



Artículos de Revisión

PRP en medicina regenerativa: fundamento biológico, preparación y clasificación.

Dra. Etulain, Julia*

RESUMEN

Si bien las plaquetas son ampliamente reconocidas por su rol clave en la hemostasia y la trombosis, numerosas evidencias han demostrado que estas células también modulan otros procesos fisiopatológicos incluyendo la inflamación y la regeneración de tejidos. Estos fenómenos están mediados por la liberación de factores de crecimiento, citoquinas y moduladores de la matriz extracelular que promueven secuencialmente la revascularización del tejido dañado, la restauración del tejido conectivo y la regeneración de las células específicas de cada tejido. Por este motivo, los derivados de plasma rico en plaquetas (PRP) se emplean en medicina regenerativa para el tratamiento de diversas situaciones clínicas incluyendo úlceras, quemaduras, reparación muscular, ósea y recuperación de tejido postquirúrgica. Sin embargo, a pesar de las diversas aplicaciones, la eficacia de estos tratamientos está asociada a diversas controversias causadas por la escasez de ensayos clínicos controlados y aleatorizados que prueben su eficacia, la falta de regulación y control en la implementación de estas terapias y la ausencia de consenso en las técnicas de preparación de PRP. En esta revisión se describen los fundamentos biológicos subyacentes al uso de estos tratamientos, los diversos métodos de preparación y aplicación de estos hemocomponentes, como así también las controversias y perspectivas futuras vinculadas al empleo del PRP en medicina regenerativa.

CICATRIZACIÓN, REGENERACIÓN Y REPARACIÓN DE TEJIDOS

La curación de heridas es un proceso dinámico y fisiológico que tiene como objetivo reconstruir tejidos dañados. Este proceso comprende tres etapas secuenciales y solapadas: 1) etapa inflamatoria (minutos-horas-días

luego de la injuria); 2) proliferativa (días-semanas) y 3) remodelado o maduración (semanas-meses-años)⁽¹⁻³⁾.

La primera etapa comienza inmediatamente después del daño tisular e inicia con la formación del agregado de plaquetas, seguido por la consolidación de una matriz de fibrina que funciona como andamiaje para la adhesión de células del sistema inmune. El reclutamiento de neutrófilos y monocitos, seguido de la diferenciación de monocitos hacia un fenotipo M1 (pro-inflamatorio) ocurre durante los primeros 2-3 días de la lesión. Estos procesos son cruciales para la eliminación de tejido desvitalizado y de microorganismos previniendo así posibles infecciones. Al cabo de 3 días ocurre el cambio del perfil inflamatorio al resolutivo, que se caracteriza por una reducción en el reclutamiento de neutrófilos y el inicio del cambio del fenotipo de macrófago M1 a M2 (anti-inflamatorios y resolutivos)⁽¹⁻³⁾.

La resolución de la inflamación se solapa con el inicio de la segunda etapa de reparación de la herida: la proliferación. Esta fase ocurre entre 1-3 semanas después de la lesión e involucra la migración y proliferación de diferentes tipos celulares. La angiogénesis, definida como el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes, es clave en la restitución de los vasos sanguíneos dañados y depende de la acción de células endoteliales⁽¹⁻³⁾. Simultáneamente, los fibroblastos reemplazan a la matriz de fibrina con tejido de granulación compuesto de colágeno tipo III, elastina, proteoglicanos y ácido hialurónico, que forman una matriz provisoria para el anclaje de los vasos sanguíneos incipientes proporcionando nutrientes y oxígeno al tejido⁽²⁾.

La tercera etapa de la reparación es el remodelado, que comienza a las 2-3 semanas de la lesión y puede durar incluso años dependiendo de las características de la herida. Durante esta etapa, los vasos sanguíneos formados en el tejido de granulación ya no son necesarios y se eliminan por apoptosis. Debido a la acción de

*Investigadora Asistente CONICET, Laboratorio Trombosis Experimental, Instituto de Medicina Experimental-CONICET/Academia Nacional de Medicina. juliaetulain@hotmail.com; jetulain@hematologia.anm.edu.ar.



