

Regeneración ósea y plasma rico en plaquetas en ingeniería de tejidos: revisión

Nieto-Aguilar, R.,^{1*} Serrato-Ochoa, D;² Aguilera-Méndez, A;³ Ramírez-Valencia, M. S.;⁴ Rodríguez, E.⁵

RESUMEN

La ingeniería tisular (TE) es un campo científico multidisciplinar emergente que tiene como objetivo restaurar, mantener o mejorar las funciones de tejidos y órganos. El conocimiento de estos mecanismos ha permitido el desarrollo del tejido óseo, a partir de células osteoprogenitoras, combinado con osteoinductores y osteoconductores que permiten restaurar y mantener la formación de nuevo tejido óseo con posibilidades de sustitución y reactivación de la funcionalidad del tejido que ha perdido estructura, o bien, funcionalidad. En este sentido, el plasma rico en plaquetas ha sido empleado como un osteoinductor y promotor de la curación de las heridas en procedimientos dentales y cirugía oral, y aunado a ello es seguro y de fácil obtención. Por ello, en esta revisión se pretende exponer los avances y aplicaciones que, al día de hoy, el plasma rico en plaquetas reporta en la literatura respecto a la regeneración ósea mediante la TE.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas; diferenciación osteogénica; células troncales con plasma rico en plaquetas.

ABSTRACT

Tissue engineering (TE) is an emerging multidisciplinary scientific field that aims to restore, maintain or improve tissue and organ functions. The knowledge of these mechanisms has allowed processes to develop artificial bone tissue from osteoprogenitor cells and combined with osteoinductors and osteoconductors would in turn restore and activate new bone tissue that has lost structure or functionality. In this sense, platelet-rich plasma has been used as an osteo-inducer and promoter of wound healing in dental procedures and oral surgery which is also safe and easily obtainable. Therefore, this review aims to expose the advances and applications to date which platelet-rich plasma reports in the literature in relation with bone regeneration through TE.

Keywords: platelet-rich plasma; osteogenic differentiation; platelet-rich plasma stem cells.

1 División de Estudios de Posgrado e Investigación; Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

2 División de Estudios de Posgrado e Investigación; Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

3 Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

4 División de Estudios de Posgrado e Investigación; Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

5 Práctica privada en la especialidad de Ortodoncia. Morelia, Michoacán.

* Autor para correspondencia: Dr. Renato Nieto Aguilar; Tel. (443) 160 03 61; rnieto@umich.mx

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES EN LA APLICACIÓN DE LA INGENIERÍA TISULAR EN EL CRECIMIENTO Y REGENERACIÓN ÓSEA

La ingeniería tisular (TE) ha tenido importantes aplicaciones en la medicina regenerativa en la reconstrucción o regeneración tisular (Hagiwara, & Koh, 2020). Es una disciplina en la que se ha logrado un aumento del entendimiento sobre los procesos que promueven y regulan el crecimiento, así como la manera en que la proliferación y diferenciación celular propician la regeneración del tejido humano para restaurarlo, reconstruirlo y mejorar sus funciones (Tan, Leung, & Wu, 2020); o bien, reparar o reemplazar tejidos y órganos dañados (Chen, Cheng, & Chen, 2019).

La TE aprovecha el potencial de crecimiento y las capacidades de proliferación y diferenciación celulares que permiten la generación de tejidos en el laboratorio, así como su transporte posterior una vez generado hasta el sitio afectado (Langer, & Vacanti, 1993). En la TE se emplean: 1) Células combinadas con un andamio; y 2) Factores de crecimiento que permiten guiar el crecimiento celular (Stock, & Vacanti, 2001; Gao *et al.*, 2020). Debido a la importancia de los componentes recién citados, se explican a continuación:

CÉLULAS

Las células que emplea la TE pueden ser de origen autólogo, alogénico y xenogénico (Gray *et al.*, 2012). Las células autólogas provienen del mismo huésped sobre el cual se emplearán y, por esta razón, son las más viables, debido a que reducen el riesgo de desencadenar respuestas adversas autoinmunes al tiempo que evitan la transmisión de enfermedades (Germain *et al.*, 2002), comparadas con células alogénicas y xenogénicas en las que se han observado respuestas autoinmunes desfavorables del huésped (Zhang *et al.*, 2019).

