripción del procedimiento	Describe el tiempo de seguimiento	Describe el cambio óseo postquirúrgico	Describe el desarrollo radicular y/o cierre apical	Estandarización en la forma de medición de los resultados	TOTAL	Riesgo de sesgo
Hiremath H	1	1	1	1	1	1	1	0	1	8	Bajo
Mishra N	1	1	1	1	1	1	0	1	0	7	Bajo
Sharma V	1	1	1	1	1	1	1	0	0	7	Bajo
Bakhtiar H	1	1	1	1	1	1	0	0	1	7	Bajo

Autor	Título + Fenómeno de mayor interés	Presentación del caso	Describe la aplicación del PRF	Describe la forma de preparación del PRF	Descripción del procedimiento	Describe el tiempo de seguimiento	Describe el cambio óseo postquirúrgico	Describe el desarrollo radical y/o cierre apical	Estandarización en la forma de medición de los resultados	TOTAL	Riesgo de sesgo
Pinto N	1	1	1	1	1	1	0	1	1	8	Bajo
Ahmed M	1	1	1	1	1	1	0	1	1	8	Bajo
Cimen C	1	1	1	1	1	1	0	0	1	7	Bajo
Zhao J-H	1	1	1	1	1	1	1	0	0	7	Bajo
Prasad J	1	1	1	1	1	1	0	1	1	8	Bajo

Para los estudios *in vitro* e *in vivo* se creó una herramienta, con base en el artículo de Faggion (Faggion, 2012) (Murad et ál., 2018), obteniendo los resultados que se describen en la tabla 5. Los dos artículos evaluados obtuvieron un riesgo de sesgo bajo. Dou et al (Dou et ál., 2020)., no describieron como realizaron el cálculo del tamaño de la muestra, ni como se realizó el proceso de aleatorización. Zhou et al (Zhou et ál., 2017)., por su parte, no cumplió con la descripción del método de almacenamiento de las muestras.

**Tabla 5.** Evaluación del riesgo de sesgo para los estudios *in vitro* e *in vivo*.

Estudio	Objetivo claramente establecido	Cálculo del tamaño de la muestra	Muestras con dimensiones similares	Describe el procedimiento	Método de almacenamiento de las muestras	Aleatorización de grupos	Presencia de grupo control	Forma de preparación del PRF	Se siguieron instrucciones del fabricante	Se realizó análisis estadístico	TOTAL	Riesgo de sesgo
Dou L	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	8	Bajo
Zhou R	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	9	Bajo

Para los estudios prospectivos y de cohorte se usó la escala de Newcastle-Otawa, obteniendo los resultados que se describen en la tabla 6. De los cinco artículos evaluados, dos obtuvieron riesgo de sesgo moderado y tres riesgos de sesgo bajo. Los factores que más se incumplieron fueron la representatividad de la cohorte expuesta, y la adecuación del seguimiento. Los demás factores evaluados fueron cumplidos en todos los estudios.

**Tabla 6.** Evaluación del riesgo de sesgo para los estudios prospectivos y de cohorte.

Estudio	Selección			Comparabilidad	Desenlace			Total	Riesgo de sesgo
	Representatividad de la cohorte expuesta	Descripción de la patología a tratar	Aplicación del PRF		Período de intervención	Evaluación de los resultados	Duración del seguimiento		
Ulusoy A	1	1	1	1	1	1	1	8	Bajo
Hongbing Lv	0	1	1	1	1	1	0	6	Moderado
Jayadevan V	0	1	1	1	1	1	1	7	Bajo
Tuba U	0	1	1	1	1	1	0	6	Moderado
Singh R	1	1	1	1	1	1	0	7	Bajo

## 7. Discusión

El PRF por la técnica de Choukroun se produce de forma totalmente natural, sin utilizar anticoagulantes durante la extracción de sangre ni trombina bovina o cloruro de calcio para la activación plaquetaria y polimerización de fibrina (Dohan et ál., 2006c). El coágulo de PRF forma una fuerte matriz de fibrina natural, con una arquitectura sólida como material en la terapia regenerativa para estimular la cicatrización de hueso y tejido blando. Es un biomaterial autólogo que contiene plaquetas, leucocitos, citocinas, células madre circulantes y macrófagos. Los factores de crecimiento más importantes encontrados en el PRF son: factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante-1 (TGF- $\beta$ 1), factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). A medida que

avanza la reabsorción de la matriz de fibrina, los factores de crecimiento se liberan progresivamente durante un período de tiempo, lo que conduce a una cicatrización favorable (Dohan Ehrenfest et ál., 2009; Mazzone et ál., 2018).