las metaloproteasas secretadas por fibroblastos, macrófagos y células endoteliales, el colágeno de tipo III es reemplazado por colágeno de tipo I otorgándole estructura al tejido maduro⁽²⁾. La tríada formada por el sistema inmune, el remodelado de la matriz extracelular y la actividad de células madre mesenquimales orquesta a los procesos de reparación/regeneración del tejido dependiendo de la capacidad regenerativa intrínseca de cada tejido. En este sentido, si la lesión fue ocasionada en un tejido/órgano con alta tasa de regeneración (epitelio, hígado, intestino) los componentes celulares serán completamente regenerados a través de la diferenciación y proliferación de células madre residentes⁽⁴⁾. Dependiendo de las características de la lesión, la regeneración completa también puede ocurrir en tejidos con capacidad regenerativa intermedia (por ejemplo, piel, huesos, cartílagos, tendones y músculos). Por el contrario, si la lesión fue causada en tejidos con una baja capacidad regenerativa, como el corazón o el sistema nervioso central, los tejidos serán reparados pero no regenerados dejando una cicatriz en la zona de la herida^(4, 5).

DESAFÍOS DE CURACIÓN DE HERIDAS

Los procesos fisiológicos de curación de heridas pueden ser afectados por diversos aspectos incluyendo factores locales (presencia de cuerpos extraños en la herida, maceración de tejidos, isquemia o infección) así como factores sistémicos (edad, enfermedades inflamatorias crónicas como diabetes, medicamentos y desnutrición). Estos factores afectan directamente a los mecanismos fisiológicos de la regeneración tisular, causando complicaciones clínicas que incluyen cicatrización anormal (hipertrófica, queloidea, atrófica), dolor, prurito, malignización de los tejidos (síndrome de Marjolin), hemorragia, úlcera, infección y amputación^(3, 5). Actualmente existen diversos recursos para promover la reparación de heridas incluyendo matrices sintéticas, reemplazo de tejidos biológicos, factores de crecimiento recombinantes y terapia con células madre⁽⁵⁻⁷⁾. También existen métodos para favorecer la circulación sanguínea en pacientes con heridas crónicas vinculadas a neuropatías y vasculopatías^(7, 8). Los derivados de plasma rico en plaquetas (PRP) constituyen otra alternativa terapéutica para favorecer la regeneración tisular^(9, 10). De manera similar a los otros métodos, las bases moleculares subyacentes al uso del PRP, como así también los posibles efectos adversos y la eficacia de estos tratamientos aún no han sido completamente dilucidados. Sin embargo, y a diferencia de las otras terapias regenerativas, la utilización de PRP es un método más económico y debido a características asociadas a su origen autólogo, los posibles riesgos infecciosos o de rechazo asociados al tratamiento con PRP son mínimos^(9, 10). Por estas razones, los hemocomponentes enriquecidos en plaquetas han cobrado gran relevancia en la última década, y conforman un creciente objeto de estudio experimental y clínico en el contexto de la curación de heridas.

CURACIÓN DE HERIDAS MEDIADA POR FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS

Si bien las plaquetas son ampliamente reconocidas por tener un papel crítico en la hemostasia y la trombosis, diversas evidencias demuestran que estas células también participan en otros procesos fisiopatológicos incluyendo inflamación y regeneración tisular. Estos fenómenos están mediados por la liberación de moléculas contenidas en los gránulos alfa incluyendo factores de crecimiento, citoquinas y moduladores de matriz extracelular. La acción conjunta de estos factores promueve secuencialmente:

1) la revascularización del tejido dañado a través de la inducción de migración, proliferación, diferenciación y estabilización de células endoteliales en nuevos vasos sanguíneos.

2) la restauración del tejido conectivo dañado a través de la migración, proliferación y activación de fibroblastos.

3) la proliferación y diferenciación de células madre mesenquimales en tipos celulares tejido-específico (Tabla 1)⁽¹¹⁻¹⁵⁾.

Además de su acción regeneradora, las plaquetas también liberan gran cantidad de sustancias que están involucradas en la defensa contra microbios incluyendo:

1) quimioquinas y citoquinas que inducen el reclutamiento y activación de células del sistema inmune en el foco inflamatorio en regeneración.

2) sustancias microbicidas que contribuyen a eliminar patógenos de manera directa (ej: CXCL4, CXCL7, defensinas y péptidos microbicidas entre otros)^(16, 17).

