



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**PRODUTOS DERIVADOS DO SANGUE NA MEDICINA  
DENTÁRIA**

Trabalho submetido por  
**Henrique Trindade de Souza Monteiro da Silva**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

novembro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**PRODUTOS DERIVADOS DO SANGUE NA MEDICINA  
DENTÁRIA**

Trabalho submetido por  
**Henrique Trindade de Souza Monteiro da Silva**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor Francisco João Salvado e Silva**

**novembro de 2017**

## DEDICATÓRIA

Não entendo  
Isso é tão vasto que ultrapassa qualquer entender  
Entender é sempre limitado  
Mas não entender pode não ter fronteiras  
Sinto que sou muito mais completa quando não entendo  
Não entender, do modo como falo, é um dom  
Não entender, mas não como um simples de espírito  
O bom é ser inteligente e não entender  
É uma bênção estranha, como ter loucura sem ser doida  
É um desinteresse manso, é uma doçura de burrice  
Só que de vez em quando vem a inquietação: quero entender um pouco  
Não demais: mas pelo menos entender que não entendo

Clarice Lispector



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Doutor Francisco Salvado pela paciência, sabedoria e exímia maestria na arte de ensinar e por me ter inculcido o gosto pela área da cirurgia.

Ao Prof. Doutor Paulo Maurício pela atenção e paciência.

A todos os professores que contribuíram na minha formação e na elaboração deste trabalho.

Aos funcionários da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz – os pilares responsáveis pela criação e manutenção duma infraestrutura (física e intelectual) que permite um ensino de qualidade única.

À Bruna, pela amizade incondicional.

À Sara ao Pedro e à Mariana, pela amizade, companheirismo (académico e boémico), pela ajuda e atenção com a elaboração deste trabalho.

Ao Diogo, pelo incentivo, pela consideração e preocupação na elaboração deste trabalho.

À Sofia e à Joana pela ajuda e pelo apoio nos momentos difíceis.

A todos os meus amigos e colegas de curso e de faculdade com quem eu tive a oportunidade de aprender e ensinar e que contribuíram para o meu crescimento.

Aos meus pais e a minha avó, pelo carinho, apoio, dedicação, pelos exemplos de luta, honestidade e perseverança, em especial a minha avó, que me ensinou que podemos perder tudo na vida, menos o aprendizado adquirido através do estudo. Sem eles, nada disto seria possível.





## RESUMO

**Introdução:** Vários biomateriais podem ser obtidos a partir de componentes do sangue humano. A utilização destes biomateriais varia com as indicações e necessidades clínicas, consoante a necessidade de materiais com elevado conteúdo em fibrinogénio, enquanto outros são utilizados por conterem variados fatores de crescimento.

Estes materiais biológicos mimetizam os eventos fisiológicos induzidos pela trombina, conduzindo à formação de fibrina e à ativação plaquetária, apresentando a vantagem major de serem desprovidos de efeitos necróticos nos tecidos e de serem biodegradáveis por enzimas corporais.

**Objetivo:** Elaboração de uma pesquisa/trabalho que permita sintetizar e mapear as evidências de revisões sistemáticas sobre produtos derivados do sangue utilizados em procedimentos médico-dentários.

**Materiais e Métodos:** Foi realizada uma pesquisa bibliográfica através dos motores de busca científicos MEDLINE©/Pubmed©, Scielo©, ScienceDirect©, Lilacs© e plataforma B-On©.

**Conclusões:** A aplicação de produtos derivados do sangue na medicina dentária têm trazido resultados promissores, desde o controlo da hemostase, redução do tempo de cicatrização e estimulação da regeneração tecidual. Uma característica comum e importante que os materiais derivados do sangue apresentam é a de serem fisiologicamente compatíveis com os tecidos humanos, não apresentarem o risco de provocar necrose e outras reações adversas. Ainda são precisas melhorias no que diz respeito a padronização e formulação destes materiais, de forma a melhorar a previsibilidade e a confiabilidade dos resultados clínicos.

**Palavras-chave:** Regeneração, biomateriais, sangue, plasma, plaquetas, fibrina, fatores de crescimento.



## **ABSTRACT**

**Introduction:** Many biomaterials can be obtained from components of human blood. The use of these biomaterials varies with indications and clinical needs, depending on whether materials with high fibrinogen content are required, while others are used because they contain varied growth factors. These biological materials mimic the physiological events induced by thrombin, leading to fibrin formation and platelet activation, with the major advantage of being devoid of tissue necrotic effects and being biodegradable by body enzymes

**Aim:** To develop a research/work that could synthesize and map the evidence of systematic reviews on blood products used in medical-dental procedures.

**Methods and Materials:** A bibliographic search was conducted through the scientific search engines MEDLINE © / Pubmed ©, Scielo ©, ScienceDirect ©, Lilacs © and B-On © platform.

**Conclusion:** The application of blood derived products in dentistry has brought promising results, from hemostasis control, reduction of healing time and stimulation of tissue regeneration. A common and important feature of blood derived materials is that they are physiologically compatible with human tissues, do not present the risk of causing necrosis and other adverse reactions. Improvements are still needed with regard to the standardization and formulation of these materials in order to improve the predictability and reliability of clinical results.

**Keywords:** Regeneration, biomaterials, blood, plasma, platelets, fibrin, growth factors.



## ÍNDICE GERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>7</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>11</b>
<b>1 – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 – OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
<b>3 – MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
<b>4 – DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>19</b>
4.1 – Composição do Sangue.....	19
4.1.1 – Plasma.....	19
4.1.2 – Plaquetas.....	22
4.1.3 – Leucócitos.....	23
4.1.3.1 – Neutrófilos.....	24
4.1.3.2 – Eosinófilos.....	25
4.1.3.3 – Basófilos.....	25
4.1.3.4 – Linfócitos.....	25
4.1.3.5 – Monócitos.....	26
4.1.4 – Fibrina.....	26
4.2 – Inflamação.....	28
4.3 – Reparação de tecidos.....	29
4.4 – Biomateriais derivados do sangue.....	31
4.4.1 – Baseados em fibrinogénio.....	31
4.4.1.1 – Selantes de fibrina.....	32
4.4.1.2 – Fibrina rica em plaquetas (PRF).....	33
4.4.2 – Baseados em plaquetas.....	33
4.4.2.1 – Plasma rico em plaquetas (PRP).....	34
4.4.2.1.1 – Plasma Rico em Plaquetas Puro (P-PRP).....	38
4.4.2.1.2 – Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos (L-PRP).....	38
4.4.2.1.3 – Fibrina Rica em Plaquetas Pura (P-PRF).....	38
4.4.2.1.4 – Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF).....	38
4.5 – Aplicações Na Medicina Dentária – Vantagens E Desvantagens.....	41
<b>5 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>45</b>
<b>6 – BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>47</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Composição do sangue, valores aproximados dos componentes do sangue num adulto normal (adaptado de Seeley's Anatomy & Physiology, 10 <sup>a</sup> Edição).....	<b>20</b>
<b>Figura 2</b> - Hematopoiese (adaptado de Seeley's Anatomy & Physiology, 10 <sup>a</sup> Edição).....	<b>24</b>
<b>Figura 3</b> - Ação da trombina sobre o fibrinogénio, do monómero de fibrina ao polímero de fibrinogénio. (Adaptado de Hematologia na Prática Clínica, 1 <sup>a</sup> Edição).....	<b>28</b>
<b>Figura 4</b> - Estrutura hexagonal da fibrina resultante da mistura de fibrinogénio concentrado com trombina. (Adaptado de Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine, Burnouf et al. 2013).....	<b>33</b>



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do plasma (adaptado de Anatomia e Fisiologia - Seeley, Stephens & Tate, 2007).....	<b>21</b>
--	-----------



## LISTA DE ABREVIATURAS

ADP – Adenosina difosfato

Ag-Ac – Antígeno-Anticorpo

ARN – Ácido desoxirribonucleico

ATP – Adenosina trifosfato

BMPs – *Bone morphogenic proteins*

EGF – *Epidermal growth factor*

IGF- I – *Insuline like growth factor 1*

L-PRF – *Leucocyte and platelet rich fibrin*

L-PRP – *Leucocyte and platelet rich plasma*

PDGFaa – *Platelet derived growth factor* subunidades aa

PDGFbb - *Platelet derived growth factor* subunidades bb

PDGFab - *Platelet derived growth factor* subunidades ab

POSEIDO - *Periodontology, Oral Surgery, Esthetic and Implant Dentistry Organization*

P-PRP – *Pure platelet rich plasma*

P-PRF – *Pure platelet rich fibrin*

PRP – *Platelet rich plasma*

TGF-b – *Transforming growth factor beta*

TGF-b2 – *Transforming growth factor beta 2*

VEGF – *Vascular endothelial growth factor*

VIH – Vírus da imunodeficiência humana



## **1 - INTRODUÇÃO**

Vários biomateriais podem ser obtidos a partir dos componentes do sangue humano. Segundo Burnouf et al. (2013), a utilização destes biomateriais varia com as indicações e necessidades clínicas, consoante a necessidade de materiais com elevado conteúdo em fibrinogénio, enquanto que outros são utilizados por conterem variados fatores de crescimento.

Estes materiais biológicos mimetizam os eventos fisiológicos induzidos pela trombina, conduzindo à formação de fibrina e à ativação plaquetária, apresentando a vantagem major de serem desprovidos de efeitos necróticos nos tecidos e de serem biodegradáveis por enzimas corporais.

Os biomateriais à base de fibrina, conhecidos como colas de fibrina ou selantes de fibrina, são utilizados há mais de 30 anos como agentes hemostáticos e selantes cirúrgicos, demonstrando amplamente benefícios nos mais variados campos da cirurgia. No entanto o verdadeiro interesse clínico nestes biomateriais ricos em fatores de crescimento (também conhecidos como géis plaquetários ou plasma rico em plaquetas) emergiu mais recentemente. Estes géis são utilizados nas mais variadas situações clínicas com vista a obtenção da cicatrização de feridas e reparação de tecidos moles e duros. As aplicações passam pela cura de úlceras e queimaduras de cicatrização dificultada, estimulação da regeneração de tecido ósseo e nas mais variadas áreas da medicina dentária, implantologia e cirurgia plástica, reconstrutiva e maxilofacial, como uma infindável lista de aplicações nas mais diversas áreas médicas.

Esta revisão monográfica tem como objetivo principal efetuar uma compilação bibliográfica focada nos mais variados produtos derivados do sangue (PRP's, PRF's, L-PRF) utilizados na prática clínica em Medicina Dentária.



## **2- OBJETIVOS**

O objetivo desta monografia foi a elaboração de uma pesquisa/trabalho que permitisse sintetizar e mapear as evidências de revisões sistemáticas sobre produtos derivados do sangue utilizados em procedimentos médico-dentários.



