



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
DENTÁRIA**

AS APLICAÇÕES DO L-PRF NA CIRURGIA ORAL

Trabalho submetido por
Gonçalo Teixeira Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2022



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AS APLICAÇÕES DO L-PRF NA CIRURGIA ORAL

Trabalho submetido por
Gonçalo Teixeira Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Eugénio Miguel de Melo Azemel Zeferino Pereira

Setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar o meu profundo agradecimento a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que esta dissertação fosse possível, em particular:

Ao meu Orientador, o Prof. Doutor Eugénio Miguel de Melo Azemel Zeferino Pereira, por aceitar fazer parte deste projeto.

Aos meus pais e irmã por sempre acreditarem em mim e tornarem este sonho possível.

Às minhas avós por toda a preocupação em cada avaliação realizada.

À minha querida namorada por todo o apoio incondicional e por fazer parte desta aventura, bem como à sua família.

Ao António Pinto que apesar de não ser meu pai, sempre me tratou como um filho e esteve ao meu lado ao longo destes anos.

À INTRA-LOCK IBERIA por tudo o que me proporcionaram e ensinaram, especialmente ao grande homem Luis Garralda.

Ao Doutor Pedro Moreira por ser um grande amigo, mentor e a minha principal referência.

Expressar o meu agradecimento à Liga das Associações Mutualistas do Porto e à Clínica Somardental, duas grandes instituições que abriram as suas portas para me receber.

Não podia faltar um agradecimento especial ao Dr. Eduardo Guerreiro, um grande profissional e um ser humano admirável, pela oportunidade de ser seu monitor e por todos os ensinamentos que me passou.

RESUMO

Nos últimos 20 anos, muitos estudos têm tentado desenvolver as capacidades de regeneração endógena humana através da aplicação precisa de fatores de crescimento autólogos, levando ao desenvolvimento de diversas técnicas. Através da utilização de diferentes métodos e dispositivos de produção, os produtos sanguíneos resultantes, podem através do recrutamento, proliferação e maturação das células participantes na regeneração, apresentar benefícios nas regenerações tecidulares, em locais de fraco aporte vascular e restauração limitada da matriz extracelular. A utilização generalizada deste material resultou na produção de diferentes variantes. Dependendo do teor de plaquetas, leucócitos e arquitetura de fibrina, são geralmente classificados como plasma puro rico em plaquetas (P-PRP), plasma e plaquetas ricos em leucócitos (L-PRP), fibrina pura rica em plaquetas (P-PRF), e fibrina e plaquetas ricas em leucócitos (L-PRF). São considerados adjuvantes cirúrgicos utilizados para promover a regeneração de tecidular. O conceito de L-PRF como biomaterial, com propriedades regenerativas e promoção regenerativa tecidular, resultou na sua utilização em diversos procedimentos clínicos. A eficácia das membranas de L-PRF foi exaustivamente estudada e reportada nas diversas técnicas regenerativas, nas quais se inclui as cirurgias de reconstrução tecidular nas áreas da Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial. A utilização deste protocolo cirúrgico, demonstrou ser uma técnica cirúrgica viável e promissora, não só por constituir uma colheita autóloga, como também estar associada a uma baixa morbidade para o paciente, baixo custo e reduzido risco de contaminação.

Objetivos: Pesquisar e avaliar o sucesso da utilização do concentrado plaquetário L-PRF nas diversas áreas da cirurgia oral. Verificar as vantagens da utilização do L-PRF na cicatrização tecidular e no período pós-operatório.

Materiais e Métodos: A seleção dos artigos científicos incluídos nesta revisão narrativa, teve como base a pesquisa em plataformas digitais como PubMed, SciELO e Cochrane.

Palavras-chave: L-PRF; Concentrado Plaquetário; Regeneração Tecidular; Cirurgia Oral.

ABSTRACT

In the last 20 years, many studies have been developed to develop the final development definition of various techniques. Through the use and different methods of birthing devices, can be used by recruitment, resulting in a flexible matrix, through production, through preparation methods, through different cell regeneration devices and extracellular regeneration device limiters, The widespread use of this material has resulted in the production of different variants. material of platelet content, leukocytes and fibrin architecture, are generally classified as pure plaque-rich plasma (P-PRP), leukocyte-rich plasma and plaque (L-PRP), pure platelet-rich fibrin (P-PRF), and fibrin and leukocyte-rich platelets (L-PRF). Surgical procedures used to deliver a tissue solution are considered and evaluated. The concept of L-PRF as a biomaterial with regenerative properties and regenerative tissue promotion has resulted in its use in several clinical procedures. The maximum operation of L-PRF membranes has been extensively woven and reported in the various techniques, which include the areas of Dentistry and Facial Surgery. The use of this viable and competent protocol is also a valid technique, not only because it is an autologous one, promising to be associated with low morbidity for the patient, cost and reduced risk for the patient.

Objectives: Research and evaluate the success of using the L-PRF concentrator in different areas of oral surgery. To verify the advantages of using L-PRF in tissue healing and in the postoperative period.

Review of scientific materials and methods: The selection of articles included in this research had as digital review as PubMed, SciELO and Cochrane.

Keywords: L-PRF; Platelet concentrate; Tissue Regeneration; Oral Surgery.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
I. INTRODUÇÃO	17
II. DESENVOLVIMENTO.....	20
1. Concentrados Plaquetários	20
1.1. Plasma rico em plaquetas (PRP)	20
1.2. Plasma rico em fatores de crescimento (PRGF).....	22
1.3. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF).....	23
1.3.1. Histologia.....	26
1.3.2. Fibrinogénio	31
1.3.3. L-PRF block.....	32
1.3.4. Matriz de fibrina	33
1.3.5. Fatores de crescimento.....	33
1.3.6. Leucócitos	35
1.3.7. Citocinas	36
1.3.8. Cicatrização	37
1.3.9. Processo inflamatório	39
1.3.10. Processo de remodelação óssea	42
1.3.11. Vantagens e desvantagens	42
2. Comparação do L-PRF com os outros sistemas	43
2.1. Protocolo Intra-Spin®	57
2.1.1. Protocolo de centrifugação do sistema Intra-Spin®	58
2.1.2. Substâncias que podem alterar o tempo de coagulação	59
2.1.3. Protocolo de obtenção de fibrinogénio	60
2.1.4. Protocolo de obtenção das membranas de L-PRF	61

2.1.5.	Protocolo de obtenção de plugs	62
2.1.6.	Protocolo de obtenção de L-PRF Block	63
3.	Aplicações	63
3.1.	Aplicações do L-PRF na cirurgia oral.....	64
3.1.1.	L-PRF na exodontia de terceiros molares.....	64
3.1.2.	Reconstrução óssea de pequenos defeitos com L-PRF.....	66
3.1.3.	L-PRF em enxertos ósseos.....	67
3.1.4.	L-PRF na preservação da crista alveolar pós-extração.....	69
3.1.5.	L-PRF para elevação sinusal.....	70
3.1.6.	L-PRF em implantologia	72
3.1.7.	Hidratação ou revestimento do implante com L-PRF.....	74
3.1.8.	Aumento da mucosa queratinizada ao redor implantes com L-PRF.....	74
3.1.9.	L-PRF para cobrimento de recessões gengivais	76
3.1.10.	L-PRF para a gestão do tratamento da osteonecrose da mandíbula induzida por bifosfonatos	77
3.1.11.	L-PRF em endodontia – cirurgia apical.....	79
3.2.	Aplicações do L-PRF na medicina.....	80
3.2.1.	Tratamento de úlceras de perna refratária.....	80
III.	CONCLUSÃO.....	83
IV.	BIBLIOGRAFIA.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo das três camadas, após a centrifugação do sangue. Figura do autor.	24
Figura 2 - Membrana de L-PRF (à esquerda); L-PRF Plug. Imagens cedidas pelo Doutor Iñaki Gamborena.	26
Figura 3 - Membrana de L-PRF. A) "Face da membrana"; B) "Cauda da membrana". Imagem adaptada do Doutor Iñaki Gamborena.....	27
Figura 4 - Membrana de L-PRF. Identificação da face distal (C) e da face mesial (D). Imagem adaptada do Doutor Eugénio Pereira.....	28
Figura 5 - Visão panorâmica das seções de todo o coágulo de L-PRF. Imagem adaptada do Doutor Iñaki Gamborena.....	29
Figura 6 - Histológico representativo; micrografias de defeitos ósseos tratados com coágulos de L-PRF. Tracejado verde foi incorporado às imagens que representa as bordas do defeito ósseo onde ocorreu a formação de novo osso. Adaptado de (Tovar et al., 2021).	30
Figura 7 - Colheita do fibrinogénio obtido pelo protocolo Intra-Spin. Figura do autor.	31
Figura 8 - L-PRF block (ou Sticky Bone). Imagem cedida pelo Doutor Iñaki Gamborena.	32
Figura 10 - Interação recíproca de vários tipos de células com os fibroblastos na ferida, com influência significativa em vários processos de cicatrização da ferida. Adaptado de (Greaves et al., 2013).....	41
Figura 9 - Interação recíproca de vários tipos de células com os fibroblastos na ferida, com influência significativa em vários processos de cicatrização da ferida. Adaptado de (Greaves et al., 2013).....	41
Figura 11 - Gráfico representativo das vibrações radiais das centrifugadoras com o máximo de capacidade de tubos. Imagem retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018)...	47
Figura 12 – Gráfico representativo das vibrações radiais das centrifugadoras com metade da capacidade de tubos. Imagem retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).....	47
Figura 13 - Avaliação macroscópica dos coágulos de PRF produzidas com as 4 centrifugadoras diferentes: sistema original Intra-Spin L-PRF(A), sistema A-PRF (B), centrifugadora Salvin (C) e centrifugadora LW (D). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).....	48
Figura 14 - Avaliação macroscópica das membranas de PRF produzidas com as 4	

centrifugadoras diferentes: sistema original Intra-Spin L-PRF(A), sistema A-PRF(B), centrifugadora Salvin (C) e centrifugadora LW (D). Obtenção das membranas L-PRF com 1 mm de espessura após compressão do coágulo usando 100g de pressão. Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	49
Figura 15 - Avaliação microscópica das membranas PRF produzidas com as 4 diferentes centrifugadoras em microscopia de luz (hematoxilina eosina). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	51
Figura 16 - Microscopia Eletrônica de Varrimento Avaliação microscópica das membranas de PRF produzidas com as 4 centrifugadoras diferentes (L_PRF, A-PRF 12, LW - UPD8 e Salvin 1310c). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	52
Figura 17 - Microscopia Eletrônica de Varrimento Avaliação microscópica e comparação das membranas PRF produzidas com 2 centrifugadoras (l-PRF e A-PRF). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	53
Figura 18 - Coágulos e respectivos tubos de cada sistema logo após a centrifugação. Os coágulos coletados e colocados na caixa cirúrgica PRF (Xpression, Intra-Lock) para compressão em membranas (C). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	53
Figura 19 – Gráfico representativo da libertação lenta de TGFβ1(A), PDGF-AB(B), VEGF(C)e BMP2(D) de uma membrana L-PRF original e de uma membrana A-PRF durante 7 dias in vitro. Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).	54
Figura 20 - Sistema Intra-Spin L-PRF, Intra-Lock, Boca-Raton, FL, EUA. O sistema Intra-Spin é constituído por: máquina centrifugadora (Intra-Spin) (1); Bandeja Xpression™ (2); Pinça Cirúrgica de Tecidos (3); Tesoura Cirúrgica Curva (4); Taça Redonda de Aço Inoxidável (5); Taça Retangular de Aço Inoxidável (6); Espátula Transportadora de Biomaterial Dupla (7); Condensador de Biomaterial Duplo (8); Tubos Vermelhos (9ml) (9); Tubos Brancos (9ml) (10). (Adaptado de https://www.intralock.es/lprf/)	56
Figura 21 - Certificação CE e FDA do Sistema Intra-Spin. (Retirado de https://www.intralock.es/lprf/)	57
Figura 22 - Vista superior do rotor da centrifugadora "INTRA-SPIN". Figura do autor.	59
Figura 23 - Modo de preparação do plug de L-PRF. a) - Após centrifugação, os coágulos de L-PRF são coletados do tubo de sangue com pinças, e os eritrócitos aderentes são removidos com muito cuidado; b) - Depois de realizada compressão, fortes membranas de L-PRF são formadas (uma única membrana pode suportar com uma força de até 500g);	

c) - usando um cilindro e pistão (incluídos no kit de compressão), pode-se formar plugs de L-PRF cilíndricos adequados para preencher os alvéolos pós extração; d) – Plug de L-PRF. Imagens retirada de (Quiryneen & Pinto, 2022).	62
Figura 24 - Preparação Clínica do L-PRF block. a) – Seringa com fibrinogênio; b) – Membranas de L-PRF após compressão; c) – Mistura das membranas de L-PRF com substituto ósseo (aloenxerto); d) – Adição do fibrinogênio; e) – Formação do L-PRF block com a forma desejada; f) – L-PRF com consistência e forma pronto a ser aplicado. Imagens adaptadas de (Cortellini et al., 2018).	63
Figura 25 - Extração do terceiro molar mandibular (4.8). a) – Imagem radiográfica (ortopantomografia) pré-operatória, evidenciando o quisto dentígero associado ao dente 4.8 incluso; b) – Imagem intraoral da região confirmando a inclusão do dente 4.8; c) – Imagem do dente 4.8 após odontosecção; d) – Imagem intra-operatória da loca após extração do dente 4.8 e enucleação da lesão quística. Imagens cedidas pelo Dr Diogo Castro.....	65
Figura 26 - e) - Imagem dos plugs e das membranas após compressão; f) – Encerramento da ferida operatória após colocação dos plugs e membranas com sutura de seda; Imagem radiográfica (ortopantomografia) pós-operatória. Imagens cedidas pelo Dr Diogo Castro.	65
Figura 27 - Regeneração óssea guiada e alvéolo pós-extração de dente 1.1; a) – Vista intraoral do alvéolo pós-extrativo do dente 1.1; b) – Alvéolo pós-extrativo do dente 1.1 com conteúdo residual endodôntico; c) – Membranas de L-PRF obtidas pelo protocolo Intra-Spin; d) – Fragmentos de aloenxerto ósseo liofilizado de crista ilíaca. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	66
Figura 28 - e) – Formação do L-PRF block; f) – Preenchimento do alvéolo pós extrativo com L-PRF block; g) – Fixação do bloco ósseo alógeno de crista ilíaca para retificação do defeito horizontal; h) – Recobrimento do bloco com membrana de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	67
Figura 29 - Reconstrução óssea do defeito ósseo vertical e horizontal do quinto sextante com L-PRF block. a) – Imagem intraoral dos implantes 3.2, 4.2 com compromisso estrutural; b) – Vista intrão-peratória do defeito ósseo após explantação dos implantes 3.2 e 4.2; c) – Coágulos de L-PRF, fase de pré-compressão; d) - Formação do L-PRF block. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.....	68
Figura 30 - e) – Aplicação do L-PRF block sobre o defeito ósseo; f) – Recobrimento do L-PRF block com membranas L-PRF; g) – Vista intraoral do ponto de sutura colchoeiro	

horizontal modificado sobre as membranas de L-PRF; h) - Encerramento da ferida operatória com sutura nylon 4-0. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	68
Figura 31 - Reabilitação total mandibular com implantes dentários simultânea a reconstrução óssea de defeito ósseo horizontal. a) - Vista intraoral mandibular; b) – Radiografia panorâmica mostrando o defeito ósseo horizontal mandibular; c) – Vista intra-operatória mandibular após extração dentária; d) – Membranas de L-PRF após compressão. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	69
Figura 32 - e) - Aplicação do fibrinogénio sobre o xenoenxerto bovino e membranas de L-PRF para formação do block; f) – Fixação do bloco ósseo alógeno corticoesponjoso para retificação do defeito horizontal; g) – Vista intra-operatória do implantes dentários instalados e preenchimento dos defeitos alveolares com o L-PRF block; h) – Recobrimento da reconstrução óssea alveolar com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	70
Figura 33 - Reabilitação de defeito ósseo vertical do seio maxilar direito com L-PRF block pela técnica da “janela lateral”. a) – Vista intraoral da zona de acesso ao seio maxilar; b) – Membranas de L-PRF obtidas pela técnica Intra-Spin; c) – Membranas de L-PRF seccionadas e xenoenxerto bovino; d) – Formação do L-PRF block. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	71
Figura 34 - e) – L-PRF block; f) – Vista intra-operatória da janela lateral e preparação do L-PRF block para colocação no seio maxilar; g) – L-PRF devidamente compactado; h) – Recobrimento da abertura da janela lateral com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	71
Figura 35 - Reconstrução de defeito ósseo vertical com L-PRF block. a) – Imagem intraoral dos implantes 4.4 e 4.6 com sinais de inflamação nos tecidos moles periimplantares; b) - Vista intra-operatória dos implantes 4.4 e 4.6 com tecido de granulação associado; c) – Vista intra-operatória dos defeitos ósseos verticais originados pela periimplantites, após explantação dos implantes; d) – Vista intra-operatória da reabertura da região 4.4 e 4.6 aos 2 meses. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	72
Figura 36 - e) – Coágulos de L-PRF; f) – L-PRF block com xenoenxerto bovino; g) – Defeito ósseo devidamente preenchido com L-PRF block e membrana para recobrimento com membrana PTFE reforçada com titânio; h) – membrana de PTFE estabilizada e fixada com tachas de fixação e recoberta com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.	73

Figura 37 - i) – Vista intraoperatória da reconstrução do defeito ósseo com L-PRF block aos 6 meses. Imagem cedida pelo Doutor Eugénio Pereira.....	73
Figura 38 - Revestimento do implante com membrana L-PRF e hidratação do implante com exsudado. a) – Membrana de L-PRF com evidência da face; b) – Início do revestimento do implante pela face da membrana; c) – Implante revestido pela membrana de L-PRF previamente à colocação; d) – Colheita de exsudado de L-PRF; e) - Hidratação do implante com o exsudado. Imagens retirada de (Quirynten & Pinto, 2022).	74
Figura 39 - Aumento da mucosa queratinizada periimplantar, estudo clínico comparativo. a) – Imagem pós-operatória imediata do local de controlo (a1) e do local com a aplicação de L-PRF (a2); b) – Pós-operatório de uma semana; c) – Pós-operatório após seis semana. Imagens adaptadas de (Temmerman et al., 2018).	75
Figura 40 - Recobrimento de recessão gengival com retalho coronário; a) – Imagem pré-operatória da recessão gengival; b) – Preparação do retalho coronário; c) – Despitelização das papilas mesial e distal; d) – Curetagem radicular para condicionamento da superfície da raiz (tetraciclina); Imagens retiradas de (Quirynten & Pinto, 2022).	76
Figura 41 - e) – União de duas membranas de L-PRF em camada com sutura reabsorvível; f) – Recobrimento da superfície radicular com as duas membranas reabsorvíveis fixadas com sutura reabsorvível; g) – Reposicionamento do retalho a recobrir totalmente as membranas de L-PRF; h) Pós-operatório aos seis meses; Imagens retiradas de (Quirynten & Pinto, 2022).	77
Figura 42 - Tratamento da osteonecrose com membranas de L-PRF. a) – Aspeto intraoral da osteonecrose maxilar; b) – Vista intraoral do sequestro maxilar; c) – Imagem intraoral da região pé maxilar após remoção; d) – Preenchimento de defeito ósseo com membranas de L-PRF; e) - Pós-operatório de uma semana; f) Pós-operatório após cinco meses. Imagens retiradas de (Quirynten & Pinto, 2022).....	78
Figura 43 - Cirurgia apical com L-PRF. a) – Imagem radiográfica pré-operatória (CBCT) do dente 2.2, note-se a extensão da loca quiástica; b) – Vista intraoperatória da lesão apical do dente 2.2; c) – Imagem intraoperatória quiástica após enucleação e apicectomia; d) - Vista intraoperatória da aplicação das membranas de L-PRF na loca quiástica. Imagens adaptadas de (N. Pinto et al., 2017).....	79
Figura 44 - e) – Defeito ósseo preenchido com membranas de L-PRF; f) – Encerramento do defeito ósseo com membranas de L-PRF; g) – Reposicionamento do retalho vestibular; h) – Imagem radiográfica (CBCT) de controlo após um ano. Imagens adaptadas de (N. Pinto et al., 2017).....	80

