

FACULDADE SETE LAGOAS - FACSETE

DANILO DUARTE YAMAZAKI

**EVIDÊNCIAS DA EFICÁCIA DA FIBRINA RICA EM
PLAQUETA**

São Caetano do Sul

2020

DANILO DUARTE YAMAZAKI

EVIDÊNCIAS DA EFICÁCIA DA FIBRINA RICA EM PLAQUETA

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para Conclusão do Curso de Especialização em Implantodontia, sob a orientação do Prof. Ms. Alex Casati Lopes

São Caetano do Sul

2020

Yamazaki, Danilo Duarte

Evidências da eficácia da fibrina rica em plaqueta / Danilo Duarte Yamazaki;
orientador: Alex Casati Lopes. – São Paulo, 2020.
30 págs.

Monografia de conclusão de curso de especialização – Programa de Pós-
Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia -- Faculdade
Sete Lagoas.

1. L-PRF 2. Fibrina 3. Plaqueta.

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO
AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Caetano do Sul, 08/08/2020

Assinatura: _____

E-mail: Danilomma@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Evidências da eficácia da fibrina rica em plaqueta [Trabalho de conclusão de Curso de Especialização]. São Paulo: Faculdade Sete Lagoas; 2020.

São Caetano do Sul, 08/08/2020

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, quando algumas vezes, sentindo-me desacreditado e perdido nos meus objetivos e ideias, me deu força e confiança, para seguir sempre em frente.

Aos meus Pais Mauro Yamazaki e Clélia Duarte do C. Yamazaki, minha formação não poderia ter sido concretizada sem a ajuda a minha família, que trabalharam e sacrificaram seus sonhos em favor do meu.

Ao meu irmão Vinicius Yamazaki por todo apoio, amizade e parceria.

A minha namorada Gabrielle Fattor, futura cirurgiã – dentista, que me apoiou e me ajudou dia-a-dia do trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores do curso de Especialização em Implantodontia, pelos ensinamentos ao longo do curso.

Ao meu orientador Prof. Alex Casati Lopes, obrigado por me conduzir no melhor caminho em busca do conhecimento, pelo aprendizado e puxões de orelha. Agradeço pela disponibilidade, atenção e grande confiança que me foi prestada na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Rodrigo Takamura Otaga por sempre estar atento as minhas vivências, compartilhando conhecimento e ajudando.

Ao Prof. Mounir Mussi, por toda ajuda dentro e fora do curso, compartilhando toda sua experiência e conhecimento sem nunca hesitar, pela disponibilidade de sempre ajudar.

À minha primeira dupla, Dr. Igor Coronado, amigo e companheiro desde à época da universidade, tivemos dias de luta e dias de glória, batalhando e crescendo juntos, na vida e na profissão.

À minha segunda dupla, Dr. Rafael Castro, pelo aprendizado conquistado e por me ajudar a crescer profissionalmente, pela atenção e cuidado como o dentista da minha família, pela parceria e amizade.

À todos os colegas e amigos de curso e equipe da ABO.

“Ninguém vai bater tão forte como a vida, mas não se trata de bater forte. Se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em frente, o quanto você é capaz de aguentar e continuar tentando. É assim que se consegue vencer”

(Rocky Balboa)

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
3. PROPOSIÇÃO.....	10
4. DISCUSSÃO.....	11
5. CONCLUSÃO	17
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

Yamazaki, D. D. Evidências da eficácia da fibrina rica em plaqueta [Trabalho de conclusão de curso] São Paulo: Faculdade Mozarteum de São Paulo; 2020.

RESUMO

A fibrina rica em plaqueta (PRF) é um composto autólogo obtido a partir da centrifugação do sangue do próprio paciente, consistindo uma matriz de fibrina enriquecida com plaquetas, leucócitos e uma infinidade de citocinas e fatores de crescimento, visando acelerar a cicatrização dos tecidos em procedimentos cirúrgicos. O desenvolvimento desse biomaterial possibilita, em parte, alterar a concentração de mediadores químicos liberados a partir de uma lesão, ocasionando a formação de um coágulo concentrado ativo e funcional no processo de regeneração. O objetivo desse trabalho foi revisar a literatura e avaliar a eficácia fisiológica e cirúrgica dos concentrados sanguíneos de segunda geração. Concluiu-se que a PRF se apresenta eficaz em potencializar e melhorar o processo de cicatrização e regeneração. Estudos relataram uma aceleração da cicatrização da ferida cirúrgica, regeneração de tecidos moles, o auxílio na maturação óssea, e a diminuição da sintomatologia pós-operatória em Odontologia.

Palavras Chaves: L-PRF, fibrina, plaqueta.

Yamazaki, D. D. Evidências da eficácia da fibrina rica em plaqueta [Trabalho de conclusão de curso] São Paulo: Faculdade Mozarteum de São Paulo; 2020.