ANDAMIOS

Un elemento esencial para la TE es la utilización de un andamio para promover el desarrollo tisular (Baudequin, & Tabrizian, 2018), porque proporciona tanto las propiedades mecánicas estructurales como las condiciones necesarias para la proliferación y diferenciación celular. Puede ser de origen natural o sintético y debe ser funcional, estructural y mecánicamente similar al del tejido que se sustituirá (He *et al.*, 2020). Las características que deben poseer los andamios orientados a la regeneración ósea incluyen: biocompatibilidad, radiolucidez, osteoconductividad, susceptibilidad a ser reabsorbidos, fácil manejo, que su esterilización sea posible y que tengan un tamaño de poro que oscile entre 200-900 μm (Logeart-Avramoglou, 2005; Griffin *et al.*, 2018).

El aspecto referente a la susceptibilidad a ser reabsorbidos involucra la biodegradabilidad, pues este atributo le permitirá al andamio disolverse en los tejidos circundantes una vez terminada su función. De esta manera, el constructo es acogido en el seno del tejido en tratamiento (Gao *et al.*, 2020).

FACTORES DE CRECIMIENTO

Facilitan el crecimiento tisular *in vitro* y su reparación *in vivo* y *ex vivo*. Un factor de crecimiento es un señalador biomolecular que se une a receptores específicos sobre la misma célula, que estimula a su vez la secreción de diversos factores en cascada, lo que inicia una serie de eventos como proliferación celular, diferenciación, maduración, producción de otros factores de crecimiento y matriz extracelular, que resulta en la producción de tejidos específicos (Biswas, & Jiang, 2016).

Los factores de crecimiento pueden ser empleados en el área odontológica; por ejemplo, para realizar un aumento alveolar óseo previo a la colocación de un implante o la rehabilitación protésica ante la pérdida ósea por periodontitis, quistes, tumores, traumas y malformaciones congénitas (Jazayeri *et al.*, 2019).

En este contexto, un componente rico en diversos factores de crecimiento de origen natural

utilizado con frecuencia en el área de la cirugía dental y maxilofacial es el plasma rico en plaquetas. Este componente sanguíneo ha sido reportado como coctel rico en señalizadores en la promoción del crecimiento y proliferación celular; sin embargo, dicha excelencia también ha sido cuestionada a diferentes niveles de acción, por lo que en esta revisión se expone el estado actual en cuestión comenzando por la definición de sus componentes.

PLASMA RICO EN PLAQUETAS DE FORMA GENERAL

La sangre es un tejido conjuntivo especializado que tiene un pH aproximado de 7.4. Es de consistencia viscosa y está compuesto por proteínas del plasma, células y plaquetas. El plasma es un líquido amarillento que contiene agua, proteínas, factores de coagulación y fibrinógeno (Aceves-Huerta *et al.*, 2019).

La composición celular se constituye de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Los eritrocitos proporcionan oxígeno a las células del cuerpo; los leucocitos previenen de infecciones al cuerpo humano; y las plaquetas son células sanguíneas anucleadas, grandes, producidas por fragmentos derivados del citoplasma de megacariocitos (Torricelli *et al.*, 2014; Garraud, & Tissot, 2016). Las plaquetas están constituidas por una membrana y el citoplasma. La membrana consiste en una bicapa de fosfolípidos. Por su parte, en el citoplasma existen dos tipos de gránulos secretores: el primero se trata de gránulos densos que secretan ADP y calcio, mientras que el segundo tipo se refiere a los gránulos α que secretan proteínas; su número normal es de 150 000 a 350 000/ μ L.