Figura 45 - Regeneração de úlcera crónica da pele com L-PRF. A) – Membranas de L-PRF pelo protocolo Intra-Spin; b) – Imagem de uma ferida cutânea da perna após lavagem cutânea; c) – Colocação das membranas de L-PRF cobrindo toda a área da ferida cutânea; d) – Isolamento da ferida operatória e das membranas com gaze vaselinada. Imagens retiradas de (N. R. Pinto et al., 2018). 81

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Desvantagens da utilização do concentrado plaquetário PRP. Adaptado de (Quiryne & Pinto, 2022).....	21
Tabela 2 - Principais fatores de crescimento libertados por plaquetas e leucócitos presentes nas membranas de L-PRF. Tabela adaptada de (Quiryne & Pinto, 2022)....	35
Tabela 3 - Principais interleucinas libertados por leucócitos presentes nas membranas de L-PRF. Tabela adaptada de (Quiryne & Pinto, 2022)	36
Tabela 4 - Parâmetros de comparação dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Adaptado de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).....	44
Tabela 5 - A: kits de preparação e centrifugadoras utilizadas. Quadro representativo dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Adaptado de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).....	45
Tabela 6 - B: Conteúdo do concentrado. Quadro representativo dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Adaptado de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).....	45
Tabela 7 - C: Rede de fibrina do concentrado. Quadro representativos dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Adaptado de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).	46
Tabela 8 - Resultados da análise macroscópica dos coágulos e membranas produzidos com as 4 centrifugadoras testadas. Valores expressos em Média e Desvio Padrão (DP). Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).....	50
Tabela 9 - Comparação entre a quantidade total libertada ao final do tempo experimental e a quantidade inicial extraída de cada molécula testada numa membrana L-PRF original e numa membrana A-PRF. Os resultados são expressos como médias e desvios padrão. Tabela de retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018)	55
Tabela 10 – Substâncias que podem alterar o tempo de coagulação. Adaptado de (García & Orsini, 2020).....	60

LISTA DE ABREVIATURAS

- AAS- Ácido acetilsalicílico
- AINS- Anti-inflamatórios não esteroides
- APC- Concentrados de plaquetas autólogos
- BMP- Proteínas morfogenéticas ósseas
- CBCT- Cone beam computer tomography
- cc- Centímetros cúbicos
- CE- Certificado europeu
- CPD- Fosfato de dextrose citrato
- ECM- Camada dérmica formada pela densa matriz extracelular
- EDTA- Ácido etilenodiamino tetra-acético
- FC- Fator de crescimento
- FDA- Food and drug administration
- g- Gramas
- IL- Interleucina
- IGF- Fator de crescimento insulínico
- L-PRF- Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
- ml- Mililitros
- MEC- Matriz extracelular
- MSCs- Células estaminais mesenquimais
- PC- Concentrado plaquetário
- PDGF- Fator de crescimento derivado de plaquetas
- PMN- Leucócitos polimofonucleares
- PRGF- Plasma rico em fatores de crescimento
- PRP- Plasma rico em plaqueta;
- PTFE- Politetrafluoretileno
- RCF- Força centrífuga relativa
- REPs- Procedimentos endodônticos regenerativos
- ROG- Regeneração óssea guiada
- SEM- Microscopia eletrônica de varrimento
- TGF- β - Fator de crescimento transformante β
- VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular

I. INTRODUÇÃO

A medicina dentária regenerativa é um campo em desenvolvimento na medicina, que envolve tecnologia de células estaminais, engenharia de tecidos e ciência médica dentária (Xu et al., 2020). A primeira vez que um concentrado de plaquetas foi utilizado, remonta ao ano de 1915, em que o Dr. Grey o usou para controlar uma hemorragia cerebral (García & Orsini, 2020). Em 1970, Matras publicou o primeiro artigo sobre concentrado plaquetários, para melhorar a cicatrização de feridas na pele (A. B. Castro et al., 2017).

Nas últimas três décadas, o enorme progresso na tecnologia de processamento de células, aumentou a mudança geral de terapias baseadas em células estaminais heterólogas para autólogas. Com a perspectiva de ter biomateriais e aditivos cirúrgicos bioativos com resultados previsíveis em medicina regenerativa, várias técnicas foram desenvolvidas com a utilização do sangue periférico, de forma a obter produtos úteis para controlar a inflamação e melhorar os eventos fisiológicos de hemostasia e cicatrização de feridas (Di Liddo et al., 2018).

A reparação é um fenómeno biológico natural que ocorre após a perda ou lesão do tecido, mas infelizmente o corpo humano nem sempre é capaz de se restaurar completamente à sua condição anterior. Embora os seres humanos tenham baixa capacidade regenerativa, uma das preocupações tanto dos pacientes como dos médicos é encontrar uma forma de permitir a substituição do tecido lesado, a partir da regeneração tecidual (Solakoglu et al., 2020). Terapias regenerativas surgiram como tratamentos viáveis para muitas doenças. Os principais benefícios terapêuticos dos tratamentos de medicina regenerativa, provêm da ação parácrina de fatores em concentrações significativas que, entre muitas funções, estimulam as células progenitoras endógenas para promover a proliferação e a cicatrização (Xu et al., 2020).

Um grande esforço nos últimos anos tem sido focado na utilização de produtos biológicos como mediadores-chave da regeneração tecidual, uma vez que, algumas das desvantagens da utilização de fatores de crescimento recombinantes incluem altas doses supra-fisiológicas, bem como altos custos associados ao seu uso. Por outro lado, o uso de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante (PDGF), demonstrou aumentar positivamente a formação de tecidos numa ampla variedade de procedimentos clínicos na medicina e na medicina dentária (Kobayashi et al., 2016).

Os concentrados plaquetários têm sido utilizados na medicina transfusional ao longo dos

anos, originalmente para o tratamento e prevenção de hemorragia devido a trombopatia grave, que geralmente é causada por aplasia medular, leucemia aguda ou perda significativa de sangue durante cirurgias de longa duração (Dohan Ehrenfest et al., 2009). Em 1986, um estudo publicado por Knighton e seus colaboradores, refere a utilização de concentrados de plaquetas na cicatrização de úlcera arteriais e venosas (García & Orsini, 2020). Os concentrados de plaquetas para uso cirúrgico são uma categoria bastante recente de biomateriais desenvolvidos na medicina regenerativa. Podem ser considerados como uma evolução das tecnologias, uma vez que, são utilizados desde há muitos anos como cola de fibrina na medicina (Bielecki & M. Dohan Ehrenfest, 2012).

A cicatrização de feridas continua a ser um tema extremamente importante tanto na Medicina Dentária como em outras áreas médicas para pacientes saudáveis e, ainda mais, para pacientes com comprometimento médico (Quirynen & Pinto, 2022). Recentemente, os concentrados de plaquetas autólogos (APC) têm sido aplicados com o objetivo de fornecer resultados mais previsíveis em variados procedimentos cirúrgicos orais devido à sua capacidade de promover a regeneração tecidual, tanto dos tecidos moles como duros, influenciando no processo de cicatrização de feridas (Mauceri et al., 2021).

O PRP (plasma rico em plaquetas) é um concentrado plaquetário obtido através da centrifugação sanguínea, que foi descrito pela primeira vez por Robert Marx em 1996, descrevendo a fisiologia da maturação óssea (García & Orsini, 2020). Foi apresentado como uma cola de fibrina e ganhou popularidade na Medicina e Medicina Dentária nos procedimentos de regeneração tecidual (Kobayashi et al., 2016). Pouco tempo depois, Eduardo Anitua em 1999 modifica o método e descreve-o como plasma rico em fatores de crescimento (PRGF) (García & Orsini, 2020). Já o L-PRF (fibrina rica em plaquetas e leucócitos), trata-se de um concentrado de plaquetas autólogo descrito pela primeira vez por Choukroun e seus colaboradores em 2001, como autotransplante aplicado em feridas cirúrgicas, de modo a acelerar o processo de cicatrização e regeneração tecidual após procedimentos cirúrgicos intraorais (Dragonas et al., 2019; Lourenço et al., 2020; Sam et al., 2015).

A cirurgia moderna tem como principal objetivo a diminuição da morbidade e aumento do sucesso clínico (Giannini et al., 2015). Nos últimos anos, verificou-se um gradual aumento de interesse na utilização de produtos ricos em plaquetas nos diversos tratamentos dentários (Tunali et al., 2014). Os concentrados de plaquetas para utilização em procedimentos cirúrgicos, são considerados como ferramentas da medicina

regenerativa projetados com a função de libertação local de fatores de crescimento e plaquetas num local cirúrgico ou ferida, com o objetivo de estimular a cicatrização ou regeneração tecidual (Dohan Ehrenfest et al., 2012). As plaquetas estão entre as células que apresentam potencial na terapia regenerativa. A abundância de fatores de crescimento e a fácil disponibilidade e processamento deram-lhes especial atenção. Além de fatores de crescimento e citocinas, essas células possuem propriedades anti-inflamatórias e os seus produtos têm sido recentemente utilizados em matrizes celulares (Raeissadat et al., 2017).

II. DESENVOLVIMENTO

1. Concentrados Plaquetários

1.1. Plasma rico em plaquetas (PRP)

A utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) teve início nos anos 90 com o objetivo de substituir os adesivos de fibrina utilizados até esse momento (García & Orsini, 2020). O PRP é um produto biológico que é definido como a porção da fração plasmática do sangue autólogo com concentração de plaquetas superior à do sangue total original (Kobayashi et al., 2016; Xu et al., 2020). É obtido extraíndo o sangue do próprio paciente, em tubos com anticoagulantes, que podem ser, fosfato de dextrose citrato, citrato de sódio 2,7 e 3,8%, EDTA, entre outros. Os anticoagulantes captam os íons de cálcio presentes no sangue e inativam a coagulação, mediante a formação de um tipo de composto designado quelato. Desta forma, as plaquetas conservam a sua função e estrutura sem segregar os fatores de crescimento (García & Orsini, 2020). Em seguida, o sangue sofre um processo de centrifugação para remover os glóbulos vermelhos, estando comprovado que, a velocidade e a duração da centrifugação, influenciam a quantidade de plaquetas, a libertação de fatores de crescimento e a eficácia do PRP (Xu et al., 2020). As plaquetas anucleadas dentro do PRP libertam uma quantidade de fatores de crescimento e citocinas, enquanto contribuem para a coagulação do plasma e o desenvolvimento de fibrina (Andia & Abate, 2013; Xu et al., 2020).

A reduzida capacidade de regeneração e o pobre aporte sanguíneo nos ligamentos tendões e cartilagens, levou a que o tratamento com PRP seja uma vantagem no tratamento destes tecidos na medicina (García & Orsini, 2020). O PRP reduz o sangramento enquanto melhora a cicatrização dos tecidos moles e a regeneração óssea (Xu et al., 2020). Pode ser combinado com vários biomateriais, incluindo membranas de colágeno e materiais de enxerto ósseo (Kobayashi et al., 2016).

O custo da terapia de regeneração pode ser reduzido com a utilização do PRP. A aceitação do PRP autólogo tem sido rápida, de alguma forma determinada pelo perfil de segurança (Andia & Abate, 2013; García & Orsini, 2020). A popularidade deste protocolo tem sido crescente na área da Medicina Dentária, especialmente em procedimentos regenerativos, incluindo endodontia regenerativa (pulpotomia, cirurgia apical e apexificação), periodontologia (tratamento de defeitos periodontais infra-ósseos e cirurgia plástica periodontal), cirurgia oral e maxilofacial (extrações dentárias, cirurgia de tecidos moles e

tecido ósseo e implantologia) (Xu et al., 2020).

Existem várias contraindicações para o tratamento com PRP, como por exemplo: pacientes a realizarem tratamento com anticoagulantes ou com deficiências nos fatores da coagulação, assim como, um vasto grupo de fármacos que inclui os anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos (que se recomenda não tomar nos cinco dias antes do tratamento), a utilização de antibioterapia, corticoides ou outra medicação imunossupressora (García & Orsini, 2020).

Alguns estudos questionam a eficácia do PRP devido à sua liberação de fator de crescimento de curta duração, atingindo o pico no primeiro dia de tratamento e diminuindo para valores desprezíveis nos dias subsequentes. Além disso, a utilização de trombina durante a manipulação do PRP resulta em polimerização abrupta, dificultando a incorporação de citocinas na malha de fibrina, o que causa liberação prematura de fatores de crescimento, mesmo antes da chegada dos osteoblastos (Tabela 1) (Padilha et al., 2018).

DESVANTAGENS DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS
Complexidade da preparação com variações significativas entre operadores
Necessidade de fatores anticoagulantes para prevenir a coagulação no início do processo
Necessidade de ativadores de coagulação (principalmente trombina bovina e cloreto de cálcio), inibidores conhecidos da cicatrização de feridas
Longo tempo de preparação (30 a 60 minutos ou mais)
A sua natureza líquida, exigindo uma combinação com outros biomateriais muitas vezes sintéticos
Rápida liberação de fatores de crescimento
Custo elevado

Tabela 1 - Desvantagens da utilização do concentrado plaquetário PRP. Adaptado de (Quirynten & Pinto, 2022).

1.2. Plasma rico em fatores de crescimento (PRGF)

O plasma rico em fatores de crescimento (PRGF) é uma terapia biológica que utiliza fatores de crescimento do próprio paciente para promover a regeneração tecidual (Anitua et al., 2016). Após confirmado o sucesso do PRP, Anitua e colaboradores em 1999, descreveram uma técnica nova, de modo a obter um plasma rico em fatores de crescimento, o qual denominaram PRGF (García & Orsini, 2020; Vahabi et al., 2015).

Aproveitando as suas características é utilizada no tratamento de múltiplas patologias, bem como no campo da engenharia de tecidos e na medicina regenerativa (Anitua et al., 2016). O termo PRGF identifica exclusivamente formulações 100% autólogas e biocompatíveis elaboradas por um processo de centrifugação de uma etapa, que utiliza citrato trissódico como anticoagulante sanguíneo e o cloreto de cálcio para ativar a cascata de coagulação de forma controlada (Anitua et al., 2016; Vahabi et al., 2015). Não há necessidade de adicionar trombina bovina ou humana para que ocorra o processo de coagulação (Giannini et al., 2015).

Para a obtenção do PRGF, frações de 0,5 ml localizadas imediatamente acima da camada leucocitária são removidas de cada tubo e transferidas para uma placa de Petri estéril, para iniciar a coagulação e ativação das plaquetas para a libertação dos fatores de crescimento. Em seguida, é adicionado PRGF ativador (cloreto de cálcio a 10%) ao PRGF líquido (50 microlitros por mililitro de PRGF). As placas são incubadas a 37°C durante 30 minutos até se formar uma camada gelatinosa consistente de fácil manuseamento (Vahabi et al., 2015)

Este é um tipo de plasma enriquecido com proteínas e fatores de crescimento circulantes, capazes de auxiliar a regeneração tecidual. Contém fatores de crescimento derivados das plaquetas e conteúdos plasmáticos, que estão implicados nos processos de cicatrização, e proteínas plasmáticas adesivas como a fibrina, fibronectina, vitronectina, entre outras (García & Orsini, 2020).

O plasma rico em fatores de crescimento, tem concentração plaquetária moderada e não contém leucócitos, com o objetivo de evitar os efeitos pró-inflamatórios das proteases e hidrólases ácidas dos glóbulos brancos (Vahabi et al., 2015). Por outro lado, os fatores de crescimento, ajudam a iniciar a migração de células estaminais para o local aplicado, desencadeando a sua proliferação, além disso, o PRGF pode ter o potencial de induzir o crescimento e a diferenciação de células estaminais mesenquimais (MSCs), que podem acelerar a cicatrização óssea (Solakoglu et al., 2020). Estas células estimulam e aceleram

o processo de cicatrização, formando coágulos sanguíneos e libertando fatores de crescimento na ferida (Giannini et al., 2015).

Esta técnica apresenta uma ampla versatilidade, oferecendo várias formulações autólogas, incluindo uma formulação injetável, um suporte tridimensional de fibrina e uma membrana de fibrina (Anitua et al., 2021). Como os estudos básicos são insuficientes para apoiar a eficácia do PRF e do PRGF e devido a muitas controvérsias sobre os efeitos do PRP na regeneração óssea e de tecidos moles, ainda são necessários mais estudos *in vitro* (Vahabi et al., 2015).

1.3. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF)

O L-PRF é um biomaterial autólogo que inicialmente foi utilizado na Medicina para promover a cicatrização de feridas em pacientes diabéticos e com lesões provocadas por queimaduras (García & Orsini, 2020). De forma a tirar proveito das suas características, distintas áreas da Medicina Dentária têm utilizado o L-PRF em diferentes tipos de cirurgias principalmente na periodontologia, implantologia, cirurgia e cirurgia maxilofacial, de forma a melhorar o processo de cicatrização (Andrade et al., 2020; Dohan Ehrenfest et al., 2012).

Atualmente, o L-PRF é o plasma rico em plaquetas mais comumente usado, pois é de fácil obtenção e pode ser aplicado como membrana comprimida, gel, *plug* ou associado a um substituto ósseo (L-PRF *block*), dependendo do local de aplicação (Hermida-Nogueira et al., 2020). É um concentrado de fibrina rica em plaquetas e leucócitos que representa um novo passo no conceito terapêutico, e que inicia a segunda geração de concentrados plaquetários (García & Orsini, 2020). Ao contrário dos concentrados de primeira geração, estes não requerem nenhuma adição de anticoagulante, trombina bovina ou outro agente espessante, o que torna sua produção mais simples e rápida quando comparada com seu predecessor (PRP) (de Almeida Barros Mourão et al., 2020; Dohan Ehrenfest et al., 2012; Tunali et al., 2014).

