

Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos en el tratamiento de defectos intra-óseos: Revisión Narrativa

Leucocyte and Platelet Rich Fibrin in the treatment of intra-bony defects. Narrative Review

Magdalena Mayol^{1*}, Ernesto Andrade¹, Belén Retamal-Valdes², Luis Bueno¹, Ronaldo Iurovski³

1. Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de la República (UdelaR), Uruguay.

2. Departamento de Periodoncia, División de Investigación Odontológica, Universidade Guarulhos (UNG), Brasil.

3. Curso de Especialización en Implantología, Universidade Guarulhos (UNG), Brasil.

* Correspondencia autor: Magdalena Mayol
José Ellauri 809 apto 601 | Teléfono 00 (598)
99181707 | Email: magdalenamayol@odon.edu.uy
Trabajo recibido el 22/05/2017. Aprobado para su publicación el 10/09/2017

RESUMEN

Diferentes técnicas quirúrgicas periodontales han surgido a lo largo del tiempo con el objetivo de lograr una regeneración periodontal y mejorar su predictibilidad. La Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (L-PRF) se ha posicionado como una alternativa para cumplir este objetivo, debido a que no requiere anticoagulantes en su preparación y muestra liberación sostenida de factores de crecimiento durante por lo menos 7 días. El objetivo de esta revisión narrativa es describir la evidencia disponible sobre el uso de L-PRF en defectos intra-óseos. Se realizó una búsqueda en las bases de datos MEDLINE y Cochrane Library, exploración manual y páginas web. De un total de 494 artículos recuperados, fueron seleccionados 12 publicaciones para esta revisión. Los resultados sugieren que L-PRF muestra beneficios al ser utilizada en el tratamiento periodontal regenerativo de defectos intra-óseos. Sin embargo, son necesarios ensayos clínicos con diseño metodológico estandarizado que permitan comparar L-PRF con biomateriales habitualmente empleados en el tratamiento de estos defectos.

PALABRAS CLAVES

Regeneración periodontal, Defecto intra-óseo, Fibrina rica en plaquetas y Leucocitos.

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 11(1); 54-57, 2018.

ABSTRACT

Periodontal surgical techniques have emerged over time with the aim of achieving periodontal regeneration and improving its predictability. Leucocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) has been proposed as an alternative, for not requiring anticoagulants in its preparation and for performing sustained release of growth factors for at least 7 days. The aim of this narrative review is to describe the available evidence on the use of L-PRF in periodontal intra-bony defects. An electronic and hand search was conducted in MEDLINE and Cochrane Library databases. Of 494 papers retrieved, 12 were selected for this review. The results suggest that even if L-PRF shows benefits when used in regenerative periodontal treatment of intra-bony defects, clinical trials with standardized methodological design are necessary to compare L-PRF with biomaterials usually used in these defects.

KEYWORDS

Periodontal regeneration, Intra-bony defect, Leucocyte and Platelet-rich fibrin.

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 11(1); 54-57, 2018.

INTRODUCCIÓN

La regeneración es la reproducción o reconstitución de una parte perdida o injuriada de manera similar o idéntica a su forma original. En el caso de los tejidos periodontales, se refiere a la formación de nuevo hueso, cemento y ligamento periodontal orientado funcionalmente en un sitio donde se haya perdido el aparato de inserción⁽¹⁾. Diferentes técnicas quirúrgicas periodontales han surgido a lo largo del tiempo con el objetivo de lograr regeneración periodontal y mejorar su predictibilidad. Para esto se ha propuesto la utilización de diferentes tipos de injertos óseos, la desmineralización de la superficie radicular, la regeneración tisular guiada, el empleo de factores de crecimiento y proteínas de la matriz del esmalte o una combinación de biomateriales⁽²⁾.

La Fibrina Rica en Plaquetas (PRF: Platelet Rich Fibrin) surgió en Francia en 2001⁽³⁾ como una segunda generación de concentrados

plaquetarios con ciertas ventajas sobre el Plasma Rico en Plaquetas (PRP)^(4,5). Este biomaterial no requiere anticoagulantes en su preparación y muestra liberación sostenida de factores de crecimiento durante por lo menos 7 días^(6,7). La PRF contiene una matriz de fibrina con una gran cantidad de plaquetas y leucocitos, elementos clave que actúan en forma sinérgica promoviendo la cicatrización y la regeneración tisular⁽⁸⁾. Actualmente el acrónimo más adecuado es el de L-PRF por su abundante contenido de leucocitos⁽⁵⁾.