### **3 - MATERIAIS E MÉTODOS**

A pesquisa bibliográfica para a realização desta monografia foi maioritariamente conduzida através dos motores de busca científicos MEDLINE©/Pubmed©, Scielo©, ScienceDirect©, Lilacs© e plataforma B-On©, entre abril de 2016 e julho de 2017. Para delimitação de pesquisa foram utilizadas as seguintes palavra-chave: “Anti-coagulation”, “parenteric anticoagulants”, “oral anticoagulants”, “dental procedures”, “perioperative management”, “L-PRF”, “L-PRF and implantology”, “PRP”, “PRGF”, “L-PRF”, “L-PRF and post-avulsion sites”, “L-PRF and osteointegrations”, “L-PRF and healing”, “L-PRF and sinus lift”, “hemostasis”, “guidelines”.

Os critérios de seleção estabelecidos foram: artigos maioritariamente com um máximo de 15 anos redigidos em inglês e/ou português, com inclusão de revisões sistemáticas, meta-análises, ensaios clínicos aleatórios e guidelines.

Além das plataformas supracitadas, foram também consultadas agências e organizações nacionais e internacionais como: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), World Health Organization (WHO), American Dentistry Association (ADA).



## **4 - DESENVOLVIMENTO**

### 4.1 Composição do sangue

#### 4.1.1 Plasma

Segundo Seeley (2011), a parte líquida do sangue denomina-se plasma. Trata-se de um fluido de cor amarelo pálido, constituído por cerca de 91% de água e os restantes 9% de outras substâncias como proteínas, nutrientes, iões, gases e produtos de degradação. Corresponde a um sistema coloidal, ou seja, é um líquido que contém elementos em suspensão que não sofrem deposição, a maioria dos quais são proteínas plasmáticas, tais como a albumina, globulinas (também chamadas de imunoglobulinas) e fibrinogénio. A albumina, sintetizada no fígado constitui 58% das proteínas encontradas no plasma e desempenha um papel importante na regulação do movimento da água entre os tecidos e o sangue. Como não passa facilmente do sangue para os tecidos, desempenha uma função essencial na manutenção da pressão osmótica do sangue. As globulinas representam 38% das proteínas do plasma. Algumas globulinas, tais como anticorpos e proteínas do sistema do complemento fazem parte do sistema imunitário, enquanto outras funcionam como moléculas de transporte. O fibrinogénio constitui cerca de 4% das proteínas encontradas no plasma e o seu papel é crucial no processo de coagulação. O sistema de coagulação, além do fibrinogénio, engloba uma série complexa de proteínas plasmáticas e alguns enzimas e cofatores que participam na formação do coágulo, além disso, outros enzimas presentes no plasma responsáveis pela posterior lise do coágulo também são importantes para a restauração funcional do sistema circulatório.

A água, as proteínas e outras substâncias existentes no sangue, tais como iões nutrientes, produtos de degradação, gases e substâncias reguladoras, são mantidas

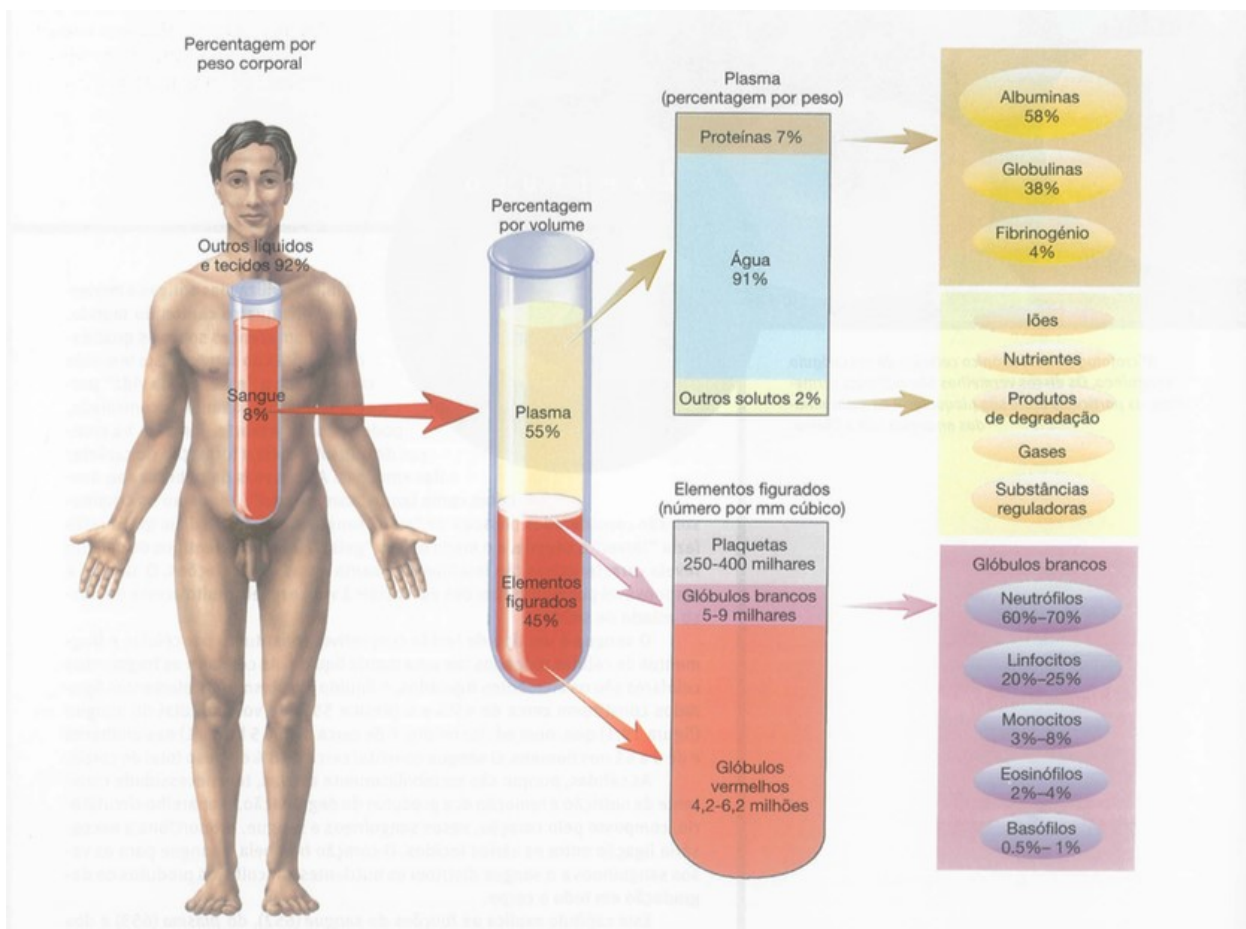


Figura 1- Composição do sangue, valores aproximados dos componentes do sangue num adulto normal (adaptado de Seeley's Anatomy & Physiology, 10ª Edição)

dentro de limites rigorosos. Normalmente, a água ingerida por via digestiva corresponde à água excretada pelos rins, pulmões, tubo digestivo e pele, razão pela qual o volume plasmático se mantém relativamente constante. Outros elementos suspensos ou dissolvidos no sangue provém do fígado, rins, intestino, glândulas do sistema endócrino e tecidos imunitários, como o baço. O oxigénio chega ao sangue através dos pulmões e deixa o sangue penetrando nos tecidos; o dióxido de carbono entra no sangue vindo dos tecidos e deixa o sangue através dos pulmões.

Tabela 1 - Composição do plasma (adaptado de Anatomia e Fisiologia - Seeley, Stephens &amp; Tate, 2007)

<b>COMPONENTES</b>	<b>FUNÇÃO</b>
<b>Água</b>	Solvente, meio de suspensão.
<b>Proteínas do plasma</b>	
Albumina	Viscosidade, pressão osmótica, tampão, transporte de ácidos gordos, de bilirrubina livre de hormonas tiroideias.
Globulinas	Transporte de lípidos, glícidos, hormonas e iões, imunidade.
Fibrinogénio	Coagulação sanguínea.
<b>Iões</b>	
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>+</sup> , Mg <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , Fe <sup>+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , OH <sup>-</sup> , H <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Osmose, potenciais de membrana e equilíbrio ácido base.
<b>Nutrientes</b>	
Glicose, aminoácidos, triacilglicerol, colesterol,	Fontes de energia e componentes básicos de moléculas mais complexas.
Vitaminas	Promotores da atividade enzimática.
<b>Produtos de degradação</b>	
Ureia, ácido úrico, creatinina, sais de amónia	Produtos de degradação do metabolismo proteico.
Bilirrubina	Produto de degradação das hemácias.
Ácido láctico	Produto final da respiração anaeróbia; convertido em glicose pelo fígado.
<b>Gases</b>	
O <sub>2</sub>	Respiração aeróbia – recetor terminal na cadeia transportadora de eletrões.

CO <sub>2</sub>	Produto de degradação da respiração aeróbia. Tampão.
N <sub>2</sub>	Inerte.
<b>Substâncias reguladoras</b>	
Enzimas	Catálise de reações químicas.
Hormonas	Estimulação/inibição de funções orgânicas.

#### 4.1.2 Plaquetas

As plaquetas, ou trombócitos são pequenos fragmentos celulares compostos por uma pequena quantidade de citoplasma recobertos por uma membrana plasmática, têm forma de disco medindo cerca de 0.5-4µm de diâmetro, o seu período de vida dura entre 5 a 9 dias, são derivadas de células gigantes e poliplóides da medula óssea, os megacariócitos, que podem medir até 150µm de diâmetro (Seeley, 2011; Junqueira, 2008).

Os megacariócitos não apresentam divisão celular completa, mas sofrem um processo denominado endomitose ou endoreduplicação, que dá origem a uma célula de núcleo multilobado. Cada megacariócito produz cerca de 2.000 plaquetas. A trombopoietina é responsável por estimular a maturação e libertação das plaquetas, esta hormona é produzida principalmente nos rins, parcialmente no baço e no fígado (Ciesla, 2010).

As plaquetas apresentam na sua superfície proteínas e glicoproteínas que permitem a fixação a outras moléculas, como por exemplo, o colagénio presente no tecido conjuntivo. Algumas dessas moléculas encontradas na superfície, assim como aquelas libertadas nos grânulos existentes no interior das plaquetas, desempenham um papel importante na hemostase (Seeley, 2011).

Não há reserva de plaquetas na medula óssea: 80% encontram-se em circulação e 20% na polpa vermelha do baço. A actina e miosina são outras duas proteínas encontradas no citoplasma das plaquetas e estão envolvidas no processo de retração e dissolução do coágulo. As plaquetas não apresentam núcleo, mas têm grânulos:

grânulos alfa e grânulos densos. Estes grânulos são segregados durante a reação de libertação e contêm muitos componentes bioquímicos, como serotonina, ADP e ATP (Ciesla, 2010).

