

FACULDADE SETE LAGOAS

EDUARDO OLIVEIRA GOMES

**FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PRF).
RECONSTRUÇÕES TECIDUAIS ORAIS**

VITÓRIA

2016

EDUARDO OLIVEIRA GOMES

**FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PRF).
RECONSTRUÇÕES TECIDUAIS ORAIS**

Monografia apresentada ao curso de
Especialização da Faculdade Ciodonto, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Especialista em Implantodontia.

Área de concentração: Implantodontia

Orientadora: Prof. Julia Rocha Moraes

VITÓRIA

2016

Gomes, Eduardo Oliveira

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PFR). Reconstruções
Teciduais Orais / Eduardo Oliveira Gomes – 2016.

54 f.; il

Orientadora: Julia Rocha Moraes

Monografia (especialização) – Faculdade Sete Lagoas, 2016.

1-Cirurgia Oral. 2. Reconstrução. 3.Tecido Oral 4. Cicatrização.

I.Título

II.Julia Rocha Moraes

FACULDADE SETE LAGOAS

Monografia intitulada “Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) de autoria do aluno Eduardo Oliveira Gomes, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Julia Rocha Moraes - Faculdade Sete Lagoas – Orientador

Levingstom Rubens Sousa Rocha - Faculdade Sete Lagoas – Co-Orientador

VITÓRIA

2016

DEDICATÓRIA

Toda glória e toda honra sejam dadas a Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus , pela vida, pela oportunidade de conhecê-lo, e chamá-lo de amigo.

À minha mulher, Letícia , pelo companherismo, amizade e amor.

Ao meu filho, Davi, que tem me feito acordar mais disposto, feliz e determinado, mesmo sem me deixar dormir a noite inteira.

À minha família de origem, Adilson, Ana e Priscila, por terem acreditado no meu sonho e investido tempo e amor na minha vida.

Aos amigos que fiz nessa especialização e ao professor Livingstom, por todo conhecimento compartilhado.

RESUMO

Um dos grandes desafios que a pesquisa clínica enfrenta é o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos capazes de regular a inflamação e aumentar a cicatrização. Em virtude disso, iniciou-se uma série de estudos sobre aditivos cirúrgicos que auxiliem no processo de cura dos procedimentos cirúrgicos. O plasma rico em fibrina (PRF) foi desenvolvido por Choukroun para ser usado em cirurgia oral e maxilofacial e, no campo da odontologia, tem vários domínios de aplicação, como aumento de tecido ósseo para implantodontia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas, entre outros. O objetivo principal do presente estudo é realizar uma revisão de literatura como ferramenta para análise de um concentrado de plaquetas, descrevendo sua evolução até um novo modelo de aditivo cirúrgico bioativo (L-PRF), que ajude na cicatrização de lesões cirúrgicas por suas características de regeneração tecidual e de regulação inflamatória. Por se tratar de um procedimento barato e com grandes benefícios, a sua utilização em cirurgia oral e maxilofacial, deve ser considerada como uma opção clínica de grande interesse.

Palavras chave: Plasma rico em plaquetas, fator de crescimento, cicatrização, Choukroun, PRF, L-PRF, regeneração tecidual, regeneração óssea, odontologia.

ABSTRACT

One of the biggest challenges that clinical research faces is the development of bioactive surgical additives able to regulate inflammation and enhance healing. As a result, we initiated a series of studies on surgical additives that aid in the healing process these procedures. The rich plasma fibrin (PRF) was developed by Choukroun for use in oral and maxillofacial surgery and in the field of dentistry, has several application domains, such as increased bone tissue to implant, lifting the maxillary sinus graft alveoli, aesthetic periodontal surgery, among others. The main objective of this study is to conduct a literature review as a tool for analysis of a platelet concentrate, describing its evolution to a new bioactive surgical additive model (L-PRF), which helps in the healing of surgical lesions by their characteristics regulating inflammatory and tissue regeneration. Because it is a cheap and large benefits procedure, their use in oral and maxillofacial surgery should be considered as an option of great clinical interest.

Key words: Platelet-rich plasma, growth factor, healing, Choukroun, PRF, L-PRF, tissue regeneration, bone regeneration, dentistry.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cPRP - Concentrado de Plasma Rico em Plaquetas

EGF - Epidermal Growth Factor

FC - Fator de Crescimento

FDA - Food and Drugs Administration

GFs - Growth Factors

L-PRF - Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos

MTA - Agregado de Trióxido Mineral

PDGF - Platelet-Derived Growth Factor

PDGF $\alpha\alpha$ - Platelet-Derived Growth Factor-alpha-alpha

PDGF $\alpha\beta$ - Platelet-Derived Growth Factor-alpha-beta

PDGF $\beta\beta$ - Platelet-Derived Growth Factor-beta-beta

PPP - Platelet Poor Plasma

PRF - Plaqueta Rica em Fibrina

PRP - Plasma Rico em Plaquetas

RBC - Red Blood Cells

TGF - Transforming Growth Factor

TGF β 1 - Transforming Growth Factor-beta-1

TGF β 2 - Transforming Growth Factor-beta-2

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Evolução dos concentrados plaquetários	16
2.1.1 Cola de Fibrina	16
2.1.2 PRP – Primeira geração de concentrados plaquetários	18
2.1.3 PRF – Segunda geração de concentrados plaquetários	20
2.2 Protocolo do L-PRF	26
2.3 Aplicações da L-PRF em Odontologia	31
2.3.1 Levantamento de Seio Maxilar	32
2.3.2 Periodontia	39
2.3.3 Aplicação em tecidos lesionados	40
2.3.4 Endodontia regenerativa	41
2.3.5 Aplicação em alvéolos pós-extração/avulsão	42
3 DISCUSSÃO	45
4 CONCLUSÃO	49
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, os procedimentos cirúrgicos ainda enfrentam muitos desafios. Depois de cada intervenção cirúrgica, na maioria das vezes nos deparamos com um fenômeno complexo de remodelação tecidual, as consequências da cicatrização e sobrevivência dos tecidos. No intuito de acelerar o fenômeno fisiológico de cura, aditivos cirúrgicos vêm sendo estudados, tais como, fibrina adesiva, concentrado plaquetário rico em plasma (cPRP) e L-PRF.

O potencial regenerativo das plaquetas foi descoberto em 1974 por Ross et al., que foram os primeiros a descreverem-nas e, demonstrarem que, isoladas do sangue periférico, são uma fonte autóloga de fatores de crescimento (FCs). Os FCs contidos nos grânulos alfa das plaquetas têm a capacidade de estimular a proliferação celular, a remodelação da matriz e a angiogênese. As plaquetas são os principais elementos envolvidos no processo de cicatrização, através da sua coagulação, e pela liberação de FCs (WU *et al.*, 2012).

Segundo DOHAN *et al.*, 2006, as colas de fibrina são criticadas por serem derivadas de sangue, pela complexidade de produção de seus protocolos e por riscos de infecção cruzada, mesmo que infinitamente pequeno. São ainda dependentes da adição de trombina bovina para sua ativação. Suas atividades principais são aderência biológica tecidual e a biodegradabilidade.

Já o cPRP é um concentrado de plaquetas para administração tópica cirúrgica, duplamente centrifugado, a fim de aumentar a concentração de plaquetas recolhidas. Infelizmente, os primeiros resultados indicam que os efeitos clínicos são muito semelhantes aos observados com as colas de fibrina convencionais, pois citocinas são liberadas muito rapidamente para serem estritamente incorporadas no interior da matriz durante a polimerização da fibrina (DOHAN *et al.*, 2006).

Devido a restrições legais na manipulação de sangue, uma nova família de concentrado de plaquetas, que não é nem uma cola de fibrina ou o concentrado de plaquetas clássico (cPRP), surgiu na França, desenvolvido por Choukroun. Este

novo biomaterial, segundo DOHAN *et al.*, 2006, denominado plaquetas rica em fibrina (PRF), é uma matriz cicatricial autóloga. A polimerização lenta durante a preparação da PRF reproduz uma rede de fibrina muito semelhante a natural, o que leva a uma migração mais eficiente de células e sua proliferação e, por conseguinte, a cura.

A análise bioquímica da composição do L-PRF realizada indicou que este biomaterial consiste de um conjunto de citocinas em íntimo contato, cadeia de glicosaminoglicanas e glicoproteínas estruturais enredadas em uma rede de fibrina polimerizada lentamente. Estes componentes bioquímicos apresentam efeitos sinérgicos já bem estabelecidos sobre os processos de cicatrização. Como um exemplo, a fibronectina, que atua na proliferação celular, guia a migração celular e potencializa os efeitos do PDGF-B. Estes dados preliminares sugerem que, por conseguinte, L-PRF não é apenas uma nova geração de gel de plaquetas, mas um completo concentrado usado na engenharia tecidual (DOHAN et al. 2006)

Esta técnica não requer o uso de anticoagulantes ou trombina bovina (nem outro agente gelificante), é simplesmente sangue centrifugado sem qualquer aditivo. (DOHAN et al. 2006a). É, assim, a técnica mais simples e rápida de preparar e aplicar e com o protocolo mais econômico desenvolvido até a data.

L-PRF é uma modificação do plasma rico em plaquetas (PRP) e uma matriz de fibrina autógena com plaquetas e leucócitos utilizada para aumentar a regeneração óssea liberando de forma gradativa citocinas em uma matriz de fibrina. (D. M. DOHAN et al. 2006a).

Fibrina é a forma ativa de uma molécula plasmática chamada fibrinogênio.(MOSESSON et al. 2001).

Ela se transforma em uma espécie de cola biológica capaz de consolidar o aglomerado plaquetário inicial, formando uma barreira protetora ao longo de

violações vasculares durante a fase da coagulação. Na verdade, o fibrinogênio é o substrato final de todas as reações da coagulação. Sendo uma proteína solúvel, o fibrinogênio é transformado em uma fibrina insolúvel pela trombina, enquanto o gel de fibrina polimerizado constitui a primeira matriz cicatricial da área lesionada.(CLARK RA , 2001).

Durante o processamento por meio de centrifugação do L-PRF, as plaquetas são ativadas e sua acentuada degranulação implica na liberação de várias citocinas e fatores de crescimento, tais como: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF α e β), fator de crescimento transformante β (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), interleucina (IL1- β), IL1-4, fator de necrose tumoral α , fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), trombospondina-1. Entre eles, TGF-b1, PDGF-AB, VEGF e trombospondina-1 são conhecidos como os fatores de crescimento liberados em maior quantidade do L-PRF, promovendo a cicatrização dos tecidos moles e duros através da estimulação da produção de colágeno para aumentar a resistência da ferida e iniciação da formação do calo ósseo. (DOHAN et al. 2006) e (DOHAN et al. 2009).

Esses fatores de crescimento aceleram a regeneração óssea precoce, aumentando angiogênese, quimiotaxia, mitose e proliferação celular. (DOHAN et al. 2009).