En este *scoping review* se determinaron las aplicaciones del PRF en los diferentes tratamientos endodónticos documentados en la literatura, siendo uno de ellos los procedimientos endodónticos regenerativos (REP) en donde se pretende obtener regeneración pulpar, cicatrización de la lesión periapical y desarrollo radicular, como una modalidad de tratamiento para dientes con diversas patologías anatómicas y que presenten ápices abiertos. Por lo que se puede decir que los REP es una modalidad de tratamiento para dientes con diversas patologías y ápices abiertos. Murray et al., (Murray et ál., 2007) describieron los REP como "procedimientos de base biológica diseñados para reemplazar estructuras dañadas" como la raíz y la dentina, junto con las células del complejo dentino-pulpar y que aunque aún son incapaces de restablecer la función y la estructura fisiológica, pueden inducir el desarrollo de nuevo tejido vascularizado en el espacio del conducto radicular, proceso que permite el desarrollo continuo de la raíz, el engrosamiento de las paredes del conducto, el cierre apical y la resolución completa de la periodontitis apical (Murray, 2018).

Un factor importante a tener en cuenta es que el éxito de esta técnica depende por completo de la velocidad de extracción y tiempo de centrifugado de la sangre, ya que al cambiar estos factores también cambia el tipo de concentrado que obtengo. De hecho, sin anticoagulante, la muestra de sangre comienza a coagularse casi inmediatamente al entrar en contacto con el tubo de vidrio, y se necesitan unos minutos de centrifugación para concentrar el fibrinógeno en la parte media y superior del tubo. La manipulación rápida es la única forma de obtener un coágulo de PRF clínicamente utilizable. El protocolo PRF permite recolectar un coágulo de fibrina cargado de suero y plaquetas. Al expulsar los fluidos atrapados en la matriz de fibrina, los clínicos pueden

obtener membranas de fibrina autólogas muy resistentes (Saluja et ál., 2011). En los artículos incluidos en el presente *scoping review* los tiempos de centrifugado variaron de 2.700 a 3000rpm por 10 a 15 minutos según el investigador.

La revitalización exitosa de los dientes inmaduros se puede lograr después de la desinfección completa, la colocación de una matriz en el conducto para el crecimiento del tejido y el sellado hermético bacteriano. Es necesario un andamiaje apropiado para dar la ubicación espacial correcta a las células madre y regular su diferenciación, proliferación y metabolismo por diferentes factores de crecimiento. Los concentrados de plaquetas y coágulos de sangre, es decir PRP y PRF, sirven como andamios naturales con numerosos factores de crecimiento (Mishra et ál., 2013). Los tiempos transcurridos para observar resultados en cuanto la respuesta de la vitalidad, la resolución de las lesiones periapicales, el engrosamiento de las paredes y el crecimiento radicular es variable y dependiente de cada caso, pero en general la reevaluación se realiza a los 6,12,18 y 24 meses.

Sharma V et ál (V. Sharma et ál., 2016)., en la serie de casos realizada reporto en uno de sus casos que después de una semana, el paciente permaneció asintomático y la radiografía de seguimiento con un intervalo de 6 meses mostró una buena cicatrización apical. Para el segundo caso la radiografía periapical a los 12 meses reveló una reducción en el área radiolúcida en la región apical y en el tercer caso donde la única diferencia fue que el conducto se llenó totalmente con MTA, el seguimiento de 1 año mostró formación de una barrera apical calcificada y cicatrización de la radiolucidez periapical, sin recurrencia de los síntomas. Resultados similares a los de Pinto et al., donde a los 6 y 12 meses había ausencia de síntomas y una lesión apical resuelta. Las imágenes de haz cónico indicaron que la longitud de la raíz aumentó 1mm y las paredes se

habían engrosado 0.25mm. Las pruebas de sensibilidad fueron positivas y la flujometría láser Doppler mostró flujo sanguíneo positivo al cabo de 1 año.

Bakhtiar H et al (Bakhtiar et ál., 2016)., colocaron dentro de los conductos PRF que a su vez fue cubierto con Biodentine, obteniendo para el caso uno y dos cierre apical a los 6 meses, en el caso tres a los 12 meses cierre apical en el incisivo izquierdo, el derecho no tuvo cierre apical y para el caso cuatro se logró a los 18 meses. El engrosamiento de la raíz se logró entre los 9 y 18 meses para todos los casos. Las radiografías revelaron resolución de las lesiones periapicales. Resultados contradictorios en cuanto al tiempo con los de Ahmed et al (Eltawila y El Backly, 2019), que reportaron para el caso uno consolidación del hueso periapical a los 9 meses, con el ápice aun abierto. Para el caso dos las raíces exhibieron cierre apical y arquitectura ósea periapical normal a los 12 meses de seguimiento. Además, reportaron una respuesta inesperada después de 48 meses, para el caso dos que mostró una extensa calcificación en todos los conductos radiculares. Resultados similares a los reportados por Cimen C et ál (Ulusoy et ál., 2019)., donde se formó un tejido calcificado en el tercio medio de la raíz en un caso diagnosticado de periodontitis apical crónica a los tres meses de seguimiento y Hiremath H. et ál (Hiremath et ál., 2012)., que observaron cierta obliteración del conducto pulpar en el tercio apical de la raíz mesial.