As plaquetas promovem a coagulação do sangue e auxiliam nos processos de reparação das paredes dos vasos sanguíneos evitando perdas de sangue através da formação do rolhão plaquetário, responsável por ocluir pequenas lesões nos vasos e através da promoção da formação e contração dos coágulos que auxiliam na oclusão de lesões de maiores dimensões (Seeley, 2011).

O valor normal da contagem de plaquetas num indivíduo saudável varia entre 150.000 e as 450.000 plaquetas por microlitro de sangue (Junqueira, 2008; Ciesla 2010; Seeley 2011).

#### 4.1.3 Leucócitos

Os leucócitos ou glóbulos brancos, são células de coloração esbranquiçada que não apresentam hemoglobina, mas nucleadas. A proteção contra os micro-organismos agressores é conferida pelos leucócitos, estes eliminam células mortas e corpos estranhos do organismo. Muitos leucócitos apresentam mobilidade através de um movimento ameboide, isto é, através de projeções irregulares do citoplasma demonstram capacidade de movimento semelhante a de uma ameba. Diapedese é o nome do processo pelo qual os leucócitos saem da circulação sistêmica e entram nos tecidos, estes ficam finos e alongados e passam por entre as células que formam os vasos. Os leucócitos podem ser atraídos para materiais estranhos ou células mortas dentro dos tecidos por quimiotaxia. No local de uma infecção, os leucócitos fagocitam bactérias, células mortas, corpos estranhos e depois morrem. A acumulação de leucócitos mortos e bactérias juntamente com fragmentos celulares e líquido, chama-se pus (Seeley 2011; Ciesla, 2010)

De acordo com Junqueira, 2008, os leucócitos podem ser divididos em dois grupos: os granulócitos e os agranulócitos. Os granulócitos são classificados em 3 grupos: os neutrófilos, os eosinófilos e os basófilos; estes têm núcleos de forma irregular e apresentam no citoplasma grânulos específicos envoltos por uma membrana e lisossomas. Os agranulócitos são classificados em 2 grupos: os linfócitos e os

monócitos; estes têm núcleos de forma mais regular e o seu citoplasma não apresenta granulações específicas.

O número de leucócitos por microlitro de sangue no adulto saudável varia de 4.500 a 11.500 (Ciesla, 2010; Junqueira 2008).

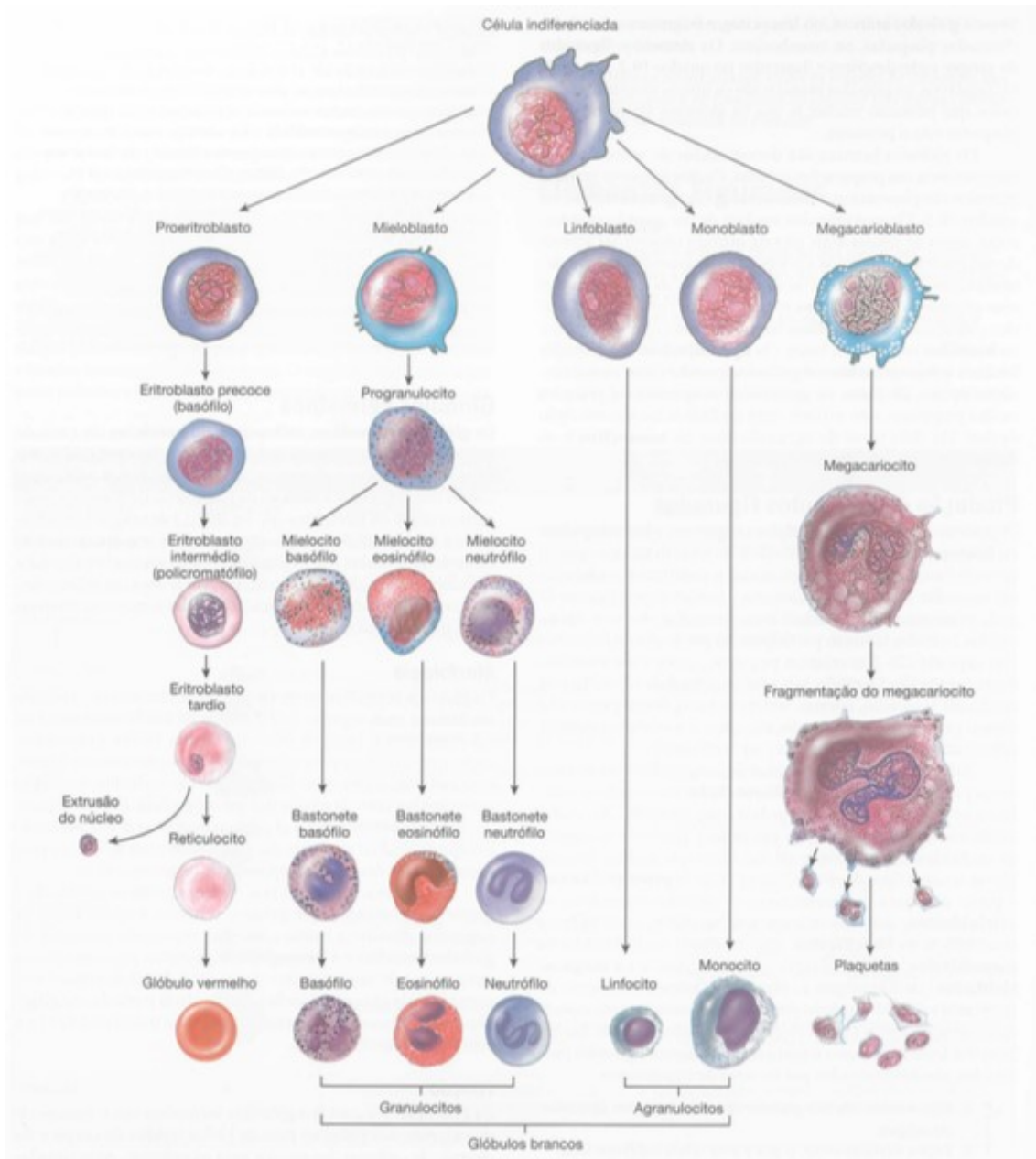


Figura 2 - Hematopoiese (adaptado de Seeley's Anatomy & Physiology, 10ª Edição)

#### 4.1.3.1 Neutrófilos

Os neutrófilos são o tipo mais comum de leucócitos encontrados no sangue, apresentam pequenos grânulos no citoplasma, um núcleo normalmente lobado variando o número de lobos entre 2 e 5, por isso, são frequentemente chamados de neutrófilos polimorfonucleados (Seeley 2011).

O seu período em circulação varia entre 10-12 horas, após este período, migram para outros tecidos onde se tornam móveis, realizando fagocitose de bactérias, complexos Ag-Ac e outros corpos estranhos. Uma classe de enzimas, os lisozimas, que apresentam potencial de destruir certas bactérias são segregados pelos neutrófilos. Após saírem de circulação, os neutrófilos sobrevivem por cerca de 1-2 dias (Seeley 2011; Ciesla 2010).

#### 4.1.3.2 Eosinófilos

Os eosinófilos são células móveis que saem da circulação e entram nos tecidos durante uma resposta inflamatória. São mais fáceis de encontrar em tecidos envolvidos na resposta alérgica – o número de eosinófilos está aumentado em pessoas com alergia. Ao produzirem enzimas que destroem mediadores inflamatórios, como a histamina, os eosinófilos contribuem para a redução da resposta inflamatória. Os eosinófilos também libertam químicos tóxicos que atacam parasitas (Seeley, 2011; Junqueira 2008).

#### 4.1.3.3 Basófilos

De todos os leucócitos, os basófilos são os menos comuns (Seeley, 2011). Apresentam grandes grânulos citoplasmáticos. Como os eosinófilos e os neutrófilos, os basófilos saem da circulação e migram para os tecidos, onde participam nos processos alérgicos e inflamatórios. Os basófilos contêm grandes quantidades de histamina que libertam nos tecidos para aumentar a resposta inflamatória e também libertam heparina, que inibe o processo de coagulação (Junqueira, 2008).

#### 4.1.3.4 Linfócitos

Os linfócitos são os leucócitos mais pequenos, a maior parte destes apresentam um diâmetro ligeiramente maior que os glóbulos vermelhos: 7.5µm (Junqueira, 2008). O citoplasma dos linfócitos corresponde a um fino anel, por vezes não perceptível em volta do núcleo. Apesar de terem origem na medula óssea, os linfócitos deslocam-se através do sangue para os tecidos linfáticos, onde podemos encontrar a maioria da população linfocitária – gânglios linfáticos, baço, amígdalas e timo, locais onde se proliferam, produzindo mais linfócitos (Seeley, 2011).

Existem dois tipos de linfócitos que desempenham funções importantes na resposta imunitária: os linfócitos B e T (Seeley, 2011). Os linfócitos B dividem-se ao serem estimulados pela presença de toxinas ou bactérias e começam a produzir proteínas – os anticorpos. Estes ligam-se às bactérias e ativam mecanismos que levam à sua destruição. Os linfócitos T protegem contra os vírus e outros micro-organismos, atacando e destruindo células onde estes se podem reproduzir. Além disso, os linfócitos T estão envolvidos na rejeição de enxertos e na destruição de células cancerígenas. (Seeley 2011, Ciesla 2010).

#### 4.1.3.5 Monócitos

Ao contrário dos linfócitos, os monócitos são os maiores leucócitos, habitualmente permanecem em circulação por cerca de 3 dias, depois transforma-se em macrófagos e migram para vários tecidos no organismo. São responsáveis pela fagocitose de células mortas, bactérias, fragmentos e outros detritos encontrados dentro dos tecidos (Seeley, 2011). Infecções crónicas muitas vezes são acompanhadas de um aumento no número de monócitos. Além disso, os monócitos podem degradar as substâncias fagocitadas, levando-as até aos linfócitos, provocando a sua ativação (Junqueira, 2008).

#### 4.1.4 Fibrina

A fibrina, também conhecida como fator Ia, é uma proteína não globular, fibrosa, envolvida no processo de coagulação sanguínea (Rodak et al, 2007). É formada pela ação proteolítica da trombina sobre o fibrinogénio.

O fibrinogénio é o principal substrato do sistema de coagulação e do sistema fibrinolítico. Apresenta o maior peso molecular entre todos os fatores de coagulação e é o substrato em que se centra o sistema de coagulação. Este fator apresenta labilidade térmica mas é estável quando armazenado (Ciesla 2010).

Quando o fibrinogénio transforma-se em fibrina por influência da trombina, iniciando-se a formação do coágulo sólido (Seeley, 2011).