Um coágulo ou membrana de L-PRF (Figura 1) pode ser definido como uma fibrina sólida ou coágulo sanguíneo obtido por meio de um processo de coagulação "natural" sem nenhum tratamento adicional, através da centrifugação do sangue do paciente (Castro et al., 2019; Quirynen & Pinto, 2022; Tovar et al., 2021). A ativação do sangue dá-se numa única etapa de centrifugação e sem necessidade de manipulação bioquímica (Ratajczak et al., 2018).

A diferença para os outros concentrados plaquetários, consiste no facto de a polimerização do L-PRF ocorrer durante o processo de centrifugação, de forma lenta, progressiva e natural (García & Orsini, 2020). Esta centrifugação promove a organização de uma rede de fibrina tridimensional e com formato homogéneo. Esta estrutura tridimensional da fibrina permite que o seu conteúdo tenha um período de vida mais longo (García & Orsini, 2020). Consiste numa rede de fibrina polimerizada que compreende uma população específica de células, principalmente leucócitos e plaquetas (Quiryren & Pinto, 2022).

Respeitando a “Lei de Stokes”, a velocidade de sedimentação de partículas são submetidas a forças centrífugas e controladas por vários fatores, o que origina diferenças nas taxas de sedimentação, entre glóbulos brancos, eritrócitos e plaquetas, que é fundamental para a separação das três áreas distintas alcançadas durante a preparação do L-PRF (Tovar et al., 2021). O sangue é então separado em três camadas: a camada superior é o plasma acelular; a camada inferior é constituída por glóbulos vermelhos; e a camada intermedia é onde se dá a coagulação do sangue através da trombina que é removida e pode ser moldada numa membrana ou *plug* (Figura 1) (Padilha et al., 2018; Sam et al., 2015).

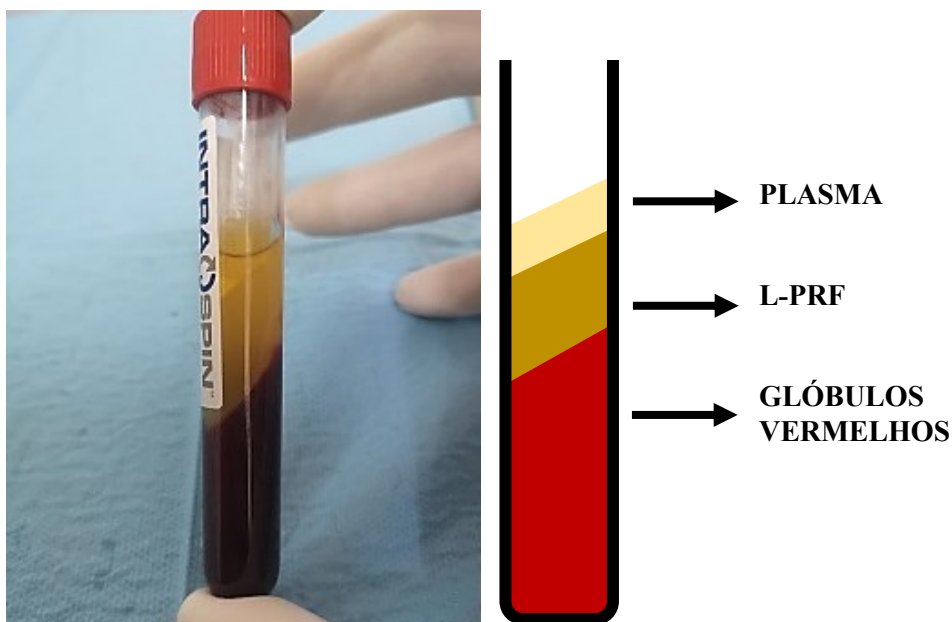


Figura 1 - Esquema representativo das três camadas, após a centrifugação do sangue. Figura do autor.

O plasma acelular e os eritrócitos não têm interesse clínico, ao contrário do coágulo de L-PRF formado no centro do tubo, que é constituído por 97% das plaquetas e mais de 50% dos leucócitos do coágulo inicial (Figura 1) (Dohan Ehrenfest et al., 2012; Nuñez Muñoz & Castro-Rodríguez, 2019).

O L-PRF é considerado como biomaterial composto por uma matriz de fibrina estruturalmente muito estável e resistente, contendo no seu interior plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas (citocinas e fatores de crescimento) (Dohan Ehrenfest et al., 2012; Ratajczak et al., 2018). O coágulo de fibrina capta as células estaminais circundantes, servindo de rede para estas células que são muito importantes na regeneração das células ósseas, bem como de outros tecidos (García & Orsini, 2020).

Até ao momento, as potencialidades regenerativas intrínsecas do L-PRP foram comumente atribuídas a fatores derivados de plaquetas e leucócitos (fatores de coagulação, fatores de crescimento e citocinas) e à matriz de fibrina que orquestram sinergicamente o recrutamento de células estaminais após uma resposta inflamatória impulsionada por neutrófilos, macrófagos polarizados M1 e linfócitos T (fase inicial) e macrófagos M2 (fase tardia) (di Liddo et al., 2018).

Sabe-se que as plaquetas e os leucócitos libertam uma infinidade de fatores de crescimento, sendo alguns destes, o fator de crescimento de células endoteliais vasculares (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos-2 (FGF-2), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento insulínico (IGF), fator de crescimento transformante β (TGF- β) e citocinas (Tabela 2 e 3) (Andrade et al., 2020; García & Orsini, 2020; Ratajczak et al., 2018).



Figura 2 - Membrana de L-PRF (à esquerda); L-PRF Plug. Imagens cedidas pelo Doutor Iñaki Gamborena.

A arquitetura tridimensional do L-PRF permite a produção de *plugs* densos e membranas que podem ser facilmente adaptadas a defeitos tecidulares (Figura 2) (de Almeida Barros Mourão et al., 2020).

O L-PRF merece ser considerado como um coágulo de sangue otimizado ou um enxerto de tecido vivo humano devido às suas características físicas: a rede de fibrina tridimensional, que torna as membranas fortes o suficiente para serem suturadas e fixadas; a presença de células e mediadores aprisionados no interior da malha de fibrina; a liberação a longo prazo de fatores de crescimento que favorecem a regeneração tecidular; a sua capacidade antibacteriana (bacteriostática); da natureza 100% autólogo (Quiryren & Pinto, 2022).

1.3.1. Histologia

Miron e colaboradores em 2021, realizaram um estudo comparativo sobre a relevância do género e idade nos parâmetros macroscópicos das membranas L-PRF, no qual observaram que o tamanho das membranas de L-PRF produzidas, apresentaram maior

dimensão nos pacientes idosos e nos pacientes do género feminino. As membranas de L-PRF produzidas a partir de sangue de pacientes do género feminino, eram 17% maiores do que as membranas de L-PRF produzidas dos pacientes do género masculino.

Este resultado foi explicado devido ao facto de que as mulheres, em comparação com os homens apresentaram na generalidade níveis mais baixos de hematócrito no sangue periférico, e nos pacientes idosos por apresentarem concentrações mais baixas de hemácia (Quirynen & Pinto, 2022).

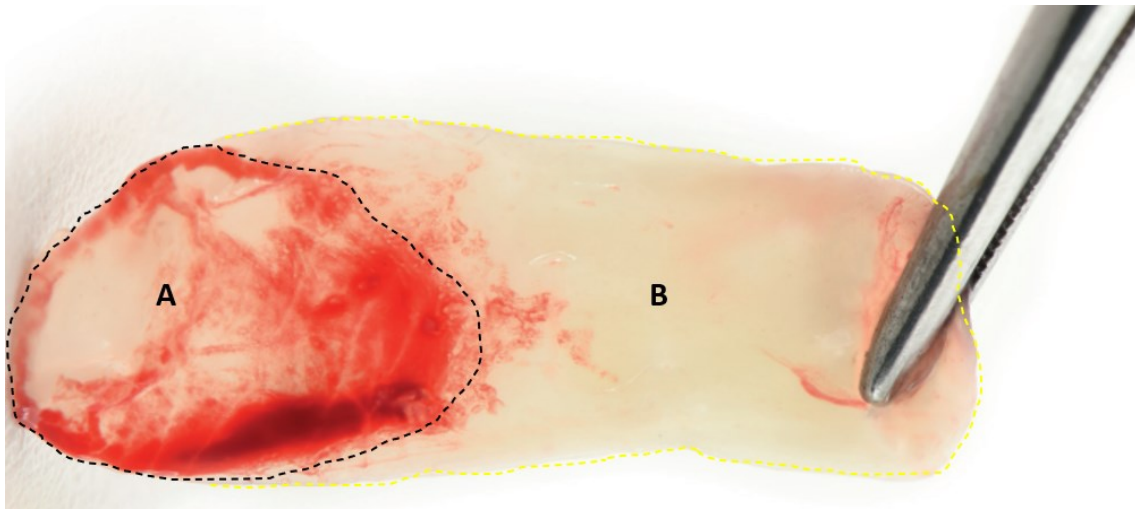


Figura 3 - Membrana de L-PRF. A) "Face da membrana"; B) "Cauda da membrana". Imagem adaptada do Doutor Iñaki Gamborena.

A membrana de L-PRF apresenta-se dividida em duas regiões a área de coloração vermelha, denominada de "face da membrana" (A), que apresenta um elevado número de células, principalmente plaquetas e leucócitos; e a área de coloração mais esbranquiçada, denominada de "cauda da membrana" (B) (Figura 3) (Castro et al., 2019). A cauda é constituída por uma densa matriz de fibrina tridimensional, com alta concentração de plaquetas e apenas alguns leucócitos (Quirynen & Pinto, 2022).

Após a centrifugação, a membrana de L-PRF encontra-se posicionada no tubo de uma forma específica. Denomina-se a face distal da membrana de L-PRF, a que se encontra mais distante do centro do rotor da centrifugadora, e a face mesial a que encontra mais próxima do rotor, ou seja, a face distal é a que contém a "face da membrana" (Figura 4).

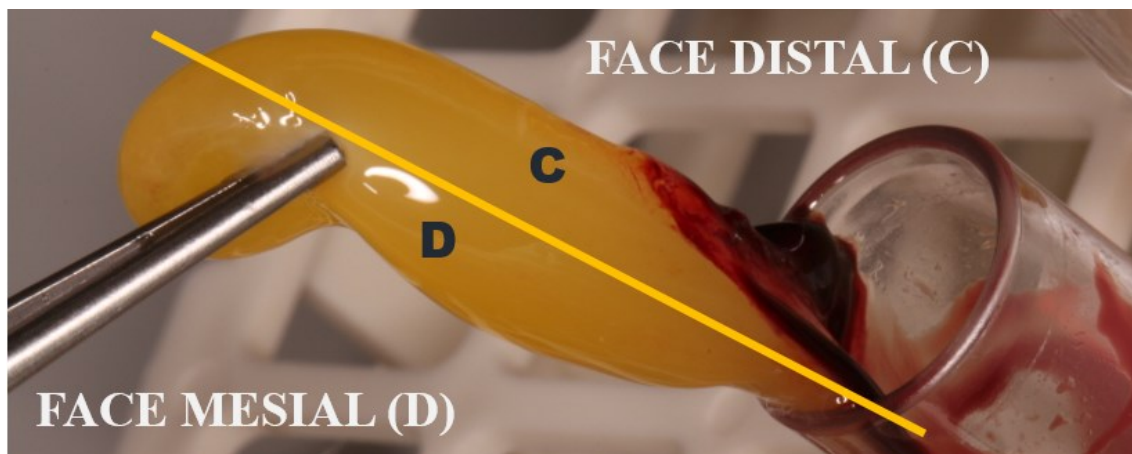


Figura 4 - Membrana de L-PRF. Identificação da face distal (C) e da face mesial (D). Imagem adaptada do Doutor Eugénio Pereira.

A partir de cortes transaxiais realizados na membrana de L-PRF, foi possível identificar na “face da membrana”, um elevado número de plaquetas e leucócitos com especial relevância destes últimos e, uma concentração ligeiramente inferior de células na superfície distal da “cauda da membrana” (Quirynen & Pinto, 2022). A fronteira entre as camadas de plasma e eritrócitos inclui uma densa rede de fibrina com muitos leucócitos (Figura 5C). A separação das células demonstrou uma grande quantidade de células localizada na superfície distal da cauda da membrana (Figura 5B), e que, a maioria das células se localizam na região da “face da membrana” (Figura 5C). A camada de hemácias que se situa aderida cinco milímetros imediatamente à “face da membrana”, denomina-se zona vermelha ou *buffy-coat*. Esta zona vermelha é constituída por um reduzido número de plaquetas e leucócitos (Figura 5D) (Fujioka-Kobayashi et al., 2020).

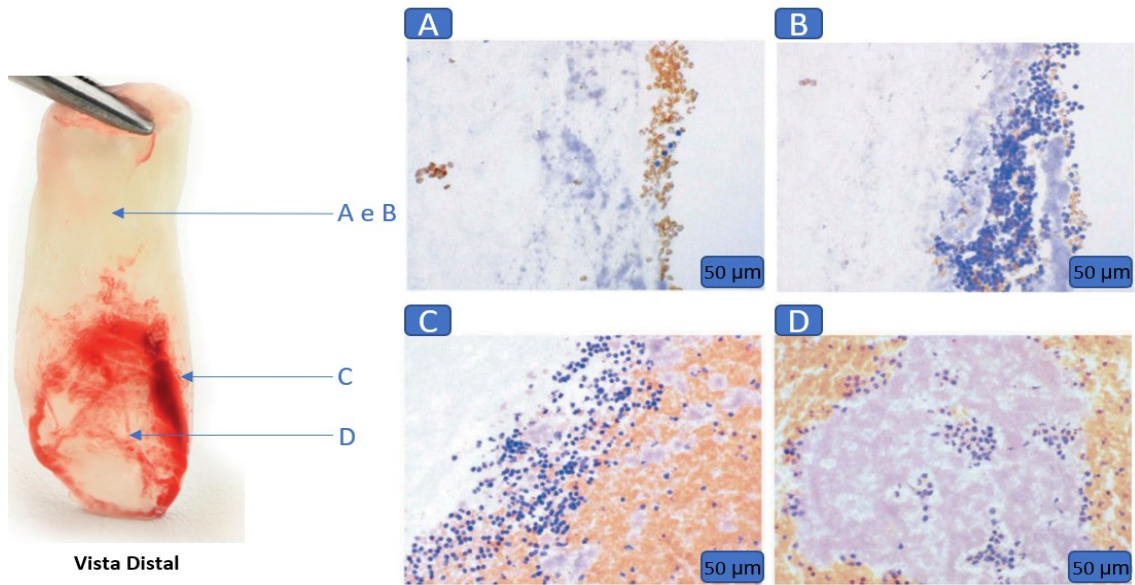


Figura 5 - Visão panorâmica das seções de todo o coágulo de L-PRF. Imagem adaptada do Doutor Iñaki Gamborena.

Cortes histológicos não descalcificados e de baixa ampliação revelaram formação óssea para todas as velocidades de rotação a 200, a 400 e a 600 RCF (força centrífuga relativa) do L-PRF. Além disso, as áreas centrais de todos os defeitos apresentaram vestígios de tecido conjuntivo. Todos os grupos experimentais de L-PRF apresentaram regeneração óssea após avaliação de micrografias de maior ampliação (Tovar et al., 2021).

Independentemente da fonte de L-PRF e velocidade de centrifugação, o tecido ósseo apresentou elevado conteúdo celular e neovascularização, consistente com a formação inicial de tecido ósseo intra-membranoso. Na imagem histológica de alta ampliação (Figura 6), pode observar-se a presença de ósteons primários nas três velocidades do estudo. Observou-se ainda o processo de remodelação óssea ativa (Tovar et al., 2021).

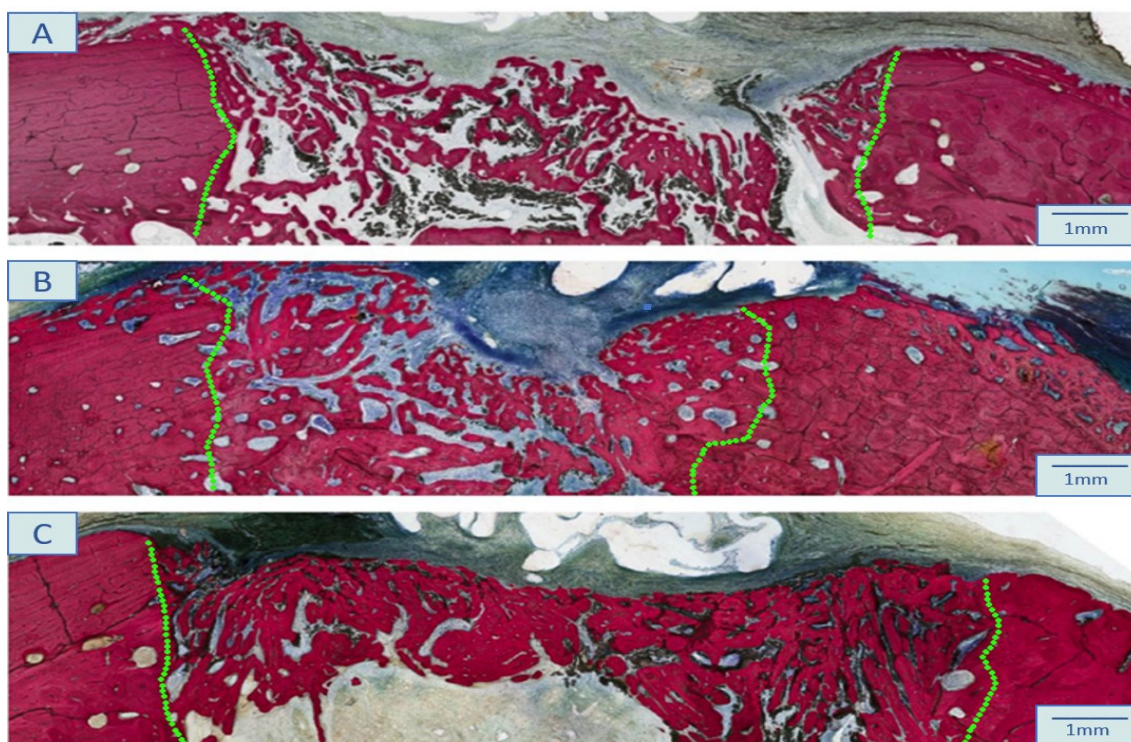


Figura 6 - Histológico representativo; micrografias de defeitos ósseos tratados com coágulos de L-PRF. Tracejado verde foi incorporado às imagens que representa as bordas do defeito ósseo onde ocorreu a formação de novo osso. Adaptado de (Tovar et al., 2021).

O L-PRF proveniente do *spin* 200 RCF (Figura 6A) cicatrizou principalmente nas margens do defeito e foi observada infiltração tecidular na região central do defeito. Enquanto o L-PRF proveniente das velocidades mais altas 400 RCF (Figura 6B) e 600 RCF (Figura 6C) cicatrizou através do defeito, com tecido conjuntivo qualitativamente menor observado no local do defeito. (Tovar et al., 2021)

Os três RCFs testados não alteraram a contagem de plaquetas do coágulo de L-PRF. Para o componente *in vivo*, as análises quantitativas de regeneração óssea demonstraram valores obtidos significativamente maiores com as membranas L-PRF extraídas após 600 RCF em comparação com 200 RCF, mas sem diferenças significativas em relação a 400 RCF. Nas análises histológicas qualitativas, as membranas de L-PRF obtidas a 600 e 400 RCFs promoveram uma melhor cicatrização em todo o defeito, onde o L-PRF proveniente da velocidade mais baixa, 200 RCF, apresentou cicatrização principalmente nas margens, juntamente com a presença de tecido conjuntivo na região central do defeito cirúrgico (Tovar et al., 2021).