Otro factor a tener en cuenta fue el medicamento o la pasta triantibiótica usada dentro del conducto. Se han propuesto varias combinaciones de antibióticos, pero la más utilizada es una pasta antibiótica triple propuesta por el Dr Hoshino compuesta por ciprofloxacina, metronidazol y minociclina. Bakhtiar H et ál (Bakhtiar et ál., 2016)., y Jayadevan et ál (Jayadevan et ál., 2021)., reemplazaron la minociclina con cefaclor para minimizar la decoloración de los dientes. Pinto et al(Pinto et ál., 2017)., por su parte utilizaron hidróxido de calcio. Sin importar el tipo de mezcla

antibiótica utilizada, el propósito es intentar obtener un conducto “estéril” antes de la segunda fase donde se estimula el sangrado o se lleva el PRF al conducto.

Netea et al (Netea et ál., 2004) demostraron que las células madre no sobreviven cuando se ponen en contacto con dentina previamente tratada con pasta triple antibiótica a una concentración de 1g/mL. Además, aunque la reducción de la concentración de antibióticos disminuye su potencial citotoxicidad, también reducirá drásticamente su eficacia antimicrobiana. Por lo tanto, se debe usar una concentración balanceada para lograr una desinfección efectiva, pero con baja citotoxicidad. En la segunda cita todos los autores recomiendan la aplicación de EDTA al 17% para la eliminación del medicamento usado debido a que este libera factores de crecimiento de las paredes de la dentina, lo que puede conducir a la proliferación y diferenciación de las células madre (Nosrat et ál., 2011).

Con respecto a la cicatrización el PRF no la mejoró, resultado que podría parecer extraño ya que se conoce su efecto promotor para dicho fin, una de las razones que podrían explicarlo es que la estimulación particular de algunos tipos de células requiere la presentación de biomoléculas, que en el caso del PRF puede que no proporcione un entorno adecuado para la osteogénesis (Dhiman et ál., 2015). Según lo reportado por Zhou R et al (Zhou et ál., 2017), histológicamente se observa la formación de tejido similar al cemento en las paredes del conducto y en el lumen islotes de tejido osteoide.

El PRF fue tan efectivo como el ampliamente aceptado MTA cuando estuvieron en contacto directo con las células, e incluso fueron superiores al MTA en la promoción de la proliferación celular. Ciertos estudios también indicaron que PRF aumenta la proliferación y diferenciación de HDPC (Huang et ál., 2010; Ji et ál., 2015), lo cual es consistente con los resultados del estudio de Dou L et ál.

Aunque el PRF no se ha aplicado clínicamente en el recubrimiento pulpar directo, tiene potencial como agente para este procedimiento. Su citotoxicidad es insignificante y previamente se ha demostrado que es efectivo para la cicatrización ósea. Como andamio natural el PRF es degradable y puede ser reemplazado por tejido recién formado. La aplicación de PRF no presenta ningún riesgo de rechazo inmunológico y transmisión de enfermedades infecciosas.

Galler et ál (Galler et ál., 2016)., en su ensayo clínico mostraron como REP es una terapia prometedora para los dientes necróticos inmaduros, con excelentes resultados clínicos y tasa de éxito de más del 90 %. La mayoría de los dientes mostraron desarrollo radicular, cicatrización de las lesiones periapicales y resolución de la sintomatología del paciente. El restante mostró respuestas positivas a las pruebas de vitalidad pulpar, lo que indica que el tejido recién formado estaba vascularizado y por lo tanto podría apoyar la inervación sensorial. Por su parte Dhiman et ál (Dhiman et ál., 2015)., coinciden en los resultados reportando igualmente altas tasas de éxito de la cirugía apical en defectos apico-coronales, incluso sin utilizar ninguna membrana de barrera, aunque en este estudio se debe tener en cuenta que la mayoría de los defectos registrados fueron de origen endodóntico primario, con mínima o nula afectación periodontal, por lo cual los resultados deben extrapolarse con cautela.

Dentro de las limitaciones encontradas en este *scoping review* tenemos que desde la introducción del PRF en los últimos años, solo se han reportado una cantidad limitada de estudios clínicos sobre su eficacia en el ámbito endodóntico, y de los encontrados la muestra ha sido pequeña. Además, los tiempos de seguimiento y los protocolos de preparación del PRF son variables, lo que puede generar diversificación en los resultados. Otra limitante es la falta de estandarización de las técnicas quirúrgicas o las condiciones preoperatorias; además, algunos

autores hacen uso de sustitutos óseos, hidroxiapatita o b-fosfato tricálcico en los casos de cirugía apical, que probablemente afecten a la fiabilidad de la evaluación radiográfica

## **8. Conclusiones**

Las aplicaciones del PRF reportadas en la literatura para procedimientos endodónticos son regeneración pulpar, cirugía perirradicular, recubrimiento pulpar directo y pulpotomía.