La información disponible sobre el uso de L-PRF para el tratamiento regenerativo periodontal ha aumentado significativamente en el último tiempo. Shah y col. (2014) publicaron la primera revisión sistemática con meta-análisis valorando el efecto de L-PRF en el tratamiento de defectos intra-óseos al compararlo con el Colgajo Periodontal de Acceso (CPA) sin el agregado de biomaterial. Los investigadores demostraron que

existen resultados superiores para el uso de L-PRF, presentando mayor reducción del Defecto Intra-Óseo (DIO) observado radiográficamente, mayor ganancia en el Nivel de Inserción Clínic (NIC) y mayor reducción en la Profundidad de Sondaje (PS). Estas diferencias fueron de 2,33mm, 0,95mm y 1,1mm respectivamente⁽⁹⁾. Panda y col. (2016) también observaron un beneficio en la ganancia del NIC, con una diferencia de 1,4 mm a favor de L-PRF vs. CPA,⁽¹⁰⁾ así como Castro y col. (2017) encontraron resultados semejantes a los hallados por Shah y col. (2014) para la reducción de la PS y la ganancia del NIC aunque asociado a una reducción del DIO de 1,65mm⁽¹¹⁾.

La vasta información sobre el uso del L-PRF puede conducir a la falta de criterios de calidad objetivos que ayuden al clínico general o especialista en la toma de decisiones clínicas. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión narrativa de la literatura es describir la evidencia disponible sobre la utilización de L-PRF en defectos intra-óseos periodontales, en términos de su estructura, mecanismo de acción y desempeño clínico como biomaterial.

METODOLOGÍA

Pregunta de investigación

Para realizar esta revisión narrativa de la literatura, los investigadores generaron las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Qué resultados clínicos y radiográficos se obtienen al utilizar L-PRF para el tratamiento de defectos intra-óseos de dos y tres paredes?
- En pacientes tratados por Periodontitis y que requieran terapia quirúrgica periodontal, ¿es L-PRF un biomaterial capaz de promover la regeneración de defectos intra-óseos de dos y tres paredes, proporcionando un beneficio adicional al tratamiento mediante CPA solamente?
- ¿Existen diferencias clínicas y radiográficas al comparar L-PRF con proteínas derivadas de la matriz del esmalte (EMD) para el tratamiento de defectos intra-óseos de dos y tres paredes?
- ¿Qué resultados clínicos y radiográficos se obtienen al comparar L-PRF combinado con un osteoconductor y EMD combinado con el mismo osteoconductor para el tratamiento de defectos intra-óseos de dos y tres paredes?

Criterios de inclusión

Fueron seleccionadas publicaciones que cumplieran los siguientes criterios de inclusión:

- estudios clínicos aleatorizados (ECA) controlados realizados en individuos sistemáticamente sanos, no fumadores, con diagnóstico de Periodontitis Crónica o Agresiva (AAP 1999)^(12,13), que hayan recibido tratamiento quirúrgico periodontal de defectos intra-óseos de dos y/o tres paredes, con profundidad de 3mm o más medido en la radiografía, asociados a una profundidad de sondaje de 5mm o más.
- estudios que comparen la aplicación de L-PRF (solo o en combinación con otros biomateriales) vs. diferentes procedimientos quirúrgicos (CPA solo o combinado con diversos biomateriales). En los casos de diseños metodológicos con más de dos brazos de tratamiento, dentro de los cuales uno de ellos fuera el CPA, este fue considerado como control.
- Estudios con un periodo de seguimiento de al menos seis meses luego del procedimiento regenerativo.

Estrategia de Búsqueda

Las bases de datos de MEDLINE (a través de PubMed) y Cochrane Library fueron consultadas en marzo de 2017 por 2 revisores independientes (EA y MM). La estrategia de búsqueda incluyó las siguientes palabras claves: "Platelet Rich Fibrin" AND "Periodont*", "Platelet Rich Fibrin" AND "Periodontal Regeneration", "Platelet Rich Fibrin" AND "Periodontitis", "Platelet Rich Fibrin" AND "Periodontal Disease", "Platelet Rich Fibrin" AND "Infrabony defect". Como complemento se revisó manualmente las referencias bibliográficas de cada artículo recuperado a los efectos de incluir estudios que hayan quedado por fuera de la estrategia previamente definida. A su vez fueron utilizados como fuente de referencias las revisiones sistemáticas sobre el tema publicadas hasta el momento. Se consultó el sitio web "Researchgate.net" sobre el tema: "Platelet Rich Fibrin AND Periodontitis". Se accedió a la plataforma SciELO.org con la siguiente terminología: "Platelet Rich Fibrin" AND "periodontitis".