1.3.2. Fibrinogénio

O fibrinogénio é uma glicoproteína solúvel que se encontra no plasma, é sintetizada principalmente no fígado e tem uma vida média de aproximadamente cem dias. Como fator de coagulação, o fibrinogénio é um precursor da fibrina, desempenhando um papel importante nos processos de inflamação e angiogénese. As concentrações altas de trombina, levam à transformação do fibrinogénio em fibrina. (García & Orsini, 2020). Os géis de fibrina têm sido frequentemente produzidos para fornecer as propriedades mecânicas desejadas ao material de enxerto (Castro et al., 2019).

O sangue não concentrado tem valores mais baixos de fibrinogénio, ocorrendo o processo de polimerização de forma mais lenta da fibrina através da trombina fisiológica. Uma vez que o fibrinogénio e trombina estão concentrados no L-PRF, este gera uma matriz de fibrina com um complexo trimolecular estrutural, oferecendo maior resistência, elasticidade, assemelhando-se a uma matriz natural (Figura 7) (de Almeida Barros Mourão et al., 2020).

O fibrinogénio líquido e o exsudato, podem ser considerados como agentes bioativos devido à sua participação na libertação de fatores de crescimento e do seu conteúdo celular (A. Castro et al., 2019). Recentemente, a utilização de fibrinogénio líquido foi proposto para agregar o substituto ósseo particulado, impregnando-o com fatores de crescimento de L-PRF e torná-lo mais adesivo e estável. O resultado da agregação do fibrinogénio com o substituto ósseo é designada L-PRF *Block* (Mauceri et al., 2021).



Figura 7 - Colheita do fibrinogénio obtido pelo protocolo Intra-Spin. Figura do autor.

1.3.3. L-PRF *block*

Para se obter um L-PRF *Block* (Figura 8) utiliza-se o fibrinogénio líquido, membranas de L-PRF juntamente com um biomaterial (substituto ósseo) que pode ser aloenxerto, xenoenxerto ou aloplástico (García & Orsini, 2020). O biomaterial tem como função, servir de matriz osteocondutora e as membranas L-PRF com a função de conector biológico com capacidade osteoindutora (Castro et al., 2019). A combinação das plaquetas presentes nas membranas de L-PRF e a ação adesiva do fibrinogênio líquido resulta na produção em matriz de fibrina, que integra o substituto ósseo numa estrutura forte (Castro et al., 2019).

A aplicação do fibrinogénio inicia a cascata de coagulação quando em contato com as membranas de L-PRF cortadas, formando uma matriz de fibrina tridimensional. Este processo ocorre em menos de cinco minutos e aprisiona o biomaterial num bloco (Cortellini et al., 2018). O bloco tem qualidades manipulativas adequadas, rica em moléculas bioativas e fatores de crescimento (Mauceri et al., 2021).

O L-PRF *block* é composto por uma matriz rica em plaquetas ativadas, que libertam uma ampla gama de moléculas bioativas e fatores de crescimento (BMP, PDGF, IGF, VEGF, TGF- β 1 e TGF- β 2) (Cortellini et al., 2018).



Figura 8 - L-PRF *block* (ou Sticky Bone). Imagem cedida pelo Doutor Iñaki Gamborena.

1.3.4. Matriz de fibrina

A trombina e o cloreto de cálcio, necessários durante a preparação do PRP e PRGF, iniciam a última fase da coagulação e polimerização da fibrina, estes dois aditivos influenciam significativamente a velocidade e o modo de polimerização. Este processo biológico resulta na formação de uma rede rígida de fibrina, que prejudica fortemente o aprisionamento de citocinas e a migração celular. As baixas concentrações fisiológicas de trombina no protocolo L-PRF resultam na formação lenta e fisiológica de uma rede de fibrina tridimensional flexível, com maior percentagem de ligações equilibradas, favorecendo o aprisionamento de citocinas e células (Quirynen & Pinto, 2022). A matriz de fibrina tridimensional, é rapidamente invadida por diferentes células como neutrófilos, macrófagos e fibroblastos, que irão produzir colágeno, fibronectina e outros componentes da matriz extracelular (Castro et al., 2019). Além disso, essa organização também confere elasticidade à matriz de fibrina comparável à de um biomaterial. A matriz de fibrina associa glicosaminoglicanos (originários das plaquetas sanguíneas), os quais apresentam elevada afinidade por peptídeos circulantes (como citocinas) e uma grande capacidade de suportar a migração celular, atuando nos processos de cicatrização (Quirynen & Pinto, 2022).

1.3.5. Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento são polipeptídeos que controlam o crescimento, a diferenciação e o metabolismo das células (Tabela 2) (Solakoglu et al., 2020). A utilização de L-PRF na prática clínica, tem tido um papel relevante devido à sua capacidade de libertação de fatores de crescimento autólogo. Estudos realizados, comprovam que a alta concentração desses fatores de crescimento resulta na redução do tempo de cicatrização, bem como na estimulação da regeneração tecidual (Peck et al., 2016; Solakoglu et al., 2020). O envolvimento dos fatores de crescimento associados aos processos de cicatrização, atuam como mensageiros biológicos, que desempenham um papel relevante na regulação da remodelação e cicatrização tecidual (García & Orsini, 2020). Estes têm ação nos processos celulares responsáveis pela regeneração tecidual, diferenciação, migração, quimiotaxia e apoptose, melhorando a cicatrização do local de aplicação (Andrade et al., 2020; Dragonas et al., 2019; García & Orsini, 2020).

A fibrina contém numerosos locais de ligação para células, proteínas e fatores de crescimento que contribuem para o papel na modulação de uma série de respostas

celulares complexas (Castro et al., 2019). Os FC TGF- β 1 e PDGF-AB têm um peso molecular maior, em comparação com o VEGF. As proteínas de maiores dimensões podem apresentar maior dificuldade de saírem da estrutura criada no fibrinogênio líquido no L-PRF *block*, no entanto, as proteínas de pequenas dimensões podem se libertar mais facilmente. Devido a essa retenção, a liberação de TGF- β 1 e PDGF-AB aumenta gradualmente ao longo do tempo no L-PRF *block*, à medida que a rede de fibrina fica disponível (A. B. Castro, Cortellini, et al., 2019).

A maior expressão de fatores de crescimento e citocinas observadas nas membranas PRF ocorre nas primeiras vinte e quatro horas (de Almeida Barros Mourão et al., 2020; Kobayashi et al., 2016), ao contrário das membranas de L-PRF que continuam a libertar fatores de crescimento e citocinas até vinte e um dias (de Almeida Barros Mourão et al., 2020). A elevada liberação inicial de FC pode ser interessante nos alvéolos pós-extração ajudando na estabilização e formação dos coágulos que potenciam o processo de cicatrização (de Almeida Barros Mourão et al., 2020).

A liberação de fatores de crescimento pode depender de diferentes mecanismos: aprisionamento físico de proteínas dentro da matriz, ligação direta das proteínas à matriz, ou ao uso de micro ou nanopartículas como reservatório de proteínas. Os FC permanecem imobilizados dentro da matriz numa fase inicial e, posteriormente ocorre a liberação passiva dos mesmos à medida que a fibrina é degradada, esta mediação é realizada pela plasmina de serina protéase. A plasmina atua sobre a fibrina e fica sujeita a uma série de produtos de degradação. Este método, geralmente reduz a liberação rápida de fatores de crescimento e permite uma liberação prolongada de fatores de crescimento que estão presos no transportador (Castro et al., 2019).

As proteínas morfogênicas ósseas (BMPs) são glicoproteínas de baixo peso molecular e são responsáveis pela formação óssea ectópica. Descritas pela primeira vez na década de 1960, essas proteínas desempenham um papel crítico em vários aspetos da função celular, diferenciação e remodelação tecidual. Mais significativamente, estas proteínas são cruciais na manutenção da integridade esquelética e na cicatrização de fraturas ósseas. As BMPs são libertadas e sintetizadas por várias células, incluindo osteoblastos, células osteogênicas, condrócitos, plaquetas e macrófagos (Peck et al., 2016).

FATORES DE CRESCIMENTO	PRODUZIDO	AÇÃO
PDGF	Plaquetas Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos Queratinócitos	Atua nos processos de inflamação e formação de tecido de granulação; Desempenha um papel importante no processo de cicatrização e regeneração óssea; Ativa leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e fibroblastos Estimula a proliferação de fibroblastos e células endoteliais; Estimula a produção de colagénio, fibronectina e ácido hialurónico Estimula a angiogênese, a proliferação e migração celular; Estimula a produção de fibras de colagénio;
VEGF	Plaquetas Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos Queratinócitos	Promove a cicatrização; Induz a formação de tecido de granulação; Aumenta a neovascularização; Estimula a proliferação de células endoteliais
EGF	Plaquetas Macrófagos Fibroblastos	Estimula a proliferação de células epiteliais e endoteliais; Estimula a migração de queratinócitos Participa na reepitelização e regeneração tecidual
TGF-β	Plaquetas Linfócitos T Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos Queratinócitos	Inflamação; Estimula a formação de tecido de granulação ao induz a angiogênese; Reepitelização Estimula a proliferação de osteoblastos; Quimiotático para PMNs, macrófagos, linfócitos e fibroblastos; Induz a produção de TGF- β

Tabela 2 - Principais fatores de crescimento libertados por plaquetas e leucócitos presentes nas membranas de L-PRF. Tabela adaptada de (Quirynen & Pinto, 2022).

1.3.6. Leucócitos

A incorporação dos leucócitos principalmente neutrófilos e macrófagos no L-PRF permite atuar como uma primeira linha de defesa, libertando cinco mediadores celulares, três citocinas pró-inflamatórias, as interleucinas (IL- β , IL-6, TNF- α), uma citocina anti-inflamatória, a interleucina (IL-4) e um promotor essencial da angiogênese (Tabela 3) (García & Orsini, 2020). A forte arquitetura da matriz de fibrina também contribui para o potencial de angiogênese do L-PRF, garantindo uma libertação progressiva destas moléculas ao longo do tempo pelos leucócitos presentes na membrana de L-PRF (Ratajczak et al., 2018). Os leucócitos não são apenas células inflamatórias, uma vez que, também têm efeitos antinociceptivos através de diferentes quimiocinas, citocinas anti-inflamatórias e peptídeos opióides, promovendo assim a inibição da dor. Durante a inflamação, estas citocinas neutralizam os efeitos dos mediadores pró-inflamatórios naturalmente gerados nas fases iniciais da inflamação (Quirynen & Pinto, 2022).

Num estudo realizado por M. Dohan Ehrenfest e colaboradores em 2012, verificaram que as quantidades libertadas de TGF 1 e VEGF após sete dias, foram cerca de seis vezes maiores que o conteúdo inicial. Pelo que, se pode afirmar, que os leucócitos aprisionados

nas membranas L-PRF produzem esses fatores de crescimento em excesso (Dohan Ehrenfest et al., 2012).

1.3.7. Citocinas

As citocinas são sintetizadas por linfócitos, desempenham um papel fundamental na resposta imunológica, inflamatória e hematopoiética (García & Orsini, 2020). Esta resposta deve-se aos leucócitos serem capazes de libertar grandes quantidades de citocinas relacionadas à regulação imune no processo de fibrinólise, sendo este processo contínuo e progressivo (Quirynen & Pinto, 2022). A presença de citocinas e fatores de crescimento, influenciam positivamente a regeneração e maturação de tecidos (Tunali et al., 2013), sendo que, o estabelecimento de uma rede vascular, é um aspeto fundamental na regeneração de tecidos danificados (Ratajczak et al., 2018). As interleucinas constituem um enorme grupo de proteínas imunomoduladoras que regulam o crescimento, diferenciação e ativação celular no sistema imunológico ou hematopoiético durante a resposta imune (Tabela 3). Embora as ILs sejam secretadas principalmente pelos leucócitos, estas também podem ser secretadas por outras células não imunes, como queratinócitos, condrócitos, fibroblastos, células endoteliais, epiteliais e células do músculo liso (Quirynen & Pinto, 2022).

CITOCINAS INFLAMATÓRIAS		
CITOCINA	PRODUZIDA	AÇÃO
IL-1 β	Macrófagos Neutrófilos Células Endoteliais Queratinócitos Células de Langerhans	Estimula os linfócitos Th; Responsável pela mediação do controlo da dor;
IL-6	Monócitos Fibroblastos Células endoteliais Macrófagos Linfócitos T e B Osteoblastos	Associada à atividade de IL- β e TNF- α ; Ativador dos linfócitos T; Pode estimular ou inibir a sua síntese; Fator de diferenciação para linfócitos B e ativador de linfócitos T; Juntamente com a IL-3, promovem a proliferação in vitro de células estaminais hematopoiéticas; Forma a maior ampliação de sinais para as células imunitárias;
TNF- α	Macrófagos Monócitos Neutrófilos Leucócitos PMN Linfócitos T	É uma das primeiras citocinas libertadas na resposta inflamatória, contra toxinas bacterianas; Ativa os monócitos; Estimula a capacidade remodeladora dos fibroblastos;
CITOCINAS CICATRIZANTES		
IL-4	Células T ativadas	Atua na proliferação e diferenciação de células B ativadas; Favorece a cicatrização ao moderar a inflamação; Atua sobre os macrófagos, pelo que previne a produção de IL- β , TNF- α e prostaglandinas;

Tabela 3 - Principais interleucinas libertadas por leucócitos presentes nas membranas de L-PRF. Tabela adaptada de (Quirynen & Pinto, 2022).

1.3.8. Cicatrização

O processo de cicatrização tem início com a ativação da cascata de coagulação, e posteriormente, é seguido pelas fases inflamatória, proliferativa e de remodelação ou maturação. Esse processo é guiado por mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e células inflamatórias (di Liddo et al., 2018; Nogueira et al., 2020). A interação entre citocinas, fatores de crescimento, quimiocinas e mediadores químicos regula esses eventos através da integração complexa de vias de sinalização (Jasmine et al., 2021).

Para melhorar a cicatrização de feridas, a utilização de produtos biológicos, que regulam a inflamação e a angiogênese, podem ser muito benéficos. A rede de fibrina tem muitas semelhanças com a rede formada durante a cicatrização natural (Andrade et al., 2020). Vários estudos *in vitro*, em animais e ensaios clínicos sugeriram que o L-PRF pode efetivamente iniciar um aumento da perfusão local durante o processo de cicatrização, estimulando a angiogênese, resultando numa redução da inflamação e efeitos colaterais (Nogueira et al., 2020).

O potencial angiogênico do L-PRF é um dos fatores que contribui para acelerar o processo regenerativo favorecendo a previsibilidade. A combinação de fatores de crescimento, principalmente o VEGF, tem mostrado aceleração na cicatrização óssea e estimulação de fibroblastos, osteoblastos e células mesenquimais indiferenciadas e endoteliais, resultando num aumento da vascularização e síntese de colágeno, que desempenham um papel fundamental na formação óssea (Padilha et al., 2018). Entre os diferentes componentes celulares do L-PRF que promovem sinergicamente a cicatrização, os leucócitos possuem propriedades imunológicas e antibacterianas (Tovar et al., 2021). Mais especificamente os neutrófilos e macrófagos que eliminam bactérias e tecido necrótico através da fagocitose, fazendo o desbridamento da ferida e prevenindo infecções secundárias (Dragonas et al., 2019; Tovar et al., 2021).

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos, funciona não apenas como um reservatório de fatores bioativos (PDGF, TGF- β , VEGF, fibrinogênio, fibronectina e vitronectina), que são úteis no recrutamento de células estaminais para o local da ferida, mas também atua como um nicho artificial de células estaminais contendo células hematopoiéticas e multipotentes, semelhantes à medula óssea e nichos perivasculares (di Liddo et al., 2018).

A fibronectina e a vitronectina são duas proteínas importantes na adesão e migração celular. A fibronectina está presente em grandes quantidades no sangue circulante e nas plaquetas, sendo um elemento-chave da arquitetura do coágulo de fibrina. A vitronectina

é a única molécula a ser libertada quase completamente após 4 horas, sugerindo que esta molécula não é aprisionada na matriz de fibrina e não é produzida pelos leucócitos (Dohan Ehrenfest et al., 2012).

As células inflamatórias autólogas, que fazem parte os linfócitos T e B, assim como, células estaminais, podem ser encontradas na matriz de fibrina, contribuindo para a cicatrização de ferida (Nogueira et al., 2020). A libertação de diversos FC a partir do L-PRF é de grande relevância, embora a presença de plaquetas e leucócitos dentro da malha de fibrina também possa desempenhar um papel fulcral no processo inflamatório de cicatrização tecidual, principalmente macrófagos e linfócitos, bem como de células progenitoras CD34+ que contribuem para a angiogênese (di Liddo et al., 2018; Nogueira et al., 2020). O TGF- β juntamente com o PDGF promovem o encerramento da ferida iniciando a infiltração de fibroblastos, bem como a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos. O VEGF, EGF e FGF organizam a formação de nova matriz extracelular (MEC), proliferação de células endoteliais e neovascularização (Jasmine et al., 2021).

Para além das capacidades cicatrizantes A. Castro e colaboradores realizaram um estudo em 2019, onde puderam concluir que, uma membrana L-PRF possui propriedades antimicrobianas contra *P. gengivais*, por outro lado, a inibição contra *P. intermedia*, *F. nucleatum*, e *A. actinomycetemcomitans* não foi estatisticamente significativo em placas de ágar. Quanto ao exsudato de L-PRF, tem efeito antimicrobiano contra *P. gengivais* dose-dependente (Castro et al., 2019). Dados obtidos in vitro, mostraram as propriedades antimicrobianas associadas aos dois principais componentes celulares (leucócitos e plaquetas) presentes no L-PRF, sugerindo a sua aplicação como desinfetante biológico de superfícies de implantes contaminados, resultando em extensa formação de pseudópodes com ativação plaquetária e redução significativa das contagens bacterianas (Tovar et al., 2021).

Num estudo realizado por Dragonas e colaboradores em 2019, verificaram a redução de inflamação pós-operatória, dor relatada pelo paciente, frequência de osteíte alveolar e na cicatrização após a extração de terceiros molares quando tratados com L-PRF em comparação com cicatrização natural (Dragonas et al., 2019).

A preservação de alvéolos pós-extração e posterior preenchimento de alvéolos com membranas L-PRF tendem a apresentar cicatrização mais rápida quando comparados à cicatrização “natural” (de Almeida Barros Mourão et al., 2020). Embora a utilização de L-PRF pareça estar associada a uma menor dor pós-operatória (Daugela et al., 2018), a

manifestação destes sintomas clínicos na cicatrização dos tecidos moles ainda é controversa na literatura (de Almeida Barros Mourão et al., 2020).