As aplicações deste biomaterial autólogo têm sido descritas na odontologia e em outras áreas como, a cirurgia plástica ou a otorrinolaringologia (TUNALI *et al.*, 2013).

No que diz respeito à sua utilização em odontologia, Choukroun e os seus colaboradores foram pioneiros no uso da PRF para promover a regeneração óssea em implantologia, abordagem que foi, posteriormente, alargada a outros âmbitos como: enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas, endodontia regenerativa, entre outras. O alcance das aplicações clínicas do PRF é amplo, porém, um conhecimento preciso deste biomaterial, da sua eficácia e dos seus limites são necessários para otimizar o seu uso sistemático na prática clínica diária (DEL CORSO, TOFFLER e EHRENFEST, 2010).

Essa revisão de literatura tem como objetivo estudar um novo modelo de aditivo

cirúrgico bioativo, expor sua evolução e confrontar pontos positivos e negativos ao longo de sua trajetória. Tal como, evidenciar suas características regenerativas teciduais, esclarecer o modo como ocorre a regulação inflamatória promovida por esse biomaterial, com a intenção de comprovar a efetividade do L-PRF na diminuição da morbidade em procedimentos cirúrgicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O desenvolvimento de adjuvantes cirúrgicos para a estimulação local de cura é um importante campo de investigação em ciências de biomateriais e farmacêuticas. O primeiro ato de cura associa muitos fatores, tais como, plaquetas, leucócitos, matriz de fibrina e fatores de crescimento. Todos estes agentes trabalham em sinergia durante o processo de coagulação, e muitos produtos tentam mimetizar esses mecanismos naturais, a fim de melhorar a cicatrização de um local cirúrgico.

De acordo com AGRAWAL, M. e AGRAWAL, V. (2014), o início da cura de qualquer ferimento é realizado pela formação de coágulos e inflamação, seguido por uma fase proliferativa, que compreende de epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação, deposição de colágeno e, finalmente, maturação do colágeno e contração.

O uso de aditivos cirúrgicos, que promovem a aceleração da cicatrização de feridas, fundamenta-se em estudos que relatam a liberação de fatores de crescimento de vários tipos por grânulos secretórios de plaquetas especializados. Eles foram discernidos em pelo menos sete fatores de crescimento diferenciados, secretados ativamente pelas plaquetas, desempenhando um importante papel na fase inicial de cicatrização de feridas. São eles: três isômeros do fator de crescimento plaquetário, denominados, em inglês, por *platelet-derived growth factor* (PDGF), fator de crescimento derivado de plaquetas, e seus isômeros – PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\beta\beta$ e PDGF $\alpha\beta$. Dois fatores de crescimento transformadores, *transforming growth factor* (TGF) – TGF β 1 e TGF β 2. O fator de crescimento endotelial vascular, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e, por fim, o fator de crescimento epitelial, *epidermal growth factor* (EGF). Os TGFs ativam os fibroblastos para formação de procolágeno, que resulta na deposição de colágeno e cicatrização da ferida. Os PDGFs, associados ou não com os TGFs, aumentam a vascularização dos tecidos, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam produção de tecido

de granulação e melhoram a osteogênese. O VEGF incita o início do processo de angiogênese, a mitogênese e a permeabilidade vascular e o EGF conduz o crescimento de tecido epitelial, proporcionando também a angiogênese. Estas substâncias transformam a cicatrização um processo mais rápido e eficiente, beneficiando a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilagosos ou de células de gordura. Ademais, o plasma rico em plaquetas (PRP) dispõe de proteínas como a fibrina, fibronectina e vitronectina, que promovem a osteocondução através de sua ação na adesão celular, além da própria ação do TGF β e do PDGF na estimulação dos osteoclastos, aperfeiçoando a qualidade dos resultados obtidos nos enxertos ósseos (VENDRAMIN *et al.*, 2006).

Os fatores de crescimento são liberados quando ativados por um estímulo ou agregados por alguns ativadores, entre eles o TGF- β e o PDGF- $\alpha\beta$, que são os dois tipos em maiores quantidades. A promoção da cicatrização de tecidos moles e duros ocorre através da estimulação da produção de colágeno para melhorar a resistência da ferida e iniciar a formação do calo (LING HE *et al.*, 2009).

O potencial regenerativo das plaquetas foi introduzido em 1974, tendo sido ROSS *et al.* (1974) os primeiros a descreverem os fatores de crescimento (FCs) contidos nas plaquetas, que, isoladas do sangue periférico, são uma fonte autóloga desses fatores. Eles são mitogênicos (proliferativos), quimiotáticos (estimulam a migração dirigida de células) e induzem a angiogênese (estimulação da formação de novos vasos sanguíneos) (AGRAWAL, M. e AGRAWAL, V., 2014).

Atualmente, tem sido bem documentado que as plaquetas fornecem um rico conjunto de fatores de crescimento, no entanto, o conceito de produto rico em plaquetas, por vezes foi erroneamente resumido em um conceito mágico de fatores de crescimento. Este vício por fatores de crescimento pode influenciar e provocar o esquecimento dos papéis-chave de outros agentes presentes nestes produtos derivados do sangue. Entre a crença mística, os interesses comerciais e a verdade científica são necessários vários anos para aprovar o papel fundamental da fibrina e dos leucócitos nestes produtos.

Considerando-se a complexidade da coagulação e reabilitação de tecidos, os fatores

de crescimento não são os únicos atores no processo fundamental da cicatrização (DOHAN *et al.*, 2012).

Na realidade, as plaquetas são os principais elementos envolvidos nesse processo, através de sua coagulação, e pela libertação de FCs que iniciam e sustentam a cicatrização (PINHEIRO, 2014).

Os concentrados de plaquetas foram produzidos com o desígnio de combinar as propriedades vedantes de fibrina com os fatores de crescimento das plaquetas, proporcionando, portanto, uma base ideal para a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. No desenrolar dos anos, uma variedade de concentrados plaquetários vem se desenvolvendo e evoluindo, seus resultados promissores foram comprovados em estudos de diversos autores. Particularmente são eles, a cola de fibrina, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e a Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) .(AGRAWAL, M. e AGRAWAL, V., 2014).

2.1 EVOLUÇÃO DE CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

2.1.1 Cola de Fibrina

Conforme o estudo de PRAKASH e THAKUR (2011), a cola de fibrina foi o primeiro aditivo cirúrgico a ser utilizado, disponível comercialmente na Europa ao final de 1970 por Matras. Uma importante propriedade da cola de fibrina é que esta reproduz a fase final da cascata de coagulação, agindo de forma independente a partir dos mecanismos internos de coagulação. Portanto, ela vai conseguir a hemostasia da ferida independentemente de defeitos de coagulação. A cola de fibrina não é tóxica, é biodegradável, promove o crescimento local e reparação de tecidos.

Os riscos são pequenos para os grandes benefícios (ROY, GERALD e SYDORAK, 1994). São utilizadas para hemostasia tópica, vedação de tecidos e como agentes

ósseos substitutos. Para os adesivos comerciais homólogos existe risco de infecção cruzada, o que provocou o desenvolvimento de uma cola de fibrina autóloga, do plasma do próprio paciente, mas, com propriedades físicas menos satisfatórias. Dessa maneira a cola de fibrina apresenta dois tipos.

O primeiro tipo são colas homólogas, comerciais, disponíveis como dois componentes de preparações. Um concentrado de fibrinogênio/fibronectina/fator XIII dissolvido em uma solução antifibrótica (geralmente de aprotinina) e um concentrado de trombina dissolvido em cloreto de cálcio. A mistura dos dois componentes imita o último estágio da cascata de coagulação, resultando num coágulo de fibrina.

Um estudo de ROY (1994) relata que, nos Estados Unidos, por razões como risco de hepatite, falta de disponibilidade comercial e a, até então, não aprovação do órgão americano de controle de medicamentos e alimentos *Food and Drugs Administration* (FDA), que significa Administração de Comidas e Remédios (em português), a cola de fibrina estava sendo subutilizada. Não obstante, na mesma época na Europa, a comercialização da cola de fibrina era viável e existiam ainda estudos e documentações de seus benefícios e eficácia. Ainda assim, questionou-se que os riscos da cola de fibrina homóloga poderiam ser evitados pela elaboração de um produto autólogo, resultando em uma maior aceitação e, portanto, uso, desde que não fosse de produção complexa, demorada ou dispendiosa. Por conseguinte, surgiu o segundo tipo de cola de fibrina, um biomaterial autólogo, preparado inteiramente a partir do próprio plasma do paciente em razão dos riscos de infecção cruzada. Entre suas aplicações clínicas destacam-se o tratamento dos defeitos intra-ósseos, aumento do cume alveolar, tratamento de recessão, regeneração óssea envolvendo implantes dentários, aumento do assoalho do seio e tratamento de feridas de extração.

Possui como limitações, uma maior fraqueza e menor resistência a estresses físicos do que as colas comerciais homólogas. Seus efeitos benéficos em tecidos moles são bem documentados, no entanto, a sua contribuição para cirurgia óssea, e cirurgia periodontal continua controversa e requer uma pré - doação ou processamento dispendioso de sangue autólogo (PRAKASH e THAKUR, 2011).

2.1.2 PRP – Primeira geração de concentrado plaquetário

Após o primeiro artigo de MARX *et al.* (1998) deu-se início a tendência por tecnologias de concentrados plaquetários em odontologia. O termo "plasma rico em plaquetas (PRP)" foi usado pela primeira vez em 1954 por Kingsley, para designar um concentrado de trombócitos durante as experiências de coagulação do sangue. O conceito de concentrado de plaquetas para uso tópico foi, de fato, muito mais velho que o artigo de MARX *et al.* (1998). Poucos anos depois das primeiras publicações acerca de colas de fibrina, preparações autólogas foram testadas em oftalmologia, cirurgia geral e neurocirurgia. Estes produtos ricos em plaquetas foram usados apenas como adesivos de tecido de fibrina, e não como estimuladores de cicatrização: as plaquetas devem suportar uma forte polimerização da fibrina, e, portanto, uma vedação mais eficiente.

Não foram considerados fatores de crescimento e propriedades curativas (EHRENFEST *et al.* 2012) e (KNIGHTON *et al.* 1986) introduziram a primeira manifestação clínica de que concentrados de plaquetas promovem a cicatrização local, usando o protocolo de centrifugação empírica em 2 passos. Estes autores trataram 49 pacientes com úlceras cutâneas crônicas não-curadas e relataram bons resultados. Infelizmente, em todos esses estudos, o teor exato desses produtos permaneceu desconhecido, particularmente no domínio sobre o conteúdo de leucócitos. Somente as plaquetas foram quantificadas.

Os PRPs são produtos mais complexos do que as preparações farmacêuticas clássicas, pois, seus efeitos clínicos são dependentes das características versáteis e adaptáveis intrínsecas do sangue do paciente e em numerosos agentes contidos nestes produtos. Concentrados de plaquetas são, na verdade, concentrados de sangue, e sua biologia é tão complexa como o sangue em si (EHRENFEST *et al.* 2012).