El L-PRF es usado en la endodoncia regenerativa debido a su alta concentración de factores de crecimiento que inducen la migración, proliferación y diferenciación de las células madre

.El resultado exitoso de los REP se evalúa como la capacidad de estos para lograr cierre apical, cicatrización de la lesión periapical, aumento en la longitud radicular y/o el engrosamiento de la pared dentinaria.

El pronóstico del diente se puede atribuir a muchos factores, como el tipo de patología pulpar, el estado previo al tratamiento de la región periapical y la viabilidad de los tejidos vivos

De los 18 estudios evaluados en esta revisión solo se encontraron dos que tuvieron riesgo desesgo moderado, por lo que se puede considerar que los resultados son confiables.

## **9. Recomendaciones**

Se requieren estudios adicionales con muestras de tamaños más grandes que evidencien los usos, resultados y limitaciones del PRF en procedimientos endodónticos.

Se sugiere una estandarización para el protocolo de preparación del PRF.

Se requieren más estudios para comparar la cicatrización de los defectos apicomarginales con y sin compromiso periodontal secundario, representado por una pérdida ósea proximal de moderada a severa.

Se sugiere mayor difusión de la información sobre las aplicaciones del L-PRF.

Se sugiere a estudiantes, docentes y profesionales de la salud oral aplicar el L-PRF en los diferentes procedimientos regenerativos.

### Referencias

- Almutairi, W., Yassen, G. H., Aminoshariae, A., Williams, K. A., y Mickel, A. (2019). Regenerative Endodontics: A Systematic Analysis of the Failed Cases. *Journal of Endodontics*, 45(5), 567–577. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.004>
- Alsousou, J., Ali, A., Willett, K., y Harrison, P. (2013). The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets*, 24(3), 173–182. <https://doi.org/10.3109/09537104.2012.684730>
- Angerame, D., Biasi, M. De, Kastrioti, I., Franco, V., Castaldo, A., y Maglione, M. (2015). ScienceDirect Application of platelet-rich fibrin in endodontic surgery : a pilot study Applicazione del platelet-rich fibrin in endodonzia chirurgica : studio pilota. *Giornale Italiano Di Endodonzia*, 29(2), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.gien.2015.08.003>
- Arenas, L. A. S., y de Zurbarán, C. B. (2002). La matriz extracelular: El ecosistema de la célula. *Salud Uninorte*, 16, 9–18.
- Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, 22(1), 44–50. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2220104.x>
- Babiarz, B., Romagnano, L., Afonso, S., y Kurilla, G. (1996). Localization and expression of fibronectin during mouse decidualization in vitro: Mechanisms of cell:matrix interactions. *Developmental Dynamics*, 206(3), 330–342. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(199607\)206:3<330::AID-AJA10>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(199607)206:3<330::AID-AJA10>3.0.CO;2-3)
- Bakhtiar, H., Esmaeili, S., Nekoofar, M. H., y Dummer, P. (2016). Second-generation Platelet Concentrate ( Platelet-rich Fibrin ) as a Scaffold in Regenerative. *Journal of Endodontics*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.016>
- Banchs, F., y Trope, M. (2004). Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *Journal of Endodontics*, 30(4), 196–200.

- <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>
- Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M. S., Ehrlich, H. P., y Brem, H. (2009). The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. *Journal of Surgical Research*, 153(2), 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.04.023>
- Bidar, M., Moushekhian, S., Gharechahi, M., Talati, A., Ahrari, F., y Bojarpour, M. (2016). The effect of low level laser therapy on direct pulp capping in dogs. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 7(3), 177–183. <https://doi.org/10.15171/jlms.2016.31>
- Blair, P., y Flaumenhaft, R. (2009). Platelet  $\alpha$ -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews*, 23(4), 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2009.04.001>
- Bodnar, R. J. (2013). Epidermal Growth Factor and Epidermal Growth Factor Receptor: The Yin and Yang in the Treatment of Cutaneous Wounds and Cancer. *Advances in Wound Care*, 2(1), 24–29. <https://doi.org/10.1089/wound.2011.0326>
- Chang, I. C., Tsai, C. H., y Chang, Y. C. (2010). Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 95(1), 327–332. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32839>
- Chen, W., y Culp, L. A. (1996). Adhesion mediated by fibronectin's alternatively spliced EDb (EIIIB) and its neighboring type III repeats. *Experimental Cell Research*, 223(1), 9–19. <https://doi.org/10.1006/excr.1996.0053>
- Cimen, C., Sen, S., Senay, E., y Bezgin, T. (2021). Platelet-rich fibrin used as a scaffold in pulp regeneration: case series. *Cumhuriyet Dental Journal*, 24(1), 113–120. <https://doi.org/10.7126/cumudj.796047>
- Clark, R. A. F. (2001). Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*,