A formação de fibrina ocorre em minutos e deve-se em parte a um mecanismo de *feedback* positivo no sistema hemostático. Uma vez ativado, cada fator de coagulação acelera a ação do fator seguinte conduzindo a reação até à sua conclusão. Há *feedback* negativo quando a atividade desta reação se prolonga. Este papel é desempenhado pelos inibidores naturais do sistema hemostático.

Com a participação do fator XIII e da trombina, a molécula de fibrinogénio é estabilizada em fibrina *cross-linked*. Poucas horas depois, o sistema fibrinolítico desencadeia uma ação de dissolução dos coágulos que se formaram e de restabelecimento da circulação sanguínea. A produção de fibrina *cross-linked* é um processo ordenado pelo qual o fibrinogénio é dividido pela trombina em fibrinopéptidos A e B.

O fibrinogénio é constituído por 3 pares de cadeias polipeptídicas: alfa, beta e gama. Quando a trombina é produzida, separa pequenas partes das cadeias alfa e beta, criando fibrinopéptidos A e B. As partes remanescentes das cadeias alfa e beta permanecem ligadas à molécula de fibrinogénio.

Quando os fibrinopéptidos A e B se separam, está criado o monómero de fibrina. Estes monómeros polimerizam espontaneamente através de ligações de pontes de hidrogénio, formando uma larga malha de fibrina que é solúvel. Encapsuladas dentro do coágulo solúvel estão a trombina, a antiplasmina, o plasminogénio, e o ativador do plasminogénio tecidual.

Uma vez que a trombina está assim protegida dos seus respetivos inibidores, acaba por ativar o fator XIII e o cálcio, catalisando a formação das ligações peptídicas entre os monómeros de fibrina, formando polímeros responsáveis pela estrutura insolúvel e resistente do coágulo (Ciesla, 2010).

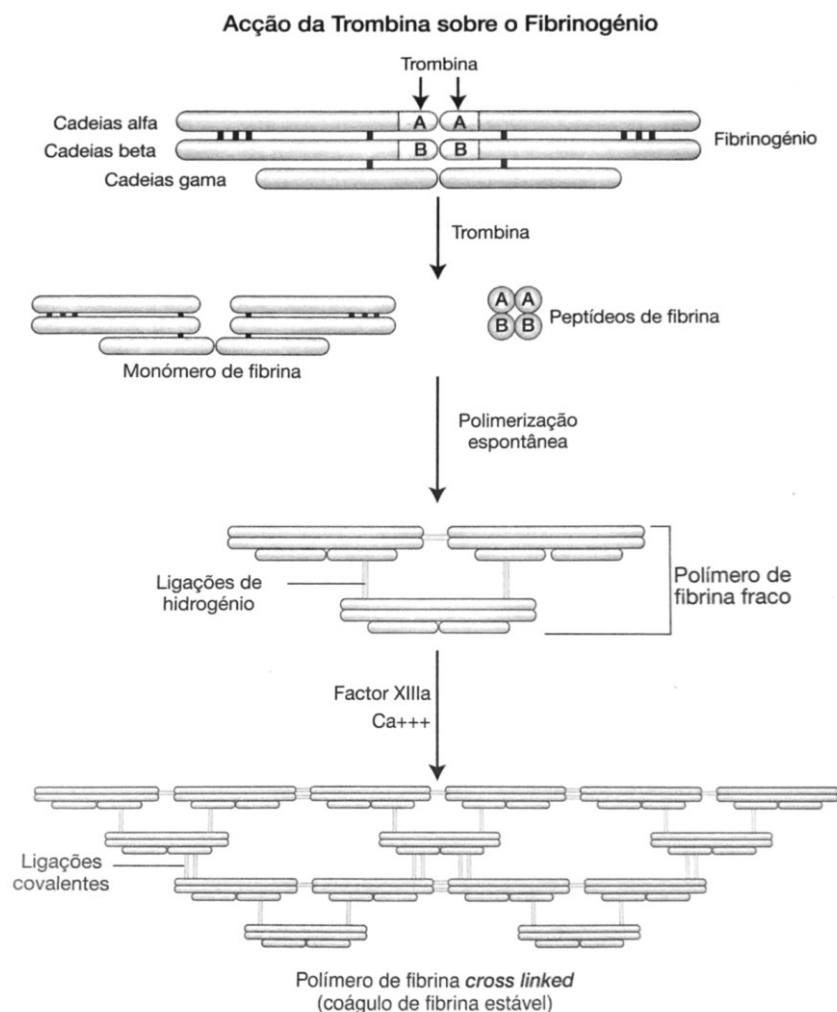


Figura 3 - Ação da trombina sobre o fibrinogénio, do monómero de fibrina ao polímero de fibrinogénio. (Adaptado de Hematologia na Prática Clínica, 1ª Edição).

## 4.2 Inflamação

Após uma lesão tecidual ou em associação a uma resposta imunitária ocorre a resposta inflamatória. Apesar de existirem muitos agentes agressores, como micro-organismos, frio, calor, radiação, químicos, eletricidade, trauma físico, a resposta inflamatória é sempre a mesma, independente da causa. A resposta inflamatória recruta os mecanismos de defesa do organismo de forma a destruir micro-organismos e outros agentes nocivos, eliminar materiais estranhos e células mortas/danificadas para que os processos de reparação dos tecidos possam prosseguir (Seeley, 2011).

A resposta inflamatória gera cinco manifestações principais: rubor, calor, tumefação, dor e perda de função. Estes mecanismos, apesar de desagradáveis, normalmente beneficiam a recuperação. Os mediadores da inflamação são substâncias químicas libertadas ou ativadas nos tecidos e vasos sanguíneos adjacentes quando um indivíduo sofre um ferimento. Destes mediadores fazem parte a histamina, quininas, prostaglandinas, leucotrienos, entre outros. Alguns desses mediadores provocam vasodilatação e sintomas como rubor e calor. A vasodilatação é benéfica pois aumenta a velocidade com que os leucócitos e outras substâncias importantes no combate às infeções e reparação da lesão, são transportadas até ao local (Seeley, 2011).

Os recetores da dor também são estimulados pelos mediadores inflamatórios, estes também aumentam a permeabilidade dos vasos sanguíneos, permitindo um maior fluxo de materiais, como as proteínas envolvidas na cascata de coagulação e os leucócitos para os tecidos necessitados, onde podem atuar diretamente sobre a lesão. A pressão osmótica entre o sangue e os tecidos é alterada à medida que as proteínas se deslocam, a água, por osmose, segue as proteínas causando tumefação que leva ao edema. O edema aumenta a pressão nos tecidos, o que pode estimular as terminações nervosas traduzindo uma resposta de dor. A dor, a limitação do movimento resultante do edema e a destruição dos tecidos contribuem para a perda de função, que diz ao indivíduo que há necessidade de proteger a estrutura lesada de futuras agressões (Seeley, 2011).

#### 4.3 Reparação de tecidos

À substituição de células mortas por células viáveis dá-se o nome de reparação, esta pode acontecer por regeneração ou por substituição. Na regeneração, as células novas são do mesmo tipo que as que foram destruídas, e geralmente a função normal é restaurada. Na substituição, desenvolve-se um novo tipo de tecido que pode gerar cicatrizes e alguma impotência funcional. A maioria das lesões cicatriza por regeneração e substituição em simultâneo, a predominância de um dos dois mecanismos depende dos tecidos envolvidos, na etiologia e extensão da lesão (Lindhe, 2008).

As células podem ser divididas em 3 grupos de acordo com a sua capacidade de regeneração: lábeis, permanentes ou estáveis. As células lábeis continuam a dividir-se

ao longo de toda a vida, por esse motivo, as lesões nessas células podem ser completamente reparadas por regeneração. Neste grupo incluem-se as células da pele, das mucosas e dos tecidos linfáticos e hematopoiéticos. As células permanentes apresentam uma capacidade muito reduzida de replicação, quando mortas, geralmente são substituídas por um tipo diferente de células. Como exemplo destas células temos os neurónios, apesar de serem capazes de recuperar de uma lesão. Se o corpo celular do neurónio não sofrer destruição, este perde os axónios ou dendritos danificados, porém, se o corpo celular se encontrar danificado, o neurónio morre. As células indiferenciadas do músculo esquelético e cardíaco apresentam uma capacidade limitada de regeneração, apesar de, individualmente, poderem reparar-se a si próprias. No extremo oposto temos as células do músculo liso, que se regenera facilmente após uma lesão. As células estáveis, encontradas nos tecido conjuntivo e glândulas (fígado, pâncreas e glândulas do sistema endócrino), não se dividem após terminarem o processo de crescimento mas mantêm a capacidade de divisão e de regeneração após uma lesão (Seeley, 2011; Lindhe 2008).

A reparação da pele é um bom exemplo de reparação de uma ferida, o padrão básico de reparação é o mesmo encontrado em outros tecidos, especialmente os epitelizados. Se os bordos da lesão se encontrarem próximos, como numa incisão cirúrgica, a ferida cicatriza por um processo chamado de primeira intenção. Se os bordos não estiverem próximos, ou se tiver ocorrido uma perda considerável de tecido, o processo ganha o nome de segunda intenção (Lindhe, 2008; Hupp 2014).

Na cicatrização por primeira intenção, a lesão enche-se de sangue e forma-se um coágulo, este coágulo contém uma proteína filamentosa, a fibrina, que une os bordos da lesão. A superfície do coágulo seca para formar uma crosta, que fecha exteriormente a lesão e ajuda a prevenir posteriores infeções. A resposta inflamatória induz a dilatação dos vasos, que permite que uma grande quantidade de células sanguíneas e outras substâncias cheguem ao local. A permeabilidade vascular aumenta, resultando em edema e permitindo que a fibrina e as células sanguíneas se desloquem para os tecidos lesados. A fibrina atua formando uma barreira contra os micro-organismos e outros corpos estranhos (Lindhe, 2008; Hupp 2014; Seeley 2011).

Os fibroblastos existentes no tecido conjuntivo circundante migram para o coágulo e produzem colagénio e outras substâncias da matriz extracelular. Os capilares

crecem a partir dos vasos sanguíneos nos bordos da lesão, revascularizando a área, enquanto a fibrina presente é degradada e removida. Isto resulta na substituição do coágulo por um tecido conjuntivo delicado chamado de tecido de granulação, constituído por fibroblastos, colagénio e capilares sanguíneos. Algumas vezes há persistência de uma elevada quantidade de tecido de granulação, o que leva a formação de uma cicatriz, que no início aparenta uma coloração vermelho vivo devido a grande vascularização do tecido subjacente. Mais tarde, a cicatriz torna-se gradualmente mais branca à medida que o colagénio se acumula e os capilares são comprimidos (Lindhe, 2008; Seeley 2011; Hupp 2014).