ABSTRACT

The fibrin-rich platelet (PRF) is an autologous compound obtained from the centrifugation of the patient's own blood, which aims to accelerate tissue healing in surgical procedures, consisting of a fibrin matrix enriched with platelets, leukocytes and a multitude of cytokines and growth factors. The development of this biomaterial makes it possible, in part, to change the concentration of chemical mediators released from an injury, causing the formation of an active and functional concentrated clot in the regeneration process. The objective of this work was to review the literature and evaluate the biological and surgical efficacy of second generation blood concentrates. It was concluded that the PRF is effective in enhancing and improving the healing and regeneration process. Studies have reported an acceleration of surgical wound healing, soft tissue regeneration, aid in bone maturation, and a decrease in postoperative dentistry symptoms.

Keywords: L-PRF ,fibrin, platelet.

1. INTRODUÇÃO

A fibrina rica em plaqueta (PRF) é um concentrado plaquetário de 2ª geração, descrito pela primeira vez na França em 2000, por Choukroun e colaboradores, relatando um concentrado plaquetário de uso terapêutico, em forma de matriz de fibrina com um altíssimo potencial de reparação de feridas. A membrana é obtida a partir de sangue autólogo (próprio paciente) sem adição de fatores externos e preparado por centrifugação¹⁻³.

A opção por biomateriais autógenos é o padrão ouro para a reabilitação oral, com grandes resultados associados com a técnica dos concentrados Plaquetários Rico em Fibrina e Leucócitos (L-PRF). O L-PRF é uma forma ativa de molécula plasmática denominada fibrinogênio, no qual é uma fonte autóloga de fatores de crescimento, acelerando a regeneração óssea, aumentando a angiogênese, quimiotaxia, mitose e proliferação celular⁴.

Foram desenvolvidos protocolos de utilização estabelecendo uma técnica simplificada, eficiente e acessível a todas as clínicas. Biocompatível por ser obtida a partir do sangue do próprio paciente, não fazendo uso de anticoagulante, podendo ser utilizado isoladamente ou em combinação com enxertos ósseos aumentando sua taxa de cicatrização, demonstrou uma redução no desconforto do paciente durante o período inicial de cicatrização, resultando uma técnica rápida e barata⁵.

O objetivo desta revisão foi descrever de maneira simples as principais características da fibrina rica em plaqueta (PRF), sua composição, propriedades e aplicação clínica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Marx *et al.*⁶ (1998) relataram em seu estudo que o plasma rico em plaquetas é uma fonte autóloga do fator de crescimento, obtido do concentrado plaquetário por centrifugação em gradiente de densidade. Essa técnica produziu uma concentração de plaquetas humana composta por fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), e fator de crescimento transformador beta (TGF) dentro delas.

Guyton, Hall⁷ (2002) em seu livro, descrevem que o processo da coagulação fisiológica é iniciado por substâncias ativadoras provenientes da parede vascular traumatizada, das plaquetas e das proteínas sanguíneas que aderem à parede vascular lesada.

Pontual *et al.*⁸ (2004) em seu livro sugerem diversos estudos que as IGF-s quando combinadas com outros fatores de crescimento, podem aumentar a osteogênese em processos cicatriciais. Alguns estudos observaram que o PDGF parece estar mais envolvido na proliferação celular, e o IGF no aumento da síntese de produtos da matriz extracelular.

Para Vendramin *et al.*⁹ (2006) em um caso clínico utilizando o plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento em cirurgia plástica, concluíram que essas citocinas desempenham papel fundamental nos mecanismos de cicatrização fisiológica e patológica, aumentam a vascularização, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam a produção de tecido de granulação e melhoram a angiogênese.

Segundo Vasconcellos *et al.*¹⁰ (2008) a membrana de plaqueta rica em fibrina pode ser utilizada em pacientes que foram submetidos a cirurgias periodontais, exodontias, na instalação de implantes e associados a enxertos ósseos em seio maxilar. Em seu estudo utilizando PRF, os pacientes foram avaliados cinco, sete e quinze dias após a cirurgia. Esses pacientes apresentaram um quadro de cicatrização e reparação do sítio cirúrgico consideravelmente superior a pacientes que foram submetidos ao mesmo procedimento, porém sem a utilização da PRF. Durante o pós-operatório, os mesmos não relataram sintomatologia dolorosa. A região operada não sofreu

alteração vascular, sem edema, passando por um processo inflamatório controlado. Portanto, o grande benefício da PRF consiste na diminuição do tempo pós-operatório, através de uma aceleração do processo de cicatrização dos tecidos.

Um estudo realizado por Pimentel *et al.*¹¹ (2014) relataram um caso clínico de aumento do rebordo (lâmina de faca) na região anterior (incisivo lateral), utilizando uma combinação de enxerto autógeno particulado associado a enxerto alógeno derivado de osso bovino inorgânico, juntamente com as membranas de L-PRF e malha de titânio para proteger e estabilizar o enxerto. O L-PRF, quando usado em combinação com outros materiais de enxerto pode acelerar a cicatrização, proteger e estabilizar o enxerto para aumento ósseo horizontal do rebordo, fazendo com que as membranas atuem como curativos de fibrina, facilitando a cicatrização dos tecidos moles e o rápido fechamento da incisão, por maior que seja o volume do enxerto ósseo.