- 936, 355–367. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03522.x>
- Correa-Aravena, J., Alister, J. P., Olate, S., y Manterola, C. (2019). L-PRF y Ciclo Celular. Revisión Narrativa. *International Journal of Odontostomatology*, 13(4), 497–503. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2019000400497>
- Cotta-Pereira, G., Guerra Rodrigo, F., y Bittencourt-Sampaio, S. (n.d.). *Oxytalan, elaunin and elastic fibers in the human skin*.
- Coury, A. J. (2016). Expediting the transition from replacement medicine to tissue engineering. *Regenerative Biomaterials*, 3(2), 111–113. <https://doi.org/10.1093/RB/RBW014>
- Cromheecke, J. L., Nguyen, K. T., y Huston, D. P. (2014). Emerging role of human basophil biology in health and disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, 14(1), 43–45. <https://doi.org/10.1007/s11882-013-0408-2>
- Dhiman, M., Kumar, S., Duhan, J., y Sangwan, P. (2015). Effect of Platelet-rich Fibrin on Healing of Apicomarginal Defects : A Randomized Controlled Trial. *Journal of Endodontics*, May 2011, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.004>
- Dhurat, R., y Sukesh, M. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 7(4), 189. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>
- Diss, A., Dohan, D. M., Mouhyi, J., y Mahler, P. (2008). Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 105(5), 572–579. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2007.08.021>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., y Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I:

- Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., y Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., y Gogly, B. (2006c). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.010>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., y Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Dou, L. E. I., Yan, Q., y Yang, D. (2020). Effect of five dental pulp capping agents on cell proliferation, viability, apoptosis and mineralization of human dental pulp cells. *Exp Ther Med*, 5, 2377–2383. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8444>
- Eltawila, A., y El Backly, R. (2019). Autologous platelet-rich-fibrin-induced revascularization sequelae: two case reports. *World J Stomatol*, 6263(3), 28–38.
- Ertl, P., Altmann, E., y Mckenna, J. M. (2020). The Most Common Functional Groups in Bioactive Molecules and How Their Popularity Has Evolved over Time. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(15), 8408–8418. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00754>

- Faggion, C. M. (2012). Guidelines for reporting pre-clinical in vitro studies on dental materials. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12(4), 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2012.10.001>
- Fitch-Tewfik, J. L., y Flaumenhaft, R. (2013). Platelet granule exocytosis: A comparison with chromaffin cells. *Frontiers in Endocrinology*, 4(JUN), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00077>
- Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35(3), 351–357. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12082>
- Froesch, E. ., Schmid, C., Schwander, J., y Zapf, J. (1985). *ACTIONS OF INSULIN-LIKE. 10.*
- Gagnier, J. J., Kienle, G., Altman, D. G., Moher, D., Sox, H., y Riley, D. (2013). The CARE guidelines: Consensus-based clinical case reporting guideline development. *Forschende Komplementarmedizin*, 20(5), 385–386. <https://doi.org/10.7453/gahmj.2013.008>
- Galler, K. M., Krastl, G., Simon, S., Van Gorp, G., Meschi, N., Vahedi, B., y Lambrechts, P. (2016). European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *International Endodontic Journal*, 49(8), 717–723. <https://doi.org/10.1111/iej.12629>
- Gawthaman, M., Vinodh, S., Mathian, V. M., Vijayaraghavan, R., y Karunakaran, R. (2013). Apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate : Report of two cases. *J Pharm Bioallied Sci*, 5(July), 131–134. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.114305>
- Gordon, M. K., y Olsen, B. R. (1990). The contribution of collagenous proteins to tissue-specific matrix assemblies. *Current Opinion in Cell Biology*, 2(5), 833–838. [https://doi.org/10.1016/0955-0674\(90\)90080-X](https://doi.org/10.1016/0955-0674(90)90080-X)
- Gromack, D. T., Reyes, B. P., y Mustoe, T. A. (1990). Current concepts in wound healing growth factor and macrophage interaction. In *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical*

- Care* (Vol. 30, Issue 12, pp. S129–S133). <https://doi.org/10.1097/00005373-199012001-00026>
- Guller, S., Markiewicz, L., Wozniak, R., Burnham, J. O. N. M., Wang, E., Kaplan, P., Lockwood, C. J., Gynecology, O., y G, R. S. S. (2015). *Developmental regulation of glucocorticoid-mediated effects on extracellular matrix protein expression in the human placenta*. *134*(5), 2064–2071.
- Hämmerle, C. H. F., Jung, R. E., Yaman, D., y Lang, N. P. (2008). Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: A report of twelve consecutive cases. *Clinical Oral Implants Research*, *19*(1), 19–25. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01407.x>
- Hargreaves, K. M., Giesler, T., Henry, M., y Wang, Y. (2008). Regeneration Potential of the Young Permanent Tooth: What Does the Future Hold? *Journal of Endodontics*, *34*(7 SUPPL.), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.02.032>
- Harlamb, S. C. (2016). Management of incompletely developed teeth requiring root canal treatment. *Australian Dental Journal*, 95–106. <https://doi.org/10.1111/adj.12401>
- Hauser, F., Gaydarov, N., Badoud, I., Vazquez, L., Bernard, J. P., y Ammann, P. (2013). Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: A prospective randomized controlled study. *Implant Dentistry*, *22*(3), 295–303. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3182906eb3>
- He, L., Lin, Y., Hu, X., Zhang, Y., y Wu, H. (2009). A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, *108*(5), 707–713. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.06.044>