A reparação por segunda intenção decorre de forma semelhante à por primeira intenção, embora com algumas diferenças, uma vez que os bordos da lesão se encontram afastados, o coágulo pode não fechar completamente e as células epiteliais levam muito mais tempo a regenerar e a recobri-la. Existindo uma maior extensão do tecido lesado, o grau de resposta inflamatória é maior, existem mais detritos celulares para as células fagocitárias removerem e o risco de infeção é maior. Forma-se muito mais tecido de granulação e dá-se a contração da lesão em resultado a contração dos fibroblastos do tecido de granulação. A contração da ferida dá origem a cicatrizes desfigurantes e debilitantes. Desta maneira, é vantajoso que as grandes lesões sejam suturadas para que possam cicatrizar por primeira intenção, assim, a cicatrização é mais rápida, o risco de infeção é menor e a quantidade de tecido cicatricial é reduzida. (Lindhe, 2008; Hupp 2014).

#### 4.4 Biomateriais derivados do sangue

##### 4.4.1 Baseados em Fibrinogénio

Utilizados desde o início do século XX (Marx, 2003) e disponibilizados comercialmente na Europa na década de 1980, estes produtos baseados em fibrinogénio são conhecidos como, selantes de fibrina, colas de fibrina ou adesivos de fibrina. Os selantes de fibrina podem ser divididos em dois grupos: produzidos industrialmente ou produzidos em consultório.

Os selantes de fibrina contém fibrinogénio concentrado e trombina como principais proteínas ativas e, são normalmente formulados com cloreto de cálcio, que

acelera a reação de polimerização da fibrina (Burnouf, Goubran, Chen, Ou, El-Ekiaby, Radosevic, 2013).

O fibrinogénio e a trombina são misturados instantes antes da sua utilização clínica, de maneira a formar um coágulo de fibrina que adere aos tecidos de uma forma semelhante ao do último passo da cascata de coagulação, mais precisamente a conversão do fibrinogénio em fibrina induzida pela trombina. Algumas preparações contêm agentes antifibrinolíticos, como o ácido tranexâmico, estes agentes diminuem a degradação da fibrina pelas proteases encontradas no organismo do ser humano. Vários aplicadores como seringas-duplas, sprays, e ferramentas endoscópicas foram desenvolvidas de forma a facilitar a utilização clínica dos selantes de fibrina (Marx, 2003; Burnouf et al., 2013).

#### 4.4.1.1 Selantes de Fibrina

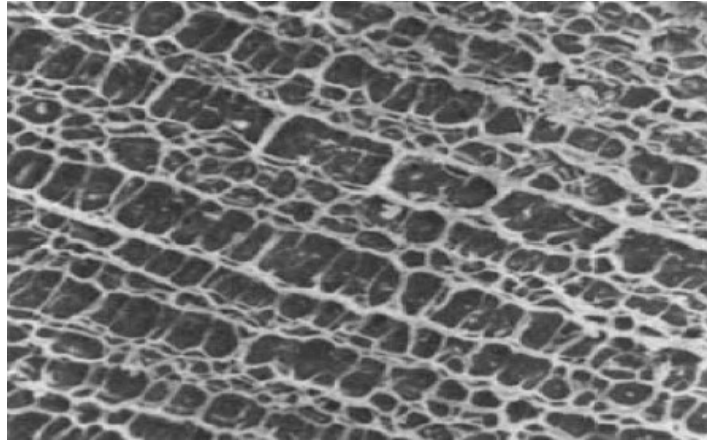
O concentrado de fibrinogénio encontrado nos selantes de fibrina vendidos comercialmente é obtido através de técnicas de fracionamento/precipitação. Após esta etapa, o produto é esterilizado por filtração e congelado (Burnouf, 2007). Estes selantes de fibrina contêm, normalmente, cerca de 80g/l de fibrinogénio e podem conter também fibronectina, fator de von Willerbrand e fator XIII (Burnouf et al., 2013).

A trombina é preparada através de um processo de ativação de protrombina mediado por cloreto de cálcio, purificada por cromatografia, concentrada num intervalo de 500-1000 IU/ml, esterilizada por filtração e congelada (Burnouf et al., 2013; Aizawa, Winge & Karlsson, 2008). Produtos com uma menor concentração de trombina (<10 IU/ml) são também comercializados, estes provocam uma polimerização mais lenta do fibrinogénio em fibrina.

Quando se mistura fibrinogénio com trombina, a rede de fibrina polimeriza numa estrutura hexagonal de três dimensões, semelhante a uma colmeia de abelhas (figura 4), estrutura essa passível de ser colonizada por células (Burnouf et al., 2013).

O concentrado de fibrinogénio de origem alogénica/autóloga pode ser obtido através de crioprecipitação (Burnouf, Su, Radosevich, Goubran & El-Kiaby, 2009; Aizawa et al., 2008), este processo consiste no congelamento de cerca de 100-250ml de plasma à 1-4 °C de forma a gerar um crioprecipitado que será isolado por centrifugação.

De 200ml de plasma pode-se obter cerca de 10-20ml de crioprecipitado. A partir do criosobrenadante (a porção do plasma que sobrou após a remoção do crioprecipitado), é possível obter cerca de 10-20 g/l de fibrinogénio.



*Figura 4 - Estrutura hexagonal da fibrina resultante da mistura de fibrinogénio concentrado com trombina. (Adaptado de Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine, Burnouf et al. 2013).*

#### 4.4.1.2 Fibrina Rica em Plaquetas

A fibrina rica em plaquetas (PRF) é feita a partir de um pequeno volume de sangue (autólogo) coletado em tubos sem anticoagulantes e centrifugado de imediato (Dohan, Choukroun, Diss, Mouhyi, 2006). A ativação fisiológica da cascata de coagulação durante a centrifugação leva à formação de um coágulo de fibrina que pode ser aplicado numa membrana de fibrina rica em fatores de crescimento (Dohan net al., 2006; Dohan, Choukroun, Diss, Mouhyi, 2009), dando origem a um material semelhante ao soro, sem células, com fatores de crescimento e com potencial de promover o crescimento celular.

#### 4.4.2 Baseados em Plaquetas

Os produtos à base de plaquetas e ricos em fatores de crescimento são obtidos através de transplantes autólogos a partir de um único dador ou a partir de um dador alogénico (Greppi, Mazzucco, Galetti, Bona, Petrillo, Smacchia, 2011). A fração rica em plaquetas, combinada com crioprecipitado, é geralmente ativada pela trombina para formar um gel de fibrina e libertar fatores de crescimento encontrados nas plaquetas. O

sangue utilizado inicialmente é geralmente anticoagulado, mas o sangue não anticoagulado também pode ser usado. (Choukroun, Diss, Simonpieri, Girard, Choefffer, Dohan, 2006).

#### 4.4.2.1 Plasma Rico em Plaquetas

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um plasma sanguíneo que apresenta uma concentração de plaquetas acima do considerado fisiologicamente normal. (Marx, 2001). O PRP de origem alogénica é obtido através de centrifugação ou aférese do sangue seguindo vários procedimentos estandardizados e validados que visam garantir a produção de um concentrado apropriado para transfusão. A concentração de plaquetas é cerca de 5 vezes maior do que aquela encontrada no sangue. O PRP autólogo é preparado no momento da sua utilização a partir de 50-100ml de sangue colhido do paciente de forma a produzir um concentrado com cerca de 3-5 vezes mais plaquetas. (Burnouf et al., 2013).

A contagem normal de plaquetas varia entre 150.000 e 450.000 por microlitro de sangue (Junqueira, 2008; Ciesla 2010; Seeley 2011). As evidências científicas demonstram que o plasma sanguíneo com concentração de 1.000.000 de plaquetas por microlitro é capaz de acelerar os processos de cicatrização tecidual. O plasma sanguíneo com concentrações de plaquetas mais baixas não pode ser considerado como plasma rico em plaquetas pois este não apresenta o potencial de acelerar os processos de cicatrização (Marx, 2001).

O PRP de origem alogénica é preparado em centros de medicina da transfusão por centrifugação ou aférese (Burnouf et al., 2013), seguindo procedimentos padronizados e validados desenvolvidos para produzir concentrados de plaquetas para transfusão por via intravenosa. A preparação pode envolver algum grau de leucodepleção. Um gel de plaquetas é obtido por ativação do PRP quando misturado com trombina ou cloreto de cálcio para converter o fibrinogénio em fibrina e ativar as plaquetas de forma a que estas libertem fatores de crescimento (Blair & Flaumenhaft, 2009). Como o PRP contém níveis fisiológicos de fibrinogénio (2-3 g/l) e fibronectina (0,3-0,5 g/l), o gel formado tem pouca resistência à tração e liberta uma quantidade substancial de fluídos, uma desvantagem potencial para algumas aplicações clínicas, uma vez que o material não pode aderir aos tecidos e pode ser arrastado do local pelos

fluidos corporais. O conteúdo e a resistência dos fatores de crescimento do PRP são inerentemente influenciados pela variabilidade do dador, pelo método de preparação e pelo tipo de trombina. (Mazzucco et al. 2009; Su, Lai, Burnouf, 2004)

A cola de fibrina (cola de plaquetas ou gel de crio-plaquetas) é preparada por enriquecimento de PRP com fibrinogénio, antes da mistura com trombina, para aumentar a resistência à tração e facilitar o manuseio, especialmente na aplicação de um enxerto ósseo (Kuo, Lee, Tseng, Su, Burnouf, 2010).

As aplicações cirúrgicas da cola de fibrina estão estabelecidas há muitos anos e são apresentadas em detalhes em várias publicações (Mintz, Mayers, Avery, Flanagan, Burks, Spotnitz, 2001; Spotnitz & Prabhu, 2005). A cola de fibrina é usada principalmente como um selante de forma a atingir a hemostase, isolar os tecidos em essencialmente todos os campos clínicos, apresenta grandes aplicações em cirurgia cardíaca, em cirurgia do fígado e do baço, em neurocirurgia em cirurgia na cavidade oral (Burnouf et al., 20013). A cola de fibrina limita o sangramento durante a extração dentária (combinada com um colutório contendo ácido tranexâmico) (Burnouf, Radosevich, Goubran, 2008; Burnouf et al. 2013). O interesse na cola de fibrina na medicina regenerativa e regeneração de tecidos é dificultada pela ausência de fatores de crescimento, mas demonstrou-se que fornece suporte *ex vivo* para o crescimento celular e a engenharia de tecidos (Spotnitz et al., 2005), e como ferramenta mecânica para a entrega de condrócitos e reparo de cartilagens (Kim, Choi, Oh, Won, 2010; Wysocka, Mann, Bursig, Dec, Gazdzik, 2010).