Los estudios fueron seleccionados por dos investigadores (EA y MM) de forma independiente. Luego de eliminar los duplicados, fueron examinados los títulos y los resúmenes. De surgir dudas, se procedió a la lectura del artículo completo. Cualquier desacuerdo fue resuelto a través de la discusión científica de los participantes hasta alcanzar un consenso. Cuando persistió el desacuerdo, se consultó a otro investigador para lograr el consenso (LB).

Fueron consideradas y obtenidas las siguientes variables de

desenlace o resultado: ganancia en el NIC, reducción en la PS y reducción del DIO medido en la radiografía (o micro-tomografía) de dos maneras: en profundidad desde el límite más apical del defecto hasta la cresta alveolar y en el porcentaje de relleno alcanzado. La mayoría de los estudios incluidos utilizaron radiografías periapicales, por lo que teniendo en cuenta sus limitaciones, fue considerado utilizar microtomografías computadas para una evaluación en tres dimensiones.

RESULTADOS

Un total de 494 artículos fueron encontrados en la búsqueda. De acuerdo con la base de datos consultada, la distribución de los estudios fue la siguiente: MEDLINE/PUBMED – 357, COCHRANE – 42, búsqueda manual – 70, Researchgate.net – 25. Para el análisis cualitativo, 12 artículos fueron incluidos.

Estudios que evalúan tratamiento de defectos intra-óseos utilizando L-PRF

1) L-PRF + DFDBA vs DFDBA: Al DFDBA (aloinjerto óseo desmineralizado deshidratado congelado) se le reconocen propiedades osteoinductoras (a partir de la presencia de proteínas morfogenéticas óseas) así como osteoconductoras. Agarwal y col. 2016, evaluaron ambos biomateriales buscando un efecto regenerativo sinérgico en defectos de 2 y 3 paredes. Cuando se combinó L-PRF con DFDBA, se observaron resultados superiores en comparación con el tratamiento utilizando solamente DFDBA, tanto para la reducción de la PS, la ganancia en el NIC y en el DIO (medido en sus 2 formas). La diferencia en la ganancia del NIC así como en la reducción del DIO fue alrededor de 1mm⁽¹⁴⁾.

2) L-PRF + RTG vs. RTG: El tratamiento por medio de membranas reabsorbibles de colágeno (Periocol-GTR; Eucare Pharmaceuticals, Chennai, India) fue evaluado junto al uso concomitante de L-PRF. A partir de lo observado por Panda y col. (2016) se constató una mejoría en todos los indicadores evaluados (clínicos y radiográficos) del grupo test, L-PRF + RTG vs. RTG sola. En el caso de la reducción del DIO, la diferencia alcanzó 1,3mm entre ambos grupos, lográndose además un porcentaje de relleno ampliamente superior con L-PRF + RTG⁽¹⁵⁾.

3) L-PRF vs. Hueso Autólogo: No se registraron diferencias estadísticamente significativas para la reducción de la PS, la ganancia del NIC, o la reducción del DIO⁽¹⁶⁾.

4) L-PRF vs. proteínas derivadas de la matriz del esmalte (EMD): Al comparar los productos durante un período de seis meses, se observa que EMD fue solamente superior a L-PRF cuando se consideró el porcentaje de relleno del defecto intra-óseo (43% vs. 32%). No existió diferencia significativa para ninguna otra variable.⁽¹⁷⁾

5) L-PRF vs. Colgajo de Acceso Periodontal (CPA)
Estudios con dos brazos de comparación: Grupo Test – L-PRF vs. Grupo Control - CPA

Tres estudios evaluaron el efecto de L-PRF en defectos intra-óseos. Un solo estudio trató defectos de 3 paredes⁽¹⁸⁾ mientras que los otros 2 abordaron defectos de 2 y 3 paredes conjuntamente^(19, 20). En el trabajo de Thorat y col. (2011), casi el 70% de los sitios correspondieron a 3 paredes⁽²⁰⁾.

En aquellos casos donde se hallaron diferencias significativas, la reducción de PS entre el tratamiento con L-PRF y el tratamiento mediante CPA solo fue de 1,0 mm aproximadamente, mientras que en la ganancia del NIC la misma fue de 0,6mm en el estudio de Sharma y col. (2011) y de 2,0mm en el de Thorat y col. (2011)^(18, 20).