- Higgins, J. M. (2015). Red Blood Cell Population Dynamics. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(1), 43–57. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.10.002>
- Hiremath, H., Saikalyan, S., Kulkarni, S. S., y Hiremath, V. (2012). Second-generation platelet concentrate (PRF) as a pulpotomy medicament in a permanent molar with pulpitis: A case report. *International Endodontic Journal*, 45(1), 105–112. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01973.x>
- Hoffman, W., Lakkis, F. G., y Chalasani, G. (2016). B cells, antibodies, and more. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 11(1), 137–154. <https://doi.org/10.2215/CJN.09430915>
- Hongbing, L., Chen, Y., Cai, Z., Lei, L., Zhang, M., Zhou, R., y Huang, X. (2018). The efficacy of platelet-rich fibrin as a scaffold in regenerative endodontic treatment: A retrospective controlled cohort study. *BMC Oral Health*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12903-018-0598-z>
- Huang, F. M., Yang, S. F., Zhao, J. H., y Chang, Y. C. (2010). Platelet-rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*, 36(10), 1628–1632. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.07.004>
- Hülsmann, M., Heckendorff, M., y Lennon, Á. (2003). Chelating agents in root canal treatment: Mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal*, 36(12), 810–830. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2003.00754.x>
- Iwaya, S. I., Ikawa, M., y Kubota, M. (2011). Revascularization of an immature permanent tooth with periradicular abscess after luxation. *Dental Traumatology*, 27(1), 55–58. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2010.00963.x>
- Jayadevan, V., Gehlot, P., Manjunath, V., y Madhunapantula, S. V. (2021). A comparative

- evaluation of Advanced Platelet-Rich Fibrin ( A-PRF ) and Platelet-Rich Fibrin ( PRF ) as a Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment of Traumatized Immature Non-vital permanent anterior teeth: A Prospective clinical study. *J Clinical Exp Dent*, 13(5). <https://doi.org/10.4317/jced.57902>
- Ji, B., Sheng, L., Chen, G., Guo, S., Xie, L., Yang, B., Guo, W., y Tian, W. (2015). The combination use of platelet-rich fibrin and treated dentin matrix for tooth root regeneration by cell homing. *Tissue Engineering - Part A*, 21(1–2), 26–34. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0043>
- Karlmark, K., Tacke, F., y Dunay, I. (2012). Monocytes in health and disease — Minireview. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 2(2), 97–102. <https://doi.org/10.1556/eujmi.2.2012.2.1>
- Kleinman, H. K., Cannon, F. B., Laurie, G. W., Hassell, J. R., Aumailley, M., Terranova, V. P., Martin, G. R., y DuBois-Dalcq, M. (1985). Biological activities of laminin. *Journal of Cellular Biochemistry*, 27(4), 317–325. <https://doi.org/10.1002/jcb.240270402>
- Kratz, G., Lake, M., y Gidlund, M. (1994). Insulin like growth factor-1 and -2 and their role in the re-epithelialisation of wounds; interactions with insulin like growth factor binding protein type 1. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, 28(2), 107–112. <https://doi.org/10.3109/02844319409071187>
- Litvinov, R. I., y Weisel, J. W. (2016). What Is the Biological and Clinical Relevance of Fibrin? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 42(4), 333–343. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1571342>
- Lolato, A., Bucchi, C., Taschieri, S., Kabbaney, A. El, y Fabbro, M. Del. (2016). Platelet concentrates for revitalization of immature necrotic teeth: a systematic review of the

- clinical studies. *Platelets*, 27(5), 383–392.  
<https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1131255>
- López Farré, A., y Macaya, C. (2013). Plaqueta: Fisiología de la activación y la inhibición. *Revista Espanola de Cardiologia Suplementos*, 13(SUPPL.2), 2–7. [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(13\)70073-6](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(13)70073-6)
- Martin, P., y Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, 15(11), 599–607.  
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.09.002>
- Mayadas, T. N., Cullere, X., y Lowell, C. A. (2014). The multifaceted functions of neutrophils. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9, 181–218.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-020712-164023>
- Mazzone, N., Mici, E., Calvo, A., Runci, M., Crimi, S., Lauritano, F., y Belli, E. (2018). Preliminary results of bone regeneration in oromaxillomandibular surgery using synthetic granular graft. *BioMed Research International*, 2018.  
<https://doi.org/10.1155/2018/8503427>
- McBrien, C. N., y Menzies-Gow, A. (2017). The biology of eosinophils and their role in asthma. *Frontiers in Medicine*, 4(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00093>
- Mehta, S., y Watson, J. T. (2008). Platelet rich concentrate: Basic science and current clinical applications. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 22(6), 433–438.  
<https://doi.org/10.1097/BOT.0b013e31817e793f>
- Mihaylova, Z., Mitev, V., Stanimirov, P., Isaeva, A., Gateva, N., y Ishkitiev, N. (2017). Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. *Acta Odontologica Scandinavica*, 75(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/00016357.2016.1236985>