Silva *et al.*¹² (2014) realizaram um estudo de acompanhamento no período de 1 ano na preservação do rebordo alveolar com plaqueta rica em fibrina e leucócitos. O L-PRF foi utilizado para preenchimento do alvéolo após a exodontia, com o objetivo de preservá-lo. Comparando-se as tomografias realizadas antes da exodontia e antes da instalação do implante (período de três a quatro meses), pôde-se observar que o volume do rebordo foi preservado. Além disso, formou-se uma boa faixa de gengiva queratinizada. Nos casos apresentados, praticamente não houve alteração dimensional no rebordo alveolar, diferentemente dos resultados encontrados na literatura, em que o alvéolo foi preenchido apenas pelo coágulo. O osso formado apresentou ótima qualidade, permitindo a fixação do implante com alto torque de inserção. Após o período de cicatrização, a reabilitação foi concluída com tamanho e forma naturais, e observou-se total estabilidade dos tecidos duro e mole.

Choukroun¹³ (2014) obteve resultados animadores em suas pesquisas encontrando novas evidências do papel que as células brancas podem empregar na regeneração óssea e no crescimento dos vasos sanguíneos. Choukroun introduziu um novo protocolo de centrifugação chamado *CHOUKROUN'S Advanced PRF™* ou *A-PRF™*. A ideia de base foi de desenvolver um biomaterial

a partir do L-PRF, capaz de incluir o maior número possível de leucócitos e particularmente monócitos que tem receptores BMP e são capazes de produzir BMP-2 e BMP-7, além de ter um papel na produção de VEGF. Os primeiros estudos mostraram, de fato, resultados interessantes em termo de vascularização inicial, crescimento dos tecidos moles mais rápidos, e maior liberação de citocinas em comparação com o L-PRF. O protocolo de centrifugação do A-PRF implica uma menor velocidade de rotação (1500 rpm), em comparação ao L-PRF, mais tempo (14 minutos) e a utilização de tubos de vidro estéreis (Tubos APRF10). Para o autor este protocolo tem a capacidade de reter linfócitos B e T, de alcançar uma distribuição mais uniforme de plaquetas e neutrófilos, além de uma maior inclusão de plaquetas. Os monócitos residentes aparecem mais desenvolvidos assim como os macrófagos e os linfócitos. Clinicamente, isso pode-se traduzir numa maior liberação de fatores de crescimento.

Ghanaati *et al.*¹⁴ (2014) verificaram que o processo de regeneração ou reparo tecidual requer uma reação harmoniosa de vários tipos de células, incluindo células de resposta imune (neutrófilos, macrófagos, linfócitos), células epiteliais, fibroblastos e células-tronco. As células que podem ser observadas nesses coágulos avançados de fibrina são linfócitos B e T, responsáveis por intervenção inespecífica na resposta tecidual para lesão, os linfócitos T diminuíram cicatrização de feridas, enquanto linfócitos B associados a um aumento da cura. As plaquetas são capazes de liberar, entre outras, moléculas como fator de von Willebrand, P-selectina, fibronectina, VEGF, derivado de plaquetas, fator de crescimento endotelial (PDEGF), vitronectina e fibrinogênio. Os monócitos também são essenciais para a cicatrização dos tecidos, eles migram para a área inflamada após o influxo de neutrófilos, onde se tornam macrófagos. Macrófagos são células multifuncionais que representam fenótipos distintos, assumem papéis substanciais na resposta de corpos estranhos, gênese e angiogênese à medida que respondem a biomateriais inseridos. Através da expressão de VEGF, PDGF, FGF, TGF α e b, e outras moléculas ativas (por exemplo, BMP-2), macrófagos apoiam a proliferação celular e a restauração de tecidos após lesão.

Em seu estudo histológico, Ghanaati *et al.*¹⁴ (2014), relataram o protocolo de plaqueta rica em fibrina (S-PRF) (2700 rpm, 12 minutos) e plaqueta rica em fibrina avançada (A-PRF) (1500 rpm, 14 minutos) foram comparados para estabelecer por detecção histológica de células e histomorfometria na medição da distribuição celular, os efeitos da força centrífuga (velocidade e tempo) na distribuição das células relevantes para a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. Imuno-histoquímica para monócitos, linfócitos B e T, granulócitos neutrofílicos, células-tronco CD34 positivas e plaquetas, foram realizadas em coágulos produzidos a partir de quatro diferentes doadores humanos. As plaquetas foram detectadas ao longo do coágulo nos dois grupos, embora no grupo A-PRF, mais plaquetas foram encontradas na parte distal, afastadas do buffy coat (BC). Linfócitos B e T, células-tronco e monócitos foram detectados nos arredores do BC em ambos os grupos. Diminuir a rpm e aumentar o tempo de centrifugação no grupo A-PRF deu uma presença aprimorada de granulócitos neutrofílicos na parte distal do coágulo. No grupo S-PRF, os neutrófilos foram encontrados principalmente na interface de glóbulos vermelhos (RBC) -BC. Granulócitos neutrofílicos contribuem para a diferenciação de monócitos em macrófagos. Conseqüentemente, uma maior presença dessas células pode ser capaz de influenciar a diferenciação do hospedeiro macrófagos dentro do coágulo após a implantação. Assim, o A-PRF pode influenciar os ossos e regeneração tecidual, principalmente pela presença de monócitos / macrófagos e seus fatores de crescimento.

