



INGENIERÍA TISULAR Y MEDICINA REGENERATIVA

Protocolos de obtención de la fibrina rica en plaquetas para uso odontológico Artículo de revisión

David A. Gutiérrez Ramírez

Odontólogo. Magíster en Odontología

Profesor asistente. Facultad de Odontología. Universidad Antonio Nariño, sede Popayán

e-mail: davigutierrez@uan.edu.co

Ana Isabel Restrepo Dorado

Odontóloga. Especialista en Periodoncia

Profesora Facultad de Odontología, Universidad Antonio Nariño, sede Popayán.

Juan Pablo Hinojosa Sarria

Odontólogo. Especialista en Periodoncia

Profesor Facultad de Odontología. Universidad Antonio Nariño, sede Popayán.

Ana Luisa Muñoz Ramírez

Microbióloga, MSc, PhD, Postdoctorado en Medicina Regenerativa

Profesora asistente, Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, sede Bogotá.

Yuly Ortiz Ramos

Odontóloga. Especialista en Ortopedia Maxilar y Ortodoncia

Profesora Universidad Antonio Nariño, sede Villavicencio.

Martín Alonso Ruiz

Médico, Magíster en Salud Ocupacional

Profesor Facultad de Ingeniería Biomédica, Universidad Antonio Nariño, sede Popayán.

18

Resumen

Los materiales bioactivos que promueven los procesos regenerativos tisulares con fines odontológicos están tomando auge en la actualidad. Estos se pueden obtener de forma natural o sintetizados en laboratorio y su aplicación ha mostrado ventajas clínicas, aunque aumentan sensiblemente los costos y condicionan la técnica quirúrgica. Desde hace algunas décadas se utilizan los agregados plaquetarios como el plasma rico en plaquetas (PRP), el cual se obtiene autológicamente y tiene buenos resultados clínicos, aunque requiere de aditivos químicos para activarlo. En la última generación de agregados plaquetarios se desarrolló la fibrina rica en plaquetas (PRF) como una alternativa de bajo costo y fácil acceso, en odontología se utiliza en cirugía oral y maxilofacial, periodoncia y en terapia endodóntica regenerativa, principalmente. Además, varios estudios han demostrado beneficios clínicos a corto y largo plazo. Sin embargo, el protocolo de obtención se ha modificado en varias ocasiones desde que fue desarrollado, siendo necesario estandarizar protocolos no solo para su obtención, también para su uso clínico. El objetivo del presente estudio es identificar los protocolos

de obtención de PRF utilizados para aplicaciones en la clínica odontológica. Se revisaron aquellos artículos y estudios que aplicaron el PRF en algún área de odontología y que declararon en los métodos del protocolo de centrifugado utilizado. La mayoría de estudios fueron ensayos clínicos y unos pocos *in vitro*, fueron encontrados ocho protocolos con diferencias en el tiempo y las revoluciones por minuto, así como en el tamaño de los tubos utilizados. Los resultados clínicos son variables y el PRF fue obtenido en diferentes clases de centrifugas. Las diferencias en los protocolos se reflejan también en la composición del PRF en cuanto a cantidad de plaquetas, factores de crecimiento y citoquinas, incluso puede variar el tiempo de actividad después de obtenido el biomaterial. Se recomienda que al utilizar el PRF con fines clínicos, de investigación, o ambos, se opte por un protocolo de obtención estandarizado, basándose en los fundamentos biológicos, lo que implica caracterizar el producto obtenido, además se requiere seleccionar muy bien la centrifuga según los objetivos clínicos propuestos y buscar asesoría con personal experimentado para obtener los logros evidenciados en la literatura y evitar inconvenientes en la manipulación o sesgos en los resultados clínicos.



Palabras clave: Concentrados plaquetarios, Fibrina, Plasma rico en plaquetas, Plasma rico en fibrina, Regeneración tisular.

Introducción

Las sustancias o materiales que buscan mejorar la respuesta tisular en la terapéutica clínica odontológica, a través de la activación de interacciones moleculares complejas, se conocen con el nombre de bioactivos. Se pueden adquirir a partir de fuentes naturales o sintetizadas en laboratorio. Recientemente se están utilizando los concentrados plaquetarios, estos se obtienen de la sangre del paciente por medio de centrifugado hasta conseguir un plasma con una alta concentración de plaquetas, es decir, son una fuente autóloga de plaquetas y moléculas activas que sirven como un material que estimula la regeneración y acelera la cicatrización tisular (1).