PRP EN MEDICINA REGENERATIVA

Los productos derivados de plaquetas se han utilizado en medicina regenerativa desde comienzos de los 90'. En la Argentina, la primera experiencia con la utilización de factores de crecimiento autólogos de origen plaquetario fue presentada por el Dr. Speroni en el Congreso Argentino de Medicina Transfusional del año 1991 con la "criolisis plaquetaria" y su utilización para la curación de heridas⁽¹⁸⁾. Otros registros indican que a nivel mundial el PRP se utilizó inicialmente en oftalmología y odontología^(19, 20). En la actualidad, el uso de PRP en medicina regenerativa ha crecido significativamente y se aplica en diversas especialidades clínicas incluyendo dermatología, odontología, oftalmología, ortopedia y densitometría^(9, 10, 21). A pesar de esta gran diversidad de aplicaciones clínicas, actualmente existen varias controversias acerca de la efectividad de las terapias regenerativas con PRP. Esto se debe en parte a la ausencia de ensayos aleatorizados multicéntricos con gran tamaño de muestra que validen la eficiencia de estas terapias. En este sentido, De Pascale, Sommese y colaboradores han llevado a cabo una revisión sistemática acerca del uso de PRP en regeneración analizando diversos ensayos clínicos indexados entre 2010 a 2014 en PubMed, controlled-trials.com, clinicaltrialsregister.eu, eudract.ema.europa.eu y clinicaltrials.gov⁽⁹⁾.

Tabla 1. Factores de crecimiento liberados por las plaquetas.

FACTORES DE CRECIMIENTO				
	Angiogénesis	Restitución del tejido conectivo	Regeneración de las células tejido-específicas	Otros
PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas)	Estabilización de vasos sanguíneos nacientes a través del reclutamiento de pericitos.	Reclutamiento y activación de fibroblastos induciendo síntesis de colágeno.	Proliferación de oligodendrocitos.	Activación de macrófagos.
			Proliferación de osteoblastos.	
		Diferenciación a macrófagos M2 (regeneradores).		
bFGF (Factor de Crecimiento de Fibroblastos básico)	Migración y proliferación de células endoteliales.		Proliferación de osteoblastos.	
			Proliferación de condrocitos.	
TGF- β (Factor de Crecimiento Tumoral β)		Proliferación y activación de fibroblastos induciendo síntesis de colágeno y fibronectina.		
		Deposición de matriz ósea. Inhibe osteoclastos y resorción ósea.		
IGF-I (Factor de Crecimiento Insulínico tipo I)		Reclutamiento y activación de fibroblastos induciendo síntesis de colágeno.	Proliferación de osteoblastos.	
VEGF (Factor de Crecimiento de Endotelio Vascolar)	Migración y proliferación de células endoteliales.	Creación del lumen vascular.		Quimioattractante de macrófagos y granulocitos.
		Modula actividad de MPPs.		Vasodilatador (induce liberación ON).
				Promueve linfo y vasculogénesis.
EGF (Factor de Crecimiento Epidérmico)	Proliferación células endoteliales.	Diferenciación a macrófagos M2 (regeneradores).	Diferenciación de queratinocitos y fibroblastos dérmicos para regenerar dermis y epidermis.	
	Proliferación células epiteliales.	Proliferación y activación de fibroblastos.	Proliferación de hepatocitos.	
PAF (Factor Activador de Plaquetas)	Activación de células endoteliales induciendo síntesis de factores de crecimiento.			Quimiotaxis y activación de leucocitos.
				Funguicida.
Angiopoyetina-1	Migración y proliferación de células endoteliales.			Modula permeabilidad vascular.
	Estabilización de vasos sanguíneos nacientes a través del reclutamiento de pericitos.			Vasculogénesis.
MMP (Metaloproteasas)	Disolución de membrana basal promoviendo movilización de células endoteliales.	Remodelado de tejido conectivo.		