La aplicación de L-PRF en defectos intra-óseos permitió la reducción del DIO tanto en profundidad con valores entre 2,6mm y 2,1mm como en porcentaje de relleno, alcanzando casi el 50%^(18, 20).

Estudios con hasta 4 brazos de comparación: Grupo Test L-PRF y L-PRF + Biomateriales vs. Grupo Control – CPA

A partir de 2015, se han publicado un conjunto de trabajos con el objetivo de aumentar el potencial regenerador de L-PRF al adicionarle otros biomateriales. Entre ellos: Alendronato (ALD)⁽²¹⁾, Atorvastatina (ATV)⁽²²⁾, Metformina (MET)⁽²³⁾ y Rosuvastatina (RSV)⁽²⁴⁾, todos con 9 meses de seguimiento.

Defectos de 3 paredes: Al comparar las diferentes modalidades propuestas con el CPA se observó superioridad en la reducción de PS, la ganancia en el NIC y la reducción de DIO. Además, se analizan las diferencias que existen entre L-PRF + Biomateriales vs. L-PRF solo para los parámetros clínicos y radiográficos.

Reducción de PS y Ganancia de NIC: Fue superior el rendimiento de la asociación L-PRF + ALD vs. L-PRF sola⁽²¹⁾, aconteciendo lo mismo cuando se evaluó la combinación de L-PRF con RSV⁽²⁴⁾. Esta superioridad se aproxima al milímetro. Sin embargo, para Martand y col. (2016) usando ATV y Pradeep (2015) usando MET, no existieron diferencias

significativas al asociar estos fármacos con L-PRF con respecto a L-PRF en forma individual^(22, 23).

Disminución de la profundidad y del porcentaje de relleno del defecto: En este caso, la adición de un biomaterial a L-PRF permitió siempre alcanzar valores superiores cuando se la compara con la monoterapia. Esto fue válido tanto para el agregado de MET⁽²³⁾, ALD⁽²¹⁾ y ATV⁽²²⁾. Si bien en todos los casos las diferencias fueron estadísticamente significativas, la diferencia real es de 0,1mm a 0,4mm.

Defectos de 2 y 3 paredes: Pradeep y col. (2016) evaluaron la posibilidad de utilizar RSV como agente sinérgico a L-PRF, observando mejoras significantes en todos los parámetros clínicos y radiográficos considerados pero que no superan el milímetro⁽²⁴⁾.

La acción conjunta entre el IO (matriz ósea desmineralizada, *Deminealized Bone Matrix*, Osseograft, Advanced Biotech, Chennai, India) y L-PRF fue evaluada por Chandradas y col. (2016). Sus resultados determinaron que no existen diferencias significativas entre el tratamiento realizado con IO combinado con L-PRF y L-PRF solo en la reducción de la PS ni en la ganancia del NIC. En cambio, observaron una diferencia de 1mm en el relleno del defecto intra-óseo entre ambas modalidades de tratamiento en favor de L-PRF + IO⁽²⁵⁾.

DISCUSIÓN

El producto de L-PRF contiene más del 97% de las plaquetas y más del 50% de los leucocitos contenidos originalmente en la muestra de sangre colectada⁽²⁶⁾. Las plaquetas son responsables por la activación y liberación de importantes biomoléculas, incluyendo proteínas específicas, factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), factores de la coagulación, moléculas de adhesión, citoquinas/quimiocinas y factores angiogénicos; capaces de estimular la proliferación y activación de fibroblastos, macrófagos, neutrófilos y células mesenquimáticas⁽²⁷⁻²⁹⁾.

Los leucocitos juegan un importante rol en el proceso de cicatrización. Macrófagos y neutrófilos fagocitan tejido necrótico y microorganismos previniendo procesos infecciosos. Además de citoquinas, los macrófagos secretan factores de crecimiento como Factor de Crecimiento Transformante- β (FCT- β), Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (FCVE), FCDP y Factor de Crecimiento tipo Insulina 1 (FCI-1)⁽⁶⁾.

Gran parte de los estudios analizados en la presente revisión presentan como grupo control pacientes tratados únicamente mediante CPA, en los que se encontró una diferencia significativa en la reducción de la PS, la ganancia del NIC, la disminución de la profundidad y el porcentaje de relleno del DIO, en favor de L-PRF^(9, 19-25). Dichos resultados determinan una diferencia clínica relevante, lo que coincide con lo concluido en las 3 revisiones sistemáticas publicadas hasta la fecha⁽⁹⁻¹¹⁾.