El primer concentrado plaquetario que se utilizó en aplicaciones clínicas fue el plasma rico en plaquetas (PRP), posteriormente, con otro protocolo se obtuvo el plasma rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP), logrados de forma manual o con métodos automatizados; ambos han demostrado beneficios clínicos importantes, aunque requieren el uso de sustancias químicas para activarlos, tales como el cloruro cálcico y la trombina bovina o autóloga para producir agregación y degranulación plaquetaria, paso necesario para la liberación de factores de crecimiento, este el proceso de activación añade costos al tratamiento (2). Buscando alternativas para superar estas desventajas, se obtuvo la fibrina rica en plaquetas (PRF) y la fibrina rica en plaquetas y leucocitos (L-PRF), también conocida como el PRF de Choukroun(3).

EL PRF es una matriz polimerizada de fibrina que sirve como una estructura tridimensional que contiene plaquetas, leucocitos, factores de crecimiento, citoquinas, proteínas adhesivas, proteasas, entre otras moléculas bioactivas que promueven mejores condiciones en la hemostasia, reparación y regeneración de tejidos. Se obtiene con una técnica de centrifugado simplificada en comparación con su predecesor el PRP (que se logra con diferentes centrifugados), no requiere aditivos químicos, ni manipulaciones adicionales. Es biológicamente seguro dado que solo se destapa el tubo recolector en el momento de colocación de la matriz de fibrina en el campo quirúrgico y al ser de origen autólogo minimiza la respuesta inmune. Fue desarrollada por el Dr. Choukroun y sus colaboradores hace una década aproximadamente y a partir de allí, se han

propuesto una serie de protocolos de centrifugado similares que van desde las 1500 rpm hasta las 3200 rpm y en tiempos desde 8 hasta 14 minutos, como el A-PRF (Advanced) que cuenta con una mayor concentración de bioactivadores (4), que le otorga una ventaja sobre los otros materiales. Por otra parte, la variedad de protocolos hace que las comparaciones sean subjetivas y limitadas en cuanto a resultados (5).

1. Obtención de la fibrina rica en plaquetas (PRF)

Flebotomía: El proceso se inicia con la recolección de la sangre a partir de una vena periférica, se utilizan con mayor frecuencia las venas ubicadas en el área antecubital, es decir la cubital, la cefálica y en algunas ocasiones la basilica. Dicho procedimiento debe realizarse con todas las normas de bioseguridad, se inicia con la desinfección de la zona donde se va a realizar la venopunción y se requiere utilizar métodos completamente estériles, o sea tubos de recolección con tapón sin anticoagulante. Uno de los más usados es el sistema *Vacutainer*® en el que se recolecta la sangre rápidamente y en el mismo tubo se realiza el proceso de centrifugado, de tal manera que el tubo solo se destapa para retirar la fibrina una vez polimerizada.

Proceso de centrifugado: Para la obtención del PRF se debe realizar el centrifugado inmediatamente después de recolectar la sangre. Está probado que con más de 30 segundos posteriores a la flebotomía se alteran los resultados. El proceso de centrifugado se puede realizar de manera automatizada con centrifugas totalmente programables que tienen protocolos que guardan en una memoria los parámetros de tiempo y revoluciones por minuto (6); por el contrario, en el método manual hay que programar previamente los parámetros. Aunque las centrifugas de laboratorio tienen algunos estándares que deben cumplir, no todas generan los mismos resultados debido a tres factores identificados: la distancia entre el eje del rotor y los tubos, la angulación y el calibre de los contenedores para los tubos. Las diferencias en estos parámetros afectan la fuerza g (fuerzas gravitatorias generadas en el centrifugado) y con esto los resultados pueden variar de un equipo a otro.

Los estudios en los que aplican el PRF ya sea en ensayos *in vitro* o estudios clínicos, no detallan muy bien los parámetros, tan solo se limitan a informar el tiempo y las revoluciones o referenciar el protocolo de otro artículo; todos los protocolos

de centrifugado al final logran una matriz de fibrina macroscópicamente similar, pero sin tener la certeza acerca de sus componentes celulares y moleculares.