Mourão *et al.*¹⁵ (2015) relataram que os concentrados plaquetários propõem uma aceleração na cicatrização de tecidos moles e duros através do aumento da concentração de fatores de crescimento, como o fator de crescimento transformante (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina1 (IGF-1), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF).

Segundo Öncü *et al.*¹⁶ (2015), a aplicação de PRF aumenta a estabilidade do implante durante o início no período de cicatrização. A adição de moléculas ou fatores de crescimento a superfície do implante é outra abordagem para

melhorar o BIC – (interação do contato osso-implante). Estudos experimentais mostraram que superfícies revestidas com moléculas de adesão celular ou proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) poderiam aumentar a diferenciação osteoblástica e integração funcional de implantes de titânio. Os resultados demonstram que a aplicação do PRF aumentou a estabilidade do implante durante o primeiro mês de cicatrização.

Silva *et al.*¹⁷ (2016) em sua revisão integrativa de trabalhos sistemáticos e longitudinais levantaram dados descritos na literatura pesquisada, na sua maioria, afirmando que a PRF acelera o processo de cicatrização do tecido mole e diminui a severidade das sequelas pós-operatórias imediatas, como a dor, edema, trismo, processos inflamatórios, entre outros. Apontaram também que há a preservação do tecido duro, assim como a aceleração na formação óssea.

Posteriormente em 2016, Öncü *et al.*¹⁸ realizaram um estudo para avaliar a osseointegração induzida por L-PRF e o contato osso-implante (BIC) em um modelo animal experimental. Foram utilizados doze coelhos brancos da Nova Zelândia e instalados total de 48 implantes, dois em cada tíbia com um total de quatro cavidades em cada animal. Os implantes de teste foram completamente embebidos em L-PRF antes da sua inserção e os implantes de controle foram colocados sem a aplicação PRF. Os animais foram sacrificados após duas, três e quatro semanas. Amostras histológicas foram obtidas dos tecidos dos implantes e foram avaliados histomorfometricamente quanto ao contato osso-implante e nova formação óssea. Análises histomorfométricas dos defeitos revelaram que o L-PRF foi detectável até a segunda semana. No grupo de teste, o L-PRF em torno dos implantes foi óbvio na terceira e quarta semanas com uma nova formação óssea, da mesma forma, a BIC foi significativamente maior no grupo de teste do que o grupo controle na terceira e quarta semanas. A aplicação de L-PRF aumentou a taxa e a quantidade de nova formação óssea no grupo experimental comparados ao grupo controle.

Em seu estudo Salgado-Peralvo *et al.*¹⁹ (2017) buscaram entender a regeneração periodontal, os fenômenos de destruição de tecidos e sua recuperação, com ajuda do plasma rico em plaquetas. Em primeiro lugar, reduz a hemostasia para prevenir sangramentos, mediados devido à vasoconstrição e

agregação plaquetária. Atua como uma barreira biológica que facilita o fechamento primário do leito cirúrgico, protegendo-o de agressões externas e acelerando a cura. Foi utilizado no tratamento de lesões periodontais e endodônticas combinadas, na correção de defeitos de furca, bem como em levantamento de seio como o único material de enchimento com colocação imediata de implantes. Alguns estudos descreveram um ganho em altura de 7 a 13 mm, sem perda do implante e com taxas de sucesso aos 6 meses de 100%. Também tem sido utilizado como material de enxerto para cobrir o leito do palato usado como área doadora em cirurgia muco gengival para tratar recessões de raiz unitárias. Com esta técnica, o tempo de reepitelização do palato de 3-4 semanas para 18 dias em comparação com a cura por segunda intenção, eles diminuem dor e desconforto no pós-operatório.

Miron *et al.*²⁰ (2017) realizaram uma pesquisa laboratorial comparando o i-PRF com o PRP utilizado clinicamente, mostraram o potencial de conter um número de fatores de crescimento responsáveis pela regeneração tecidual, capaz de induzir o comportamento de fibroblastos com várias propriedades diferentes. Embora ambas as formulações exibam alta biocompatibilidade, migração e proliferação de fibroblastos, o i-PRF induziu significativamente mais a migração, enquanto o PRP demonstrou significativamente mais a proliferação celular.

Em um estudo posterior Miron *et al.*²⁰ (2017) investigaram dentro da odontologia regenerativa o uso da PRF para reparo periodontal e de tecidos moles. As chaves da regeneração tecidual residem em seu potencial angiogênico, o controle do sistema imunológico e seu potencial de recrutar células-tronco. Além disso, a fibrina que se forma durante o estágio final da cascata de coagulação, combinados com citocinas secretadas pelas plaquetas, torna a PRF um material altamente biocompatível, especialmente em locais danificados onde a rede de fibrina atua também como um reservatório de fatores de crescimento tecidual. Esses fatores atuam diretamente na promoção da proliferação e diferenciação de osteoblastos, células endoteliais, condrócitos e vários fontes de fibroblastos. Esses processos são regulados por concentrações locais de citocinas e fatores de crescimento presos dentro do andaime fibroso, principalmente derivados de fontes autólogas.