- Mishra, N., Narang, I., y Mittal, N. (2013). Platelet - rich fibrin - mediated revitalization of immature necrotic tooth. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(3), 412–415. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.118379>
- Monteiro, J., Ní Chaollaí, A., y Duggal, M. (2017). The teaching of management of the pulp in primary molars across Europe. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 18(3), 203–208. <https://doi.org/10.1007/s40368-017-0288-6>
- Murad, M. H., Sultan, S., Haffar, S., y Bazerbachi, F. (2018). Methodological quality and synthesis of case series and case reports. *Evidence-Based Medicine*, 23(2), 60–63. <https://doi.org/10.1136/bmjebm-2017-110853>
- Murray, P. E. (2018). Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Can Induce Apical Closure More Frequently Than Blood-Clot Revascularization for the Regeneration of Immature Permanent Teeth: A Meta-Analysis of Clinical Efficacy. *Front Bioeng Biotechnol*, 6(October). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00139>
- Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., y Hargreaves, K. M. (2007). Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *Journal of Endodontics*, 33(4), 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.09.013>
- Nagaveni, N. B., Kumari K, N., Poornima, P., y Subba Reddy, V. V. (2015). Management of an endo-perio lesion in an immature tooth using autologous platelet-rich fibrin: A case report. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 33(1), 69–73. <https://doi.org/10.4103/0970-4388.149013>
- Netea, M. G., Van Der Graaf, C., Van Der Meer, J. W. M., y Kullberg, B. J. (2004). Recognition of fungal pathogens by toll-like receptors. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23(9), 672–676. <https://doi.org/10.1007/s10096-004-1192-7>

- Nosrat, A., Seifi, A., y Asgary, S. (2011). Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: A review and report of two cases with a new biomaterial. *Journal of Endodontics*, 37(4), 562–567.  
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.01.011>
- Pavlovic, V., Ciric, M., Jovanovic, V., y Stojanovic, P. (2016). Platelet Rich Plasma: A short overview of certain bioactive components. *Open Medicine (Poland)*, 11(1), 242–247.  
<https://doi.org/10.1515/med-2016-0048>
- Penn, J. W., Grobbelaar, A. O., y Rolfe, K. J. (2012). The role of the TGF- $\beta$  family in wound healing, burns and scarring: a review. *International Journal of Burns and Trauma*, 2(1), 18–28.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22928164>  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3415964>
- Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Altrock, B. W., Deuel, T. F., y Thomason, A. (1991). Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of Cellular Biochemistry*, 45(4), 319–326.  
<https://doi.org/10.1002/jcb.240450403>
- Pinto, N., Harnish, A., Cabrera, C., Andrade, C., Druttman, T., y Brizuela, C. (2017). An Innovative Regenerative Endodontic Procedure Using Leukocyte and Platelet-rich Fibrin Associated with Apical Surgery : A Case Report. *Journal of Endodontics*, 43(11), 1828–1834. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.07.002>
- Polimeni, G., Xiropaidis, A. V., y Wikesjö, U. M. E. (2006). Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology* 2000, 41(1), 30–47.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00157.x>
- Powell, C. A., Bannister, S. R., Mackey, S. A., Maller, S. C., McDonnell, H. T., y Deas, D. E.

- (2009). Periodontal Wound Healing With and Without Platelet-Rich Plasma: Histologic Observations and Assessment of Flap Tensile Strength. *Journal of Periodontology*, 80(6), 985–992. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.080626>
- Prasad, J., De, I., y Ataide, N. De. (2018). Comparison between the Outcomes of Two Platelet - Rich Concentrates on Apexogenesis in Young Permanent Incisors Requiring Endodontic Retreatment. *Odontologia Clinica Contemporanea*, 156–159. <https://doi.org/10.4103/ccd.ccd>
- Preeja, C., y Arun, S. (2014). Platelet-rich fibrin: Its role in periodontal regeneration. *Saudi Journal for Dental Research*, 5(2), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.ksujds.2013.09.001>
- Pretini, V., Koenen, M. H., Kaestner, L., Fens, M. H. A. M., Schiffelers, R. M., Bartels, M., y Van Wijk, R. (2019). Red blood cells: Chasing interactions. *Frontiers in Physiology*, 10(JUL), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00945>
- Saluja, H., Dehane, V., y Mahindra, U. (2011). Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Annals of Maxillofacial Surgery*, 1(1), 53. <https://doi.org/10.4103/2231-0746.83158>
- Sanchez, A., Sheridan, P., y Kupp, L. (2003). Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 90(2), 201–204. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(03\)00264-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(03)00264-6)
- Sharma, A., y Pradeep, A. R. (2011). Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Patients With Chronic Periodontitis With Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 82(12), 1705–1712. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110075>
- Sharma, V., Sharma, S., Dudeja, P., y Grover, S. (2016). Endodontic management of nonvital