2. Protocolos de centrifugado para obtención de PRF

Se realizó una revisión de la literatura en idioma inglés y español, en las bases de datos Sciencedirect, Pubmed y Ebsco Dentistry. Fe realizada una búsqueda avanzada con los términos “Platelet rich fibrin” y “Dental”, contenidos en “Abstract, Title, Keywords”. Se descartaron aquellos que no infor-

maron textualmente el protocolo de centrifugado. Se encontraron veinticuatro artículos escritos en idioma inglés y unos pocos en francés y español que detallaron el protocolo usado. El resultado final muestra ocho protocolos con diferencias en los parámetros de tiempo, revoluciones por minuto y tamaño del tubo (Tabla 1). Los distintos protocolos han permitido hacer clasificaciones según sus parámetros, si son automatizados o manuales, por la complejidad del proceso, según los contenidos moleculares, o simplemente si es una matriz polimerizada o un fluido que permite inyectarse (7, 8).

Tabla 1. Protocolo de obtención de PRF.

	Tiempo	Centrifugado	Tubos	Referencia
L-PRF	10 m	3000 rpm	10 ml	Choukroun et al, 2001
PRF-M	15 m	1000 g	9 ml	Fibrinet®, 2006
L-PRF	10 m	2500 rpm	10 ml	Dohan et al, 2006
PRF	12 m	2700 rpm	6 ml	Rajan and Naidu, 2008
A-PRF	12 m	2700 rpm	9 ml	IntraLock®
A-PRF	14 m	1500 rpm	10 ml	Ghanaati et al, 2014
A-PRF	14 m	1300 rpm	10 ml	Taner Ch, 2014
i-PRF	2 m	3300 rpm	9 ml	Mourao et al, 2015

Al igual que el PRP, en el que la variedad de protocolos resulta en variabilidad clínica, la matriz de PRF obtenida por cada protocolo tiene una cinética variable, debido a las diferencias en la cantidad y calidad de las plaquetas en los distintos concentrados plaquetarios (9). En general, todos los concentrados liberan factores de crecimiento como PDGF, TGFβ1, VEGF, EGF, IGF, entre otros, en concentraciones variables. El PRF a diferencia del PRP tiene una liberación sostenida de factores de crecimiento hasta por un periodo de 10 días. Por otra parte, la fórmula del A-PRF tiene una liberación significativamente mayor de cantidad de factores de crecimiento que el PRF tradicional (10).

3. Usos del PRF en odontología

El PRF se viene utilizando en diferentes áreas de la odontología, en las bases de datos se encuentra un centenar de estudios realizados en los últimos años, hay reportes de casos en terapia endodóntica (11), en regeneración periodontal (8), en cirugía maxilofacial (12), tratamiento de defectos óseos (13), cirugía dentoalveolar (14) y elevación de seno maxilar (15), entre otros procedimientos quirúrgicos

Específicamente en regeneración ósea y cirugía periodontal se encontraron trials clínicos que

concluyen que el PRF aumenta el potencial de cicatrización del hueso y de los tejidos blandos (16). EL PRF junto con la técnica del colgajo desplazado coronal, mejoró el biotipo periodontal, aumentó en nivel clínico de inserción y mejoró la cicatrización de los tejidos blandos (17), evitando de esta manera el uso de un injerto de tejido conjuntivo, o el uso de aloinjertos o membranas, que si bien muestran resultados clínicos satisfactorios, son de mayor costo. También muestra buenos resultados en regeneración ósea cuando se aplica en conjunto con otros materiales o inductores regenerativos, como la hidroxiapatita (13), o el beta fosfato tricálcico βTCP (18).