O PRP produzido a partir de sangue autólogo apresenta segurança por não haver o risco de transmissão de vírus causadores de doenças como o VIH e hepatite. (Burnouf et al., 2013; Marx 2001).

Devido a elevada concentração de plaquetas, o PRP fornece também uma elevada concentração de fatores de crescimento no local de aplicação (Burnouf et al., 2013). Os sete fatores de crescimento encontrados no PRP são: fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\alpha\beta$ ), fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ 2), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e fator de crescimento epitelial (EGF) (Marx, 2011; Ciesla, 2010).

Estes fatores apresentam capacidade de estimular o crescimento tecidual nas suas concentrações habituais encontradas em circulação. O PRP é a combinação destes sete fatores com um coágulo composto por fibrina, fibronectina e vitronectina, que são moléculas de adesão responsáveis pela migração celular observada na osteocondução, epitelização de feridas e osteoitegração. O PRP contém a mesma concentração destas moléculas de adesão que um coágulo originado a partir do sangue encontrado em circulação (200-400 microgramas por mililitro). O PRP não é osteoindutor, não induz a formação de tecido ósseo novo, apenas as proteínas morfogénicas ósseas – *bone morphogenic proteins* (BMPs) conseguem induzir a formação de tecido ósseo novo (Lindhe, 2008; Marx 2001).

O PRP atua sobre as células com capacidade de regeneração aumentando o número destas através de um processo chamado mitogénese. (Marx, 2001).

Após uma cirurgia, as plaquetas iniciam a formação de um coágulo sanguíneo libertando uma série de fatores de crescimento que induzem a cicatrização e a formação de novos tecidos. A aplicação destes fatores de crescimento pode ser combinada com técnicas de regeneração tecidual/óssea no tratamento de defeitos ósseos, furcas e cavidades quísticas (Dugrillon, Eichler, Kern & Kütler, 2002).

Como nas outras partes do esqueleto, as hormonas e os fatores de crescimento desempenham uma função importante no desenvolvimento da região maxilo-facial. Os fatores de crescimento influenciam o comportamento celular nas fases de proliferação, diferenciação, quimiotaxia e morfogénese (Schliephake, 2002). Os fatores de crescimento podem agir de forma autocrina, paracrina ou endócrina.

A ligação dos fatores de crescimento a recetores na superfície celular ativa as vias intracelulares que induzem a transcrição de ARN mensageiro e de proteínas necessárias para o processo de regeneração (Schliephake, 2002).

De uma forma mais específica, a regeneração periodontal envolve fibroblastos, células epiteliais gengivais e osteoblastos, todos desempenham funções importantes nesse processo. Uma série de interações reguladas entre as células é iniciada após uma lesão, o rompimento das estruturas vasculares leva a formação de fibrina e a agregação plaquetária, diversos fatores de crescimento são libertados pelas plaquetas e pelas células próximas: PDGF (fator de crescimento derivado das plaquetas), TGF- $\alpha$  e TGF- $\beta$

(fatores de transformadores do crescimento alfa e beta), e IGF-I (fator de crescimento semelhante a insulina) (Weibrich, Kleis, Kunz-Kostomanolakis, Loos & Wagner, 2001). O cimento e o osso também podem libertar fatores de crescimento durante o período de cicatrização (Gianobille, 1996).

Técnicas aplicadas tanto na área da periodontologia quanto na área da cirurgia oral utilizam fatores de crescimento em tecidos moles e duros, por exemplo, a aplicação local de fatores de crescimento promove a cicatrização, especialmente regeneração (Schliephake, 2002).

O PDGF é uma glicoproteína dimérica com dois polipéptidos ligados através de ligações de dissulfeto, designados de cadeias A e B. Existem 3 isoformas possíveis: AA, BB e a heterodimérica AB (Tözüm & Demiralp, 2003). Todas as isoformas do PDGF são libertadas após a adesão das plaquetas no local da lesão. O PDGF é o fator mais descrito em termos dos seus efeitos nos tecidos periodontais *in vitro* e *in vivo*. *In vitro*, todas as isoformas apresentam atividade proliferativa nos fibroblastos do ligamento periodontal (Lindhe, 2008).

O PDGF também estimula a quimiotaxia destes fibroblastos e promove a síntese de proteínas e colagénio, as isoformas AA e BB estimulam a proliferação de osteoblastos. Gamal e Mailhot (2000) obtiveram amostras de dentina a partir de pacientes com doença periodontal e de pacientes saudáveis, onde fizeram culturas de fibroblastos *in vitro*. Várias concentrações de PDGF-BB foram adicionadas de forma a avaliar a adesão e morfologia dos fibroblastos ao fim de 24 horas.

A concentração ótima de PDGF-BB para induzir a adesão dos fibroblastos às raízes afetadas por doença periodontal foi de 50ng/ml (efeitos similares foram observados com concentrações mais altas) (Tözüm & Demiralp, 2003).

O PRP é um veículo de armazenamento de fatores de crescimento, especialmente PDGF e TGF- $\beta$ , que são fatores que estimulam a regeneração óssea. A relativa facilidade de confecção e aplicação do PRP no consultório dentário e os resultados positivos como a redução da hemorragia e redução do tempo de cicatrização são promissores em futuros estudos. Importante referir que o PRP de origem autóloga elimina o risco de reações imunogénicas e de transmissão de doenças (Tözüm & Demiralp, 2003; Burnouf et al. 2013).

Em 2009, Ehrefest, Rasmusson e Albrektsson propuseram uma classificação para os vários tipos de PRP's tendo em consideração características como composição e o papel dos vários componentes dessas preparações. Esta classificação é amplamente citada e reconhecida como um marco no processo de esclarecimento da terminologia dos vários tipos de PRP's existentes. Os produtos foram separados seguindo dois parâmetros-chave: a presença de um conteúdo celular (principalmente o conteúdo de leucócitos), e a estrutura do conteúdo de fibrina. Estes parâmetros permitiram definir 4 principais grupos de produtos: plasma rico em plaquetas puro, plasma rico em plaquetas e leucócitos, fibrina rica em plaquetas pura e fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

#### 4.4.2.1.1. Plasma rico em plaquetas puro (P-PRP):

Segundo Ehrefest et al., (2009), o P-PRP consiste numa preparação sem leucócitos e com uma rede de fibrina de baixa densidade. Por definição, todos os produtos deste grupo podem ser utilizados na forma líquida ou na forma de gel sólido (Ehrenfest, Andia, Zumstein, Zhang, Pinto, Bielecki, 2014).

#### 4.4.2.1.2. Plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP):

Everts, Hoffmann e Weibrich em 2006 definiram que o L-PRP consiste numa preparação com leucócitos e com uma rede de fibrina de baixa densidade. Por definição, tal como o P-PRP, todos os produtos deste grupo podem ser utilizados na forma líquida ou na forma de gel sólido (Ehrenfest et al., 2014).

#### 4.4.2.1.3. Fibrina rica em plaquetas pura (P-PRF):

Os produtos designados como P-PRF consistem em preparações sem leucócitos e com uma rede de fibrina de alta densidade (Ehrenfest et al., 2006). Por definição, estes produtos apenas existem em forma de gel, desta maneira, não podem ser injetados ou usados como cola de fibrina tradicional. Contudo, devido a presença de uma forte matriz de fibrina, estes podem ser manipulados como um material sólido. (Ehrenfest et al., 2014).

#### 4.4.2.1.4. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF):

Em 2010, Ehrefest, Del Corso, Diss, Mouhyi, e Charrier, definiram a fibrina rica em plaquetas e leucócitos como uma preparação contendo leucócitos e uma rede de fibrina de alta densidade. Por definição, estes produtos existem apenas sob a forma de gel, desta maneira não podem injetados ou usados como cola de fibrina tradicional. Contudo, devido a presença de uma forte matriz de fibrina, estes podem ser manipulados como um material sólido (Ehrenfest et al., 2014).

Esta classificação proposta foi amplamente citada, defendida e validada por um consenso multidisciplinar publicado em 2012 por Ehrenfest, Bielecki & Mishra. O POSEIDO (*Periodontology, Oral Surgery, Esthetic and Implant Dentistry Organization*) usa essa classificação como *guideline* para todas as publicações do tema desde 2013 (Ehrenfest, Sammartino, Shibli, Wang, Zou, Bernard, 2013). A terminologia estabelecida por esta classificação é considerada a base de consenso em muitos campos, particularmente na cirurgia oral e maxilofacial.

Os dois parâmetros estabelecidos por Ehrefest, Rasmusson e Albrektsson – composição e papel dos vários componentes, selecionados para definir as quatro famílias são óbvios e lógicos, existe um consenso sobre a sua importância. Cada família de produtos apresenta características específicas importantes, mas cada produto individualmente apresenta a sua própria identidade. Uma parte dessa identidade foi definida como uma espécie de assinatura biológica, relacionada com a quantidade e duração de libertação de fatores de crescimento (Ehrenfest et al., 2014).

Vários estudos (Ehrenfest, et al., 2009; Ehrenfest et al., 2012; Zumstein, Bielecki, Ehrenfest, 2011) tentaram comparar e avaliar o mecanismo biológico desses produtos. Os comportamentos *in vitro* da membrana de L-PRF e do gel de P-PRP foram comparados através da avaliação da libertação de fatores de crescimento e das moléculas que compõe a matriz de fibrina (Ehrenfest et al., 2012; Zumstein et al., 2011). Estes dois géis foram colocados em meio de cultura durante 7 dias e a libertação de três fatores de crescimento (TGF- $\beta$ 1, PDGF $\alpha$ , e VEGF) e de três proteínas envolvidas na cascata de coagulação (trombospondina, fibronectina e vitronectina) foi quantificada em sete tempos experimentais: 20min, 1h, 4h, 24h, 72h, 120h e 168h.

Esses estudos revelaram que os produtos apresentam dois perfis muito diferentes: a membrana de L-PRF permaneceu intacta e sólida após 7 dias e libertou continuamente uma grande quantidade de fatores de crescimento (Ehrenfest et al., 2009). O gel de P-PRP libertou a maior parte dos seus fatores de crescimento durante as primeiras horas e dissolveu-se completamente após três dias, mesmo após uma indução artificial da polimerização da matriz de fibrina. (Ehrenfest et al., 2014). Estes estudos confirmaram os resultados obtidos em investigações anteriores sobre as diferenças da arquitetura da matriz de fibrina entre o grupo dos produtos derivados do PRF (polimerização natural do fibrinogénio em fibrina com libertação intrínseca dos fatores de crescimento) e dos produtos derivados do PRP (polimerização do fibrinogénio em fibrina provocada artificialmente com adição de fatores de crescimento extrínsecos, o que levou a libertação destes fatores que foram então utilizados de imediato), estes fatores serviram de base para a classificação do sistema. Esses estudos evidenciaram os diferentes tipos de mecanismos entre os diferentes grupos de produtos, contudo, muitas outras diferenças podem ser encontradas dentro dos grupos se considerarmos as variações nas populações celulares e conservação das mesmas (Dohram, Choukroun, Diss, 2006; Ehrenfest, 2014).