A remoção cirúrgica de terceiros molares tornou-se um dos procedimentos mais frequentes realizados em cirurgia oral, frequentemente associada a desconforto pós-operatório, incluindo; dor e inchaço; trismos; deterioração significativa da qualidade de vida relacionada à saúde oral no pós-operatório imediato; incidência alta de osteíte alveolar (da Silva et al., 2021; Daugela et al., 2018). Estudos relataram benefícios evidentes na utilização de L-PRF na cirurgia de extração dos terceiros molares, verificando-se algumas vantagens, tais como: redução de efeitos adversos (por exemplo, dor, edema); cicatrização mais rápida dos tecidos moles; melhor regeneração e remodelação óssea (Quirynten & Pinto, 2022).

1.3.9. Processo inflamatório

Nas últimas duas décadas, os avanços extraordinários na biologia celular e molecular facilitaram muito a nossa compreensão dos processos biológicos básicos envolvidos na cicatrização de feridas agudas e na patobiologia de feridas crônicas. A cicatrização de feridas não é um processo simples e linear, no qual fatores de crescimento são libertados por fenômenos fisiológicos que ativam a proliferação e migração de células parenquimatosas, mas sim uma integração de processos interativos dinâmicos envolvendo mediadores solúveis, elementos sanguíneos, matriz extracelular e células parenquimatosas (Clark et al., 2020). Uma ferida compreende uma quebra na continuidade epitelial da pele, caracterizada pela ruptura da estrutura e função dos tecidos subjacentes. Após a lesão, a integridade da pele deve ser restaurada imediatamente para restabelecer os mecanismos homeostáticos, prevenir a infecção e minimizar a perda de líquidos (Clark et al., 2020).

A base científica para o uso clínico do L-PRF é estabelecida nas fases iniciais da cicatrização, fases inflamatórias, nas quais ocorre a liberação de grânulos plaquetários, com a consequente formação de um coágulo, levando à liberação de moléculas quimiotáticas pró-inflamatórias e de uma grande variedade de fatores de crescimento, capazes de estimular a diferenciação do tecido mesenquimal e iniciar os processos de regeneração tecidular (Lewis et al., 2020). A cicatrização de feridas é um processo complexo que envolve quatro fases distintas, mas sobrepostas, que são a hemostasia, inflamação, proliferação celular e remodelação (Figura 9) (Vahabi et al., 2015).

Fase 1: Hemostasia, que após a vasoconstrição da lesão cutânea, a cascata de coagulação e as plaquetas atuam em conjunto para prevenir a hemorragia prolongada. Uma vez que o coágulo de fibrina se forma, há vasodilatação permitindo o extravasamento de leucócitos polimorfonucleares (PMN) e migração para o local da ferida. Fase 2: Inflamação (Figura 9 A1), o influxo inicial de neutrófilos é posteriormente substituído por macrófagos que têm um fenótipo inflamatório precoce (M1) e depois reparador (M2). Ocorre o processo de fagocitose das bactérias e restos de feridas com secreção simultânea de múltiplos fatores de crescimento, quimiocinas e citocinas que conduzem o recrutamento de fibroblastos e células endoteliais para o leito da ferida. Fase 3: Proliferação celular é a terceira fase do modelo de cicatrização de feridas, onde ocorre a proliferação de componentes celulares e estruturais que é desencadeada por fatores libertados durante a fase inflamatória precedente. (Figura 9 A2). Células endoteliais migratórias e fibroblastos proliferam resultando em deposição de matriz extracelular (MEC), angiogênese e formação de tecido de granulação. A MEC forma um suporte para influxo celular adicional e é remodelada por uma variedade de enzimas, de forma que a sua composição se altere durante a cicatrização de feridas. Fase 4: Remodelação (Figura 9 A3), ocorre a maturação da ferida com a remodelação contínua da MEC numa estrutura predominantemente rica em colágeno, diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, contração da ferida e redução gradual celular com eventual formação de cicatriz (Figura10) (Greaves et al., 2013).

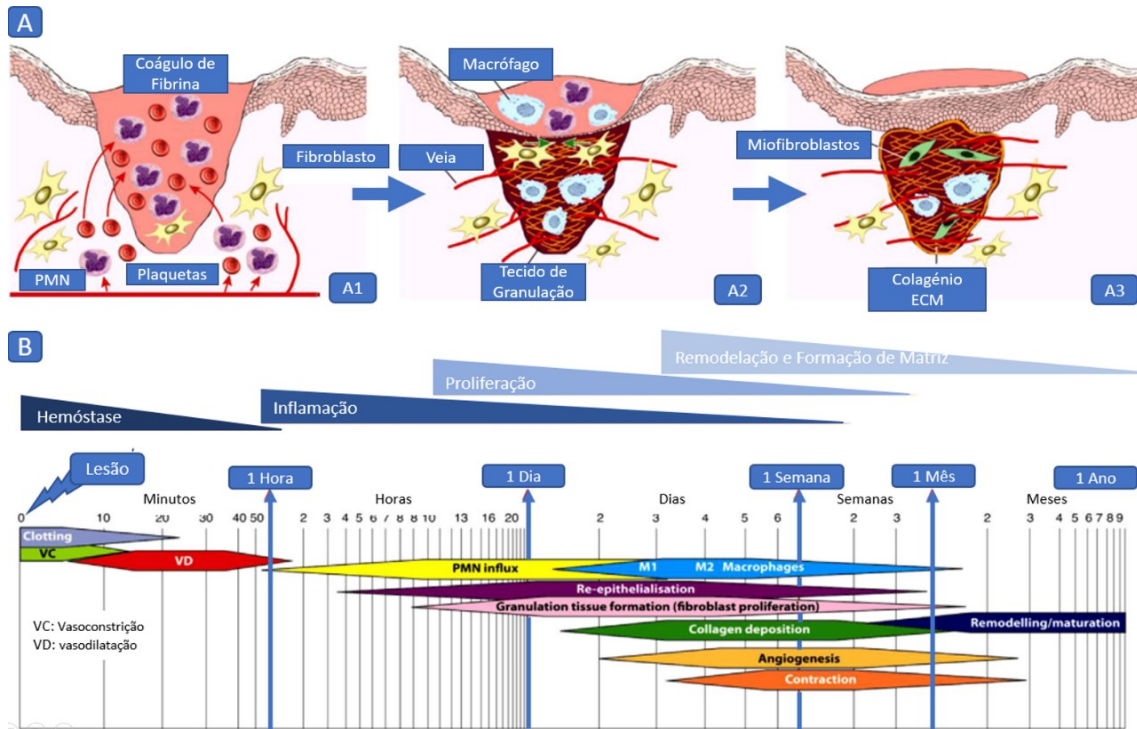


Figura 10 - Interação recíproca de vários tipos de células com os fibroblastos na ferida, com influência significativa em vários processos de cicatrização da ferida. Adaptado de (Greaves et al., 2013).

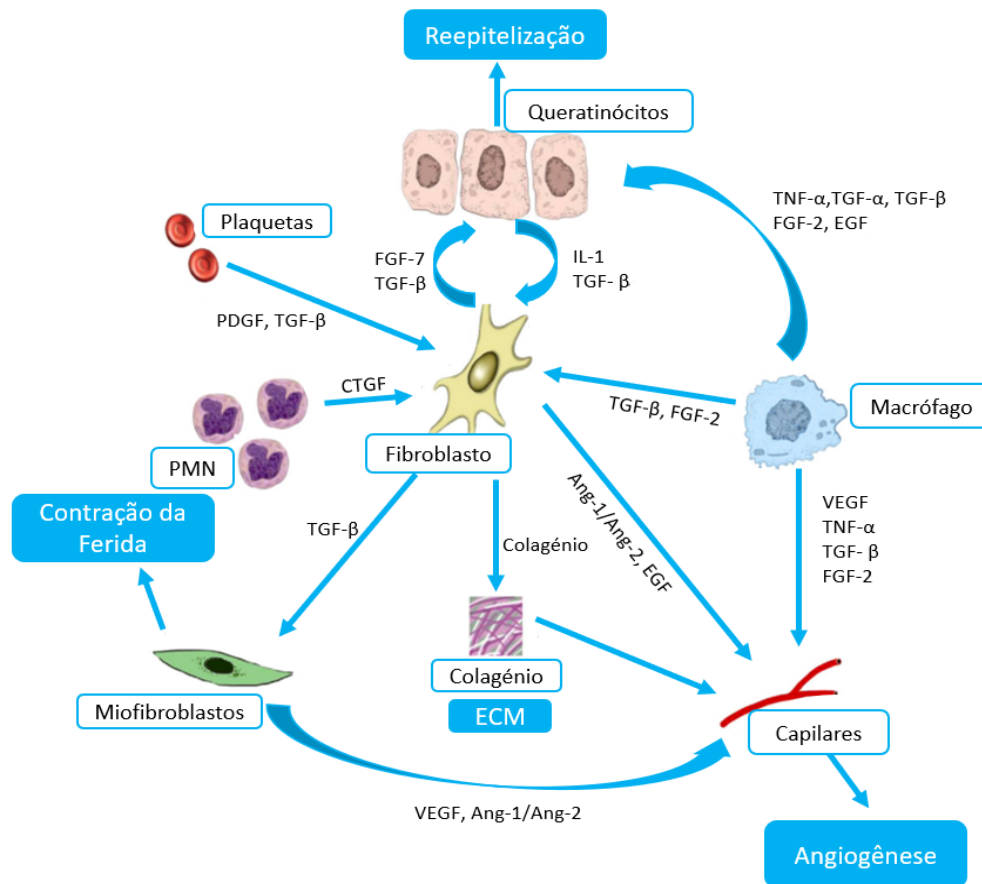


Figura 9 - Interação recíproca de vários tipos de células com os fibroblastos na ferida, com influência significativa em vários processos de cicatrização da ferida. Adaptado de (Greaves et al., 2013).

1.3.10. Processo de remodelação óssea

Sendo o tecido ósseo um material de textura dura e resistente à compressão, é constituído por cristais de hidroxiapatita e fibras de colagénio, os quais apresentam dureza, elasticidade, rigidez e flexibilidade. O tecido ósseo tem a capacidade de identificar os locais lesionados, bem como a capacidade de ativação dos mecanismos de restauro e autorregeneração. Os mecanismos de remodelação óssea consistem em mecanismos de substituição de áreas de tecido ósseo preservando e melhorando a sua integridade, função e prevenindo a sua degradação. A remodelação óssea consiste num processo controlado e complexo, através da interação de forças mecânicas hormonais sistémicas, citocinas e fatores de crescimento locais. A remodelação de áreas modificadas tem como objetivo a adaptação da estrutura óssea ao meio e à deposição do cálcio plasmático otimizado no seu metabolismo. Para que ocorra uma boa cicatrização óssea é importante que exista uma boa vascularização e imobilização (Orwoll, 2003). A adaptação funcional e otimização das estruturas ósseas através dos mecanismo de remodelação óssea, constituem um contributo importante para a reparação dos tecidos lesados (Bass et al., 2002; Haapasalo et al., 2000).

1.3.11. Vantagens e desvantagens

Clinicamente, a utilização de L-PRF inclui algumas vantagens, tais a como, facilidade de preparação e ausência de manipulação bioquímica do sangue, que torna esta preparação estritamente autóloga (Faot et al., 2017), sendo um processo de fácil execução, tornando-se muito útil na prática clínica diária (Dohan Ehrenfest et al., 2018). Outro grande benefício é o seu baixo custo (Nogueira et al., 2020).

O L-PRF apresenta muita importância na regeneração de tecidos moles. Estudos *in vitro* anteriores demonstraram que tem a capacidade de recrutar e proliferar vários tipos de células incluindo fibroblastos, e melhora a síntese de colágeno (de Almeida Barros Mourão et al., 2020; Kobayashi et al., 2016). Assim, a sua utilização como matriz autóloga para células periosteais e para osteoblastos tem-se mostrado capaz de promover maior atividade metabólica e proliferação celular (Faot et al., 2017). A sua aplicação apresenta resultados positivos no pós-operatório, redução da dor, menor inflamação e ausência de partículas residuais de enxerto (Andrade et al., 2020).

A membrana de L-PRF apresenta várias características vantajosas que facilitam a sua manipulação. É resistente, flexível e estável à temperatura ambiente, pelo que garante um

bom tempo de trabalho. Esta tem ainda o benefício de poder ser suturada, e ainda ficar exposta na cavidade oral (García & Orsini, 2020).

Na literatura pesquisada não foram encontradas desvantagens descritas associadas às técnicas de obtenção de concentrados plaquetários.

2. Comparação do L-PRF com os outros sistemas

Dohan Ehrenfest et al. (2009), realizaram um estudo onde apresentaram a classificação dos diferentes concentrados de plaquetas em quatro categorias, dependendo de seu conteúdo de fibrina e leucócitos: 1) plasma rico em plaquetas puro (P-PRP); 2) plasma rico em leucócitos e plaquetas (L-PRP); 3) fibrina rica em plaquetas pura (P-PRF); 4) fibrina rica em leucócitos e plaquetas (L-PRF).

Foram selecionados três conjuntos principais de parâmetros necessários para uma classificação clara de concentrados plaquetários (Tabela 4). O primeiro conjunto de parâmetros refere-se aos kits de preparação e centrifugadoras utilizados (A) (Tabela 5). Estes dividem-se em tamanho do centrifugador (parâmetro A1), duração do procedimento (parâmetro A2) o custo do dispositivo e kits (parâmetro A3), a ergonomia do kit e a complexidade do procedimento (parâmetro A4). O parâmetro A define as características práticas de cada técnica (Dohan Ehrenfest et al., 2009). O segundo parâmetros refere-se ao conteúdo do concentrado (B) (Tabela 6). Mais concretamente o volume final do concentrado (parâmetro B1), está dependente da colheita de sangue inicial e pode definir as potencialidades das aplicações clínicas no decorrer de um protocolo de preparação, a eficácia na colheita de plaquetas (parâmetro B2) e leucócitos (parâmetro B3) e a sua preservação durante todo o processo (parâmetro B4). Estes critérios definem a importância farmacológica básica do produto e indicam as suas potenciais aplicações (Dohan Ehrenfest et al., 2009). O terceiro conjunto de parâmetros (C) é referente à rede de fibrina, que tem com função o suporte do concentrado de plaquetas e leucócitos durante a sua aplicação (Tabela 7), na qual, a densidade da rede de fibrina é estabelecida pela concentração do fibrinogênio durante o processo de obtenção (parâmetro C1) e o processo de polimerização da fibrina (parâmetro C2), tendo em consideração as relações entre as concentrações de fibrinogênio e trombina, assim como as propriedades biomecânicas da rede de fibrina estável (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

PARÂMETRO	SUB-PARÂMETRO	DEFINIÇÃO
A: Kits de preparação e centrifugadoras (para processamento de 50 mL de sangue total)	A1: Tamanho e peso do tipo de centrifugadora necessário para o método	A1: Pesado (e complicado); Leve (e compacto); Pesado, mas potencialmente leve (ou seja, um sistema comercializado é pesado, mas a técnica pode ser realizada com uma centrifugadora menor)
	A2: Duração do procedimento (desde a colheita de sangue até a aplicação cirúrgica)	A2: Rápido (menos de 20 min); Longo (entre 20 e 60 min); Muito longo (mais de 1 h)
	A3: Custo (custo inicial do equipamento e custos repetidos para reagentes e kits)	A3: - Muito barato, menos de 5 euros; Barato, entre 5 e 50 euros; Caro, mais de 50 euros
	A4: Ergonomia do kit (incluindo manipulações necessárias) e complexidade do procedimento	A4: Muito simples (+ +); Simples (+); Complexo (-); Muito complexo (--)
B: Plaquetas e leucócitos	B1: Volume final de material de gel de plaquetas (relativo à colheita de sangue inicial)	B1: Grande, mais de 25% da amostra de sangue; Pequeno, menos de 25%; Variável (PPP rico em fibrina adicional puder ser preservado para aumentar o volume acima de 25%)
	B2: Eficiência de colheita de plaquetas	B2 e B3: Excelente, mais de 80%; Bom, entre 40 e 80%; Baixo, menos de 40%; Às vezes desconhecido; Sem leucócitos, (quando a técnica elimina a maioria dos leucócitos)
	B3: Eficiência de colheita de leucócitos	
	B4: Preservação das plaquetas e leucócitos	B4: Saudável; Estragado; Desconhecido; Ativado (quando a coagulação é induzida durante o processo de centrifugação)
C: Fibrina	C1: Concentração de fibrinogênio e densidade de fibrina	C1: Alta densidade; Baixa densidade
	C2: Tipo de polimerização de fibrina	C2: Junções fortes, principalmente trimoleculares; Junções fracas, principalmente tetramoleculares ou bilaterais

Tabela 4 - Parâmetros de comparação dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

O L-PRF, contrariamente aos PRPs, não se dissolve rapidamente após a sua aplicação, uma vez que a forte matriz de fibrina é remodelada de forma lenta e semelhante a um coágulo sanguíneo natural. Os leucócitos e plaquetas são captados com alta eficiência neste processo, sendo os leucócitos totalmente preservados. Porém, durante o processo de ativação das plaquetas, dá-se a incorporação dos FC, plaquetas e leucócitos na forte estrutura tridimensional de fibrina. Este método permite a produção de uma grande quantidade de coágulos de L-PRF, simultaneamente usando uma centrifugadora específica que suporta oito tubos, possibilitando a produção de maior números de coágulos em cirurgias maiores. Outra vantagem deste método consiste no baixo custo, associado à facilidade do procedimento, dado que permite a produção de muitos concentrados de forma rápida e natural, ou seja, sem a utilização de produtos químicos ou condições não naturais. Este método demonstra ser o mais adequado para a utilização generalizada na prática clínica diária e, na verdade, é a técnica mais aceite em diversos países, tais como, França, Itália e Israel (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

PARÂMETRO A – KITS DE PREPARAÇÃO E CENTRIFUGADORAS UTILIZADAS					
		A1	A2	A3	A4
P-PRP	Separador de células PRP Vivostat Anitua's PRGF Nahita PRP	Pesado Pesado Pesado Potencialmente Leve	Muito Longo Longo Longo Longo	Caro Caro Barato Barato	-- + - -
L-PRP	PCCS PRP SmartPREP PRP Magellan PRP GPS PRP Friadent PRP Curasan PRP Regen PRP Plateltex PRP Ace PRP	Pesado Pesado Pesado Pesado Potencialmente Leve Potencialmente Leve Potencialmente Leve Potencialmente Leve	Longo Longo Longo Longo Longo Longo Longo Longo	Caro Caro Caro Caro Caro Caro Caro Caro	+ + + + - - - -
P-PRF	Fibrinet PRFM	Potencialmente Leve	Longo	Caro	+
L-PRF	Choukroun's PRF	Leve	Rápido	Muito Barato	++

Tabela 5 - A: kits de preparação e centrifugadoras utilizadas. Quadro representativo dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

PARÂMETRO B – CONTEÚDO DO CONCENTRADO					
		B1	B2	B3	B4
P-PRP	Separador de células PRP Vivostat Anitua's PRGF Nahita PRP	Pequeno Pequeno Variável Variável	Excelente Baixo Baixo Baixo	Sem Leucócitos Sem Leucócitos Sem Leucócitos Sem Leucócitos	Estragado Estragado Desconhecido Desconhecido
L-PRP	PCCS PRP SmartPREP PRP Magellan PRP GPS PRP Friadent PRP Curasan PRP Regen PRP Plateltex PRP Ace PRP	Variável Variável Variável Variável Variável Variável Variável Variável Variável	Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom	Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom Bom	Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido Desconhecido
P-PRF	Fibrinet PRFM	Grande	Bom	Sem Leucócitos	Saudável, Ativado
L-PRF	Choukroun's PRF	Grande	Excelente	Bom	Saudável, Ativado

Tabela 6 - B: Conteúdo do concentrado. Quadro representativo dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

PARÂMETRO C – REDE DE FIBRINA DO CONCENTRADO			
		C1	C2
P-PRP	Separador de células PRP Vivostat Anitua's PRGF Nahita PRP	Baixo Baixo Baixo Baixo	Fraco Fraco Fraco Fraco
L-PRP	PCCS PRP SmartPReP PRP Magellan PRP GPS PRP Friadent PRP Curasan PRP Regen PRP Plateltex PRP Ace PRP	Baixo Baixo Baixo Baixo Baixo Baixo Baixo Baixo Baixo	Fraco Fraco Fraco Fraco Fraco Fraco Fraco Fraco Fraco
P-PRF	Fibrinet PRFM	Alto	Forte
L-PRF	Choukroun's PRF	Alto	Forte

Tabela 7 - C: Rede de fibrina do concentrado. Quadro representativos dos resultados obtidos das comparações dos vários sistemas de obtenção dos concentrados plaquetários. Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2009).