- permanent teeth having immature roots with one step apexification , using mineral trioxide aggregate apical plug and autogenous platelet - rich fibrin membrane as an internal matrix : Case series. *Contemporary Clinical Dentistry*, 67–70. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.177107>
- Shiiki, H., Nishino, T., Uyama, H., Kimura, T., Nishimoto, K., Hashimoto, T., Fujii, Y., y Dohi, K. (1996). Alterations in extracellular matrix components and integrins in patients with preeclamptic nephropathy. *Virchows Archiv*, 427(6), 567–573. <https://doi.org/10.1007/BF00202887>
- Shivashankar, V. Y., Johns, D. A., Maroli, R. K., Sekar, M., Chandrasekaran, R., Karthikeyan, S., y Renganathan, S. K. (2017). Comparison of the effect of PRP, PRF and induced bleeding in the revascularization of teeth with necrotic pulp and open apex: A triple blind randomized clinical trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(6), ZC34–ZC39. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22352.10056>
- Shokouhinejad, N., Khoshkounejad, M., Alikhasi, M., Bagheri, P., y Camilleri, J. (2018). Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model. *Clinical Oral Investigations*, 22(4), 1725–1731. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2266-0>
- Singh, R., Singh, R., Kavita, K., Kommula, A., Kulkarni, G., y Shridhar, H. (2020). *To Compare Mineral Trioxide Aggregate, Platelet-rich Fibrin, and Calcium Hydroxide in Teeth with Irreversible Pulpitis: A Clinical Study*. 2020–2023. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- Steeve, K. T., Marc, P., Sandrine, T., Dominique, H., y Yannick, F. (2004). IL-6, RANKL, TNF- $\alpha$ /IL-1: Interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 15(1), 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2003.10.005>

- Subash, D., Shoba, K., Aman, S., y Bharkavi, S. K. I. (2016). Revitalization of an immature permanent mandibular molar with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: A case report. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(11), ZD21–ZD23. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21793.8902>
- Thibodeau, B., Teixeira, F., Yamauchi, M., Caplan, D. J., y Trope, M. (2007). Pulp Revascularization of Immature Dog Teeth With Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, 33(6), 680–689. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.03.001>
- Torabinejad, M., y Turman, M. (2011). Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: A case report. *Journal of Endodontics*, 37(2), 265–268. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>
- Tuba, U., y Emine, S. (2011). White mineral trioxide aggregate pulpotomies: Two case reports with long-term follow-up. *Contemporary Clinical Dentistry*, 2(4), 381. <https://doi.org/10.4103/0976-237x.91809>
- Turley, E. A., Brassel, P., y Moore, D. (1990). A hyaluronan-binding protein shows a partial and temporally regulated codistribution with actin on locomoting chick heart fibroblasts. *Experimental Cell Research*, 187(2), 243–249. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(90\)90087-Q](https://doi.org/10.1016/0014-4827(90)90087-Q)
- Ulusoy, A., Turedi, I., Cimen, M., y Cebreli, Z. (2019). Evaluation of Blood Clot , Platelet-rich Plasma , Platelet-rich Fibrin , and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment : *Journal of Endodontics*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.002>
- Upputuri, P. K., Sivasubramanian, K., Mark, C. S. K., y Pramanik, M. (2015). Recent developments in vascular imaging techniques in tissue engineering and regenerative medicine. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/783983>

- Urrútia, G., y Bonfill, X. (2010). PRISMA declaration: A proposal to improve the publication of systematic reviews and meta-analyses. *Medicina Clinica*, 135(11), 507–511.  
<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2010.01.015>
- Van Hinsbergh, V. W. M., Collen, A., y Koolwijk, P. (2001). Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936, 426–437.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03526.x>
- Wiley, J., Sons, A. S., Diogenes, A., Y, M. A. H., Teixeira, F. B., y Hargreaves, K. M. (2013). An update on clinical regenerative endodontics. *British Dental Journal*, 215(6), 289–289.  
<https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.906>
- Zhao, J., Tsai, C., y Chang, Y. (2012). Management of radicular cysts using platelet-rich fibrin and bioactive glass : A report of two cases. *Journal of the Formosan Medical Association*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2011.09.027>
- Zhou, R., Wang, Y., Chen, Y., y Chen, S. (2017). Evaluation of Combined Application of Platelet-rich Fibrin with Blood Clot in Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, 1–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.07.021>