Al comparar el tratamiento de los defectos intra-óseos mediante CPA vs. EMD o RTG, estos últimos muestran mejores resultados en la ganancia del NIC. Con EMD se han observado diferencias de hasta 1,4 mm⁽³⁰⁾. Estudios histológicos que evalúan biomateriales regenerativos (hueso autólogo, aloinjerto de hueso, xenoinjerto de hueso, RTG, EMD o técnicas combinadas) muestran neoformación de cemento y hueso con fibras insertadas orientadas funcionalmente cuantificado linealmente en

valores promedio que oscilan entre 1,3 y 2,3 mm. En injertos aloplásticos esta medida fue de 0,6mm para la formación de nuevo cemento y 0,4 mm para el hueso⁽²⁾.

Recientemente se ha estudiado la acción conjunta de EMD y L-PRF, comparándolo con la sola colocación de EMD. En ninguno de los parámetros clínicos estudiados se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento⁽³⁰⁾. Al comparar EMD vs L-PRF el único parámetro en el que se encontró una diferencia significativa fue en el porcentaje de relleno del defecto (32,4% para L-PRF y 43% para EMD)⁽¹⁷⁾. Esta pequeña diferencia plantea la interrogante de su relevancia clínica, pudiendo pensar en L-PRF como una alternativa.

Las publicaciones seleccionadas, aun cumpliendo los criterios de inclusión de la presente revisión, se caracterizan por una marcada heterogeneidad metodológica, existiendo diferencias en el diseño (boca dividida y brazos paralelos), evaluación simultánea de diversos biomateriales, inclusión de sitios con defectos de 1, 2 y 3 paredes o combinados. Esta realidad representa un problema ya que diferentes metodologías tienen diferentes potenciales de regeneración y por lo tanto, resultados difíciles de ser interpretados por el clínico en su práctica diaria. A su vez, aunque todos los trabajos manifiestan cegamiento del paciente, existe carencia de información reportada sobre los procedimientos realizados. También se debe tener en cuenta que el protocolo de obtención de L-PRF utilizado en los estudios incluidos difiere del recomendado por el reporte de consenso del Encuentro Europeo de Cicatrización Natural Mejorada en Odontología⁽³¹⁾. Este mismo, consiste en la extracción de sangre en cuatro a ocho tubos de 9ml que son centrifugados a 2700rpm (FRC=400g) utilizando una centrifugadora *IntraSpin™ Intra-Lock*, Boca Raton, FL, USA durante 12 minutos. Esta centrifugadora es la única hasta ahora aprobada por la FDA/CE del mercado. Se ha descrito que presenta el menor nivel de vibración⁽³²⁾ y que con ella se obtiene un coágulo de mejor calidad⁽³³⁾ cuando es comparada con otras tres centrifugadoras (A-PRF 12 (Advanced PRF, Process), LW - UPD8 (LW Scientific) y Salvin 1310 (Salvin Dental).

La progresiva información disponible sobre el uso del L-PRF en el tratamiento regenerativo de defectos intra-óseos debe ser evaluada con cautela. El criterio profesional y la evaluación particular sobre su uso de acuerdo a cada caso clínico van a determinar la oportunidad de usar L-PRF combinado o no con biomateriales asociados.

CONCLUSIONES

L-PRF presenta resultados promisorios para el tratamiento periodontal regenerativo basado en el potencial angiogénico y promotor del desarrollo celular que brindan los factores de crecimiento y las citoquinas liberados en forma sostenida. En comparación con otros biomateriales, se destaca su origen autólogo y la ausencia de efectos adversos conocidos. Sin embargo, para justificar su aplicabilidad clínica, son necesarios más ensayos clínicos con diseño metodológico estandarizado que comparen, a largo plazo, los resultados obtenidos con L-PRF y con biomateriales utilizados habitualmente en el tratamiento de defectos periodontales intraóseos.