A classificação destes produtos e a identificação das suas diferenças também permitem entender que cada um dos grupos apresentam as suas próprias características e aplicações clínicas específicas. Uma visão geral da literatura sobre o tema permite chegar a algumas conclusões preliminares: o grupo dos produtos de L-PRF adapta-se as necessidades dos campos da cirurgia oral e maxilofacial (Del Corso, Vervelle, Simonperi, 2012). As membranas e os coágulos de L-PRF apresentam um volume e forma fáceis de aplicar na maioria das técnicas cirúrgicas, essas membranas apresentam uma resistência estrutural forte e são fonte de libertação de fatores de crescimento durante um tempo prolongado. Finalmente, são de fácil preparo e baratos, o que os torna particularmente adaptados ao uso diário na prática clínica (Ehrenfest et al., 2010).

Os produtos do grupo do PRF em geral são utilizados em outras disciplinas com resultados interessantes, como por exemplo no tratamento de úlceras cutâneas (Cieslik-Bielecka et al., 2012). No entanto, estes produtos existem apenas sob uma forma ativada e polimerizada, o que no campo da cirurgia oral e maxilolabial não é desvantagem, uma vez que apresenta uma rede de fibrina e fatores de crescimento que estimulam a regeneração tecidual de forma eficiente (Del Corso et al., 2012; Simonperi et al., 2012).

A utilização do PRP sob a forma de gel no local da ferida torna-o um excelente adjuvante, mesmo que os efeitos exatos – em comparação com as colas de fibrina permaneçam em grande parte ainda debatidos (Everts, Hoogbergen, Weber, Devilee, Montfort, Hingh, 2012).

#### 4.5 Aplicações na Medicina Dentária – Vantagens e desvantagens

Os produtos derivados do sangue abordados neste trabalho demonstraram acelerar a cicatrização de feridas ósseas na cirurgia oral, maxilofacial e periodontal (Oyama, Nishimoto, Tsugawa, Shimizu, 2004; Burnouf et al. 2013). Estes produtos têm o potencial de acelerar a regeneração óssea e melhorar a maturação e a densidade óssea (Anitua, Andia, Arzanda, Nurden, 2004). Facilitam os enxertos ósseos autólogos e alogénicos e a colocação de implantes para a reabilitação oral de pacientes edêntulos em situações de atrofia da crista alveolar, doença periodontal e sequelas de traumas que resultam num volume ósseo insuficiente. (Mannai, 2006; Rabelo, de Paula, Rocha, Silva, 2010; Gentile, Spallone, Curcio, Cervelli, 2010). A combinação de osso autógeno misturado com produtos ricos em plaquetas proporciona melhores resultados quando aplicados em enxertos do que apenas a aplicação de osso autógeno, fazendo com que haja uma melhor osteointegração dos implantes dentários e um aumento da massa do osso novo (Lee, Choi, Jung, Zhu, Huh, 2008; Lee, Choi, Jung, Zhu, 2008). Os benefícios dos produtos ricos em plaquetas na implantologia podem estar relacionados com o pequeno tamanho dos defeitos ósseos e com o fato de os locais cirúrgicos ficarem suturados após a aplicação destes materiais e do enxerto, evitando assim o risco de os fatores de crescimento serem removidos do local da cirurgia (Burnouf et al. 2013). A fibronectina, a osteonectina e a vitronectina presentes nas plaquetas parecem melhorar a osteointegração do implante (Anitua, Aguirre, Algorta, Ayedi, Cabezas, Orive, 2008).

O uso do PRP juntamente com enxertos ósseos acelera a regeneração do osso e a cicatrização dos tecidos moles (Marx, Carlson, Eichstaedt, Schimmele, Strauss, Georgeff, 1998; Agrawal, 2017). O PRP atrasa a migração epitelial quando aplicado em conjunto com membranas reabsorvíveis e proporciona uma fonte localizada de fatores

de crescimento que aceleram a maturação dos tecidos moles e duros (Garg, Gargenese, Peace, 2000; Agrawal, 2017).

Em 2014, Agrawal e Gupta demonstraram que uma combinação de PRP com osso liofilizado desmineralizado de origem alógena era mais eficiente no tratamento de defeitos ósseos que apenas o osso liofilizado desmineralizado de origem alógena misturado com soro. Além disso, uma combinação de PRP com osso de origem bovina e técnicas de regeneração óssea guiada também apresentaram bons resultados clínicos (Camargo, Lekovic, Weinlaender, Vasilic, Madzerevic, Kennerly, 2005).

A combinação de PRF com enxerto ósseo também mostrou-se bastante eficaz no tratamento de lesões de furca (Kanakamedala, Sushakar, Vijayalakshmi, Ramakrishana, Emmadi, 2009).

O PRF é um poderoso biomaterial que acelera o processo de cicatrização e apresenta capacidades regenerativas, pode ser usado em vários procedimentos, como por exemplo: no tratamento de defeitos ósseos e de lesões de furca, elevação do seio maxilar, e na área da engenharia de tecidos, pode ser utilizado como *scaffold* para a cultura de células do periósteo *in vitro* (Mazor, Horowitz, Del Corso, Prasad, Rohrer, Ehrenfest, 2009; Thorat, Pradeep, Pallavi, 2011; Sharma & Pradeep, 2011).

Em 2012, Eren e Atilla, trataram a recessão gengival bilateral de um paciente com um retalho de reposição coronal e enxerto de tecido conjuntivo de um lado e, retalho de reposição coronal e PRF do outro lado. Foram encontradas melhoras em todos os parâmetros nas duas técnicas. Uma vez que o uso de PRF é prático e fácil de executar e também elimina a necessidade de uma ferida gerada para a recolha do enxerto de tecido conjuntivo, Eren e Atilla sugeriram que o retalho de reposicionamento coronal seguido da aplicação de PRF é uma melhor alternativa ao retalho de reposicionamento coronal seguido de enxerto de tecido conjuntivo.

Aroca, Keglevich, Barbieri, Gera & Etienne, em 2009 realizaram um ensaio clínico aleatório e concluíram que a adição de uma membrana de PRF à um retalho de reposicionamento coronal proporcionou ganho adicional na espessura de

gingiva/mucosa, porém o recobrimento radicular após um *follow up* de 6 meses mostrou-se inferior quando comparado com a terapia convencional.

O PRP é um produto autólogo, para a sua preparação é necessário apenas uma pequena quantidade de sangue, por essas razões apresenta segurança, e, até a data não existem publicações que façam referência ao risco de infecções, doenças transmitidas através de sangue contaminado (VIH, hepatite ou doença de Creutzfeldt-Jacob), reações imunogénicas ou quaisquer outros efeitos adversos já documentados em técnicas que usem aloenxertos ou xenoenxertos (Albanese, Licata, Polizzi, Campisi, 2013).

No passado, o uso de trombina de origem bovina no preparo do PRP estava associado a um risco acrescido de coagulopatias (Martínez-Zapata, Martí-Carvajal, Solà, Bolibar, Expósito, Rodriguez, García, 2009), no entanto, as reações adversas relatadas estavam relacionadas com a origem e com a quantidade da trombina usada. O uso de trombina de origem bovina em doses baixas (<200 unidades), de forma tópica, sem que esta entre na circulação sistémica e já coagulada antes do contato com tecidos humanos, não apresenta nenhum risco de provocar reações imunogénicas (Nikolidakis & Jansen, 2008). Mais tarde, a ativação do PRP passou a ser feita com cloreto de cálcio, eliminando assim os riscos associados com a trombina de origem bovina. Até à data, na literatura, não foram relatados efeitos adversos relacionados com o uso do cloreto de cálcio para a ativação do PRP. (Albanese et al., 2013).

Embora não tenham sido relatados efeitos indesejáveis nos vários casos clínicos em que a terapia com PRP foi utilizada, algumas hipóteses foram consideradas quanto à expressão excessiva de fatores de crescimento e dos seus recetores e o efeito que estes podem ter na origem de tumores e displasias (Martínez-González, Sánchez, Lafuente, Trapero, Gómez, Lestón, 2002). Estas hipóteses estão fundamentadas no fato de que os fatores de crescimento regulam diferentes processos celulares, como a mitogénese, a quimiotaxia, a diferenciação e o metabolismo celular. No entanto, os fenómenos que levam ao crescimento neoplásico requerem doses mais contínuas de fatores de crescimento ao longo do tempo do que as aplicadas na terapia com PRP, tendo em conta que os fatores de crescimento num meio extra celular degradam-se em 7-10 dias. Na presença de alterações neoplásicas, displásicas e tumorais, a terapia com PRP deve ser evitada: na proximidade de lesões pré-cancerosas (leucoplasia, eritroplasia, queilite

actínica); áreas de displasia epitelial e em pacientes com história prévia de exposição à substâncias carcinogénicas ou diagnosticados com carcinoma de células escamosas. Martínez-González, Sánchez, Lafuente, Trapero, Gómez, Lestón, 2002); (Albanese et al., 2013).

A única desvantagem considerável do PRP e de seus produtos derivados seria o resultado custo-benefício. O sucesso, por vezes incerto do PRP, pode não justificar a sua compra pelo clínico - acrescido do material necessário para o processo de preparação, ou o custo que o paciente terá de pagar pelo tratamento. Além disso, um inconveniente adicional, mas menos importante, é o fato de que os pacientes precisem de ser submetidos a um procedimento de recolha de sangue para preparação do PRP (Nikolidakis & Jansen, 2008). Por outro lado, o PRP apresenta a vantagem de ser facilmente obtido através de um processo não demorado tanto para o clínico quanto para o paciente. Mesmo que a preparação do PRP envolva um passo adicional durante o procedimento cirúrgico, este demora cerca de 30 minutos e é melhor executado por um assistente cirúrgico sob a supervisão de um médico dentista familiarizado com a técnica. Este passo pode ser realizado simuladamente com a cirurgia e, portanto, não aumenta significativamente o tempo de cadeira do paciente (Nikolidakis & Jansen, 2008; Bharadwaj, Kaushick, Jayakumar, Padmalatha, Verghese, 2011; Albanese et al., 2013).

## 5 - CONCLUSÕES

A aplicação de produtos derivados do sangue na medicina dentária têm trazido resultados promissores, desde o controlo da hemostase, redução do tempo de cicatrização e estimulação da regeneração tecidual.