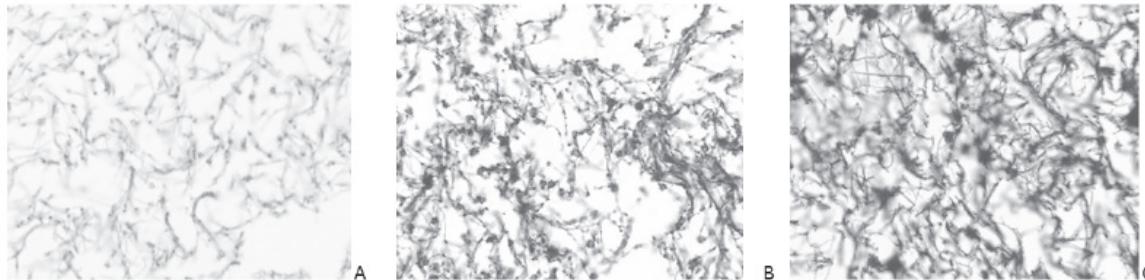
4. Conclusiones, perspectivas y limitaciones

El uso del PRF se está promoviendo cada vez más en la terapéutica odontológica con buenos beneficios a bajo costo, pero es claro que faltan más investigaciones clínicas que comprueben las bondades a largo plazo. Una limitante es el protocolo a seguir, dado que existen varias modificaciones que presentan resultados diversos. Lo cierto es que para las futuras investigaciones es importante apoyarse en las bases biológicas, en vista que existe una variedad de centrifugas y casas comerciales que promueven equipos automatizados y diferentes kits de instrumental (Figura 1).

Figura 1. Cortes microscópicos del PRF obtenido del



mismo paciente y procesado con diferentes protocolos de centrifugado. A) Matriz de fibrina poco densa con bajo contenido de plaquetas; B) matriz de fibrina densa con alto contenido de plaquetas; C) matriz de fibrina muy densa con bajo contenido de plaquetas (Tinción tricrómica de Masson, Magnificación 100x).



En cuanto a la aplicación del PRF, se recomienda a los investigadores clínicos que, antes de realizar las pruebas en pacientes, es necesario realizar la caracterización del producto, con el fin de tener puntos de comparación y conocerlo muy bien. Algunos autores tienen establecidos parámetros como el conteo plaquetario pre y post aplicación, la cuantificación leucocitaria y de algunos factores de crecimiento, pero no están establecidos como estándares de calidad.

En otros países, los concentrados plaquetarios se consideran como “medicamentos de uso humano”, por lo que se tienen en cuenta las condiciones de prescripción, las garantías de calidad, eficacia, trazabilidad, entre otras. En Colombia, los concentrados plaquetarios tienen normas establecidas de control de calidad, pero el PRF, por ser tan reciente, no se incluyó en la norma técnica vigente de uso de derivados de sangre (19). De otro lado, para la obtención de PRF es necesario realizar una flebotomía, un procedimiento que no hace parte del perfil profesional del odontólogo general en Colombia, por lo que la norma no permite realizar tal procedimiento (20), a menos que demuestre la competencia para hacerlo. A partir de esta situación se plantea la discusión de si se debe o no hacer en el consultorio dental, por eso se recomienda como primera medida conformar equipos de trabajo interdisciplinarios con personal que tengan la idoneidad, o sea profesionales en bacteriología, medicina general o enfermería superior, con el fin de evitar inconvenientes éticos y legales.

Actualmente en Colombia, se han adelantado trabajos con PRF en terapia regenerativa endodóntica en la Universidad Nacional con el profesor Henry Sossa, que por medio de estudios de casos han mostrado importantes avances. De igual for-

ma el grupo de investigación de innovación bucal de la Universidad Antonio Nariño, sede Popayán, ya ha evaluado y estandarizado diferentes protocolos. Actualmente realiza ensayos clínicos controlados y estudios moleculares en pacientes con patologías periodontales y endodónticas. Además se tiene proyectado realizar la caracterización siguiendo las normas internacionales promovidas por asociaciones científicas en ingeniería tisular. Se invita a la comunidad académica a proponer ensayos clínicos en diferentes patologías. Cualquier información al respecto puede comunicarse en el mail davigutierrez@uan.edu.co

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Vicerectoría de Investigación de la Universidad Antonio Nariño, a todos los pacientes y personal administrativo de las sedes participantes: Popayán, Villavicencio y Bogotá. De igual forma a los estudiantes de semilleros que colaboran y participan en las actividades investigativas del grupo, Isabel Lobo, Fabián Velarde, Diana Gómez, Francys Bastidas, Andrea Mora, Manuel Sabogal.