De acordo com Fujioka-Kobayashi *et al.*²¹ (2017) estudos avaliaram características como a velocidade de centrifugação (força G) juntamente com o tempo de centrifugação poderiam influenciar o crescimento de liberação fatorial de coágulos de fibrina, bem como a atividade celular dos fibroblastos gengivais expostos a cada matriz de PRF. O protocolo de L-PRF padrão serviu como controle (2.700 rotações por minuto [rpm] -12 minutos). Foram utilizados dois grupos de teste usando baixa velocidade (1.300 rpm-14 minutos, denominada PRF avançado [A-PRF]) e baixa velocidade + tempo (1.300 rpm-8 minutos; A-PRF +) foram investigados. Cada matriz de PRF foi testada quanto ao fator de crescimento liberado até 10 dias (oito amostras de doadores), bem como biocompatibilidade e atividade celular. Resultados: o conceito de baixa velocidade (A-PRF, A-PRF +) demonstrou um aumento significativo do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador (TGF) -b1, fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento semelhante à insulina, sendo o A-PRF + o mais alto de todos os grupos. Embora todas as formulações da PRF foram extremamente biocompatíveis devido às suas fontes autógenas, tanto a A-PRF quanto a A-PRF + apresentaram níveis significativamente mais altos de migração e proliferação de fibroblastos em comparação com o L-PRF padrão em 3 a 7 dias.

Para Santos, *et al.*²² (2017) a combinação do osso autógeno com o L-PRF na cirurgia de elevação da membrana do seio maxilar perante as revisões de literatura, obtiveram grande sucesso, principalmente quando associado com L-PRF. Mostrando grandes resultados com vantagens no aumento da velocidade da regeneração óssea, aumento da quantidade do volume do enxerto e maturação mais rápida, e melhora na regeneração, bem como, redução na reabsorção do osso no pós-operatório. A utilização do osso autógeno, é de grande importância devido a capacidade de osseoindução, tem sido recomendada para o preenchimento da cavidade. Porém, a utilização de osso autógeno por si só apresenta um rápido tempo de reabsorção, originando um osso neoformado de menor qualidade, comparado ao utilizado em associação com hidroxiapatita.

Varela *et al.*²³ (2019), realizaram um estudo sobre plaquetas ricas em fibrina injetável (I-PRF), avaliaram o conteúdo de células sanguíneas, aspectos

morfológicos, expressão gênica do colágeno tipo I e liberação de fatores de crescimento. Foram coletadas amostras de sangue de 15 voluntários para preparar amostras de i-PRF, e foram encontrados uma concentração mais alta de plaquetas e linfócitos foi registrada no i-PRF do que no sangue periférico, a liberação de VEGF foi maior nas amostras de coágulo sanguíneo do que na i-PRF. A imuno-histoquímica mostrou regulação positiva de TGF- β , IL-10 e osteocalcina no grupo i-PRF, também mostrou aumento expressão do gene do colágeno tipo I. A fibrina injetável rica em plaquetas torna-se uma boa abordagem para a cicatrização de tecidos moles e mineralizados, considerando a formação de uma rede tridimensional de fibrina incorporando plaquetas, leucócitos, colágeno tipo I, osteocalcina e fatores de crescimento. De fato, a fibrina injetável rica em plaquetas pode ser indicada em várias aplicações médicas relacionadas à bioatividade, e misturada com outros biomateriais.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi analisar a eficácia dos concentrados sanguíneos e ação de seus componentes biológicos na regeneração tecidual, descrevendo suas características de forma a tentar produzir um esclarecimento na ação fisiológica, propriedades e aplicação clínica.

4. DISCUSSÃO

Para entender o princípio de ação do PRF, é preciso contextualizar plaquetas, fibrina e fatores de crescimento no processo de reparação tecidual.

Plaquetas são células anucleadas sem DNA, porém com enzimas e mitocôndrias ativas, de pequeno diâmetro, formadas na medula óssea a partir do precursor megacariócito, com uma meia vida em torno de 8 a 12 dias no sangue. As plaquetas têm um papel fundamental na hemostasia e são uma fonte natural de fatores de crescimento. Esses fatores são armazenados nos grânulos das plaquetas, tendo o fator de crescimento, papel fundamental na cicatrização e cura. Por isso que, os concentrados de plaquetas são usados para a prevenção e tratamento de hemorragias. A aplicação das plaquetas concentradas como aditivo cirúrgico bioativo são realizadas para promover a reparação de ferimentos com o uso do gel de fibrina⁷.

Fibrina é a forma ativa de uma molécula plasmática chamada fibrinogênio. Essa molécula fibrilar solúvel está massivamente presente nos grânulos alfa de plasma e plaquetas e desempenha um papel importante na agregação plaquetária durante a hemostasia. Torna-se um tipo de cola biológica capaz de consolidar o grupo inicial de plaquetas, que é uma parede de proteção ao longo das rupturas vasculares durante a coagulação. O fibrinogênio é o substrato final, para todas as reações de coagulação, sendo uma proteína solúvel. O fibrinogênio é convertido em fibrina insolúvel através de trombinas, enquanto o gel de fibrina polimerizado é a primeira matriz cicatricial da ferida¹.