Las plaquetas sobreviven diez días, aproximadamente. Estas contienen actina y miosina, las cuales desempeñan un rol importante durante la hemostasia y participan en la formación de nuevo tejido conectivo y en la revascularización (Blockmans, Deckmyn, & Vermylen, 1995). Miden 3 μ m de diámetro y 1 micrómetro de espesor, aproximadamente. Tienen normalmente una forma de disco, la cual cambia a un aspecto aplanado al activarse sus prolongaciones dendríticas.

OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS

Al extraer sangre y transportarla a un tubo de ensayo, se coagula, a excepción de que contenga un anticoagulante. Al someter la sangre a fuerzas centrífugas a un determinado tiempo y a una pequeña porción de leucocitos por diferencias de densidades y la influencia gravitatoria, se sedimentan las partículas cuya densidad es mayor, por lo que flotan aquellas que presentan densidades menores. De esta manera, la sangre se separa en sus componentes principales, es decir, elementos formes o células, que se sedimentan hasta el fondo y presentan una capa transparente que corresponde a la de leucocitos, mientras el plasma sobrenada en la parte superior. Una vez que el plasma se ha colocado en un tubo puede ser dividido en tres tercios: 1) tercio superior, que contiene en mayor proporción plaquetas y plasma; 2) tercio medio, que presenta leucocitos apenas perceptibles; y 3) tercio inferior, que corresponde a una aglomeración de glóbulos rojos con cantidades de leucocitos y plaquetas (Torricelli *et al.*, 2014; Aceves-Huerta *et al.*, 2019).

La recolección del plasma rico en plaquetas puede llevarse a cabo mediante bolsas de sangre, kits desechables y tubos. Por medio de bolsa, se extrae una cantidad de sangre para separar el plasma rico en plaquetas y se activa con cloruro de calcio para su empleo. Mediante los kits desechables es posible separar el plasma rico en plaquetas de manera automatizada. Por otro lado, puede realizarse mediante tubos de vidrio o plástico al vacío que permiten la extracción sencilla de una cantidad de sangre (Torricelli *et al.*, 2014; Aceves-Huerta *et al.*, 2019).

FACTORES DE CRECIMIENTO PLAQUETARIOS

Las plaquetas son células que se derivan del citoplasma de megacariocitos y están formadas por organelos, túbulos y gránulos. Tienen la capacidad de producir factores de crecimiento (Vinícius, & Moraes, 2014). Los factores de crecimiento son sustancias proteicas producidas y liberadas por las

plaquetas en la matriz ósea, las cuales desempeñan un papel importante durante los procesos de osteogénesis y remodelado óseo, principalmente. Son mediadores biológicos que incrementan la atracción química, así como la proliferación y diferenciación celular regulando los eventos esenciales celulares (Gonchar *et al.*, 2017).

El empleo del plasma rico en plaquetas ha sido ampliamente difundido, debido a que se ha observado que su utilización podría estimular la formación ósea en el proceso de curación en áreas como la ortopedia, odontología, neurocirugía y cirugía maxilofacial con resultados satisfactorios (Jazayeri *et al.*, 2019).

PROCESOS PLAQUETARIOS INTRÍNSECOS DERIVATIVOS A LA REGENERACIÓN Y REVASCULARIZACIÓN ÓSEA EN ODONTOLOGÍA

Respecto al área de la cirugía oral, el empleo del plasma rico en plaquetas fue descrito por Whitman, Berry y Green (1997), y un año más tarde por Marx *et al.* (1998) en donde los factores de crecimiento contenidos en las plaquetas han sido reportados como determinantes para el éxito de la regeneración ósea.

Por su parte, Camargo *et al.*, (2002) realizaron un estudio para corregir defectos óseos causados por periodontitis severa. El empleo de una membrana absorbible de ácido poliláctico para la regeneración tisular guiada, así como de plasma rico en plaquetas y mineral óseo poroso bovino para promover una regeneración tisular guiada evidenció una disminución significativa del defecto óseo.