O concentrado de plasma rico em plaquetas (cPRP), fundamenta-se cientificamente

no fato de os fatores de crescimento, em inglês *Growth Factors* (GFs), serem conhecidos por desempenharem um papel fundamental em mecanismos de reparação do tecido duro e mole, que exibem propriedades que promovem e modulam funções celulares envolvidas na cicatrização de tecidos, regeneração e proliferação de células (PRAKASH *et al.*, 2011).

Ainda sobre o estudo de PRAKASH *et al.*, (2011), o protocolo seguido para a preparação do cPRP segue uma ordem. O sangue é retirado com anticoagulante e, duplamente centrifugado, obtendo-se um concentrado de plaquetas rico em plasma. Ele é, então, misturado com trombina bovina e cloreto de cálcio, no momento da aplicação. Rapidamente ocorre sua solidificação. A polimerização do fibrinogênio, também concentrado durante a preparação do cPRP, irá constituir uma interessante matriz de fibrina com propriedades hemostáticas e adesivas. Em virtude de sua propriedade de aceleração da cicatrização dos tecidos moles, pode-se destacar como principais aplicações clínicas do cPRP, os procedimentos de elevação do seio, aumento de crista, reparação da fenda alveolar palatina, reparo oral/ fístula nasal, defeitos intra-ósseos, cirurgias de reconstituição de mandíbula e procedimentos de tecidos moles, como enxertos gengivais e subepiteliais.

Dentre as limitações do cPRP é relevante citar a preocupação com o uso de trombina bovina, que pode ser associado com o desenvolvimento de anticorpos para fatores V, XI e trombina, resultando no risco de coagulopatias (GUPTA *et al.*, 2011).

Outra importante limitação do cPRP é a falta de uniformidade na elaboração de seus protocolos, como por exemplo, diferentes concentrações de plaquetas com diferentes tempos de armazenamento. Além disso, de acordo com LING *et al.* (2009), debate-se a real eficácia do cPRP no auxílio da cicatrização de tecidos duros, estudos sugeriram que ele medeia apenas os primeiros aspectos do processo de reparação óssea por meio de um mecanismo de osteopromoção. Isto tem sido associado com a curta duração de liberação do cPRP, em que a ativação da trombina causa 81% de níveis totais de TGF β 1 e níveis semelhantes do total de PDGF $\alpha\beta$ para serem liberados no interior do primeiro dia com significativa diminuição da liberação em 3, 7, e 14 dias.

TSAY *et al.* (2005) sugeriram que a duração prolongada da liberação do fator de

crescimento pode facilitar um processo de reparo ósseo melhorado.

KARP *et al.* (2004) relataram que uma concentração mais elevada de trombina impediu a migração de células durante a cicatrização óssea.

LACOSTE *et al.* (2003) também sugeriram que a principal razão para o efeito inferior da cPRP sobre a regeneração óssea é que a elevada concentração de trombina usada em práticas clínicas causa liberação rápida dos mitógenos. Esta liberação, por ter ocorrido antes do início do crescimento dos osteoblastos do tecido circundante, deixa menos mitógenos para serem liberados após o início do crescimento interno celular, limitando o efeito de cPRP em regeneração óssea.

2.1.3 PRF – Segunda geração de concentrado plaquetário

De acordo com CHOUKROUN *et al.* (2006), Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) pertence a uma nova geração de concentrado imunológico e plaquetário, com processamento simplificado e sem manipulação bioquímica do sangue, o que, segundo (DOHAN *et al.* 2010), é crucial para determinar a organização tridimensional da rede de fibrina. O protocolo para a confecção deste biomaterial é muito simples e barato: o sangue é recolhido em tubos secos de vidro ou de plástico revestidos de vidro e imediatamente centrifugado. O coágulo de plaqueta rica em fibrina (PRF) é formado por um processo de polimerização natural durante a centrifugação, e a sua arquitetura tridimensional de fibrina é responsável pela liberação lenta de fatores de crescimento e glicoproteínas da matriz por um período de, aproximadamente, 7 dias.

Após a centrifugação, três camadas são formadas: uma base de glóbulos vermelhos, *red blood cells* (RBC) na parte inferior, o plasma acelular, plasma pobre em plaquetas, *platelet poor plasma* (PPP), na forma de um sobrenadante, e um coágulo PRF no meio (**Fig. 2.1A**). Este coágulo dispõe de muitos promotores de cura e de imunidade presentes na coleta de sangue inicial. Plaqueta rica em fibrina pode ser utilizada diretamente, como um coágulo ou, após compressão, como uma forte

membrana (**Fig. 2.1B**). Embora fatores de crescimento e plaquetas desempenhem um papel importante na biologia da PRF, a arquitetura tridimensional da fibrina e o seu conteúdo de leucócitos são dois parâmetros chave, raramente avaliados. A maioria dos estudos só destacam as concentrações de plaquetas e fatores de crescimento. Contudo, a arquitetura de fibrina influencia diretamente a biologia de todos os biomateriais à base de fibrina (DOHAN *et al.* 2010).

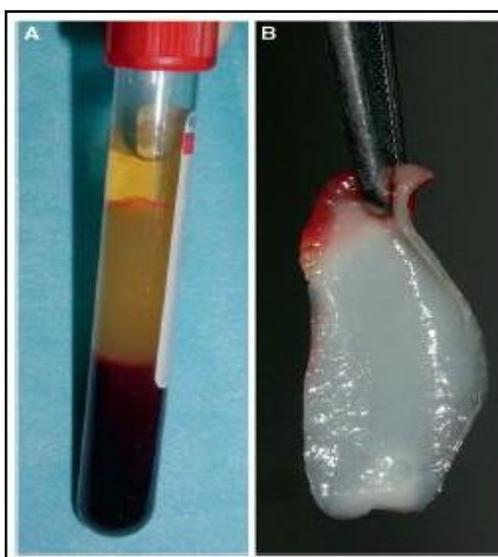


Figura 2.1A – Base de glóbulos vermelhos na parte inferior, o plasma acelular - plasma pobre em plaquetas - na forma de um sobrenadante, e um coágulo PRF no meio.

Figura 2.1B – Plaquetas foram coletadas e transformadas em membrana. Este biomaterial autólogo constituído de fibrina, plaquetas e leucócitos mostra uma arquitetura específica.

Fonte:DOHAN

et

al.

2010

Na análise por microscopia de luz realizada por DOHAN *et al.* (2010), observou-se que o coágulo de PRF pode ser descrito como composto de duas partes principais observáveis a olho nu: uma porção de fibrina amarela, que constitui o corpo principal, e uma porção vermelha localizada na extremidade do coágulo - total de glóbulos vermelhos. Entre estas duas zonas, existe uma camada esbranquiçada chamada de *buffy coat* (semelhante à camada esbranquiçada em tecnologias PRP) onde estão concentrados corpúsculos celulares.

O protocolo de fabricação da PRF, proposto por Choukroun, foi definido como um conceito mecânico onde as plaquetas e leucócitos são projetados dentro do coágulo de fibrina de forma estável, mesmo com ligeiras modificações de variáveis de produção. Portanto, a arquitetura do coágulo é semelhante independente dos pacientes, do tubo de coleta ou do método de compressão do coágulo. Não respeitar o protocolo original pode levar à formação inadequada de coágulos de PRF e também diferentes concentrações de plaquetas e leucócitos, comprometendo assim a incorporação intrínseca de fatores de crescimento dentro da rede de fibrina, resultando em variações de rendimento nos resultados clínicos. (DOHAN *et al.* 2010)

Ainda sobre o estudo de DOHAN *et al.* (2010), o exame de microscopia eletrônica de varredura confirmou que mais da metade de leucócitos foram presos na membrana de PRF e não foram danificados durante a sua preparação. Este resultado tem grande importância clínica, pois, a considerável quantidade de leucócitos implantado no interior de cada membrana, torna ainda mais eficiente a regulação de reações inflamatórias. Além disso, a composição celular da PRF implica que este material é um tecido vivo derivado do sangue e têm de ser manuseado com cuidado para manter seu conteúdo celular vivo e estável. Esta parte rica em leucócitos se encontra na camada intermediária da membrana de PRF, anteriormente já denominada de *buffy coat*, portanto os médicos

devem recolher essa camada esbranquiçada para a cirurgia. Este processo é feito com uma tesoura e continua sendo dependente do operador, que deve ter um conhecimento preciso da arquitetura do coágulo.

A fibrina desempenha um papel determinante na agregação plaquetária durante a hemostasia (DOHAN *et al.*, 2006), e os produtos de degradação do fibrinogênio, segundo CHOUKROUN *et al.* (2006), estimulam a migração de neutrófilos e aumentam a expressão de um receptor de membrana que permite adesão de neutrófilos ao endotélio e ao fibrinogênio, assim como a sua transmigração.

Todas as aplicações clínicas conhecidas da PRF são estruturadas em quatro eventos fundamentais da cicatrização, sendo eles a angiogênese, controle imunológico, aproveitamento de células-tronco circulantes e recobrimento de ferida por epitélio. Esses eventos desempenham uma cicatrização de tecidos acelerada devido ao desenvolvimento eficaz da neovascularização, acelerado fechamento da ferida com rápida remodelação do tecido cicatricial e ausência quase total de eventos infecciosos. Apesar de plaquetas e citocinas leucocitárias desempenharem um papel importante na biologia do biomaterial, o suporte da matriz de fibrina certamente constitui o elemento determinante responsável para o potencial terapêutico da PRF. Além disso, os principais fatores de crescimento da angiogênese são incluídos no gel de fibrina (CHOUKRON *et al.*, 2006), o que segundo GUPTA *et al.* (2011), quando liberados após a ativação das plaquetas aprisionadas dentro da matriz de fibrina, estimulam uma resposta mitogênica também em perióstio de osso para sua reparação durante a cicatrização de feridas.

Os fatores de crescimento combinados com a matriz de fibrina foram estudados para acelerar o reparo de tecido ósseo e permitirem a proliferação de fibroblastos, o favorecimento da vascularização tecidual, a formação de colágeno, a mitose de células estaminais mesenquimais e

células endoteliais, assim como de osteoblastos, desempenhando papéis fundamentais na taxa e extensão de neoformação óssea (ANILKUMAR *et al.*, 2009).

Além disso, as propriedades biológicas da PRF embasam suas aplicações clínicas para prevenção de hemorragia e para favorecer o processo de cicatrização tissular, principalmente em complicações (DE PASCALE *et al.*, 2015).

Segundo CHOUKROUN *et al.* (2006) a rigidez da matriz influencia consideravelmente a formação capilar das células endoteliais, o que é um fator crucial para a compreensão das diferenças de cinética biológicas entre a cola de fibrina, concentrados de plasma rico em plaquetas cPRP, e PRF. A matriz de fibrina orienta a cobertura de tecidos lesados, afetando o metabolismo das células epiteliais e fibroblastos. Após a migração e a degradação da fibrina, fibroblastos iniciam a síntese de colágeno.