A L-PRF é obtida através da coleta de sangue venoso periférico em tubos de tampa vermelha (indicação de que esses não contêm aditivos). Após a coleta os tubos são colocados imediatamente para centrifugar a 3.000RPM (+/- 700 RCF) por 10 minutos. Já que não contém anticoagulante, a coagulação se inicia rapidamente quando o sangue encosta nas paredes do tubo. Após a centrifugação, são obtidas, no tubo, três camadas distintas: na porção inferior, os eritrócitos; ao centro, o coágulo de fibrina; e, na porção superior, o plasma pobre em plaquetas (PPP)².

Durante a centrifugação do sangue ocorre a ativação plaquetária, essa ação implica uma liberação das citocinas, contidas nos grânulos. As citocinas estimulam a migração e proliferação celular, em conjunto com a matriz de fibrina, iniciando os primeiros estágios da cicatrização¹.

As principais citocinas plaquetárias são: fator de transformação do crescimento beta-1 (TGF-1), fator de crescimento plaquetário (PDGFs) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF).

TGF – O fator de crescimento de transformação β pode ser sintetizado pelas plaquetas, macrófagos, osteoblastos, fibroblastos e alguns outros tipos celulares. Este fator é subdividido em TGF β 1 e TGF β 2 e está relacionado com o reparo do tecido conjuntivo e regeneração óssea. Tem como funções mais importantes a quimiotaxia e mitogênese dos osteoblastos, estimulando a deposição de colágeno para formação óssea. Além disso, inibe a formação de osteoclastos e, conseqüentemente, a reabsorção óssea. Os TGF ativam os fibroblastos para a formação de protocolágeno, resultando na produção de colágeno e cicatrização da ferida⁶.

PDGFs – O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) é um importante fator de crescimento para diversas células do organismo por exercer seu efeito quimiotático. O PDGF está envolvido em quase todo o reparo tecidual, devido ao seu duplo papel de reservatório de fator de crescimento e fator de hemostasia, sendo liberado de plaquetas ativadas pela trombina ou colágeno. Seu principal efeito é servir de mediador regulando a migração, proliferação e síntese de matriz de uma variedade de células⁶.

IGF - O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é encontrado nas formas de proteína IGF1 e IGF2, secretado pelos osteoblastos durante a formação óssea para aumentar a osteogênese e acelerar a deposição óssea. Ele exerce diversas funções sobre o metabolismo ósseo, possui atividade quimiotática, estimula a angiogênese, contração da ferida e inibe a agregação plaquetárias. Fator de crescimento semelhante à insulina - IGF-1 estimula a proliferação de fibroblastos e tem efeito endócrinos similares ao hormônio do crescimento promovendo também a deposição de matriz óssea entre diversas outras funções. Diversos estudos sugerem que as IGF-s, quando combinadas

com outros fatores de crescimento, podem aumentar a osteogênese em processos cicatriciais. Alguns estudos observaram que o PDGF parece estar mais envolvido na proliferação celular e o IGF no aumento da síntese de produtos da matriz extracelular⁸.

Ao ocorrer injúria tecidual, é necessária uma série de reações químicas que culminam com a coagulação sanguínea para uma posterior reparação do tecido. Após uma cascata de reações, a protrombina é ativada em trombina, enzima responsável pela conversão de fibrinogênio em monômeros de fibrina. A conversão de fibrinogênio em fibrina ocorre em presença de Ca^{++} iônico, os monômeros se polimerizam em fibras de fibrina, passando a constituir o coágulo de fibrina na qual estão retidos glóbulos sanguíneos, plaquetas e plasma⁷.

Portanto, uma das grandes vantagens do uso do PRF por estar na forma concentrada e polimerizada, quando inserido no sítio da injúria age como a primeira matriz cicatricial pronto para uso, antecipando todo processo inicial que perduraria por dias.

A matriz de fibrina suporta os constituintes do sangue e também os fatores de crescimento, é através das plaquetas que ocorre a liberação dos fatores de crescimento epitelial e de crescimento endotelial vascular responsáveis pela migração de células endoteliais e a proliferação de células epiteliais em direção à superfície injuriada para a progressão da angiogênese. Atribui-se ao PDGF, a capacidade de estimular os fibroblastos dérmicos a sintetizar o colágeno tipo I, acredita-se que a fibrina contida no PRF, também estimule a síntese do mesmo tipo de colágeno¹.

Diante dessas evidências, sabe-se que essa matriz é a real responsável pelo potencial terapêutico do PRF e isso pode ser comprovado através do avanço da reparação dos sítios cirúrgicos avaliados nos pós-operatórios dos pacientes que utilizaram a membrana, descrito em estudos sobre preservação do rebordo alveolar com fibrina rica em plaquetas e leucócito¹².

O uso preferido de L-PRF na prática clínica deve-se em grande parte à liberação relatada de fatores de crescimento autógenos. Isto é assumiu que a

alta concentração desses fatores de crescimento resulta em tempo de cicatrização reduzido, além de estímulos na regeneração tecidual.