Las conclusiones de este análisis indican que varios estudios individuales encontraron efectos de tratamiento favorables que incluyeron tres estudios de odontología que mostraron una mejora en la densidad ósea; siete estudios que mostraron resultados positivos en la regeneración articular; cinco estudios que demostraron una mejora en la curación de heridas; y dos informes que encontraron una mejora en la curación del epitelio ocular⁽⁹⁾. A pesar de estos estudios individuales, los ensayos controlados aleatorios y los meta-análisis no han encontrado un beneficio clínico constante de la aplicación de productos derivados de plaquetas para la prevención de lesiones tisulares⁽⁹⁾. Además, 14 ensayos clínicos en la fase 3 o 4 estaban en curso en el momento de esta publicación⁽⁹⁾. En la actualidad, algunos de estos ensayos clínicos se han suspendido debido al lento reclutamiento de pacientes o al rediseño del estudio; otros han sido concluidos y los resultados aún no han sido publicados, y el resto continúa en curso. Promisoriamente, el registro de nuevos ensayos clínicos en la fase 3 o 4 se ha duplicado a partir del año 2015 sugiriendo que en un futuro se contará con mayor información que disipe las controversias sobre la efectividad de estas terapias.

PREPARACIÓN DEL PRP

Además de la ausencia de ensayos clínicos aleatorizados y controlados, otro desafío asociado con estas terapias es la falta de consenso sobre las técnicas de preparación de PRP. Estos procedimientos se derivan de protocolos clásicos para la obtención de concentrados de plaquetas para transfusión, ensayos de coagulación o funcionalidad plaquetaria. Actualmente, hay varios métodos manuales, automáticos y semiautomáticos para este propósito⁽²¹⁾. Con algunas excepciones, los métodos de preparación de PRP tienen tres etapas secuenciales:

- 1) recolección de la sangre
- 2) separación de PRP
- 3) activación de PRP.

Recolección de la sangre

La sangre es recolectada con anticoagulantes citratados, los cuales quelan calcio plasmático impidiendo el inicio de la cascada de coagulación. Se recomienda el uso de ácido-citrato-dextrosa (ACD) ya que está aprobado para transfusión y está disponible en la mayoría de los *kits* comerciales diseñados para este propósito. También se acepta el uso de citrato trisódico o citrato-fosfato-dextrosa (CFD)^(21, 22). El efecto de estos anticoagulantes es revertido por el agregado de calcio exógeno permitiendo la activación de la cascada de coagulación. Por el contrario, el EDTA está contraindicado en estos protocolos ya que su efecto no es revertido por el agregado de calcio y puede generar daño en la membrana plaquetaria y en los tejidos transfundidos^(21, 22).

Existe una excepción al empleo de anticoagulante. Como se explica más adelante, la sangre es extraída sin anticoagulante en el protocolo de preparación de L-PRF, un tipo de PRP enriquecido en fibrina y en componentes leucocitarios.

Separación del PRP

Una vez que la sangre es recolectada las plaquetas deben ser concentradas. Existe una gran variedad de protocolos los cuales incluyen pasos de centrifugación que varían en tiempo (4-20 minutos), velocidad (100-3000 x g), temperatura (12-26°C) y entre 1 a 2 ciclos de centrifugación^(9, 10, 21). En consecuencia, la concentración de plaquetas recuperada en el PRP varía entre 300-1900 x10³/μl⁽²¹⁾.

Clasificación del PRP

Como resultado de la centrifugación, la sangre es dividida en tres capas de distinta densidad. La capa inferior está compuesta por glóbulos rojos; la capa media está compuesta por glóbulos blancos y plaquetas (del inglés, *buffy coat*); y la capa superior está compuesta por plasma. A su vez, la fase plasmática puede subdividirse en tres fracciones en función de la concentración de plaquetas: pobre, intermedia o rica en plaquetas.

La composición y el volumen del PRP varían en función de la fase que sea recolectada. En este sentido, algunos protocolos recolectan toda la capa plasmática, otros las fases plasmáticas con concentración intermedia y rica en plaquetas, y otros protocolos utilizan únicamente el *buffy coat*. En función de su recolección el volumen de PRP variará entre el 2-40% del volumen original de la sangre⁽²¹⁾. La composición del PRP varía en función de cuál de las fases sea recolectada, y en este sentido, al PRP se lo clasifica en puro en plaquetas (P-PRP) o rico en plaquetas y también en leucocitos (L-PRP). La presencia de leucocitos en el PRP es una fuente de controversias ya que si bien los leucocitos liberan sustancias microbicidas y enzimas que podrían contribuir a matar microorganismos previniendo posibles infecciones, estas mismas sustancias también podrían dañar a las células endógenas encargadas de la reparación y contribuir a procesos de inflamación local^(23, 24).