Plachokova y colaboradores (2009) destacan la capacidad de regeneración ósea del plasma rico en plaquetas combinado con injerto óseo cuando observaron incrementos en la formación de hueso, debido a los efectos osteogénicos del plasma rico en plaquetas (Plachokova *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2018).

Reportes obtenidos por Zizzari *et al.* (2016) concluyen que no existe diferencia de beneficio entre el empleo de hueso autólogo y hueso xenogénico una vez combinado con plasma rico en plaquetas.

Jazayeri *et al.* (2019) recomendaron combinar el plasma rico en plaquetas con biomateriales, autoinjertos, células precursoras o factores de crecimiento que sean capaces de generar osteoinducción, ya que coadyuva eficientemente en la regeneración de defectos de tamaño crítico cuyo potencial de regeneración sea bajo.

Fennis y colaboradores (2002) mostraron la reparación ósea en cabras al utilizar plasma rico en plaquetas mezclado con partículas de injerto óseo para la reconstrucción mandibular (Fennis *et al.*, 2002; Xiang *et al.*, 2019).

Por otro lado, algunos reportes en la literatura exponen la ineficacia del plasma rico en plaquetas en la regeneración de tejido óseo. Un estudio realizado en perros por Choi (2004) en el que se mezcló el plasma rico en plaquetas con hueso autógeno concluyó que esto no mejoró la formación de nuevo hueso (Choi, 2004; Ramaswamy *et al.*, 2018).

Por su parte, Arenaz-Búa *et al.* (2010) y Al-Hamed *et al.* (2017) llevaron a cabo un estudio comparativo del plasma rico en plaquetas, hidroxapatita, matriz ósea desmineralizada y hueso autógeno con la finalidad de promover la regeneración ósea después de la extracción de un tercer molar mandibular impactado. Adicionalmente, compararon los síntomas posoperatorios. Derivado de sus estudios, observaron una mayor aceleración en la formación ósea en el grupo que empleó hueso autólogo y matriz ósea desmineralizada; no obstante, no encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al dolor, inflamación e infección a lo largo del periodo posoperatorio.

Taschieri y colaboradores estudiaron el efecto del plasma rico en plaquetas solo y combinado en seres humanos y no encontraron diferencias significativas en los dos grupos.

DISCUSIÓN

El empleo del plasma rico en plaquetas ha sido estudiado en varios centros en el mundo con resultados encontrados en cuanto a la eficacia en la osteogénesis, revascularización y neoformación de componentes extracelulares. En esta revisión se encontraron varios grupos de investigadores

(Choi, 2004; Arenaz-Búa *et al.*, 2010; Griffin *et al.*, 2009; Al-Hamed *et al.*, 2017; Ramaswamy *et al.*, 2018) que rechazan el empleo del plasma rico en plaquetas para los fines a los que se ha hecho alusión en este trabajo. Sus fundamentos se deben a que en sus estudios no obtuvieron resultados significativos que justifiquen su utilización en casos donde se requiera implementar este concentrado autólogo para producir la regeneración ósea.

Debido a las controversias generadas en torno al tema del empleo del plasma rico en plaquetas en la reparación de los tejidos y la regeneración del tejido óseo, especialmente, Griffin *et al.* (2009) sugieren, de manera concluyente, realizar estudios clínicos aleatorizados más robustos en seres humanos para comprobar la efectividad de su empleo, ya que no encontraron hallazgos suficientes para apoyar el uso rutinario del plasma rico en plaquetas en la regeneración del hueso.

Asimismo, Vílchez-Cavazos *et al.* (2019) llevaron a cabo una revisión en donde comentan que la seguridad que proporciona al huésped, así como la facilidad con la que se emplean estos preparados podrían ser empleados en los procedimientos quirúrgicos. Sin embargo, opinan sobre este tema con mesura al considerar que la efectividad del plasma rico en plaquetas sigue siendo controversial, debido a la escasez de pruebas controladas aleatorizadas que apoyen los beneficios que se han difundido.