Bibliografía

1. Kesyl L, Kopczynski P, Baszczuk A, Kopczynski Z. “Methods of preparation of the platelet-rich plasma used in medicine as an accelerator of tissue regeneration”. *Pol Merkur Lekarski*. 2014; 36 (214), pp. 283-186.
2. Rodrigues, S.V.; Acharya, A.B.; Thakur, S.L. “Platelet-rich plasma. A review”. *NY State Dent J*. 2012; 78 (1), pp. 26-30.
3. Dohan, D.M.; Choukroun, J.; Diss, A.; Dohan, S.L.; Dohan, A.J.; Mouhyi, J. et al. “Platelet-rich



- fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101 (3), pp. 37-44.
4. Ghanaati, S.; Booms, P.; Orłowska, A.; Kubesch, A.; Lorenz, J.; Rutkowski, J. et al. "Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells". *J Oral Implantol.* 2014; 40 (6), pp. 679-89.
 5. Davis, V.L.; Abukabda, A.B.; Radio, N.M.; Witt-Enderby, P.A.; Clafshenkel, W.P.; Cairone, J.V. et al. "Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice". *J Oral Implantol.* 2014; 40 (4), pp. 500-510.
 6. Salgado-Peralvo, A.; Salgado-García, A.; Arriba-Fuente, L. "Nuevas tendencias en regeneración tisular: fibrina rica en plaquetas y leucocitos". *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial.* 2016.
 7. Dohan Ehrenfest, D.M.; Andia, I.; Zumstein, M.A.; Zhang, C.Q.; Pinto, N.R.; Bielecki, T. "Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives". *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014; 4 (1), pp. 3-9.
 8. Kumar, R.V.; Shubhashini, N. "Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration". *Cell Tissue Bank.* 2013; 14 (3), pp. 453-463.
 9. Magalon, J.; Bausset, O.; Serratrice, N.; Giraud, L.; Aboudou, H.; Veran, J. et al. "Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model". *Arthroscopy.* 2014; 30 (5), pp. 629-638.
 10. Kobayashi, E.; Fluckiger, L.; Fujioka-Kobayashi, M.; Sawada, K.; Sculean, A.; Schaller, B. et al. "Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF". *Clin Oral Investig.* 2016.
 11. Giraldo, T.; Sossa, H. "Endodoncia regenerativa: utilización de fibrina rica en plaquetas autóloga en dientes permanentes vitales con patología pulpar. Revisión narrativa de la literatura". *Acta Odontológica colombiana [en línea].* 2014; 4 (1), pp. 91-112.
 12. Bettega, G.; Schir, E. "Contribution of platelet concentrates to oral and maxillo-facial surgery". *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2012; 113 (4), pp. 205-211.
 13. Ranganathan, A.T.; Chandran, C.R. "Platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal bone defects". *J Contemp Dent Pract.* 2014; 15 (3), pp. 372-375.
 14. Del Corso, M.; Vervelle, A.; Simonpieri, A.; Jimbo, R.; Inchingolo, F.; Sammartino, G. et al. "Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery". *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13 (7), pp. 1207-30.
 15. Choukroun, J.; Diss, A.; Simonpieri, A.; Girard, M.O.; Schoeffler, C.; Dohan, S.L. et al. "Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101 (3), pp. 299-303.
 16. Agarwal, K.; Chandra, C.; Kumar, N. "Lateral sliding bridge flap technique along with platelet rich fibrin and guided tissue regeneration for root coverage". *J Indian Soc Periodontol.* 2013; 17 (6), pp. 801-805.
 17. Padma, R.; Shilpa, A.; Kumar, P.A.; Nagasri, M.; Kumar, C.; Sreedhar, A. "A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects". *J Indian Soc Periodontol.* 17/20/13, pp. 631-636.
 18. Yilmaz, D.; Dogan, N.; Ozkan, A.; Sencimen, M.; Ora, B.E.; Mutlu, I. "Effect of platelet rich fibrin and beta tricalcium phosphate on bone healing. A histological study in pigs". *Acta Cir Bras.* 2014; 29 (1), pp. 59-65.
 19. Herrera, A.; Ramírez, C.; Vargas, J.; Bermúdez, M.; Beltrán, M. et al. "Control de calidad de componentes sanguíneos". En: Ministerio de Protección Social, Rdc, editor. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA; 2011.
 20. Ley 1164. Disposiciones en materia de Talento Humano en Salud (2007).