Además de la composición celular, al PRP se lo clasifica en función de la cantidad de fibrina. En este sentido, el PRP fue inicialmente clasificado en cuatro grupos: P-PRP (puro en plaquetas y pobre en leucocitos), L-PRP (rico en plaquetas y leucocitos), P-PRF (rico en plaquetas y fibrina) y L-PRF (rico en plaquetas, leucocitos y fibrina)⁽²⁵⁾. En el año 2012 se agregó el término "gel" para subclasificar al P-PRP y L-PRP como activado o no activado con CaCl₂ y/o trombina^(26, 27). Más recientemente, Alsousou y Harrison han postulado un sistema de clasificación más detallado y completo el cual incluye

una combinación de caracteres alfa-numéricos para identificar al PRP en función de presencia o ausencia de leucocitos (**L** o **P**), contenido de fibrina (**alta**: PRF, **baja**: PRP), no activado o activado (**I** o **II**), concentración de plaquetas (**A**: $<900 \times 10^3/\mu\text{l}$; **B**: $900-1700 \times 10^3/\mu\text{l}$; **C**: $>1700 \times 10^3/\mu\text{l}$) y técnica de separación del PRP (**1**: sistema de separación gravitacional; **2**: separadores de células estándar y **3**: plaquetoféresis)⁽¹³⁾. Este sistema de clasificación simple, preciso y pragmático se detalla en la **Tabla 2** y da como resultado un único término (**e.g. L-PRP IB1**), el cual refleja las propiedades del producto de manera inequívoca y detallada. Este sistema de clasificación podría contribuir a aclarar la confusión en la literatura científica y las conclusiones engañosas actualmente observadas con respecto a estos tratamientos.

Activación y formulación del PRP

Una vez que el PRP es recolectado luego debe ser activado promoviendo la liberación del contenido de los gránulos plaquetarios. Este proceso implica inducir la generación de trombina que por un lado polimeriza al fibrinógeno en fibrina y por el otro induce activación plaquetaria. El principal método de activación es el agregado de soluciones de cloruro de calcio (CaCl_2) o gluconato de calcio para restaurar los niveles de calcio quelados por el anticoagulante. Teniendo en cuenta el rol primordial que tiene la trombina en la activación del PRP, algunos protocolos consideran el agregado de trombina autóloga individual o combinada con soluciones de CaCl_2 ⁽²¹⁾. Un nuevo método de activación, descrito como

"PRP foto-activado", implica exponer las plaquetas a la radiación de la luz ultravioleta (UV). Los mecanismos subyacentes de activación por UV no están completamente dilucidados, pero la inyección intra-articular de PRP activado por UV está creciendo en el área de ortopedia⁽²⁸⁾. El PRP también se aplica sin activación en tejidos blandos ya que se postula que las plaquetas se activarán por exposición al colágeno de la matriz extracelular⁽²⁹⁾.

Contrariamente a los métodos de activación del PRP, consideraciones especiales se aplican para la activación del PRP rico en fibrina (PRF). Para ello, la sangre se recolecta con anticoagulante y se centrifuga; luego, los leucocitos son descartados (P-PRF) y el plasma conteniendo plaquetas se transfieren a un segundo tubo. La coagulación se desencadena por el agregado de CaCl_2 y el tubo es inmediatamente centrifugado, esto permite la formación de un coágulo de fibrina rico estable durante la centrifugación⁽²⁶⁾. Por otro lado, el L-PRF se obtiene a través del protocolo de Choukroun en el cual la sangre es recolectada sin anticoagulante y es rápidamente centrifugada, por lo tanto, la activación de plaquetas y la coagulación se desencadenan inmediatamente durante la centrifugación. En este método se obtienen tres fases: la capa de glóbulos rojos, la capa superior de plasma pobre en plaquetas y el coágulo rico en fibrina, plaquetas y leucocitos en el medio⁽³⁰⁾. El coágulo de PRF posee arquitectura tridimensional que funciona como matriz semirrígida provisoria para la regeneración y se utiliza principalmente en cirugía oral, maxilofacial, otorrinolaringológica (oído, nariz, garganta) y cirugía plástica⁽²⁵⁾.