Uma característica comum e importante que materiais derivados do sangue apresentam é a de serem fisiologicamente compatíveis com os tecidos humanos, não apresentam o risco de provocar necrose e outras reações adversas. Os selantes de fibrina podem ser utilizados essencialmente em qualquer área cirúrgica dado que o seu conteúdo de fibrinogénio é importante no processo de hemostase e na cicatrização de feridas.

Devido à sua composição rica em fatores de crescimento, outras moléculas bioativas e fibrina, estes produtos derivados do sangue combinados com fibrinogénio estimulam o crescimento celular, crescimento este que é importante nos processos de cicatrização e regeneração.

Ainda são precisas melhorias no que diz respeito a padronização e formulação destes materiais, de forma a melhorar a previsibilidade e a confiabilidade dos resultados clínicos.



## 6 - BIBLIOGRAFIA

Agrawal A., Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World Journal of Clinical Cases*. 2017; 16; 5(5): 159-171.

Agrawal A., Gupta ND. Platelet-rich plasma combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of noncontained human intrabony periodontal defects: a randomized controlled split-mouth study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2014;34:705–711.

Aizawa, P., Winge, S., Karlsson, G., Large-scale preparation of thrombin from human plasma. *Thromb Res* 2008; 122: 560–567.

Albanese, A., Licata, M., Polizzi B., Campisi, G. Platelet rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from wound healing to bone regeneration. 2013; *Immunity & Ageing*; 10: 23.

Anitua E., Sanchez M., Orive G., Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials*. 2007; 28:4551-4560.

Anitua, E., Andia, .I, Ardanza, B., Nurden, P., Nurden, AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004; 91: 4 15.

Bharadwaj T., Kaushick B.T., Jayakumar N.D., Padmalatha O., Varghese S. Treatment of human periodontal infrabony defects with hydroxyapatite +  $\beta$  tricalcium phosphate bone graft alone and in combination with platelet rich plasma: a randomized clinical trial. *Indian J Dent Res*. 2011;22:505–510.

Blair, P., Flaumenhaft, R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009; 23: 177–189.

Burnouf T., Radosevich, M., Goubran, H. Local hemostatic blood products in hemophilia care: fibrin sealant and platelet gel. Monograph, World Federation of Hemophilia. Montreal: World Federation of Hemophilia; 2008. p. 1–14.

Burnouf, T. Modern plasma fractionation. *Transfus Med Rev* 2007; 21: 101–117.

Burnouf, T., Su, CY., Radosevich, M., Goubran, HA., El-Ekiaby, M. Blood-derived biomaterials: fibrin sealant, platelet gel and platelet fibrin glue. *ISBT Sci Ser* 2009; 4: 136–142.

Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. A reentry study on the use of bovine porous bone mineral, GTR, and platelet-rich plasma in the regenerative treatment of intrabony defects in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2005;25:49–59.

Choi BH, Im CJ, Huh JY, Suh JJ, Lee SH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33:56–59.

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:e56–e60.

Ciesla, B. (2012). *Hematology in practice* Filadelfia, Estados Unidos da América: F.A. Davis.

Cieslik-Bielecka A, Choukroun J, Odin G, Dohan Ehrenfest DM. L-PRP/L-PRF in esthetic plastic surgery, regenerative medicine of the skin and chronic wounds. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1266-1277.

Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1207-1230.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101:e45-50.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, 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:e37-44.

Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *J Biomed Mater Res A.* 2010;95:1280-1282.

Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, et al. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L- PRF). *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1145-1152.

Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, et al. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1131-1137.

Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors.* 2009;27:63-69.

Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol.* 2010;81:546-555.

Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L- PRF). *Trends Biotechnol.* 2009;27:158-167.

Dohan Ehrenfest DM, Sammartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO.* 2013;1:17-27.

Dohan Ehrenfest DM. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110:275- 278; author reply 278-280.

Dohan, DM., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, SL., Dohan, AJ., Mouhyi, J., et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e45–e50

Dugrillon, A., Eichler, H., Kern, S. e Klüter, H. (2002, dezembro). Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *International Journal Oral & Maxillofacial Surgery.* 31(6), 615-9.

Eren G, Atilla G. Platelet-rich fibrin in the treatment of bilateral gingival recessions. *Cli Adv Periodontics.* 2012;2:154–160.

Everts PA, Hoffmann J, Weibrich G, et al. Differences in platelet growth factor release and leucocyte kinetics during autologous platelet gel formation. *Transfus Med.* 2006;16:363-368.

Everts PA, Hoogbergen MM, Weber TA, Devilee RJ, van Monfort G, de Hingh IH. Is the use of autologous platelet-rich plasma gels in gynecologic, cardiac, and general, reconstructive surgery beneficial? *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1163-1172.

Garg AK, Gargenese D, Peace I. Using platelet-rich plasma to develop an autologous membrane for growth factor delivery in dental implant therapy. *Dent Implantol Update*. 2000;11:41–44.

Gentile, P., Bottini, DJ., Spallone, D., Curcio, BC., Cervelli, V. Application of platelet-rich plasma in maxillofacial surgery: clinical evaluation. *J Craniofac Surg* 2010;21:900–904.

Greppi, N., Mazzucco, L., Galetti, G., Bona, F., Petrillo, E., Smacchia, C., et al. Treatment of recalcitrant ulcers with allogeneic platelet gel from pooled platelets in aged hypomobile patients. *Biologicals* 2011; 39: 73–80.

Junqueira, L.C. e Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica – texto e atlas*. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.

Kanakamedala A, Ari G, Sudhakar U, Vijayalakshmi R, Ramakrishana T, Emmadi P. Treatment of a furcation defect with a combination of platelet rich fibrin and bone graft-A case report. *ENDO (Lond Engl)* 2009;3:127–135.

Kim, MK., Choi, SW., Kim, SR., Oh, IS., Won, MH. Autologous chondrocyte implantation in the knee using fibrin. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18: 528–534.

Kuo, YP., Lee, YL., Tseng, YH., Su, CH., Burnouf, T., Su, CY. Influence of ethanol on the release of growth factors in human blood-derived platelet gels. *Biologicals* 2010; 38: 120–127.

Lee, HJ., Choi, BH., Jung, JH., Zhu, SJ., Lee, SH., Huh, JY., et al. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:329–333.

Lee, HJ., Choi, BH., Jung, JH., Zhu, SJ., Lee, SH., Huh, JY., et al. Vertical alveolar ridge augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:27–31.

Mannai, C. Early implant loading in severely resorbed maxilla using xenograft, autograft, and platelet-rich plasma in 97 patients. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:1420–1426.

Martínez-González JM, Sánchez JC, Lafuente JCG, Campo Trapero J, Esparza Gómez GC, Seoane Lestón JM. Do ambulatory-use Platelet-Rich Plasma (PRP) concentrates present risks? *Medicina Oral*. 2002;7:375–390.

Martínez-Zapata MJ, Martí-Carvajal A, Solà I, Bolibar I, Angel Expósito J, Rodríguez L, García J. Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion*. 2009;49:44–56.

Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85:638–646.

Marx, G. Evolution of fibrin glue applicators. *Transfus Med Rev* 2003; 17: 287–298.

Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. 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. *J Periodontol*. 2009;80:2056–2064.

Mintz, PD., Mayers, L., Avery, N., Flanagan, HL., Burks, SG., Spotnitz, WD. Fibrin sealant: clinical use and the development of the University of Virginia Tissue Adhesive Center. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31: 108–118.

Mishra A, Harmon K, Woodall J, Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1185-1195.

Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res*. 2008;26:404-410.

Nikolidakis D, Jansen JA. The biology of platelet-rich plasma and its application in oral surgery: literature review. *Tissue Engineering: Part B*. 2008;14:249-258.

Oyama, T., Nishimoto, S., Tsugawa, T., Shimizu, F. Efficacy of platelet-rich plasma in alveolar bone grafting. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 555-558.

Rabelo, GD., de Paula, PM., Rocha, FS., Jordao Silva, C., Zanetta-Barbosa, D. Retrospective study of bone grafting procedures before implant placement. *Implant Dent* 2010; 19: 342-350.

Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18:93-103.

Schilephake, H. (2002, outubro). Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *International Journal Oral & Maxillofacial Surgery*. 31(5), 469-84.

Sharma A, Pradeep AR. Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2011;82:1396-1403.

Sharma A, Pradeep AR. Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2011;82:1705-1712.

Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1231-1256.

Spotnitz, WD. Commercial fibrin sealants in surgical care. *Am J Surg* 2001; 182: 8S–14S.

Spotnitz, WD., Prabhu, R. Fibrin sealant tissue adhesive—review and update. *J Long Term Eff Med Implants* 2005; 15: 245–270.

Su, CY., Chiang, CC., Lai, WF., Lin, KW., Burnouf, T. Platelet-derived growth factor-AB and transforming growth factor-beta1 in platelet gels activated by single-donor human thrombin. *Transfusion* 2004; 44: 945.

Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38:925–932.

Toeroek R, Dohan Ehrenfest DM. The concept of Screw-Guided Bone Regeneration (S- GBR). Part 2: S-GBR in the severely resorbed preimplant posterior mandible using bone xenograft and Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF): a 5-year follow-up. *POSEIDO* 2013;1:85-92.

Toeroek R, Dohan Ehrenfest DM. The concept of Screw-Guided Bone Regeneration (S- GBR). Part 2: S-GBR in the severely resorbed preimplant posterior mandible using bone xenograft and Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF): a 5-year follow-up. *POSEIDO* 2013;1:85-92.

VanPutte, C.L., Regan, J., Russo, A., Seeley, Rod. R., Stephens, Trend D., Tate, P. (2011). *Seeley's Anatomy & Physiology*. Nova Iorque, Estados Unidos da América: New York Mcgraw-Hill.

Weibrich, G., Kleis, W.K., Kunz-Kostomanolakis, M., Loos, A.H., Wagner, W. (2001, setembro-outubro). Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. *International Journal Oral & Maxillofacial Surgery.* 16(5), 693-9.

Wysocka, A., Mann, K., Bursig, H., De,c J., Gazdzik, TS. Chondrocyte suspension in fibringlue. *Cell Tissue Bank* 2010; 11: 209–215.

Zumstein MA, Berger S, Schober M, et al. Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1196-1206.

Zumstein MA, Berger S, Schober M, et al. Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1196-1206.

Zumstein MA, Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. The Future of Platelet Concentrates in Sports Medicine: Platelet-Rich Plasma, Platelet-Rich Fibrin, and the Impact of Scaffolds and Cells on the Long-term Delivery of Growth Factors. *Operative Techniques in Sports Medicine.* 2011;19:190-197.

Zumstein MA, Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. The Future of Platelet Concentrates in Sports Medicine: Platelet-Rich Plasma, Platelet-Rich Fibrin, and the Impact of Scaffolds and Cells on the Long-term Delivery of Growth Factors. *Operative Techniques in Sports Medicine.* 2011;19:190-197.