En este contexto, en este trabajo se ha demostrado la importancia de las plaquetas, tanto en el proceso de la hemostasia como en la regeneración ósea, debido a la capacidad osteoinductiva de los factores de crecimiento que contienen. El plasma rico en plaquetas es considerado por algunos autores como un preparado muy prometedor y elegible ante diversos procedimientos que involucran la regeneración ósea, ya que al tratarse de un concentrado autólogo no se transmiten enfermedades ni se genera una respuesta inmune; aunado a ello, su obtención es simple y rápida, lo que se traduce en alivios acelerados en injertos óseos y de bajo costo (Afat, Akdoğan, & Gönül, 2019).

CONCLUSIONES

Las virtudes del plasma rico en plaquetas encontradas por diversos autores han sido obtenidas debido a las investigaciones realizadas en mayor proporción *in vitro* y *ex vivo*, y en una menor escala en estudios experimentados en seres humanos mediante técnicas de TE. Hasta la fecha existe controversia sobre el empleo del plasma rico en plaquetas y carencia de unanimidad en los criterios de selección sobre la técnica que se empleará para la obtención, preparación y aplicación que permita estandarizar dichos procesos. Se concluye de esta revisión que existen mayores investigadores que demuestran una aceleración de la regeneración ósea (55.6 %) con el empleo del plasma rico en plaquetas en relación con aquellos que no justifican su uso, al no encontrar un aumento de este proceso en sus estudios (44.4 %).

REFERENCIAS

- Aceves-Huerta, A., Arias-Fernández, T., Bernardo, Á., Muñoz-Turrillas, M. C., Fernández-Fuertes, J., Seghatchian, J., & Gutiérrez, L. (2019). Platelet-derived Bio-products: Classification Update, Applications, Concerns and New Perspectives. *Transfus. Apher Sci.*, 31. <https://doi.org/10.1016>.
- Afat, I. M., Akdoğan, E. T., & Gönül, O. (2018). Effects of Leukocyte and Platelet-rich Fibrin Alone and Combined with Hyaluronic Acid on Early Soft Tissue Healing after Surgical Extraction of Impacted Mandibular Third Molars: A Prospective Clinical Study. *J. Craniomaxil. Surg.*, 47(2), 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.11.023>.
- Al-Hamed, F. S., Tawfik, M. A., Abdelfadil, E., & Al-Saleh, M. A. Q. (2017). Efficacy of Platelet-rich Fibrin after Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Oral Maxil. Surg.*, 75(6), 1124-1135. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2017.01.022>.
- Arenaz-Búa, J., Luaces-Rey, R., Sironvalle-Soliva, S., Otero-Rico, A., Charro-Huerga, E., Patiño-Seijas, B., García-Rozado, A., Ferreras-Grana-