Estudos investigaram os efeitos potenciais do L-PRF na estimulação da regeneração óssea e aceleração da osseointegração de implantes dentários. A histomorfometria nos resultados clínicos mostraram a taxa de formação óssea e BIC foram melhoradas nas tomadas tratadas com L-PRF em comparação no grupo controle sem tratamento. Neste estudo, o contato médio osso-implante na quarta semana foi de 54,61% no grupo experimental e 26,44% no grupo de controle. O processo de regeneração ou reparo tecidual requer uma reação harmoniosa de vários tipos de células, incluindo células de resposta imune (neutrófilos, macrófagos, linfócitos), células epiteliais, fibroblastos e células-tronco, bem como outras células relevantes para o tecido. Através da expressão de VEGF, PDGF, FGF, TGF, e outras moléculas ativas (por exemplo, BMP-2), macrófagos apoiar a proliferação celular e a restauração de tecidos após lesão. Eles são vistos em todos os processos de reparo tecidual de inflamação precoce, remodelação de tecidos e formação de cicatrização¹⁸.

Esse conceito de gerar uma matriz de células com base em fibrina exclusivamente retirando sangue e centrifugação por 12–14 minutos é verdadeiramente revolucionário em termos de praticabilidade, pois pode ser manuseado e modificado facilmente em um curto período de tempo e fornece de efeito não apenas com uma célula que permite a migração de matriz para a área defeituosa, mas também fornecendo pistas biológicas cruciais, potencialmente acelerando o processo de cicatrização de feridas: incluem fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador b (TGF- β), fator plaquetário 4 (PF4), IL-1, crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento epidérmico, fator endotelial de crescimento celular (ECGF), derivada de plaquetas fator de crescimento celular (PDGF), fator de crescimento semelhante à insulina, osteocalcina, osteonectina, fibrinogênio, vitronectina, fibronectina e trombospondina. Além disso, o fato de ser uma matriz gerada por próprio sangue do paciente, há praticamente nenhum risco de reação de rejeição¹⁴.

Nos últimos anos, alguns autores alteraram o protocolo de centrifugação diminuindo o tempo e a velocidade de centrifugação, na tentativa de formar uma rede de fibrina com uma distribuição plaquetária mais uniforme e maior concentração de leucócitos, otimizando os fatores de crescimento e resposta celular. Esse conceito deu origem aos chamados PRF avançados (A-PRF e o A-PRF+) que diferem entre si devido ao protocolo de (1500 rpm/ 14 minutos e 1300 rpm/ 8 minutos, respectivamente). Os autores justificam esses achados devido ao fato de que a alta velocidade de centrifugação tende a empurrar as células, incluindo as plaquetas e leucócitos longe do coágulo. Ao diminuir a velocidade de centrifugação, uma distribuição mais uniforme de plaquetas e um maior número de granulócitos é alcançado. Estes resultados demonstram que o uso de baixa velocidade para produzir o PRF otimiza a produção de fatores de crescimento, bem como a resposta celular²¹.

Propriedades mecânicas e biológicas do coágulo de L-PRF podem explicar seu potencial para a regeneração óssea. A estrutura de fibrina da L-PRF permite a retenção de células-tronco hematopoiéticas, plaquetas, leucócitos, fibroblastos e outras células envolvidas na regeneração óssea^{2,14}.

As plaquetas retidas no L-PRF são importantes reservatórios de TGF, PDGF e IGF. O PDGF é o principal fator de crescimento responsável por migração, proliferação e sobrevivência de células mesenquimais, está também relacionado à produção de células endoteliais e à ativação de macrófagos, os quais promovem o debridamento da ferida e são fontes de fatores de crescimento para a regeneração óssea. O IGF é considerado um importante fator para a regulação da proliferação e da diferenciação de diversos tipos celulares. Essa molécula está também relacionada à proteção celular contra os estímulos de apoptose².

A configuração da matriz da L-PRF favorece uma vida útil bastante duradoura no que se refere à disponibilidade de citocinas no sítio cirúrgico. Esta propriedade mecânica confere uma grande vantagem biológica para a L-PRF quando comparada a outros agregados plaquetários, juntamente com a utilização do osso autógeno, formam um conjunto importante devido a

capacidade de osseointegração. Tem sido muito recomendada para o preenchimento da cavidade, principalmente em cirurgia de seio maxilar²².

A coagulação para formação da L-PRF ocorre por meio das concentrações fisiológicas de trombina, ou seja, por meio de processos naturais. Esse fato favorece a formação das junções equilaterais das fibras de fibrina. Este tipo de junção caracteriza um coágulo com fibras de fibrina mais delgadas e flexíveis, organizadas tridimensionalmente, com uma arquitetura elástica e de composição muito favorável à migração celular e à retenção de moléculas².