Num estudo realizado por Dohan Ehrenfest e colaboradores (2014), foram testadas 4 centrifugadoras diferentes (L-PRF, A-PRF 12, LW - UPD8 e Salvin 1310c), em que utilizaram materiais de colheita sanguínea, tubos e protocolos o mais idênticos possíveis. Os parâmetros de centrifugação foram padronizados, com a mesma força g que o protocolo L-PRF original com o mesmo tempo de centrifugação, sendo que a única diferença entre os 4 produtos foi o *hardware* de cada centrifugadora (Dohan Ehrenfest et al., 2018). Com o objetivo de comparar a vibração da centrifugadora *Intra-Spin* com a vibração de outras máquinas na obtenção de L-PRF, foi comprovado que, os dispositivos encontrados no mercado apresentam diferenças muito significativas, no que diz respeito às vibrações, e que todos os dispositivos testados possuem intensidade de vibrações muito superior às da centrifugadora *Intra-Spin*. Uma vez que, as vibrações radiais se elevam acima de um, existe um aumento do risco de ocorrência de ressonância nos tubos centrifugados, o que pode provocar danos significativos na membrana a nível celular. A centrifugadora *Intra-Spin* é considerada a máquina mais estável neste estudo, sendo o nível de vibração (indesejável) 4 a 6 vezes inferior às outras centrifugadoras, independentemente se a centrifugadora está completa com tubos, ou se apenas está com metade da sua capacidade (Figura 11 e 12) (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

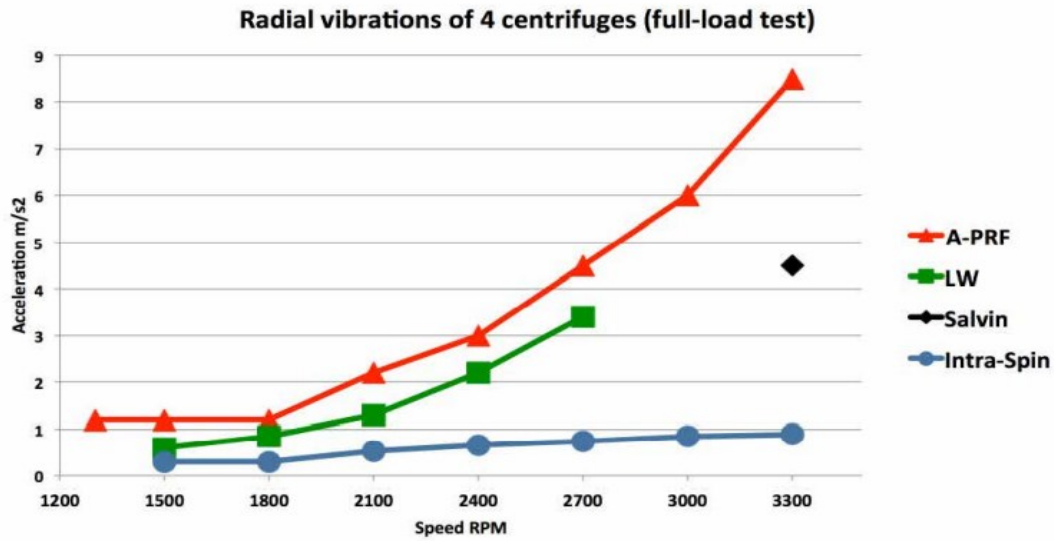


Figura 11 - Gráfico representativo das vibrações radiais das centrifugadoras com o máximo de capacidade de tubos. Imagem retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

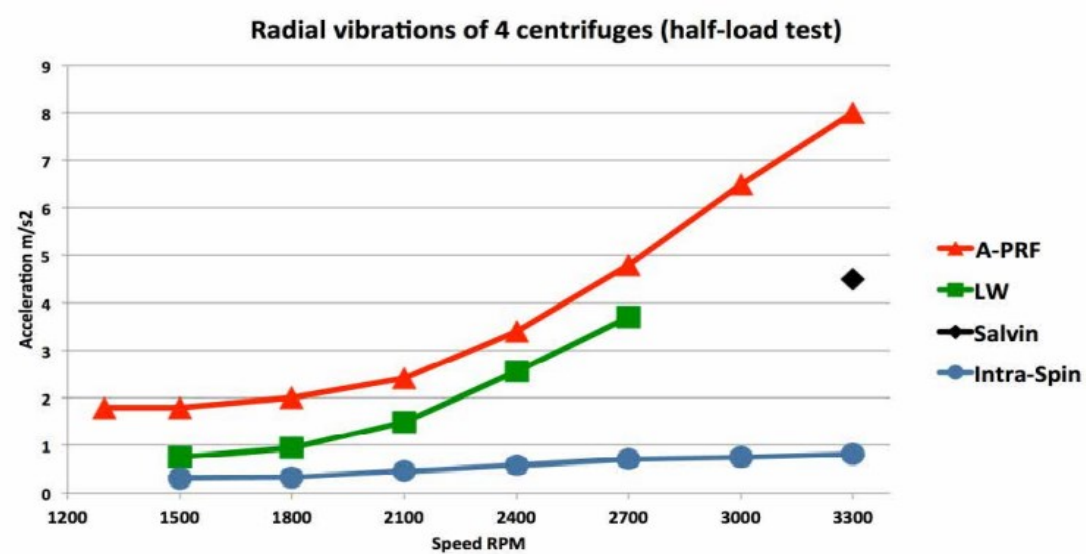


Figura 12 – Gráfico representativo das vibrações radiais das centrifugadoras com metade da capacidade de tubos. Imagem retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Existem diversas diferenças entre o L-PRF original (sistema Intra-Spin) e os concentrados plaquetários obtidos por outros sistemas, tais como: o peso e dimensão dos coágulos após centrifugação, e a dimensão e peso das membranas após compressão. A arquitetura específica da fibrina e o conteúdo dos fatores de crescimento e células do L-PRF são características-chave desta membrana, conforme caracterizado na literatura, e qualquer alteração do protocolo pode levar a uma modificação biológica e resultados clínicos diferentes (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Os coágulos e membranas foram colocados em bandejas individuais para avaliação do peso e dimensão (Figura 13 e 14). Através de uma análise macroscópica, observou-se diferença nos coágulos relativamente aos parâmetros do peso, volume, arquitetura de fibrina e conteúdo celular (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

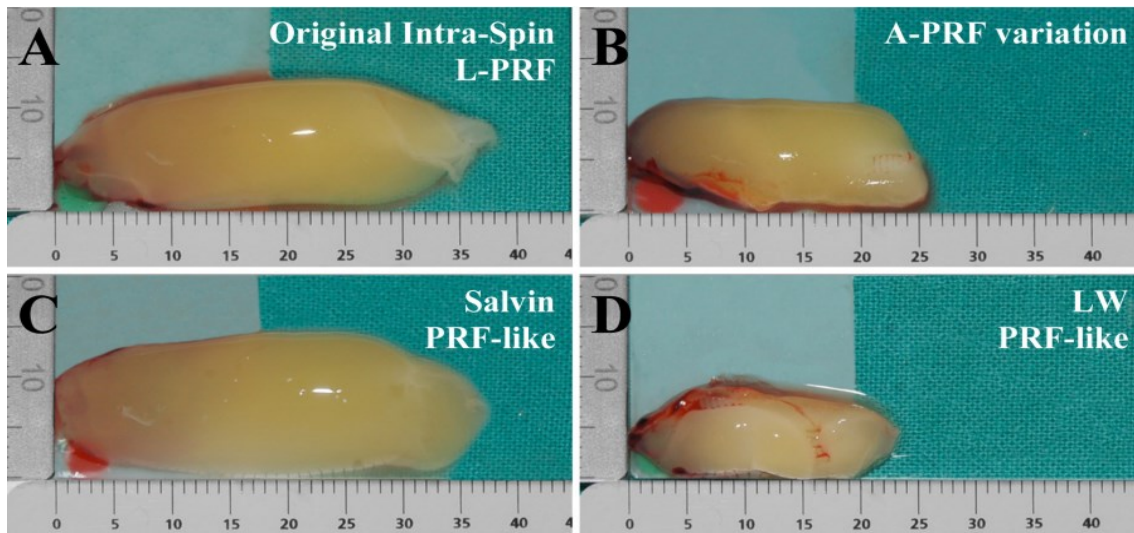


Figura 13 - Avaliação macroscópica dos coágulos de PRF produzidas com as 4 centrifugadoras diferentes: sistema original Intra-Spin L-PRF(A), sistema A-PRF (B), centrifugadora Salvin (C) e centrifugadora LW (D). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

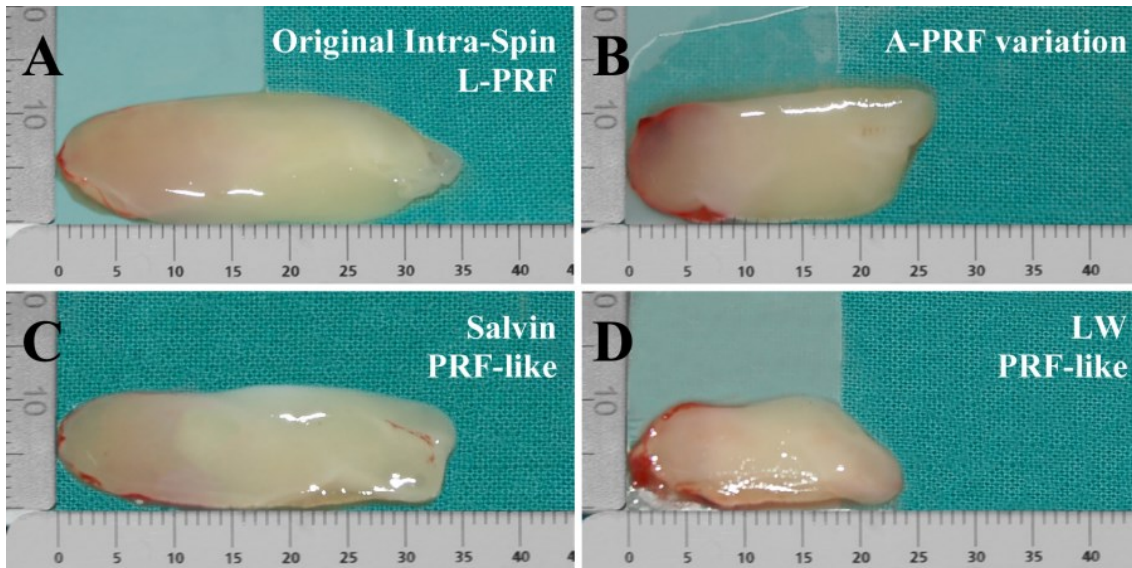


Figura 14 - Avaliação macroscópica das membranas de PRF produzidas com as 4 centrifugadoras diferentes: sistema original *Intra-Spin* L-PRF(A), sistema A-PRF(B), centrifugadora *Salvin* (C) e centrifugadora LW (D). Obtenção das membranas L-PRF com 1 mm de espessura após compressão do coágulo usando 100g de pressão. Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Através da observação dos coágulos e membranas, a centrifugadora *Intra-Spin* permitiu manter a temperatura dos tubos mais baixa entre as quatro centrifugadoras testadas (Tabela 8). A-PRF e *Salvin* foram ambos associados a um aumento significativo da temperatura no tubo. A *Intra-Spin* produziu o coágulo com maior peso, assim como, o exsudato com maior volume e peso entre as quatro técnicas, contudo, a centrifugadora *Salvin* apresenta membranas com peso semelhante. Por outro lado, os sistemas A-PRF e LW produziram coágulos muito leves e de pequena dimensão. Nos parâmetros de comprimento e largura de coágulo e da membrana, os autores verificaram que os coágulos e membranas dos protocolos *Intra-Spin* e *Salvin* apresentaram dimensões semelhantes, contrariamente ao A-PRF e LW que foram significativamente mais curtos e estreitos (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

VARIÁVEL	INTRASPIN MÉDIA (SD)	A-PRF MÉDIA (SD)	SALVIN MÉDIA (SD)	LW MÉDIA (SD)
Temperatura final do tubo	27,5 (0,66)	28,83 (0,67)	28,8 (0,66)	27,88 (0,57)
Peso do coágulo (g)	2,09 (0,19)	1,38 (0,24)	1,73 (0,27)	0,74 (0,15)
Peso da membrana (g)	0,62 (0,15)	0,48 (0,17)	0,6 (0,19)	0,3 (0,25)
Peso do exsudado (g)	1,47 (0,13)	0,9 (0,21)	1,12 (0,27)	0,44 (0,26)
Comprimento do coágulo (mm)	35,69 (3,43)	26,56 (4,25)	35,25 (4,1)	20,12 (4,29)
Largura do coágulo (mm)	12,81 (0,75)	10,93 (1,08)	13,06 (0,94)	9,12 (1,13)
Comprimento da membrana (mm)	34,81 (2,95)	26,81 (3,38)	34,43 (2,87)	21,5 (2,39)
Largura da membrana (mm)	12,25 (0,71)	10,37 (0,92)	11,93 (0,78)	9,12 (0,64)
Relação de peso (%) coágulo/amostra de sangue 10 ml	20,94 (2,4)	13,98 (2,6)	17,42 (2,63)	7,41 (1,45)

Tabela 8 - Resultados da análise macroscópica dos coágulos e membranas produzidos com as 4 centrifugadoras testadas. Valores expressos em Média e Desvio Padrão (DP). Tabela adaptada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Na análise realizada com microscopia de luz (Figura 15) a maioria dos corpos celulares (núcleos corados a roxo escuro), estavam mais concentrados na área da face de cada membrana (*Intra-Spin*, *A-PRF* e *Salvin*), cerca de 3/4 dos corpos celulares foram observados nessa região, já os restantes 1/4 foram observados na região central da cauda. Na cauda observaram-se apenas vestígios residuais de corpos celulares. Ao contrário dos outros sistemas, no LW os corpos celulares situavam-se mais dispersos por toda a membrana (40% face, 48% centro da cauda e 12% extremidade da cauda), uma vez que, os coágulos e as membranas eram particularmente pequenos e reduzidos (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

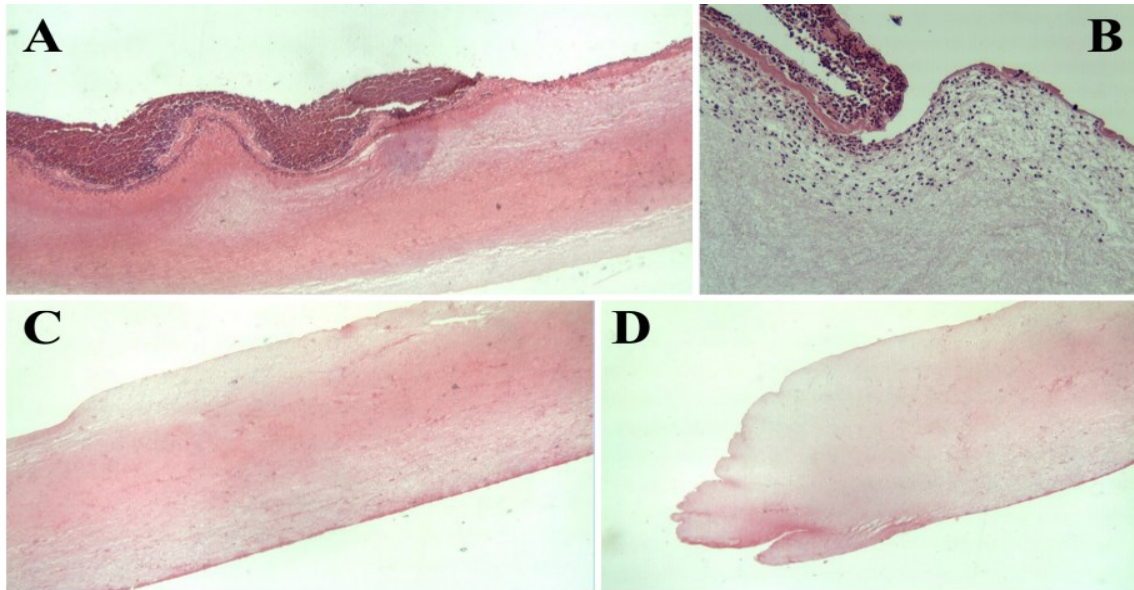


Figura 15 - Avaliação microscópica das membranas PRF produzidas com as 4 diferentes centrifugadoras em microscopia de luz (hematoxilina eosina). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Através da análise de Microscopia Eletrônica de Varrimento, avaliou-se detalhadamente o aspeto da rede de fibrina e do conteúdo celular de cada membrana (Figuras 16 e 17). O L-PRF original produzido através da Intra-Spin apresentou uma matriz de fibrina fortemente polimerizada, com espessas fibras de fibrina. Além disso, todas as células observadas apresentavam-se vivas e sem alteração de forma. Os linfócitos apresentaram aspeto de apeto texturizado, tipicamente observado em linfócitos ativados. Esta observação corresponde à caracterização exata de um coágulo de L-PRF original (Dohan Ehrenfest et al., 2018). No entanto, as membranas de A-PRF, Salvin e LW apresentaram-se ligeiramente polimerizadas com finas fibras de fibrina, nitidamente diferentes do L-PRF original. Além disso, todos os corpos celulares visíveis pareciam estar comprimidos. Não foi detetado nenhum corpo celular com formato normal ou ativado. Considerou-se que toda a população de células estava completamente danificada ou destruída (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