A PRF é favorável ao desenvolvimento de uma angiogênese direta, uma microvascularização, pois fornece uma matriz - um suporte - para que as células endoteliais sofram mudança de fenótipo. Esse processo é explicado pela estrutura tridimensional do gel de fibrina e as citocinas presas em sua malha, que induzem a angiogênese, sobretudo porque os fatores de crescimento possuem grande afinidade pela rede de fibrina. Este biomaterial é capaz de guiar a migração de células epiteliais na sua superfície, protegendo feridas abertas e acelerando o processo de cicatrização. Outro importante aspecto da matriz de fibrina é que esta apresenta considerável concentração de leucócitos, promovendo ainda a sua migração, portanto, sua utilização parece ser de grande interesse em caso de feridas infectadas, segundo estudo de CHOUKROUN *et al.* (2006).

Vários autores têm demonstrado que a matriz de fibrina é um ótimo suporte para células-tronco mesenquimais transplantadas com o objetivo de regeneração de defeitos ósseos, já que as células-tronco mesenquimais da

medula óssea contribuem para a regeneração de todos os tipos de células ósseas e muitos outros tipos de tecidos. Tal cura exige acúmulo dessas células e sua conversão para o fenótipo dos osteoblastos (CHOUKRON *et al.*, 2006).

A experiência clínica de CHOUKRON *et al.* (2006) confirma que o PRF pode ser considerado um biomaterial de cura, possuindo todos os parâmetros necessários para permitir a cura ideal e acelerar o processo de cicatrização fisiológica.

2.2 Protocolo do L-PRF

A preparação do L-PRF requer uma centrífugadora adequada (PC-02, Process Ltd., Nice France) e um kit de colheita que inclui: uma seringa borboleta de calibre 24, e tubos de ensaio de 10 ml para colheita do sangue.

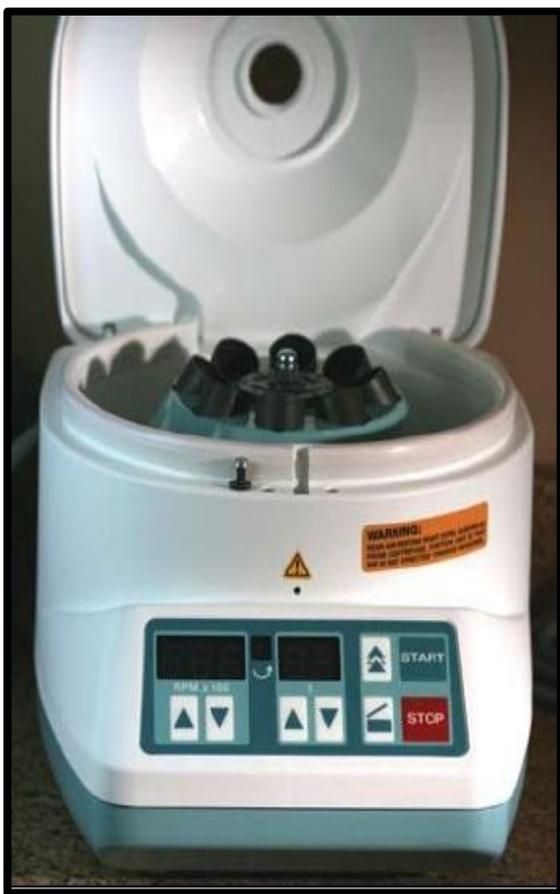


Figura 2.2.A – PC-02, Process Ltd., Nice France (Michael Toffler et al. 2009)

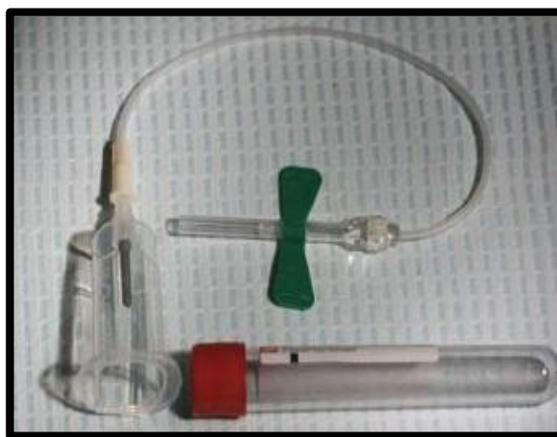


Figura 2.2.B – Seringa borboleta de calibre 24, e tubos de ensaio de 10 ml para colheita do sangue. (Michael Toffler et al. 2009)



Figura 2.2.C – Caixa de PRF completa

O protocolo de preparação do L-PRF é muito simples: o sangue é colhido para os respetivos tubos de ensaio sem anticoagulante que são imediatamente centrifugados a 3000 rpm (aproximadamente 400g) por 10 minutos. (DOHAN et al. 2006a)

Em alguns minutos, a ausência de anticoagulante implica a ativação da maioria das plaquetas da amostra de sangue em contacto com as paredes do tubo que desencadeia a cascata da coagulação. Inicialmente o fibrinogénio é concentrado no topo do tubo, até que a trombina circulante o transforme numa rede de fibrina. O resultado é um coágulo de fibrina obtido no meio do tubo entre os glóbulos vermelhos (red corpuscles base – RCB) do fundo do tubo e o plasma acelular, resultante de uma polimerização natural e progressiva que ocorre durante a centrifugação (acelular plasma – platelet poor plasma, PPP) no topo. (DOHAN et al. 2006a)

O L-PRF é então removido do tubo, e os glóbulos vermelhos raspados e descartados. Pode ser usado diretamente como um coágulo ou como uma membrana após comprimido. Esta compressão é realizada na caixa estéril do PRF, sendo este colocado na grelha da caixa e coberto com a capa e uma compressa por 1 minutos para que liberte lentamente o exsudato nele contido. (MICHAEL TOFFLER et al. 2009)

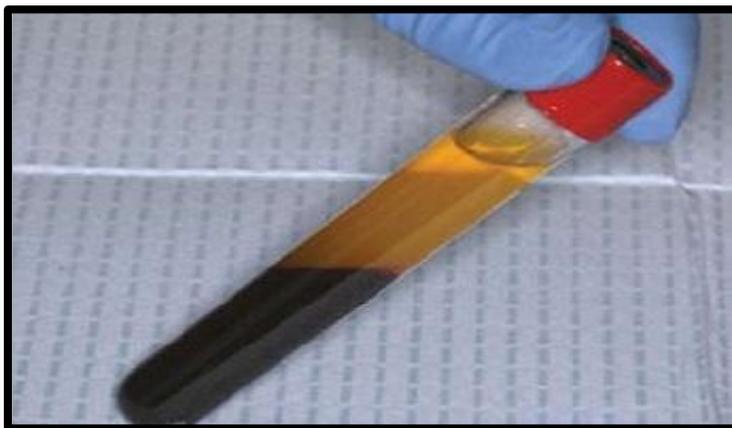


Figura 2.2.D – Uma única centrifugação produz 3 camadas: a do topo contendo PPP, a do meio o PRF, e a do fundo do tubo glóbulos vermelhos. (MICHAEL TOFFLER et al. 2009)

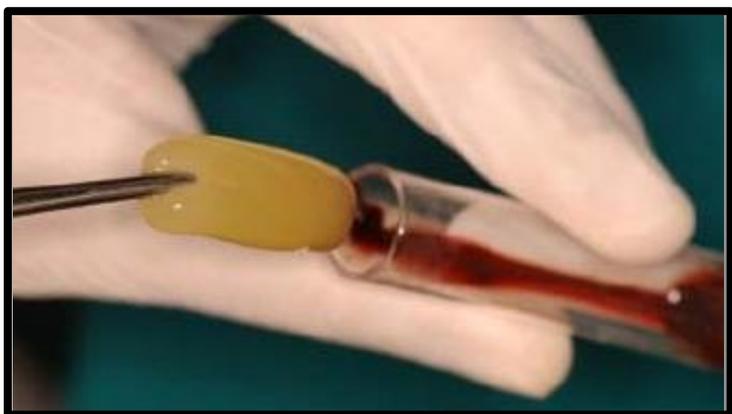


Figura 2.2.E – Uma pinça é inserida dentro do tubo para gentilmente retirar o coágulo de fibrina com os glóbulos vermelhos presos. (MICHAEL TOFFLER et al. 2009)



Figura 2.2.F – O coágulo de fibrina é transferido para uma superfície de metal estéril e os glóbulos vermelhos são raspados e descartados. (MICHAEL TOFFLER et al. 2009)

A caixa do PRF foi concebida para produzir membranas de grossura constante que permanecem hidratadas por muitas horas e para recuperar o exsudato espremido da matriz de fibrina que é rico em proteínas vitronectinas e fibronectinas. O exsudato recolhido no fundo da caixa pode ser usado para hidratar materiais de enxertos, lavar o local cirúrgico e armazenar enxertos autólogos. (MICHAEL TOFFLER et al. 2009)

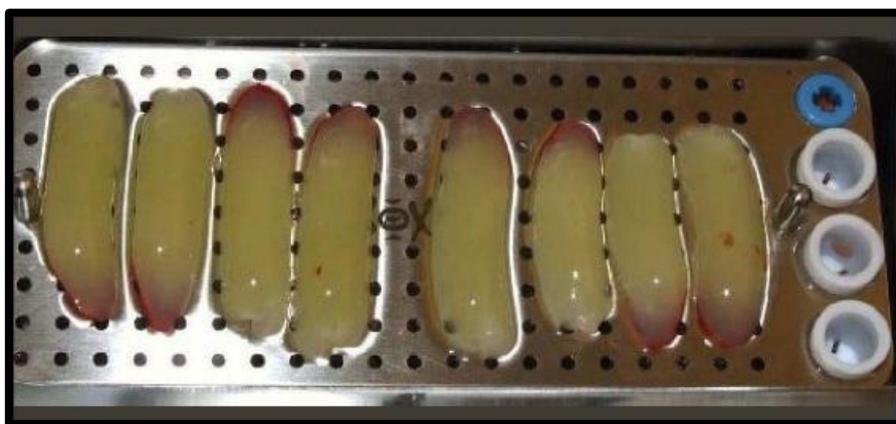


Figura 2.2.G – Os coágulos PRF são colhidos e colocados na caixa de PRF. (M Del Corso et al. 2010)



Figura 2.2.H – Depois da compressão na caixa de PRF são obtidas membranas de PRF uniformes (M Del Corso et al. 2010)

Segundo DOHAN et al. (2006) maioria das citocinas não são encontradas nem no plasma acelular nem no exsudato, permanecendo presas na matriz de fibrina do PRF, mesmo após esta ser espremida, o que implica uma íntima incorporação destas moléculas na arquitetura molecular dos polímeros de fibrina, e excluindo a possibilidade destas se perderem juntamente com o exsudato.