Bibliografía

- Glossary of periodontal terms. 4th ed. Chicago (IL): American Academy of Periodontology; 2001.
- Sculean A, Nikolidakis D, Nikou G, Ivanovic A, Chapple IL, Stavropoulos A. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. *Periodontol* 2000. 2015;68(1):182-216.
- Choukroun JAF, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie*. 2001;42:55-62.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e37-44.
- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158-67.
- Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*. 2009;27(1):63-9.
- Dohan Ehrenfest DM, Kang BS, Lanata N, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 3: comparison of the growth factors content and slow release between the original L-PRF and the modified A-PRF (Advanced Platelet-Rich Fibrin) membranes. *Poseido*. 2016;2(2):155-66.
- Dohan Ehrenfest DM, Sanmartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *Poseido*. 2013;1(1):17-27.
- Shah M, Deshpande N, Bharwani A, Nadig P, Doshi V, Dave D. Effectiveness of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: A systematic review and meta-analysis. *J Indian Soc Periodontol*. 2014;18(6):698-704.
- Panda S, Doraiswamy J, Malaiappan S, Varghese SS, Del Fabbro M. Additive effect of autologous platelet concentrates in treatment of intrabony defects: a systematic review and meta-analysis. *J Invest Clin Dent*. 2016;7(1):13-26.
- Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2017;44(1):67-82.
- Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):32-8.
- Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):39-53.
- Agarwal A, Gupta ND, Jain A. Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: a randomized split mouth clinical trial. *Acta Odontol Scand*. 2016;74(1):36-43.
- Panda S, Sankari M, Satpathy A, Jayakumar D, Mozzati M, Mortellaro C, et al. Adjunctive effect of autologous platelet-rich fibrin to barrier membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. *J Craniofac Surg*. 2016;27(3):691-6.

16. Mathur A, Bains VK, Gupta V, Jhingran R, Singh GP. Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: A comparative analysis. *Eur Journal Dent.* 2015;9(1):100-8.
17. Gupta SJ, Jhingran R, Gupta V, Bains VK, Madan R, Rizvi I. Efficacy of platelet-rich fibrin vs. enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a clinical and cone beam computed tomography study. *J Int Acad Periodontol.* 2014;16(3):86-96.
18. Sharma A, Pradeep AR. Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2011;82(12):1705-12.
19. Ajwani H, Shetty S, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Kulloli A, Dolas RS, et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin biomaterial and open flap debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. *Journal of international oral health : JIOH.* 2015;7(4):32-7.
20. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38(10):925-32.
21. Kanoriya D, Pradeep AR, Singhal S, Garg V, Guruprasad CN. Synergistic approach using platelet-rich fibrin and 1% alendronate for intrabony defect treatment in chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2016;87(12):1427-35.
22. Martande SS, Kumari M, Pradeep AR, Singh SP, Suke DK, Guruprasad CN. Platelet-rich fibrin combined With 1.2% atorvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2016;87(9):1039-46.
23. Pradeep AR, Nagpal K, Karvekar S, Patnaik K, Naik SB, Guruprasad CN. Platelet-rich fibrin with 1% metformin for the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2015;86(6):729-37.
24. Pradeep AR, Garg V, Kanoriya D, Singhal S. Platelet-rich fibrin With 1.2% rosuvastatin for treatment of Intrabony defects in chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2016;87(12):1468-73.
25. Chandradas ND, Ravindra S, Rangaraju VM, Jain S, Dasappa S. Efficacy of platelet rich fibrin in the treatment of human intrabony defects with or without bone graft: A randomized controlled trial. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2016;6(Suppl 2):S153-9.
26. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Threedimensional architecture and cell composition of a chouxkroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol.* 2010;81(4):546-55.
27. Arunachalam M, Pulikkotil SJ, Sonia N. Platelet rich fibrin in periodontal regeneration. *Open Dent J.* 2016;10:174-81.
28. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J. Platelet-rich fibrin and soft tissue wound healing: A systematic review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(1):83-99.
29. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2011;105 Suppl 1:S13-33.
30. Aydemir Turkal H, Demirer S, Dolgun A, Keceli HG. Evaluation of the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. Six-month results of a randomized, split-mouth, controlled clinical study. *J Clinical Periodontol.* 2016;43(11):955-64.
31. Pinto NR, TA, Teughels W, Castro AB, Cortellini S, Quirynen M. Consensus guidelines on the use of L-PRF from the 1st European Meeting on Enhanced Natural Healing in Dentistry. Department of Periodontology, Catholic University Leuven, Belgium. Oct. 2016.
32. Dohan Ehrenfest DM KB, Del Corso M, Nally M, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 1: evaluation of the vibration shocks of 4 models of table centrifuges for L-PRF. *Poseido.* 2014;2(2):139-49.
33. Pinto NR PA, Jiménez P, Del Corso M, Kang BS, Wang HL, Quirynen M, Dohan Ehrenfest DM. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 2: macroscopic, photonic microscopy and scanning electron microscopy analysis of 4 kinds of L-PRF clots and membranes. *Poseido.* 2014;2(2):141-54.