Clasificación	Leucocitos	Fibrina	Activación	Concentración de Plaquetas	Técnica separación del PRP
P-PRP	-	Baja	I	A	1
			II	B	2
				C	3
L-PRP	+	Baja	I	A	1
			II	B	2
				C	3
P-PRF	-	Alta	I	A	1
			II	B	2
				C	3
L-PRF	+	Alta	I	A	1
			II	B	2
				C	3

Adaptado de (13).



A diferencia de los PRP, la matriz de fibrina no es estable en el PRP, y se contrae después de la activación lo que resulta en las cuatro formulaciones descriptas previamente por Anitua et al.⁽¹⁴⁾: 1) PRP líquido; 2) "gel" de PRP o tridimensional; 3) PRP líquido exudado; y 4) membrana elástica y fibrosa. El PRP líquido se activa en el momento del uso y se aplica mediante inyección o embebido en sustitutos biológicos. En cambio, la matriz tridimensional o "gel" de PRP se obtiene después de 15-20 minutos de activación y se usa para el tratamiento de úlceras y relleno de tejidos. Esta formulación se puede combinar con otros materiales, como hueso autólogo, hueso bovino desmineralizado liofilizado o colágeno. Después de 40 minutos de activación, la retracción del coágulo se hace evidente, lo que permite la formación del exudado líquido⁽³⁾ y del coágulo retraído⁽⁴⁾. El exudado contiene proteínas plasmáticas y moléculas liberadas por las plaquetas y se lo utiliza principalmente en oftalmología para tratar diversos defectos corneales. La membrana de fibrina elástica obtenida después de la retracción del coágulo se utiliza como un sellador luego de extracciones dentales y para favorecer la epitelización de tejidos blandos⁽¹⁴⁾.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

El PRP se usa en medicina regenerativa para tratar varias situaciones clínicas incluyendo úlceras, quemaduras, reparación muscular, ósea y recuperación tisular postquirúrgica. A pesar de la diversidad en las aplicaciones, existen diversas controversias acerca del uso de PRP en regeneración y las mismas se deben a la ausencia de ensayos clínicos que prueben su eficacia, como también a la ausencia en las técnicas de preparación del PRP. Estos procedimientos derivan de los protocolos clásicos para la obtención de concentrados de plaquetas para transfusión, ensayos de coagulación o funcionalidad plaquetaria, que se centran en preservar las respuestas hemostáticas pero no regeneradoras de las plaquetas. A pesar de estas controversias, los recientes resultados de ensayos clínicos demuestran beneficios clínicos prometedores en dermatología, odontología, oftalmología, ortopedia y densitometría. Se alcanzará una percepción más cierta acerca de estas terapias cuando se completen los grandes ensayos aleatorizados que están actualmente en curso.

Se necesitan más investigaciones para comprender las preguntas que rodean los mecanismos de PRP en la regeneración de tejidos, incluidas las siguientes: ¿Cuál es el efecto de los medicamentos anti-agregantes en estos tratamientos? ¿Cuáles son los mecanismos biológicos que subyacen al uso de estas terapias? ¿Cuál es la capacidad regenerativa de PRP derivada de pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas? ¿Cuáles son los posibles efectos adversos a largo plazo asociados con el uso de PRP? ¿Cuál es la composición óptima requerida para inducir la máxima respuesta regenerativa? Las respuestas a estas preguntas contribuirán a lograr la mejor eficacia de las terapias regenerativas mediadas por PRP.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

La autora declara que no existe ningún conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Servicio de Hemoterapia del Hospital A. Fernández por la recolección de las muestras de sangre de donadores voluntarios necesarios para realizar parte de los experimentos. Las investigaciones realizadas en el Laboratorio Trombosis Experimental, IMEX-CONICET/Academia Nacional de Medicina son subsidiadas por la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica (PICT-2014-0352, PICT-2015-0152, PICT 2015-1859), Fundación A. Roemmers (Subsidio a la Investigación Médica Básica 2015-2016), y L'Oreal-UNESCO-CONICET (CONICET-LOREAL-2512-2015).