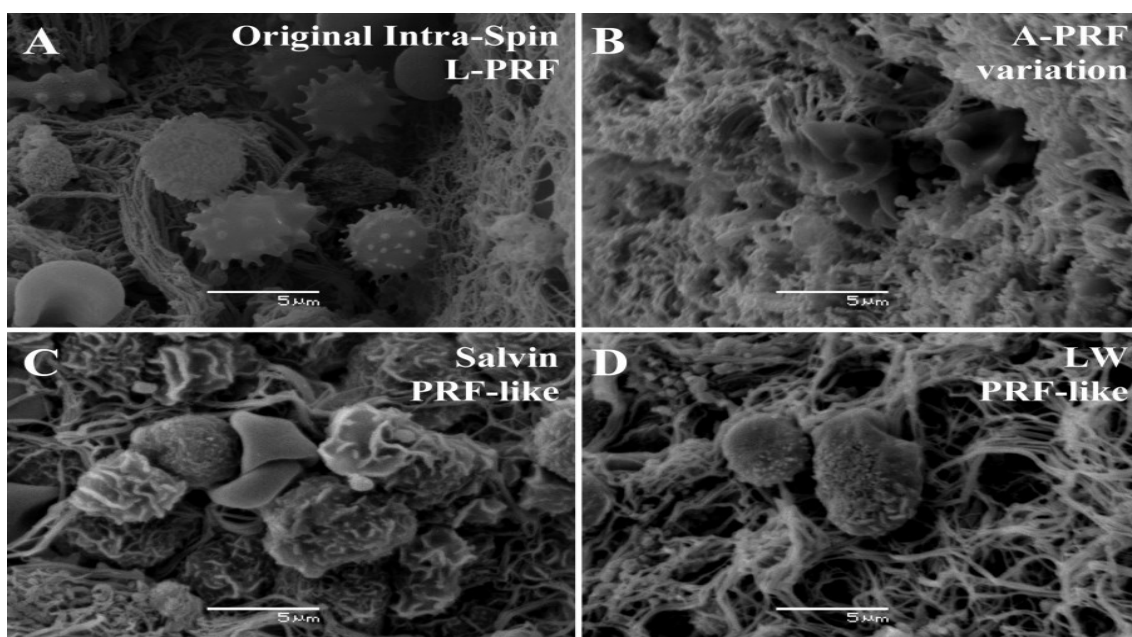


Figura 16 - Microscopia Eletrônica de Varrimento Avaliação microscópica das membranas de PRF produzidas com as 4 centrifugadoras diferentes (L_PRF, A-PRF 12, LW - UPD8 e Salvin 1310c). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

O conteúdo celular presente nos produtos semelhantes a PRF obtidos com as máquinas A-PRF, LW e *Salvin* não podem ser classificados na família L-PRF. Sem conteúdo celular preservado, estes são mais propensos a serem classificados como uma espécie de Fibrina rica em plaquetas Puro (P-PRF). O amplo conteúdo celular e diversificado presente na forte matriz de fibrina constitui uma das características mais importantes de um coágulo de L-PRF (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Verificando-se que a força G era quase idêntica nas 4 centrifugadoras, supõem-se que as vibrações mecânicas podem ter sido responsáveis pelas diferenças entre os produtos finais. Como o nível de vibrações constituiu a única variável entre os 4 produtos, foi possível associar as diferenças de peso, volume, arquitetura de fibrina e conteúdo celular entre os 4 sistemas a este nível de vibrações. (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

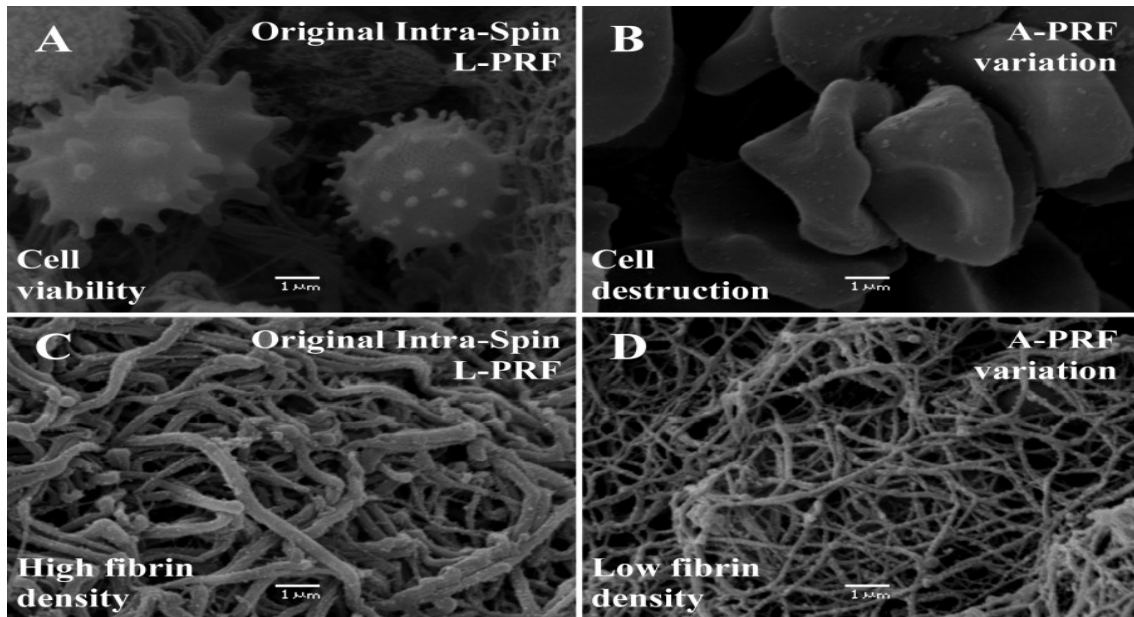


Figura 17 - Microscopia Eletrônica de Varrimento Avaliação microscópica e comparação das membranas PRF produzidas com 2 centrifugadoras (L-PRF e A-PRF). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Com o objetivo de avaliar a forma como as alterações do protocolo L-PRF podem influenciar o seu conteúdo biológico, independentemente das características da centrifugadora utilizada, avaliou-se a quantidade inicial de fatores de crescimento das membranas L-PRF e A-PRF, por meio de extração forçada. Com uma primeira observação macroscópica, os coágulos e membranas de L-PRF originais produzidos com 9 ml de sangue foram sempre muito maiores do que os coágulos e membranas de A-PRF produzidos com 10 ml de sangue (figura 18) (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

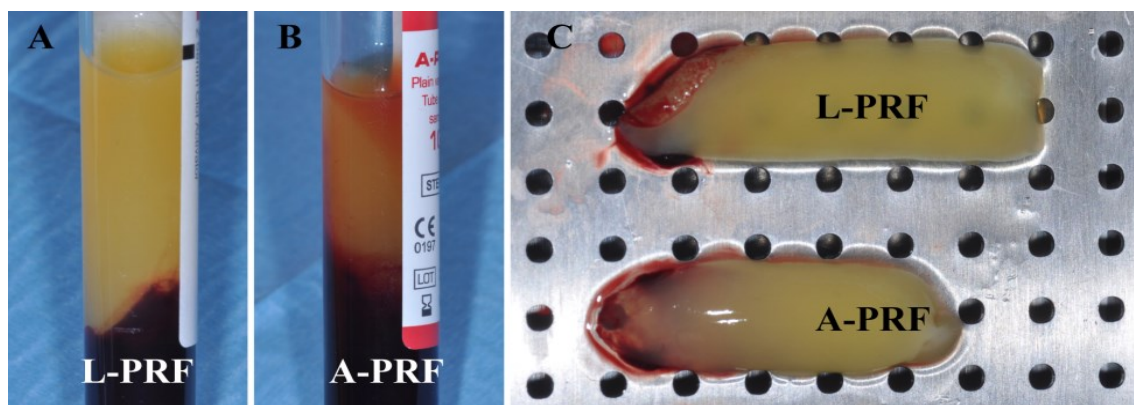


Figura 18 - Coágulos e respectivos tubos de cada sistema logo após a centrifugação. Os coágulos coletados e colocados na caixa cirúrgica PRF (*Xpression*, Intra-Lock) para compressão em membranas (C). Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Durante o teste, a membrana de L-PRF original permaneceu em bom estado até ao final do tempo experimental (sete dias), ao contrário da membrana de A-PRF que se dissolveu completamente entre o primeiro e o terceiro dia. Por esta razão, o último valor do A-PRF foi medido no dia três do tempo experimental. Foram encontradas em cada tempo experimental quantidades significativas de TGF β -1, PDGF-AB e VEGF, verificou-se libertação de fatores de crescimento nas membranas de L-PRF durante um mínimo de sete dias, e libertação dos mesmos, até três dias nas membranas de A-PRF (Figura 19) (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

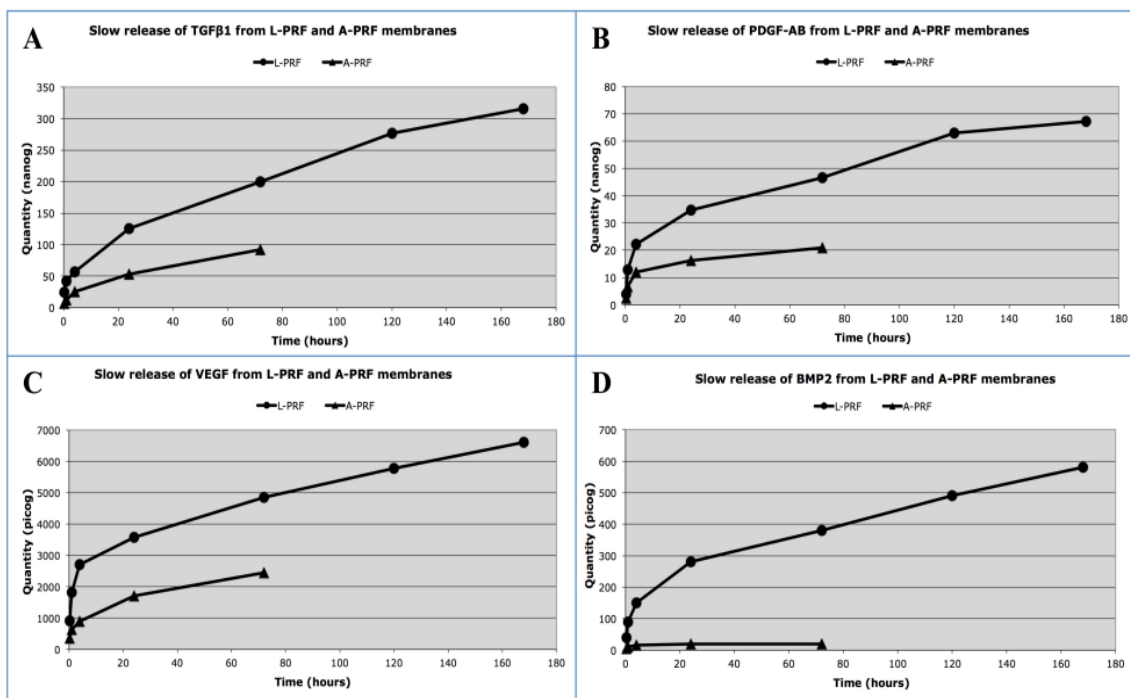


Figura 19 – Gráfico representativo da libertação lenta de TGF β 1(A), PDGF-AB(B), VEGF(C)e BMP2(D) de uma membrana L-PRF original e de uma membrana A-PRF durante 7 dias in vitro. Imagens retiradas de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

A libertação de TGF β -1, PDGF-AB e VEGF apresentou perfis gerais semelhantes para ambos os sistemas, caracterizados por um rápido aumento da libertação destes fatores durante as primeiras vinte e quatro horas. No que concerne ao L-PRF original, foi observado uma libertação significativa de FC, no entanto mais lenta até às primeiras 120 horas. Nas quarenta e oito horas seguintes, as membranas continuaram a libertar quantidades significativas dessas moléculas. Para o A-PRF, a libertação também diminuiu após o primeiro dia, mas a libertação cessou rapidamente com a dissolução completa da membrana. A libertação lenta de TGF β -1, PDGF-AB e VEGF de uma membrana de L-PRF original foi significativamente maior ($p < 0,001$) em todos os tempos experimentais,

comparativamente à libertação de uma membrana de A-PRF (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Na avaliação de BMP2, não se detetaram vestígios desta proteína na membrana de A-PRF (Tabela 9), por outro lado, foi detetado uma libertação lenta de BMP2 durante pelo menos sete dias na membrana de L-PRF. Na membrana de A-PRF, a quantidade total de fatores libertados logo após a preparação da membrana, foram significativamente menores do que na membrana de L-PRF (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Tested molecule		TGFβ-1 (nanog)	VEGF (picog)	PDGF-AB (nanog)	BMP-2 (picog)
Total released after 168h (sum of the amounts measured at each experimental time)	L-PRF	315.5 (±21.1)	6602 (±704)	67.1 (±9.8)	580 (±73)
	A-PRF	92.1 (±25.4)	2445 (±782)	20.9 (±8.1)	NA
Total extracted at t0 from the membrane	L-PRF	44.4 (±3.7)	994 (±159)	44.4 (±4.2)	79 (±10)
	A-PRF	18.6 (±4.8)	514 (±188)	15 (±5.8)	NA
Ratio between slow released and extracted molecules	L-PRF	7.1	6.64	1.51	7.34
	A-PRF	4.95	4.76	1.39	NA

Tabela 9 - Comparação entre a quantidade total libertada ao final do tempo experimental e a quantidade inicial extraída de cada molécula testada numa membrana L-PRF original e numa membrana A-PRF. Os resultados são expressos como médias e desvios padrão. Tabela de retirada de (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

Sistema Intra-Spin®



Figura 20 - Sistema Intra-Spin L-PRF, Intra-Lock, Boca-Raton, FL, EUA. O sistema Intra-Spin é constituído por: máquina centrifugadora (Intra-Spin) (1); Bandeja Xpression™ (2); Pinça Cirúrgica de Tecidos (3); Tesoura Cirúrgica Curva (4); Taça Redonda de Aço Inoxidável (5); Taça Retangular de Aço Inoxidável (6); Espátula Transportadora de Biomaterial Dupla (7); Condensador de Biomaterial Duplo (8); Tubos Vermelhos (9ml) (9); Tubos Brancos (9ml) (10). (Adaptado de <https://www.intralock.es/lprf/>).

Os tubos de colheita de sangue vermelhos são secos, esterilizados e sem nenhum tipo de anticoagulante, com capacidade de 9ml. Estes são revestidos por uma fina camada de sílica, de forma a não permitir a fixação do sangue nas paredes dos tubos (García & Orsini, 2020). Também existem os tubos brancos estéreis, selados a vácuo e sem revestimento de sílica, com capacidade de 9ml, que são utilizados na obtenção de fibrinogénio (García & Orsini, 2020).



Figura 21 - Certificação CE e FDA do Sistema Intra-Spin. (Retirado de <https://www.intralock.es/lprf>).

Todo o sistema Intra-Spin e seus dispositivos são comercializados sob autorização e certificação CE e FDA (Intra-Lock, Boca-Raton, FL, EUA) (Figura 21). Este sistema mais económico é na verdade o único sistema L-PRF disponível no mercado, que contém todas as certificações adequadas, em que utiliza o protocolo e dispositivos originais (Figura 20) (Dohan Ehrenfest et al., 2018).

2.1. Protocolo Intra-Spin®

O L-PRF original foi desenvolvido como um protocolo de fácil utilização, no entanto, o equipamento e o protocolo foram adaptados com maior rigor para que se alcançasse um coágulo com as melhores características possíveis. O sistema é constituído por uma centrifugadora de bancada com elevada qualidade, tubos de plástico revestidos de sílica e um protocolo específico (Dohan Ehrenfest et al., 2018). O protocolo para a preparação de L-PRF, bem como os protocolos para cada uma das suas aplicações clínicas, foram aperfeiçoados nos últimos 20 anos, com diretrizes baseadas em evidências científicas disponíveis para a maioria dos procedimentos (Quirynen & Pinto, 2022). As membranas de fibrina ricas em plaquetas e leucócitos são obtidas através de um protocolo de centrifugação a 2700 RPM durante doze minutos, e RCF de 400 g, através do dispositivo de centrifugação Intra-Spin® (Intra-Lock International, Boca-Raton, Flórida, EUA) (Nogueira et al., 2020).

2.1.1. Protocolo de centrifugação do sistema Intra-Spin®

A máquina centrifugadora do sistema Intra-Spin® apresenta um protocolo clínico rigoroso no qual devem ser utilizados os dispositivos originais do sistema para que se obtenham os melhores resultados. Este protocolo pode ter dois modos de utilização, a obtenção dos coágulos com ou sem fibrinogénio. O protocolo original Intra-Spin® (Quirynen & Pinto, 2022) apresenta-se da seguinte forma:

1. Ajustar o tempo de centrifugação (12 minutos) e a velocidade (2700rpm);
2. Extrair o sangue para o primeiro e segundo tubo (vermelhos);
3. Deve realizar-se leves movimentos de oscilação, para promover o contacto do sangue com a sílica que se encontra no revestimento interno dos tubos;
4. Colocar o primeiro par de tubos em posições diametralmente opostas;
5. Iniciar a rotação da centrifugadora (a centrifugação parcial evita a coagulação do sangue enquanto se extrai os restantes tubos);
6. Parar a máquina, enquanto a centrifugadora não abre fazer os movimentos oscilatórios;
7. Colocar o terceiro e quarto tubo e iniciar a rotação (uma vez mais diametralmente opostas);
8. Se necessários mais tubos, deve repetir o processo de centrifugação parcial para cada par de tubos;
9. Após a colocação do último par de tubos deve fazer rotação e deixar terminar os 12 minutos.

Nota: Se o paciente tomar algum tipo de medicação anticoagulante, o tempo de a centrifugação deve ser estendida para 18 a 20 minutos (contando a partir da colocação dos últimos tubos na centrifugadora).

Se for necessário obter fibrinogénio, utilizam-se os tubos brancos, estes devem ser os últimos a ser extraídos e colocados na centrifugadora (García & Orsini, 2020). A centrifugação é interrompida após 3 minutos e o tubo/tubos com tampa branca são removidos. Os restantes tubos vermelhos são centrifugados por nove minutos, completando o ciclo de doze minutos de centrifugação (Castro et al., 2019).



Figura 22 - Vista superior do rotor da centrífugadora "INTRA-SPIN". Figura do autor.

A quantidade de tubos indicada a utilizar deve ser par (2 a 8 tubos) para equilibrar a máquina e não alterar a morfologia do conteúdo celular (Figura 22). Se não for possível utilizar um número de tubos par, então devemos acrescentar um tubo com água, glicerina ou parafina (García & Orsini, 2020).

2.1.2. Substâncias que podem alterar o tempo de coagulação

A realização da história clínica é de extrema importância para que se possa adequar o protocolo de centrifugação e se obtenham coágulos com as melhores características. É importante pesquisar no paciente dados que possam estar relacionados com a alteração do tempo de coagulação, como determinadas patologias, medicação e hábitos. Em alguns casos, o tempo de centrifugação do protocolo inicial pode ser aumentado para compensar estas possíveis alterações. Na tabela seguinte estão referidos alguns fármacos que podem alterar a qualidade dos coágulos (Tabela 10) (García & Orsini, 2020).