No entanto, uma outra alternativa para a obtenção de uma membrana PRF é

pressionar o coágulo entre duas gazes espremendo assim os fluidos do coágulo de fibrina (RAJA e NAIDU 2008 cit. in KUMAR & SHUBHASHINI 2012).

O coágulo PRF pode também ser colocado no interior do cilindro da caixa de PRF e lentamente comprimido com o pistão que resulta em pequenos e grossos discos de PRF que medem 1 cm de diâmetro. Estes são úteis para a proteção de alvéolos pós-extração. (TOFFLER et al. 2009 cit. in KUMAR & SHUBHASHINI 2012).

O sucesso desta técnica depende da rapidez da colheita do sangue e transferência deste para a centrífuga. Sem anticoagulante a amostra de sangue começa a coagular logo imediatamente após o contacto com o vidro do tubo, e são precisos poucos minutos de centrifugação para concentrar o fibrinogénio no meio e no topo do tubo. A rapidez do processo é o único meio de obter um PRF utilizável, dado que se se demorar muito tempo erros ocorrerão, e a fibrina irá polimerizar em direcções difusas no tubo e só um pequeno coágulo sem consistência será obtido. (DOHAN et al. 2006a)

2.3 APLICAÇÕES DA L-PRF EM ODONTOLOGIA

Os clínicos desejam materiais que oferecem simplicidade e previsibilidade para uma ampla variedade de defeitos, minimizando o potencial de risco de complicações. Para esta infinidade de opções de tratamento, produtos biológicos foram introduzidos como materiais aditivos. Atualmente, os estudos estão focados na utilização clínica do L-PRF, um material rico em plaquetas autólogas e fatores de crescimento, que proporciona uma armação osteocondutora e estimulam células do próprio paciente no sentido de uma resposta regenerativa. É uma matriz de fibrina, onde as citocinas de plaquetas, fatores de crescimento e células são presas, podendo ser liberadas depois de um determinado período de tempo, servindo como uma membrana reabsorvível. L-PRF é basicamente um concentrado de fatores de crescimento e outros agentes que promovem a cicatrização de feridas e regeneração

tecidual. É usado em várias disciplinas de odontologia para reparar diversos tipos de lesões e regenerar tecidos dentários e orais (AGRAWAL *et al.*, 2014).

KHISTE e TARI (2013) listaram as aplicações clínicas orais da PRF em:

- (a) elevação de seio maxilar em combinação com enxertos ósseos, a fim de acelerar a cicatrização;
- (b) proteção e estabilização de materiais de enxerto em procedimentos de aumento de crista;
- (c) preservação do alvéolo após extração ou avulsão;
- (d) cobertura de raízes de um ou mais dentes com recessão;
- (e) tratamento de defeito ósseo de 3 paredes;
- (f) tratamento de lesão endodôntica periodontal combinada;
- (g) tratamento de defeitos de furca;
- (h) aprimoramento da cicatrização de feridas palatais após enxerto gengival livre;
- (i) preenchimento de cavidade cística.

2.3.1 Levantamento de seio maxilar e implantodontia

Na implantodontia, a utilização deste biomaterial tem como principal objetivo o aumento do tecido ósseo envolvente para a colocação de implantes, já que a falta de espessura adequada, assim como a proximidade dos seios maxilares, na maxila, e o nervo alveolar inferior, na mandíbula são os problemas mais frequentes que os profissionais dessa área enfrentam (TUNALI *et al.*, 2013).

Isto posto, surgiram procedimentos cirúrgicos de aumento ósseo, tais como

levantamento de seio e regeneração óssea guiada, que atuam em conjunto com a implantodontia, no propósito de gerar osso suficiente que suporte a colocação de implantes. Novas formas terapêuticas podem ser desenvolvidas com a adição da PRF aos materiais de enxerto (SIMONPIERI et al., 2009).

A abordagem consensual é a de considerar que a maioria dos materiais são eficientes para cirurgia de levantamento de seio maxilar, considerando o alto potencial osteogênico da membrana de Schneider e o seu bom comportamento a favor do perióstio. (SIMONPIERI et al. 2011)

No entanto, a escolha do material ou da associação de materiais irão influenciar o tempo de espera antes da cicatrização e remodelação adequada do material enxertado, a colocação do implante, e carga funcional. (Simonpieri et al. 2011)

Em um primeiro estudo sobre o uso de PRF em cirurgias orais de Choukroun *et al.* (2006), avaliou-se o potencial da PRF em combinação com enxerto ósseo liofilizado para melhorar a regeneração óssea em levantamento do seio maxilar. Nove aumentos de assoalho foram realizados, em 6 locais foram adicionados à PRF partículas de enxerto ósseo liofilizado (teste), e em 3 locais foi usado enxerto sem PRF (grupo controle). Quatro meses mais tarde, para o grupo teste, e 8 meses mais tarde, para o grupo controle, as amostras ósseas foram colhidas a partir da região acrescida durante o processo de inserção do implante. Após 4 meses de tempo de cura, a maturação histológica do grupo teste parece ser idêntica à do grupo controle, que foi durante um período de 8 meses. Além disso, as quantidades ósseas recém-formadas foram equivalentes entre os dois protocolos, mostrando-se uma opção considerável ao se realizar um levantamento de seio com implantação simultânea.

Alguns estudos apontam a utilização de PRF como único material de preenchimento, outros ainda mostram o uso de PRF em combinação com outros materiais de enxerto ósseo em diversas técnicas diretas e indiretas de elevação, como elevação do assoalho, elevação do seio maxilar mediada por osteótomo, elevação minimamente invasiva e etc. De acordo com SIMONPIERI *et al.* (2011), a escolha do material ou da associação de materiais durante o procedimento de elevação do seio maxilar influencia o período de espera até a cura adequada e remodelação do material enxertado, a colocação do implante e até o carregamento funcional. Sendo o PRF a

técnica mais simples e barata quando abordada a tecnologia de concentrados plaquetários, permitindo a obtenção de um volume significativo de biomaterial, produzido em pouco tempo.

Uma pesquisa abrangendo 23 levantamentos de seio em 20 pacientes, utilizou somente o PRF de Choukron como biomaterial enxertado. Os coágulos de PRF foram inseridos e comprimidos no interior da cavidade subsinuesa a fim de preenche-la por completo, promovendo a estabilização dos implantes, e uma membrana de PRF era utilizada para cobrir a janela de osteotomia com o intuito de proteger a cavidade subsinuesa preenchida do potencial de invaginação mucogengival. Após a cirurgia, a cicatrização foi normal em todos os pacientes e em seis meses todos os implantes apresentavam-se clinicamente estáveis durante o torque do pilar no implante. Além disso, nenhum implante foi perdido durante os seis anos da experiência e o ganho ósseo vertical mostrou-se sempre substancial e estável (SIMONPIERI *et al.*, 2011).

MARCO TATULLO *et al.* 2012 estudaram 60 pacientes com grandes atrofia da maxila superior necessitando de cirurgia reconstrutiva pré-implante de elevação do seio. 72 levantamentos do seio foram realizados, com colocações de implantes posteriores (240 foi o número de implantes colocados). Ao grupo teste foi efetuado levantamento de seio com o uso de Bio-Oss e L-PRF, ao grupo controle foi efetuado levantamento de seio com o uso apenas de Bio-Oss. Durante a elevação do seio, nenhuma perfuração da membrana do seio foi notada. Em todos os casos tratados, a cirurgia reconstrutiva pré-implante e a posterior reabilitação por implantes foram bem sucedidas.

Os resultados histológicos foram os seguintes nos demais protocolos:

1) Protocolo inicial:

Neste protocolo, obtiveram-se os resultados mais interessantes sobre a eficácia do L-PRF usado como material de enxerto. Os resultados histológicos mostraram que as amostras coletadas a partir do grupo teste após 106 dias, com a adição de L-PRF

"foram constituídas por tecido ósseo lamelar com lacunas de osteócitos acelulares e matriz óssea intensamente eosinofílica misturada com fragmentos de tecido ósseo lamelar sem lacunas de osteócitos e uma matriz óssea ligeiramente eosinofílica (provavelmente a ser atribuída ao tecido ósseo recém-formado). Nesses fragmentos, os osteócitos são às vezes dispostos horizontalmente na fronteira com o trabeculado ósseo. O estroma interposto é descontraído e ricamente vascularizado.

Em vez disso, as amostras coletadas a partir do grupo controle, revelou que os fragmentos foram constituídos por trabéculas de tecido ósseo lamelar ausente de osteócitos, imersos num estroma fibroso denso e pobremente celular, no qual estão incluídos fragmentos de osso lamelar sem lacunas de osteócitos e com uma matriz óssea intensamente eosinofílica. Também descobriram lacunas globulares, óticamente vazias, provavelmente como resultado dos grânulos de Bio-Oss ainda não integrados na matriz óssea.

2) Protocolo intermédio:

O estudo histológico das amostras coletadas a partir do grupo teste após 120 dias mostrou uma histologia muito encorajadora, confirmando a capacidade osteocondutora do L-PRF usado como material de osteorregeneração. A histologia provou que os fragmentos eram constituídos por tecido ósseo lamelar sem lacunas de osteócitos, delimitado por osteoblastos. O estroma interposto era descontraído e ricamente vascularizado por vasos capilares. Nenhuma célula inflamatória foi revelada.

3) Protocolo tardio:

Neste protocolo, pôde-se observar no grupo teste a presença de trabéculas de osso lamelar maduro num estroma descontraído e ricamente vascularizado. No entanto, a investigação histomorfométrica e análise histológica revelou que a boa capacidade osteocondutora do L-PRF, levou à produção de um novo osso, já 106 dias depois da cirurgia reconstrutiva. A análise histológica revelou

também que a utilização de L-PRF produziu, já no protocolo inicial, uma notável neoangiogénese agindo como um bom suporte trófico para o tecido ósseo recém-formado. Isto reduziu as áreas de osso não vital em relação ao grupo controle.

Os casos clínicos relatados no presente estudo atingiram uma taxa de 100% de sucesso clínico no levantamento do seio, usando o L-PRF obtido segundo o protocolo do Choukroun. Além disso, os autores concluíram que, com a ajuda do L-PRF, o tempo de cicatrização é significativamente reduzido, em comparação com os 120-150 dias descritos na literatura, favorecendo uma ótima regeneração óssea. Desta forma, aos 106 dias, já é possível conseguir uma boa estabilidade primária dos implantes endósseos, embora carentes de carga funcional.

MAZOR et al., (2009) estudou uma série de casos que consistiu em 25 elevações do seio, com a colocação de uma ou duas membranas L-PRF sob a membrana de Schneider, realizados em 20 pacientes que foram tratados com 41 implantes. Este estudo foi realizado sem um grupo de controle e a interpretação foi baseada apenas em observações de uma série de casos relevantes. Este estudo foi desenhado para a validação de L-PRF como material de enchimento.