No processo de cicatrização natural das feridas, os concentrados sanguíneos têm uma função fundamental na aceleração da regeneração tecidual, proporcionando a liberação dos fatores de crescimento, dos fatores de coagulação e citocinas. O processo de centrifugação do PRF aumenta o número de macrófagos e leucócitos que secretam o fator de crescimento transformador (TGF), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), e o fator de crescimento semelhante a insulina (IGF), responsáveis em providenciar a migração, proliferação e diferenciação celular. Em síntese o PRF age conjuntamente na aparência estrutural de um arcabouço tridimensional de fibrina, aprisionando diversos tipos de células e liberando de forma lenta e gradual de fatores de crescimento, melhorando a angiogênese, o comportamento celular e, por fim a regeneração tecidual.

5. CONCLUSÃO

Através desta revisão de literatura pode-se evidenciar que os concentrados sanguíneos são um biomaterial extremamente fisiológico, seguro e confiável. Tem a função de armazenar e liberar um concentrado otimizado de fatores de crescimento, através de um arcabouço biocompatível tridimensional que facilita a migração celular, que serve de reservatório para células autólogas vivas capazes otimizar o processo de reparo tecidual. Diversos estudos têm relatado o potencial regenerador da PRF em diversas situações clínicas em odontologia, entretanto, existem poucos dados histológicos disponíveis sobre o assunto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, 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): 56-60.
2. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. **Part I: Technological concepts and evolution. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006; 101 (3): 37-44.
3. Dohan DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte M, Charrier J. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. **Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006; 101 (3): 51–5.
4. Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. **Aust Dent J.** 2012; 57: 207–12.
5. Borie E, Olivi DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltran V, Fuentes R. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. **Int J ClinExp Med.** 2015; 8 (5): 7922-7929.
6. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral surgery oral medicine oral pathology.** 1998; 85 (6): 638-646.
7. Guyton AC, Hall AJ. Tratado de Fisiologia Médica. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S.A. 10ª. edição, 2002: (livro).
8. Pontual MAB, Magini RS. Plasma rico em plaquetas (PRP) e fatores de crescimento: das pesquisas científicas à clínica odontológica. ed. São Paulo: editora; 2004 (livro).

9. Vendramin FS, Franco D, Nogueira CM, Pereira MS, Franco TR. Platelet-rich plasma and growth factors: processing technique and application in plastic surgery. **Rev Col Bras Cir.** 2006; 33: 24-28.
10. Vasconcellos AVB, Teixeira APF, Cruz PV. Plaqueta rica em fibrina: um novo conceito em reparação tecidual. **Innovations implant journal - biomaterials and esthetics.** 2008; 3 (6): 27-31.
11. Pimentel W, Carrijo RC, Tiozzi R. Nova técnica L-PRF segmentada para procedimentos regenerativos e implantares. **ImplantNews.** 2014; 11 (3): 305-10.
12. Silva FGO, Carneiro AF, Ramos Neto AS, Neves DM, Simão GML, Costa ALCC. Preservação do rebordo alveolar com fibrina rica em plaquetas e leucócitos – relato de três casos clínicos consecutivos com acompanhamento de um ano. **ImplantNews.** 2014; 11 (3): 339-50.
13. Choukroun J. Advanced PRF and i-PRF: Platelet concentrate or blood concentrate? **Journal of Periodontal Medicine and Clinical Practice.** 2014; 1: 1-3.
14. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. **Journal of Oral Implantology.** 2014; 40 (6): 679-689.
15. Mourão CFAB, Valiensi H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MDC. Obtenção da fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF) e sua polimerização com enxerto ósseo: nota técnica. **Rev. Col. Bras. Cir.** 2015; 42 (6): 421-423.
16. Öncü E, Alaaddinoğlu EE. The Effect of Platelet-Rich Fibrin on Implant Stability. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.** 2015; 30 (3): 578-582.
17. Silva FB, Dutra KM, Albuquerque AFM, Fiamengui Filho JF. Evidências científicas do uso da fibrina rica em plaquetas em odontologia: uma revisão integrativa. Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC), 12.,

2016, Quixadá. Anais... Quixadá: Centro Universitário Católica de Quixadá, 2016. ISSN: 2446-6042.

18. Öncü E, Bayram B, Kantarcı A, Gülsever S, Alaaddinoğlu EE. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**. 2016; 21 (5): 601-7.

19. Salgado-Peralvo ÁO, Salgado-García Á, Arriba-Fuente L. Nuevas tendencias en regeneración tisular: fibrina rica en plaquetas y leucocitos. **Rev esp cir oral maxilofac**. 2017; 39 (2): 91–98.

20. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, Choukroun J. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? **Clin Oral Invest**. 2017; 21: 2619-2627.

21. Fujioka-Kobayashi M, et al. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. **J Periodontol**. 2017; 88 (1): 112-121.

22. Santos DDD, Fragoso FCO, Lima Netto TJ, Oliveira ES, Brito WTP, Silva CP, Cavalcanti TC. Uso dos concentrados plaquetários rico em fibrina e leucócitos (i-prf) na cirurgia de levantamento de seio maxilar. **RvAcBO**. 2017; 26 (2): 99-103.

23. Varela HA, Souza JCM, Nascimento RM, Araújo Jr RF, Vasconcelos RC, Cavalcante RS, Guedes PM, Araújo AA. Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization. **Clin Oral Invest**. 2019; 23: 1309-1318.