REFERENCIAS

1. Rittie, L.: Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. *J Cell Commun Signal*, 2016; 10(2): 103.
2. Xue, M. and C.J. Jackson: Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2015; 4(3): 119.
3. Wu, B., et al.: Resolution of vascular injury: Specialized lipid mediators and their evolving therapeutic implications. *Mol Aspects Med*, 2017.
4. Forbes, S.J. and N. Rosenthal: Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy. *Nat Med*, 2014; 20(8): 857.
5. Paul, W. and C.P. Sharma, *Advances in Wound Healing Materials: Science and Skin Engineering*. Vol. 1. 2016, Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, UK: Smithers Rapra Technology.
6. Briquez, P.S., J.A. Hubbell, and M.M. Martino: Extracellular Matrix-Inspired Growth Factor Delivery Systems for Skin Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2015; 4(8): 479.
7. Powers, J.G., et al.: Wound healing and treating wounds: Chronic wound care and management. *J Am Acad Dermatol*, 2016; 74(4): 607.
8. Ackermann, P.W. and D.A. Hart: Influence of Comorbidities: Neuropathy, Vasculopathy, and Diabetes on Healing Response Quality. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2013; 2(8): 410.
9. De Pascale, M.R., et al.: Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev*, 2015; 29(1): 52.
10. Burnouf, T., et al.: Human platelet lysate: Replacing fetal bovine serum as a gold standard for human cell propagation? *Biomaterials*, 2016; 76: 371.
11. Nurden, A.T.: The biology of the platelet with special reference to inflammation, wound healing and immunity. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018; 23: 726.
12. Etulain, J., S. Negrotto, and M. Schattner: Role of platelets in angiogenesis in health and disease. *Curr Angiogenesis*, 2014; 3(1): 1.
13. Alsousou, J. and P. Harrison: Platelet-Rich Plasma in Regenerative Medicine, in *Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders*, P. Gresele, et al., Editors. 2017, Springer: Switzerland.
14. Anitua, E., et al.: Platelet-Rich Plasma: Preparation and Formulation. *Oper Tech Orthop*, 2012; 22(1): 25.

15. Alsousou, J., et al.: The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets*, 2013; 24(3): 173.
16. Fabbro, M.D., et al.: Antimicrobial properties of platelet-rich preparations. A systematic review of the current pre-clinical evidence. *Platelets*, 2016: 1.
17. Yeaman, M.R.: Platelets: at the nexus of antimicrobial defence. *Nat Rev Microbiol*, 2014; 12(6): 426.
18. Rosell, S.R.: Usos del plasma rico en plaquetas en traumatología y cuidado avanzado de heridas. *Hematología*, 2016; 20 (Número Extraordinario).
19. Liggett, P.E., et al.: Human autologous serum for the treatment of full-thickness macular holes. A preliminary study. *Ophthalmology*, 1995; 102(7): 1071.
20. Anitua, E.: Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1999; 14(4): 529.
21. Dhurat, R. and M. Sukesh: Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthet Surg*, 2014; 7(4): 189.
22. Society, T.I.C.M.: Guidelines for the use of platelet rich plasma. *Best Practices Standards in Cell Based Medicine*, 2012.
23. Xu, Z., et al.: Comparative evaluation of leukocyte- and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Sci Rep*, 2017; 7: 43301.
24. D'Asta, F., et al.: The contribution of leucocytes to the antimicrobial activity of platelet-rich plasma preparations: a systematic review. *Platelets*, 2017: 1.
25. Dohan Ehrenfest, D.M., L. Rasmusson, and T. Albrektsson: Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*, 2009; 27(3): 158.
26. Dohan Ehrenfest, D.M., et al.: In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012; 13(7): 1131.
27. Mishra, A., et al.: Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012; 13(7): 1185.
28. Paterson, K.L., et al.: Intra-articular injection of photo-activated platelet-rich plasma in patients with knee osteoarthritis: a double-blind, randomized controlled pilot study. *BMC Musculoskelet Disord*, 2016; 17: 67.
29. Harrison, S., et al.: Platelet activation by collagen provides sustained release of anabolic cytokines. *Am J Sports Med*, 2011; 39(4): 729.
30. Choukroun, J., et al.: Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006; 101(3): e56.