- dos, J., Vázquez-Mahía, I., Lorenzo-Franco, F., Martín-Sastre, R., & López-Cedrún, J. L. (2010). A Comparative Study of Platelet-rich Plasma, Hydroxyapatite, Demineralized Bone Matrix and Autologous Bone to Promote Bone Regeneration after Mandibular Impacted Third Molar Extraction. *Med. Oral, Patol. Oral, Cir. Bucal*, *15*(3), e483-e489.
- Baudequin, T., & Tabrizian, M. (2018). Multilayer Constructs for Scaffold-based Tissue Engineering: A Review of Tissue-specific Challenges. *Adv. Health Mater.*, *7*(3). <https://doi.org/10.1002/adhm.201700734>.
- Biswas, D., & Jiang, P. (2016). Chemically Induced Reprogramming of Somatic Cells to Pluripotent Stem Cells and Neural Cells. *Int. J. Mol. Sci.*, *17*(2), 226. <https://doi.org/10.3390/ijms17020226>.
- Blockmans, D., Deckmyn, H., & Vermylen, J. (1995). Platelet Activation. *Blood Rev.*, *9*(3), 143-156.
- Camargo, P., Lekovic, V., Weinlaender, M., Vasilic, N., Madzarevic, M., & Kenney, E. B. (2002). Platelet-rich Plasma and Bovine Porous Bone Mineral combined with Guided Tissue Regeneration in the Treatment of Intrabony Defects in Humans. *J. Periodont. Res.*, *37*(4), 300-306.
- Chen, G., Cheng, D., & Chen, B. (2019). Development of CRISPR Technology and its Application in Bone and Cartilage Tissue Engineering. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, *39*(12), 1515-1520. <https://doi.org/10.12122/j.issn.1673-4254.2019.12.19>.
- Choi, B. (2004). Effect of Platelet-rich Plasma on Bone Regeneration in Autogenous Bone Graft. *Int. J. Oral Maxil. Surg.*, *33*, 56-59.
- Fennis, J. (2002). Mandibular Reconstruction: A Clinical and Radiographic Animal Study on the Use of Autogenous Scaffolds and Platelet-rich Plasma. *Int. J. Oral Maxil. Surg.*, *31*, 281-286. <https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0151>.
- Gao, Y., Zong, S., Huang, Y., Yang, N., Wen, H., Jiang, J., & Duan, J. (2020). Preparation and Properties of a Highly Elastic Galactomannan-poly (Acrylamide- N, N-bis [Acryloyl] Cysteamine) Hydrogel with Reductive Stimuli-responsive Degradable Properties. *Carbohydr. Polym.*, *231*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115690>.
- Garraud, O., & Tissot, J. D. Blood Components: Are They Drugs or Special Medicines? (2016). *Transfus. Clin. Biol.*, *23*(3), 127-131. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2016.06.001>.
- Germain, L., Goulet, F., Moulin, V., Berthod, F., & Auger, F. A. (2002). Engineering Human Tissues for *In Vivo* Applications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, *961*, 268-270.
- Gonchar, I. V., Lipunov, A. R., Afanasov, I. M., Larina, V., Faller, A. P., & Kibardin, A. V. (2017). Platelet-rich Plasma and Growth Factors Cocktails for Diabetic Foot Ulcers Treatment: State of Art Developments and Future Prospects. *Diabetes Metab. Syndr.*, *12*(2), 189-194. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2017.09.007>.
- Gray, F. L., Turner, C. G., Ahmed, A., Calvert, C. E., Zurakowski, D., & Fauza, D. O. (2012). Prenatal Tracheal Reconstruction with a Hybrid Amniotic Mesenchymal Stem Cells-engineered Construct derived from Decellularized Airway. *J. Pediatr. Surg.*, *47*(6), 1072-1079. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2012.03.006>.
- Griffin, M., Naderi, N., Kalaskar, D. M., Malins, E., Becer, R., Thornton, C. A., Whitaker, I. S., Mosahebi, A., Butler, P. E. M., & Seifalian, A. M. (2018). Evaluation of Sterilisation Techniques for Regenerative Medicine Scaffolds Fabricated with Polyurethane Nonbiodegradable and Bioabsorbable Nanocomposite Materials. *Int. J. Biomater.*, *3*. <https://doi.org/10.1155/2018/6565783>.
- Hagiwara, M., & Koh, I. (2020). Engineering Approaches to Control and Design the *In Vitro* Environment towards the Reconstruction of Organs. *Dev. Growth Differ* (en prensa). <https://doi.org/10.1111/dgd.12647>.
- He, J., Chen, G., Liu, M., Xu, Z., Chen, H., Yang, L., & Lv, Y. (2020). Scaffold Strategies for Modulating Immune Microenvironment during Bone Regeneration. *Mater. Sci. Eng. C. Mater.*