Após a cirurgia, a cicatrização foi normal para todos os pacientes. Seis meses após a cirurgia, todos os implantes estavam clinicamente estáveis durante o aperto do pilar protético. Todos os implantes foram colocados em altura de osso residual entre 1,5 e 6 mm. As radiografias pós-operatórias iniciais panorâmicas (8 a 10 dias após a cirurgia) mostraram implantes inseridos na cavidade do seio sem tecido denso em torno deles, sendo que o enchimento de L-PRF é radiotransparente. No entanto, 6 meses após a elevação do seio, em torno da cavidade do seio, os implantes estavam rodeados de um tecido semelhante a osso denso. A análise radiográfica mostrou que o ganho ósseo final foi sempre muito significativo (ganho ósseo: entre 7 e 13 mm). Nesta série, nenhum implante foi perdido, resultando numa taxa de sucesso de 100%, após 6 meses. Com efeito, após análises radiológicas, a posição do seio maxilar final era para todos os casos, a continuação da extremidade

do implante (**Figura 2.3.1**).

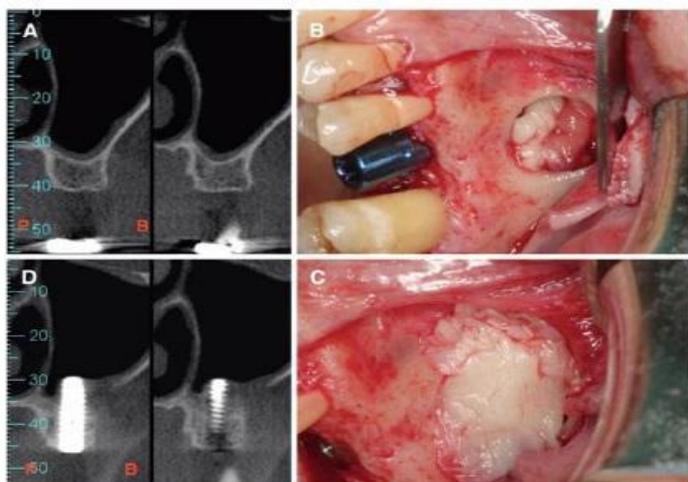


Figura 2.3.1 – A) análise da CT-3D antes da cirurgia apresentou uma altura de 6 mm de osso residual na primeira região molar. P = palatino, B = vestibular. B) Um seio foi elevado e preenchido com coágulos de PRF. Um implante longo de 15 mm cônico e micro-rosqueado foi facilmente colocado na altura do osso residual e manteve a membrana de PRF a remendar o seio numa posição elevada. C) Duas membranas PRF foram utilizadas para cobrir a janela lateral. D) Seis meses após a cirurgia, a análise da CT- 3D mostrou o implante cercado de tecido ósseo de aparência densa. (Mazor et al. 2009)

Todas as biópsias apresentaram osso vital bem organizado , muitas vezes com mais de 30% da matriz óssea. Não foram usados substitutos ósseos nestes casos e as biópsias foram feitas no centro da janela regenerada da elevação do seio. Por conseguinte, todo o osso observado foi considerado um novo osso construído a partir da matriz de fibrina L-PRF. Numa pequena ampliação, a arquitetura geral do osso parecia natural, com trabéculas estruturadas e uma matriz de colagénio densa. Numa grande ampliação, osteoblastos foram facilmente identificados, e os osteócitos nas lacunas demonstraram a vitalidade desta amostra de osso.

Neste estudo, foi levantado o problema do conceito de levantamento de seio simultâneo à colocação do implante, sem material de osso enxertado para aumentar a previsibilidade e segurança deste procedimento sem desnaturar o conceito

subjacente de regeneração do osso natural. Utilizando como material de enchimento apenas o L-PRF parecia a solução. L-PRF é um coágulo sanguíneo natural e otimizado e é utilizado durante o levantamento do seio para proteção da membrana do seio ou melhoramento da maturação do enxerto ósseo.

Segundo análise clínica e tomográfica retrospectiva do levantamento de seio maxilar, em áreas com remanescente alveolar menor que 7 mm de altura, realizado com instalação de implantes simultâneos a enxerto de L-PRF puro. Foram realizados 24 levantamentos de seio maxilar em 20 pacientes. Para cada região, foi realizada tomografia volumétrica computadorizada pré-operatória, e com seis meses após a cirurgia, visando avaliar a altura do osso alveolar residual e o ganho ósseo final ao redor dos implantes. Um total de 32 implantes (22 Intra-Lock Ossean e dez Neodent Neoporos) foi avaliado. Todos os implantes foram colocados em um osso residual entre 1,22 mm e 6,62 mm (média: 3,96 e desvio-padrão: 1,66). O ganho ósseo final variou de 3,59 a 9,7mm (média de 6,67 mm \pm 1,88 mm). Após avaliação radiográfica e clínica, nenhum implante foi considerado perdido e todos receberam função. A técnica promoveu um ganho ósseo significativo e excelente índice de sucesso dos implantes, após o acompanhamento radiográfico e clínico mínimo de seis meses. (COSTA et al. 2014.)

O uso sistemático do PRF durante o levantamento de seio, com ou sem substituto ósseo, parece uma opção muito interessante e benéfica, especialmente para a proteção mecânica e biológica da membrana sinusal, podendo substituir as membranas de colágeno comumente utilizadas. Além disso, seu uso na membrana do seio pode melhorar potencialmente a cicatrização da membrana, a indução da estimulação do periosteio e a estabilização de um novo volume ósseo na extremidade do implante. Deve-se atentar à experiência do cirurgião e a escolha do perfil do implante, que são parâmetros imprescindíveis à estabilização do implante no rebordo alveolar residual, condição fundamental para o apoio firme dos implantes como pilares para a membrana sinusal (SIMONPIERI *et al.*, 2011).

2.3.2 Periodontia

O tratamento da recessão gengival e do recobrimento radicular em raiz exposta por muitos anos foi encarado como um desafio para os periodontistas. Com a evolução dos aditivos cirúrgicos e suas aplicações em cirurgia oral e maxilofacial, um novo leque de possibilidades foi aberto com o objetivo de investigar uma nova forma terapêutica para essas complicações. A doença periodontal é uma doença infecto-inflamatória que leva à destruição dos tecidos de suporte e sustentação dos dentes e, quando não tratada, leva a uma perda progressiva da aderência, do tecido ósseo e pode, possivelmente, conduzir à perda precoce dos dentes (PRADEEP *et al.*, 2012).

Em periodontia, a membrana de PRF tem sido usada para tratar recessões gengivais, defeitos intra-ósseos e lesões periapicais. Alguns estudos apontam para a utilização de gel de PRF e membrana PRF em combinação com um enxerto ósseo para o tratamento de um dente com uma lesão endodôntica periodontal combinada (**Fig. 2.3.2A e 2.3.2B**). Além disso, ainda na área de periodontia, a plaqueta rica em fibrina foi utilizada como uma nova abordagem da cobertura da raiz em potencial, avaliado pela cobertura localizada da recessão gengival em dentes anteriores inferiores, usando a combinação de técnica de retalho posicionado lateralmente e membrana PRF (AGRAWAL *et al.*, 2014).

O artigo de ANILKUMAR *et al.* (2009) relata que o tratamento da recessão gengival objetiva atingir a completa cicatrização e a regeneração da unidade periodontal. A manutenção dos tecidos moles forma a principal barreira de defesa do tecido contra uma infecção bacteriana, a fim de proteger e manter a dentição natural do paciente que apresenta uma crescente demanda estética, favorecendo também o conforto e manutenção da função. Dentre os procedimentos para tratamento da recessão gengival, o uso da técnica bilaminar, que utiliza enxerto de tecido conjuntivo subepitelial, ainda é responsável pelos resultados mais favoráveis em termos de recobrimento da raiz, entretanto estudos histológicos demonstram uma cura imprevisível.

O uso da PRF objetivando a cobertura da raiz pode diminuir a necessidade de

adquirir tecido conjuntivo local que deixa o sítio de doação com morbidade. O enxerto gengival livre é uma das técnicas mais utilizadas quando pretende-se aumentar as dimensões dos tecidos queratinizados, entretanto deixam locais doadores cicatrizarem por segunda intenção, o que requer um tempo de recuperação maior (de duas a quatro semanas), sendo mais desconfortável para o paciente. (ARAVINDAKSHA *et al.*, 2013).



Figura 2.3.2A – Coágulo de fibrina foi facilmente separado da parte inferior do sangue centrifugado.

Figura 2.3.2B – O PRF pode ser triturado como material para enxerto.

Fonte: CHANG e WU, 2011.

2.3.3 Aplicação em tecidos lesionados

Com a intenção de comparar a diferença do tempo de cicatrização, ARAVINDAKSHA *et al.* (2013) submeteu cinco pacientes sistematicamente saudáveis a uma avaliação da resposta de cura de um procedimento cirúrgico. Sendo a cura avaliada visualmente a partir de teste de peróxido de hidrogênio, mensurando a qualidade da barreira epitelial. O teste que acusar negativo por dois dias consecutivos, indica cura completa. Quatro pacientes tiveram suas áreas doadoras cobertas com membrana PRF e um paciente foi submetido a um processo

de cura de maneira convencional, sem membrana PRF. Os quatro pacientes que tiveram o local doador coberto com PRF demonstraram cura completa sem intercorrências em 18 dias, enquanto a área doadora que não foi coberta curou-se completamente em 28 dias. A redução do tempo de cura, ao fazer uso da membrana PRF, resultou em um menor desconforto pós-operatório para os pacientes. Isto decorreu-se em razão das áreas doadoras serem recobertas com uma membrana PRF que contém e suporta concentrados plaquetários e células do sistema imunológico, além de outros componentes, favorecendo a cicatrização e imunidade, estimulando a angiogênese e epitelização.

Um caso de completa ablação cística maxilar, onde a cavidade se preenche rapidamente de sangue, um coágulo sanguíneo, versão fisiológica da PRF, é formado atuando como uma armadilha para células-tronco circulantes, originando um tempo de cura fisiológico de 6 meses a um ano. Toda via, ao preencher a cavidade com PRF, o fenômeno fisiológico da cura é acelerado, pois a matriz de fibrina do PRF, por ser melhor organizada, é capaz de aproveitar com mais eficácia as células estaminais, reduzindo o tempo de cicatrização para 2 meses apenas (CHOUKRON *et al.*, 2006).