- Biol. Appl.*, 108. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110411>.
- Jazayeri, H. E., Lee, S. M., Kuhn, L., Fahimipour, F., Tahiri, M., & Tayebi, L. (2019). Polymeric Scaffolds for Dental Pulp Tissue Engineering: A Review. *Dent. Mater.* <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.11.005>.
- Langer, R., & Vacanti, J. P. (1993). Tissue Engineering. *Science*, 260(5110), 920-926.
- Logeart-Avramoglou, D. (2005). Engineering Bone: Challenges and Obstacles. *J. Cell. Mol. Med.*, 9(1), 72-84.
- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich Plasma: Growth Factor Enhancement for Bone Grafts. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol., Endodont.*, 85(6), 638-646.
- Plachokova, A. (2009). Bone Regenerative Properties of Rat, Goat and Human Platelet-rich Plasma. *Int. J. Oral Maxil. Surg.*, 38, 861-869. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2009.04.009>.
- Ramaswamy Reddy, S. H., Reddy, R., Babu, N. C., & Ashok, G. N. (2018). Stem-cell Therapy and Platelet-rich plasma in Regenerative Medicines: A Review on Pros and Cons of the Technologies. *J. Oral Maxil. Pathol.*, 22(3), 367-374. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_93_18.
- Stock, U. A., & Vacanti, J. P. (2001). Tissue Engineering: Current State and Prospects. *An. Rev. Med.*, 52, 443-451.
- Tan, S. Y., Leung, Z., & Wu, A. R. (2020). Recreating Physiological Environments *In Vitro*: Design Rules for Microfluidic-Based Vascularized Tissue Constructs. *Small* (en prensa). <https://doi.org/10.1002/sml.201905055>.
- Toricelli, P., Fini, M., Filardo, G., Tschon, M., Pischedda, M., Pacorini, A., Kon, E., & Giardino, R. (2011). Regenerative Medicine for the Treatment of Musculoskeletal Overuse Injuries in Competition Horses. *Int. Orthop.*, 35(10), 1569-1576. <https://doi.org/10.1007/s00264-011-1237-3>.
- Vílchez-Cavazos, F., Millán-Alanís, J. M., Blázquez-Saldaña, J., Álvarez-Villalobos, N., Peña-Martínez, V. M., Acosta-Olivo, C. A., & Simental-Mendía, M. (2019). Comparison of the Clinical Effectiveness of Single versus Multiple Injections of Platelet-rich Plasma in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Orthop. J. Sports Med.*, 7(12). <https://doi.org/10.1177/2325967119887116>.
- Vinícius, & Moraes (2014). Platelet-rich Therapies for Musculoskeletal Soft Tissue Injuries. *Cochrane Data. System. Rev.*, 1.
- Wang, X., Zhang, Y., Choukroun, J., Ghanaati, S., & Miron, R. J. (2018). Effects of an Injectable Platelet-rich Fibrin on Osteoblast Behavior and Bone Tissue Formation in Comparison to Platelet-rich Plasma. *Platelets*, 29(1), 48-55. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1293807>.
- Whitman, D. H., Berry, R. L., & Green, D. M. (1997). Platelet Gel: An Autologous Alternative to Fibrin Glue with Applications in Oral and Maxillofacial Surgery. *J. Oral Maxil. Surg.*, 55(11), 1294-1299.
- Xiang, X., Shi, P., Zhang, P., Shen, J., & Kang, J. (2019). Impact of Platelet-rich Fibrin on Mandibular Third Molar Surgery Recovery: A Systematic Review and Meta-analysis. *BMC Oral Health*, 19(1), 163. <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0824-3>.
- Zhang, J., Ding, H., Liu, X., Sheng, Y., Liu, X., & Jiang, C. (2019). Dental Follicle Stem Cells: Tissue Engineering and Immunomodulation. *Stem Cells Dev.*, 28(15), 986-994. <https://doi.org/10.1089/scd.2019.0012>.
- Zizzari, V. L., Zara, S., Tetè, G., Vinci, R., Gherlone, E., & Cataldi, A. (2016). Biologic and Clinical Aspects of Integration of Different Bone Substitutes in Oral Surgery: A Literature Review. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol.*, 4, 392-402. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2016.04.010>.