2.3.4 Endodontia regenerativa

Estudos de SHIVASHANKAR *et al.* (2012) apontam que na área de endodontia, a L-PRF pode ser usada como material para regeneração e revitalização pulpar em um dente necrótico imaturo e infectado, pois é rico em fatores de crescimento, aumenta a proliferação e diferenciação celular, e atua como uma matriz para crescimento interno de tecido. Além disso, em procedimentos de apicificação, existem alguns relatos de caso onde a combinação da membrana de PRF como matriz e Agregado de Trióxido Mineral (MTA) vem a ser uma alternativa eficaz para a criação de barreiras artificiais na raiz apical e indução de uma cicatrização mais rápida nos casos de lesões periapicais grandes. A teoria do potencial por trás do sucesso do uso da PRF para a regeneração do ápice aberto poderia ser atribuída a um estudo em que a PRF induz a proliferação de células humanas da polpa dentária e aumenta a expressão das proteínas dessas células a se diferenciarem em odontoblastos. Outra aplicação é seu

uso em procedimentos de pulpotomia regenerativa, onde foi documentado por I.B. Geeta *et al.* (2013) que a polpa coronária é removida e a polpa restante é coberta por PRF seguida de selagem com MTA e cimento de ionômero de vidro . Bem como, de acordo com AGRAWAL *et al.* (2014), a PRF também tem sido usada para preencher defeitos ósseos após cirurgias periapicais.

2.3.5 Aplicação em alvéolos pós-extração/avulsão

Normalmente recomenda-se a adição de material nos locais de avulsão ou extração com o objetivo de manter o volume ósseo adequado. Quando utilizada nessas situações a membrana de PRF potencializa a formação do coágulo sanguíneo, de modo que o processo fisiológico de cicatrização é favorecido (**Fig. 2.3.5A, 2.3.5B e 2.3.5C**).

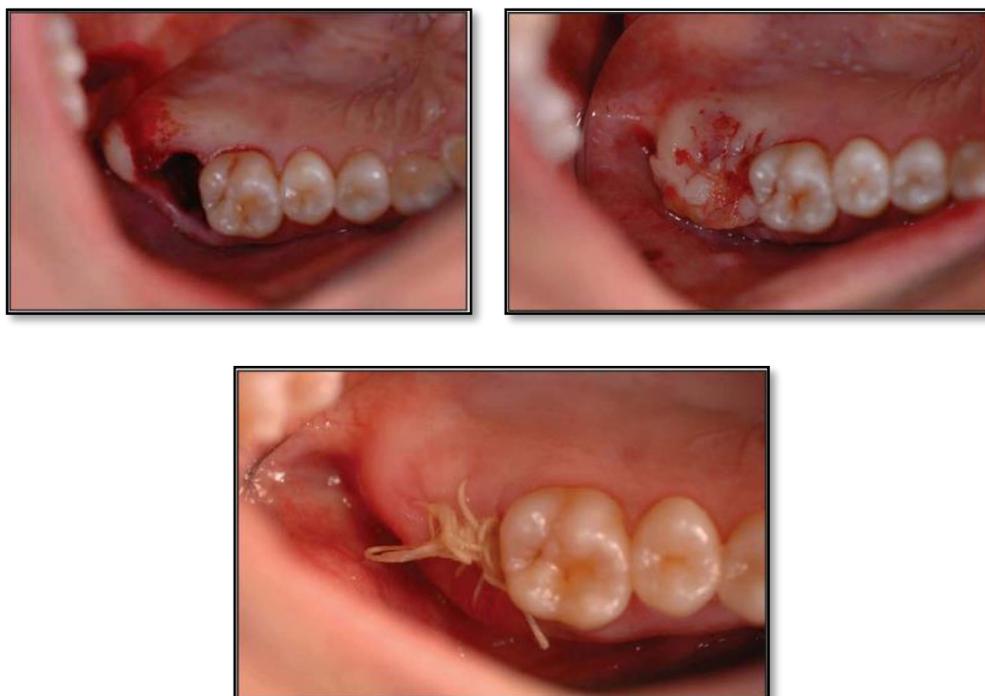


Figura 2.3.5A – Local de avulsão/ extração.

Figura 2.3.5B – Colocação de membrana de PRF.

Figura 2.3.5C - Cicatrização – 15º dia do pós- operatório.

Fonte:DEL CORSO, TOFFLER e EHRENFEST, 2010.

É particularmente determinante em sítios com infecção e em pacientes com condições médicas sistêmicas que possam comprometer o processo de cicatrização: diabéticos, pacientes medicados com imunossupressores ou anticoagulantes (DEL CORSO *et al.*, 2010).

Um exemplo clínico atual, segundo pesquisa de CHOUKROUN *et al.* (2012), trata-se do preenchimento de alvéolo por PRF. Notou-se que um coágulo de neovascularização foi formado rapidamente através do biomaterial, além do desenvolvimento de uma cobertura epitelial.

O estudo de AGRAWAL *et al.* (2014) apresenta a PRF como material de preenchimento das cavidades de extração, que vai atuar como um coágulo de sangue estável para neovascularização e regeneração tecidual acelerada.

O artigo de CHOUKRON *et al.* (2006) relata um caso onde foi utilizado o PRF para preenchimento do alvéolo após extração, observou-se a rápida formação de coágulo e cobertura epitelial, além da cura da ferida sem dor ou complicações purulentas. Graças a neovascularização inicial, células-tronco são levadas até o local da ferida e ficam presas pela malha de fibrina, transformando-se em um fenótipo secretor que induz a restauração vascular e de tecidos, importante para a neoformação óssea. Manter o volume ósseo em sítios pós-avulsão ou extração é um dilema, pois a perda volumétrica que ocorre atrapalha a estética e a implantação. Os materiais de preenchimento, normalmente, não oferecem as condições necessárias para reabsorção e remodelação óssea, dificultando a sua regeneração e a neovascularização. Há também a dificuldade em manejar o tecido mole sobre o enxerto, uma vez que, habitualmente é necessário realizar incisões de relaxamento, com o intuito de recobrir e proteger o material enxertado objetivando uma menor perda do material.

O PRF pode ser usado também como uma membrana para regeneração óssea

guiada, onde a arquitetura tridimensional forte e elástica atua como uma tela suturável que cobrirá e estabilizará o material enxertado, protegendo o material e a própria ferida em si, permitindo a aproximação dos bordos gengivais e, conseqüentemente, favorecendo a sua reepitelização. Sendo assim, a aceleração do processo de cura torna o sítio cirúrgico menos sensível às agressões, reduzindo a sensibilidade pós-operatória e atuando a favor da estética (DEL CORSO, TOFFLER E EHRENFEST, 2010).

3 DISCUSSÃO

O presente estudo descreve a evolução de um produto que promove um forte estímulo para a cicatrização, assim como, relata também a sua efetividade em estudos e pesquisas já realizadas. A rápida cicatrização ocorre pela estimulação da produção de colágeno pelo Plasma Rico em Plaquetas e da Fibrina Rica em Plaquetas auxiliada por fatores de crescimento. Estes não são, contudo, os atores principais quando o assunto é coagulação e cicatrização de tecido. A reparação de tecidos constitui um desafio constante na área da medicina regenerativa, onde diversos biomateriais têm sido estudados para otimizá-la.

A tendência de aditivos cirúrgicos começou há muitos anos com colas de fibrina (autólogo) evoluindo para um concentrado de plaquetas PRP. Neste último utiliza-se o conceito da utilização de um procedimento de centrifugação (muitas vezes em dois passos), a fim de concentrar e recolher a maioria das plaquetas a partir de uma coleta de sangue (tirada com anticoagulante), e injetando-se num local de ferida a fim de melhorar a cura. Os concentrados de plaquetas e colas de fibrina são, de fato, não tão diferentes, semelhantes quando baseadas em tecnologias de polimerização de fibrinogênio do sangue para um gel de fibrina.

A cola de fibrina, apesar dos muitos benefícios, tais como ser não tóxica, biodegradável, promover o crescimento local e reparação de tecidos, apresenta alguns fatores negativos que devem ser ressaltados, pois formam os pontos chave para a busca de uma evolução do produto. Para os adesivos comerciais homólogos houve o risco de infecção cruzada, o que levou ao desenvolvimento de uma cola de fibrina autóloga, do plasma do próprio paciente, mas, com propriedades menos satisfatórias, maior fraqueza e menor resistência a estresses físicos.

A evolução para concentrados de plaquetas PRP deu-se por estes fatores de risco citados acima. O sangue agora é recolhido do próprio paciente e duplamente centrifugado formando, portanto, a membrana PRP onde adiciona-se trombina bovina

e cloreto de cálcio no momento da aplicação para que esta se solidifique. PRP funciona como uma matriz de fibrina com propriedades hemostáticas e adesivas, possui propriedades de cicatrização de tecidos e pode ser utilizada em diversos procedimentos. Contudo, há a preocupação no uso de trombina bovina, pois o fator V bovino pode reagir com o fator V humano, causando coagulopatias e episódios de sangramento raros. Os protocolos de confecção do PRP não são uniformes e causam diferentes reações de acordo com a produção da membrana. A rápida liberação das plaquetas na membrana PRP indica que o seu potencial regenerativo auxilia apenas nos primeiros aspectos do processo de reparação.

Algumas técnicas evoluíram e tornaram-se tão diferentes do conceito inicial do PRP, que a necessidade de um nome distinto se tornou evidente e natural. Choukroun descreveu em 2001 a técnica da plaqueta rica de fibrina (PRF), que foi considerada como tecnologia de concentrado de plaquetas de segunda geração. De fato, a PRF de Choukroun apresentou características muito diferentes dos outros produtos: o sangue é colhido sem anticoagulante e imediatamente centrifugado, levando à formação natural de um coágulo de PRF no meio do tubo - sem a adição de quaisquer adjuvantes. O processamento simplificado e sem manipulação bioquímica do sangue é crucial para determinar a organização tridimensional da rede de fibrina, que é responsável pela liberação lenta de fatores de crescimento e glicoproteínas da matriz por um período de, aproximadamente, 7 dias. PRF é um biomaterial sólido, um coágulo de sangue natural otimizado, e não uma suspensão líquida de plaquetas injetável como os PRPs. A ativação de plaquetas e a polimerização da fibrina não são o passo final do processo, eles são o processo. Tornou-se óbvio, portanto, que as tecnologias de concentrado de plaquetas, resultando em fortes biomateriais de fibrina não poderiam mais ser chamados de PRP. Além disso, PRF também contém leucócitos, levantando a hipótese de parâmetros imunes e seu papel fundamental. Segundo Choukroun et al., a rigidez da matriz influencia consideravelmente a formação capilar pelas células endoteliais, um fator crucial para a compreensão das diferenças de cinética biológicas entre a cola de fibrina, concentrados de plasma rico em plaquetas (cPRP), e PRF.

A técnica para a obtenção PRF sobre sua primeira geração PRP possui certas vantagens. Em primeiro lugar, a técnica de PRF é bastante simples, menos demorada

e envolve menos arsenal.

O PRP pode ser preparado através de duas técnicas que diferem nos seus aspectos técnicos. O primeira requer grande quantidade de sangue (450 ml) e é feita em ambientes hospitalares. Pode ser feita por dupla ou única centrifugação. Por outro lado, as PRFs podem ser adquiridas através de uma centrífuga de mesa em questão de 10 minutos. Nada obstante, a vantagem mais importante da PRF sobre PRP é a eliminação de qualquer constituinte aditivo tal como trombina bovina que é obrigatória na produção de PRP.

A PRF teria, necessariamente, efeitos muito diferentes ao PRP, este último possui um efeito enorme e incontrolável, e de curto prazo, por causa das altas taxas de trombina iniciarem a polimerização rápida, o que faz uma íntima incorporação das citocinas em uma matriz de fibrina. Já PRF deriva de uma polimerização natural e progressiva que ocorre durante a centrifugação.

A matriz de fibrina da PRF é ainda um ótimo suporte para células-tronco mesenquimais transplantadas que tem como objetivo a regeneração de defeitos ósseos. As células-tronco mesenquimais da medula óssea contribuem para a regeneração de diversos tipos de tecidos, incluindo as células ósseas. Tal cura exige o acúmulo dessas células e sua conversão para o fenótipo dos osteoblastos (CHOUKRON *et al.*, 2006). Sugere-se, portanto, que esta área seja foco de estudo já que promove a solução para um problema clássico, como a perda de estrutura óssea, e ainda não é tão bem documentada.

Essencialmente constata-se que a PRF é mais eficaz do que os outros aditivos cirúrgicos, pois seu método de confecção é mais simples, eficaz e com baixo custo de preparação. Ademais, elimina o uso de trombina bovina reduzindo as probabilidades de infecção cruzada. Possui uma lenta polimerização natural quando em contato com as partículas de vidro, enquanto que no PRP, há uma súbita polimerização de fibrina, dependendo da quantidade de aditivos cirúrgicos (trombina e cloreto de cálcio). A estrutura flexível 3-D da PRF é mais favorável para o enredamento de citocinas e migração celular, enquanto que a organização do PRP consiste de um condensado de fibrina que permite o espessamento de polímeros que conduzem a uma rede rígida,

tornando-se não muito favorável ao enredamento de citocinas e migração celular. A PRF possui ainda efeito de suporte no sistema imune e ajuda na hemostasia (AGRAWAL, M. e AGRAWAL, V., 2014).

4 CONCLUSÃO

Findamos nosso trabalho de conclusão de curso com a convicção que o plasma rico em fibrina é um material de fácil confecção, precisando apenas do sangue do próprio paciente, eliminando assim os riscos de infecção cruzada dos demais aditivos. Sua característica hemostática e de suporte do sistema imune contribuem para seu sucesso e real efetividade na diminuição da morbidade em procedimentos cirúrgicos. Em virtude disso, possuem uma ampla possibilidade de aplicações, tanto na odontologia quanto na medicina, com excelentes resultados a curto prazo, apoiados por diversos estudos já publicados, relatando a segurança no seu uso para aplicação oral e maxilofacial. Nada obstante, é necessário conhecer mais sobre sua biologia e eficiência como biomaterial a longo prazo, além da sua capacidade de suporte para células – tronco, visto que este é um assunto relativamente recente e com grande potencial para novas descobertas e aplicações.

5 REFERÊNCIAS

AGRAWAL, M.; AGRAWAL, V. Platelet rich fibrin and its applications in dentistry: a review article. **National Journal of Medical and Dental Research**, India: v. 2, n. 3, p. 51-58, jun./2014.

ANILKUMAR, K.; GEETHA, A.; UMASUDHAKAR; RAMAKRISHNAN, T.; VIJAYALAKSHMI, R.; PAMEELA, E. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach, **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 13, n. 1, Jan-Abri./2009.

ARAVINDAKSHA, S. P.; BATRA P.; SOOD, V.; KUMAR, A.; GUPTA G. Use of Platelet Rich Fibrin (PRF) Membrane as Palatal Bandage. **Clinical Advances in Periodontics**, 2013.

CLARK RA. Fibrin and wound healing. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York: v. 936, p. 355-67, 2001.

CHOUKROUN, J.; DISS, A.; SIMONPIERI, A.; GIRARD, M-O.; SCHOEFFLER, C.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A.; MOUHYI, J.; DOHAN, D. M. 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**, v.101, p.56-60, 2006.

CHOUKROUN, J.; DISS, A.; SIMONPIERI, A.; GIRARD, M-O.; SCHOEFFLER, C.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A.; MOUHYI, J.; DOHAN, D. M. Platelet-rich fibrin (PRF): 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**, v.101, p.56-60, 2006.

DA COSTA ALCC, RAMOS NETO AS, DAS NEVES DM, SILVA FGO, SIMÃO HML. Levantamento de seio maxilar com instalação simultânea de implante utilizando Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos como único biomaterial: avaliação tomográfica do ganho ósseo após seis meses. **Implant News Perio**, v.11, n. 2 ,p. 213-22. 2014.

DE PASCALE, M. R.; SOMMESE, L.; CASAMASSIMI, A.; NAPOLI C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 29, p. 52-61, 2015.

DEL CORSO, M., TOFFLER M., EHRENFEST DMD. Use of Autologous Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. **The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry**, v.1, n. 9, p. 27-35, 2010.

DOHAN, D. M. E.; BIELECKI, T.; MISHRA, A.; BORZINI, P.; INCHINGOLO, F.;

SAMMARTINO G.; RASMUSSEN, L.; EVERTS, P. A.; 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. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, South Korea: v. 13, n. 7, p. 1131-37, 2012.

DOHAN, DM.; CHOUKROUN J.; DISS A.; DOHAN SL.; DOHAN AJ.; MOUHYI J.; GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 101, p. 37-44, 2006.

DOHAN DM.; CHOUKROUN J.; DISS A, DOHAN SL.; DOHAN AJ.; MOUHYI J.; GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second- generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** , v. 101, p. 45-50, 2006.

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 Journal**, v. 27, n. 1, p.63 -69, 2009.

EHRENFEST, D. M. D.; DEL CORSO, M.; DISS, A.; MOUHYI, J.; CHARRIER, J-B. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane, **Journal Periodontol**, v. 81, n. 4, p. 546 – 555, Abri./2010.

GEETA, I.B.; GALAGALI, G.; KULKARNI, S.; SURAN, P.; NOUSHIN, F. A Natuaral Meliorate: Revolutionary Tissue Engineering in Endodontics. **J. Clin. Diagn**, v. 7, n. 11, p. 2644-2646, 2013.

GUPTA, V.; BAINS, V. K.; SINGH, G. P.; MATHUR, A.; BAINS, R.. Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin in Dentistry: Literature Review, **Asian Journal of Oral Health & Allied Sciences**. v.1, n. 1, Jan./2011.

JANG, E-S.; PARK J-W.; KEWON HY.; LEE K.; KANG S-W; BAEK D-H; CHOI J-Y; KIM S-G. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.109, p. 831-836, 2010.

KARP, J.M.; SARRAF F.; SHOICHET M.S.; DAVIES JE. Fibrin-filled scaffolds for bone-tissue engineering: an in vivo study. **Jornal Biomed Mater Res**. v. 71, p. 162-71, 2004.

KHISTE, S. V.; TARI, R. N. Platelet-rich fibrin as a biofuel for tissue regeneration. **Hindawi Publishing Corporation**, New Pargaon, Kolhapur, Maharashtra, p. 1-6, Abri./2013.

KNIGHTON, D. R.; CIRESI, K. F.; FIEGEL, V. D.; AUSTIN, L. L.; BUTLER, E. L.; Classification and treatment of chronic nonhealing wounds: successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). **Department of Surgery, University of Minnesota**, Minneapolis: v. 204, n. 3, Abr./1986.

LACOSTE, E.; MARTINEAU L.; GAGNON G.; Platelet concentrates: effect of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. **Jornal Periodontol.** v. 74, p. 1498-507, 2003.

LEE, E-H.; KIM, J-Y.; KWEON, HY.; JO, Y-Y.; MIN, S-K.; PARK, Y-W.; CHOI, J-Y.; KIM, S-G. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 109, p. 22-28, 2010.

LEE JW, KIM SG, KIM JY, LEE YC, CHOI JY, DRAGOS R. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol** , v. 113, p. 459-63, 2012.

LING, H.; YE, L.; XIULIAN, Y. Z.; HUI, W. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro, **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Endod**, Beijing, China: v. 108, n. 5, p. 707-713, Jun./2009.

MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUSS, J. E.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod**, Miami: v. 85, n. 6, p.638-46, Jun./1998.

MAZOR, Z. et al., Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. **Journal of periodontology**, v.80, p. 2056–64, 2009.

MOSESSON, M. W.; SIEBENLIST, K. R.; MEH, D. A. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York: v. 936, p. 11-30, 2001.

PINHEIRO, M. C. M. Aplicação do PRF em medicina dentária. **Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto**. Porto, 2014. 36fls. Dissertação (Mestrado Integrado Em Medicina Dentária). Faculdade De Medicina Dentária Da Universidade Do Porto, Porto, 2014.

PRADEEP A.R.; R. N.S.; AGARWAL E.; B. P.; KUMARI M.; NAIK S.B. Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of 3-Wall Intra-bony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized

Controlled Clinical Trial. **Journal of Periodontology**. v.83, n12, p. 1499-1507, 2012.

PRAKASH, S.; THAKUR, Aditi. Platelet concentrates: past, present and future. **Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, India: v. 10, n. 1, p. 45-49, jan-mar./2011.

ROY L. T. J.; GERALD R. S; THOMAS B. D. Autologous Fibrin Glue: **The Last Step in Operative Hemostasis**. Burlingame, California: v. 168, Ago./1994.

SHIVASHANKAR, V.Y.; JOHNS, D.A.; VIDYANATH, S.; KUMAR M.R.; Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. **Journal Conserv Dent**, v. 15, p. 395- 398,2012.

SIMONPIERI, A.; DEL CORSO M.; SAMMARTINO G.; DOHAN, E. D. M. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. **Implant Dent**, v. 18, p. 102-11, 2009.

SIMONPIERI, A. et al., Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. **Implant dentistry**, v.20, p.2–12, 2011.

TATULLO, MARCO et al., Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. **International journal of medical sciences**, v.9, p.872–80, 2012.

TOFFLER, M.; TOSCANO, N.; HOLTZCLAW, D.; DEL CORSO, M.; DOHAN E., D.M. Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery. **Milieu, The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry**, v. 1, n. 6, p. 21-31, Set./2009.

TSAY, R.C.; VO J.; BURKE, A.; EISIG, S.B.; LU H.H.; LANDESBURG R.; Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. **Jornal Oral Maxillofacial Surg.** v. 63, p. 521-8, 2005.

TUNALI, M.; ÖZDEMİR, H.; KÜCÜKODACI, Z.; AKMAN, S.; FIRATLI, E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrina (T-PRF): a new platelet concentrate. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 51, p. 438–443, 2013.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica, **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 33, n. 1, p. 24-28, Jan./Fev 2006.

WU, C-L.; LEE, S-S.; TSAI, C-H.; LU, K-H.; ZHAO, J-H.; CHANG, Y-C. Platelet-rich

fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. **Australian Dental Journal**, v. 57, p. 207-212, 2012.