FÁRMACOS				
Anticoagulantes (fármacos que inibem qualquer fase do processo de coagulação)	Antitrombina III Argatrobana	Bivalidurina	Desidurina	Antiagregantes plaquetários
Fármacos que interferem na agregação ou aglomeração das plaquetas para formar o coagulo das plaquetas	Abciximab Anagrelida Apsirina Ibuprofeno Naproxeno	AINES Cilostazol Dipiridamol Eptifibatide	Clopidogrel Sulfpirazona Ticlopidina	Inibidores da COX-2 Tirofibana
Medicamentos que aumentam o efeito dos anticoagulantes	Alopurinol Esteroides anabolizantes Aspirina	Amiodarona Capecitabina Cefalosporinas Cimetidina	Ciprofloxacina Clofibrato Diclofenac	Dissulfiram Eritromicina Fluconazol
Outras substâncias	Pentoxifilina	Heparina de baixo peso molecular	Teofilina Drotrecogina alfa	Cafeína

Tabela 10 – Substâncias que podem alterar o tempo de coagulação. Adaptado de (García & Orsini, 2020).

2.1.3. Protocolo de obtenção de fibrinogénio

O fibrinogénio líquido é obtido por centrifugação dos tubos brancos durante três minutos, à velocidade de 2700rpm. São utilizados tubos de plástico sem revestimento de sílica para retardar a cascata de coagulação (Quirynen & Pinto, 2022). Após os três minutos de centrifugação, removem-se os tubos de tampa branca da centrifugadora e colocam-se na grade de suporte (García & Orsini, 2020). O líquido obtido de coloração amarela, visível na parte superior do tubo é pipetado com uma seringa estéril de 5ml, constituindo assim o fibrinogénio líquido (Castro et al., 2019). Após cuidadosa pipetagem de 2cc de fibrinogénio líquido, este deve ser armazenado num local isento de luz até ao momento da sua aplicação (Figura 7) (García & Orsini, 2020).

2.1.4. Protocolo de obtenção das membranas de L-PRF

Para obter as membranas de L-PRF é necessário finalizar o tempo de centrifugação e deixar os tubos vermelhos em repouso na centrífuga durante dois minutos (García & Orsini, 2020):

1. Colocar os tubos vermelhos na grade de suporte;
2. Utilizar a pinça cirúrgica de tecidos para a prensão da fração intermédia do coágulo, removendo-o do tubo;
3. Seguidamente separar a série vermelha com auxílio da espátula transportadora;
4. Colocar o coágulo na *Bandeja Xpression* com a face voltada para baixo e colocar a tampa de compressão;
5. Aguardar cinco minutos para obtenção das membranas de L-PRF (por compressão suave; gravidade).

Após a colocação dos coágulos na bandeja, são necessários cinco minutos de compressão suave, para que se obtenham as membranas de L-PRF com 1mm de espessura. (Castro et al., 2019a; Hermida-Nogueira et al., 2020). As membranas devem ser utilizadas dentro do período útil de três horas, evitando assim a sua desidratação (García & Orsini, 2020). Durante a compressão suave dos coágulos de L-PRF, uma grande quantidade de líquido, designada de exsudato, vaza para a parte inferior da bandeja, este exsudado pode ser colhido através de uma seringa esterilizada, visto este líquido ser muito rico em fatores de crescimento e possuir elevada capacidade antibacteriana (Quirynen & Pinto, 2022). Este líquido pode ser utilizado para hidratar as membranas, hidratar os implantes previamente à sua colocação e hidratação de alvéolos ou de defeitos ósseos antes da colocação dos biomateriais (García & Orsini, 2020).

2.1.5. Protocolo de obtenção de plugs

Os *plugs* de L-PRF têm a mesma composição do que as membranas, apenas diferem na forma de apresentação, assemelhando-se a um cilindro. São normalmente utilizados em alvéolos pós-extracionais. Para obtenção do *plug*, deve-se colocar a membrana de L-PRF no local específico da bandeja sobrepor o pistão e deixando a gravidade realizar a pressão (Figura 23) (García & Orsini, 2020). A tempo útil de aplicação dos *plugs* varia de duas a três horas, desde que mantidos no compartimento evitando a sua desidratação (Quiryren & Pinto, 2022).

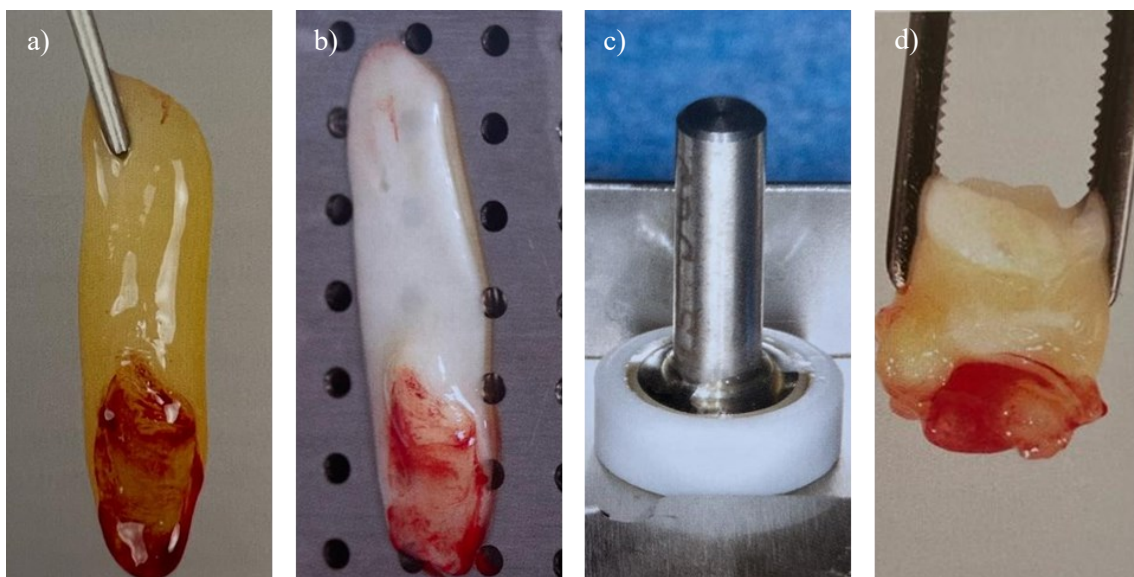


Figura 23 - Modo de preparação do *plug* de L-PRF. a) - Após centrifugação, os coágulos de L-PRF são coletados do tubo de sangue com pinças, e os eritrócitos aderentes são removidos com muito cuidado; b) - Depois de realizada compressão, fortes membranas de L-PRF são formadas (uma única membrana pode suportar com uma força de até 500g); c) - usando um cilindro e pistão (incluídos no kit de compressão), pode-se formar *plugs* de L-PRF cilíndricos adequados para preencher os alvéolos pós extração; d) - *Plug* de L-PRF. Imagens retirada de (Quiryren & Pinto, 2022).

2.1.6. Protocolo de obtenção de L-PRF Block

Nas últimas décadas, o potencial terapêutico da engenharia de tecidos para regeneração óssea ganhou considerável interesse. A preparação do L-PRF *block* consiste na combinação de um substituto ósseo particulado, de membranas de L-PRF convertidas em partículas e fibrinogênio líquido (Figura 24) (Quirynen & Pinto, 2022):

1. Colocar duas membranas na taça retangular de aço inoxidável;
2. Cortar as membranas em pequenos pedaços com a tesoura cirúrgica curva;
3. Juntar o biomaterial selecionado às membranas e homogeneizar;
4. Adicionar 1cc de fibrinogênio e mistura suavemente, dando a forma desejada ao bloco;

O fibrinogênio inicia o processo de coagulação formando uma rede de fibrina tridimensional, que irá agregar o biomaterial e as membranas fracionas, formando o bloco de L-PRF (Castro et al., 2019; Quirynen & Pinto, 2022). A proporção indicada são 2 membranas para 0,5 g de biomaterial (García & Orsini, 2020).

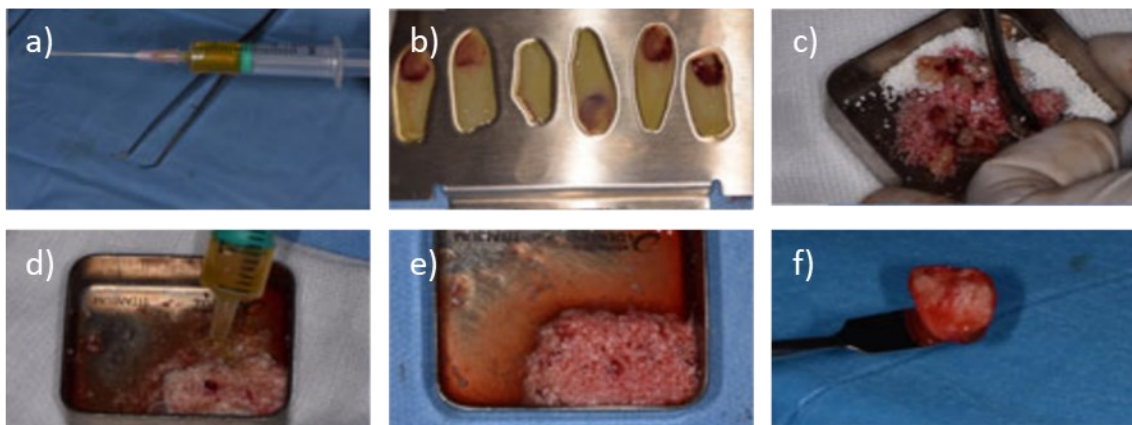


Figura 24 - Preparação Clínica do L-PRF *block*. a) – Seringa com fibrinogênio; b) – Membranas de L-PRF após compressão; c) – Mistura das membranas de L-PRF com substituto ósseo (aloxerto); d) – Adição do fibrinogênio; e) – Formação do L-PRF *block* com a forma desejada; f) – L-PRF com consistência e forma pronto a ser aplicado. Imagens adaptadas de (Cortellini et al., 2018).

3. Aplicações

Inicialmente descrito para o tratamento de feridas em pacientes diabéticos, e com lesões provocadas por queimaduras. Só posteriormente passou a ser utilizado na área da medicina dentária (García & Orsini, 2020). A eficácia das membranas de L-PRF tem sido extensivamente estudada e relatada para diversas aplicações/procedimentos

regenerativos, incluindo cirurgia periodontal, tratamento de defeitos de furca, preservação alveolar após extrações de dentes, elevação do perímetro do seio maxilar, regeneração de tecidos moles e duros, e terapia maxilofacial e na área da implantologia (Tovar et al., 2021). Também tem sido utilizado para melhorar a cicatrização em procedimentos estéticos, e medicina regenerativa da pele. Além disso, dados *in vitro* mostraram as propriedades antimicrobianas associadas aos dois principais componentes celulares do L-PRF, sugerindo a sua aplicação como desinfetante biológico de superfícies de implantes contaminados, resultando em extensa formação de pseudópodes com ativação plaquetária e redução significativa das populações bacterianas (Tovar et al., 2021). As várias disciplinas médicas têm utilizado o L-PRF em diferentes tipos de cirurgia, relatando um efeito positivo no processo de cicatrização de feridas (Andrade et al., 2020).

3.1. Aplicações do L-PRF na cirurgia oral

3.1.1. L-PRF na exodontia de terceiros molares

A exodontia de terceiros molares constitui um dos procedimentos mais frequentes realizados em cirurgia oral (da Silva et al., 2021; Daugela et al., 2018). A cirurgia de extração dos terceiros molares é frequentemente acompanhada de complicações pós-operatórias que estão associadas a desconforto pós-operatório, dor, edema, trismos, parestesias e elevada taxa de incidência de osteíte alveolar (da Silva et al., 2021; Daugela et al., 2018). Alguns estudos referiram existir benefícios evidentes na utilização de L-PRF em alvéolos pós-extrativos de terceiros molares, tendo se observado algumas vantagens, tais como: diminuição das complicações pós-operatórias, como por exemplo: diminuição da dor e do edema, melhoria da cicatrização dos tecidos moles, refletindo-se numa redução temporal do período pós-operatório (Quirynen & Pinto, 2022). No seguinte caso clínico foi identificado radiograficamente a inclusão do dente 4.8 associado a uma lesão quística, compatível com quisto dentígero. Foi realizada previamente uma venopunção para produção de *plugs* e membranas de L-PRF através do sistema Intra-Spin. Após incisão e descolamento do retalhe, procedeu-se à osteotomia e odontosecção com instrumentos de corte rotativo. Após extração do dente e enucleação do quisto procedeu-se à irrigação da loca óssea com solução salina seguida de irrigação do exsudado das membranas de L-PRF. Seguidamente inseriram-se os *plugs* e recobriu-se a loca com as restantes membranas e encerrou-se a ferida operatória com sutura de seda (Figura 25 e 26).

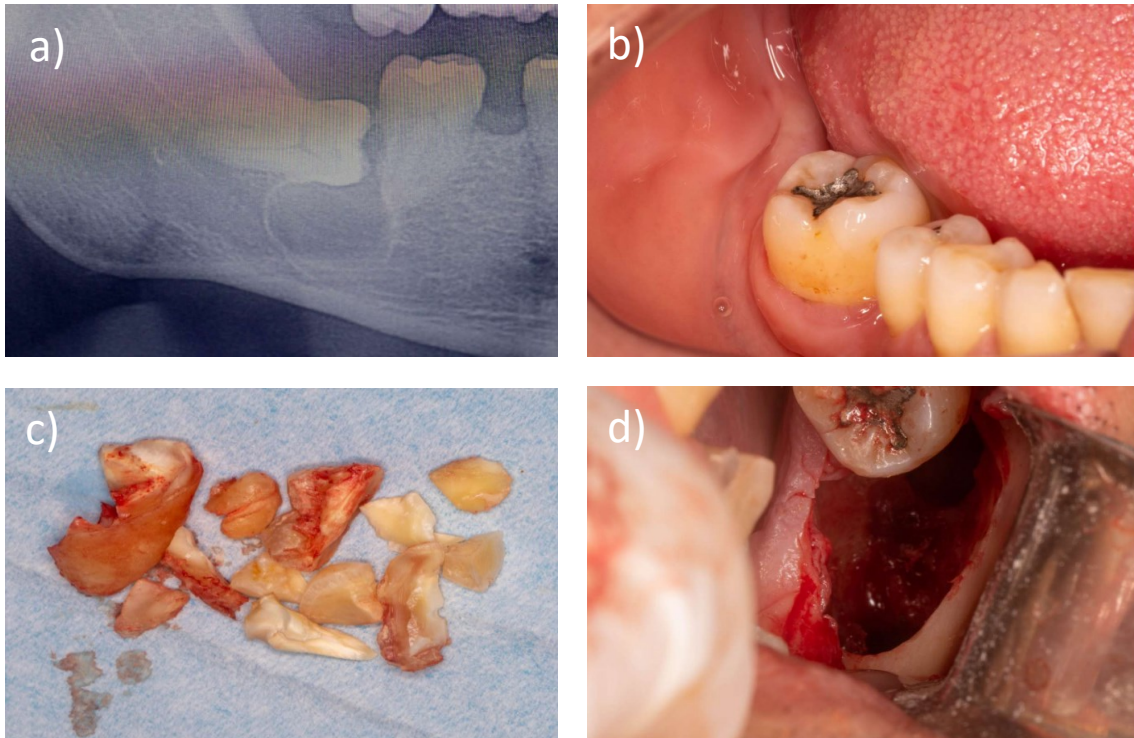


Figura 25 - Extração do terceiro molar mandibular (4.8). a) – Imagem radiográfica (ortopantomografia) pré-operatória, evidenciando o quisto dentígero associado ao dente 4.8 incluído; b) – Imagem intraoral da região confirmando a inclusão do dente 4.8; c) – Imagem do dente 4.8 após odontosecção; d) – Imagem intra-operatória da loca após extração do dente 4.8 e enucleação da lesão quística. Imagens cedidas pelo Dr Diogo Castro.

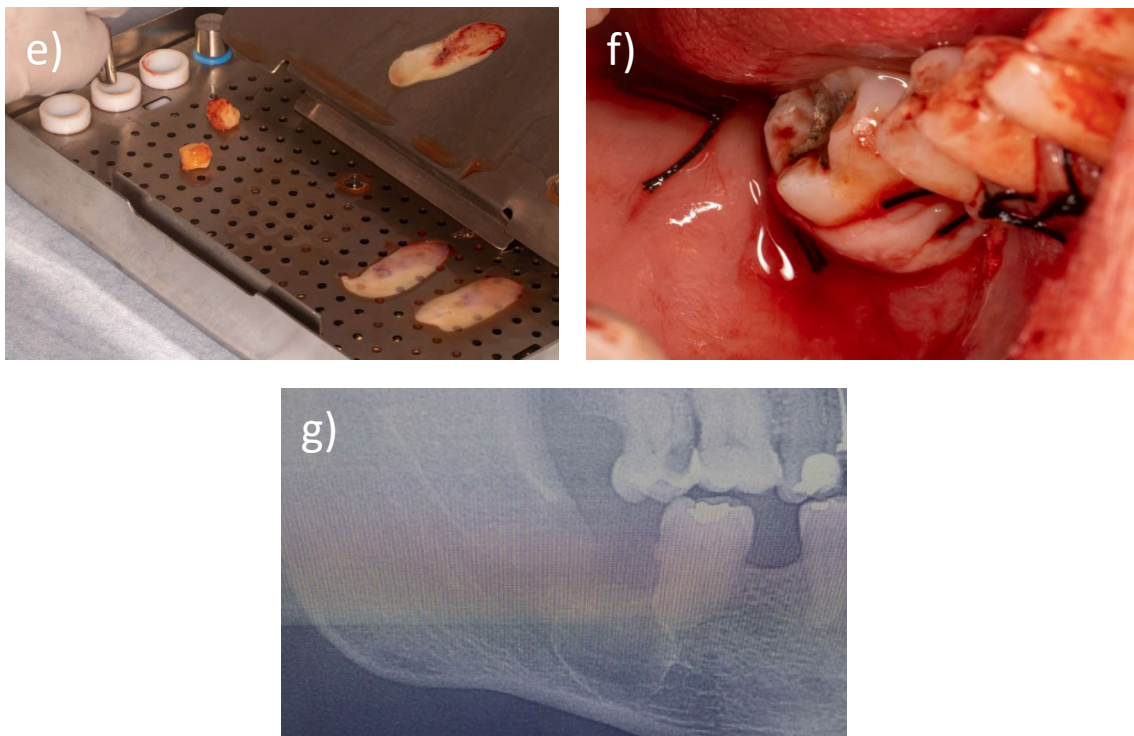


Figura 26 - e) - Imagem dos *plugs* e das membranas após compressão; f) – Encerramento da ferida operatória após colocação dos *plugs* e membranas com sutura de seda; Imagem radiográfica (ortopantomografia) pós-operatória. Imagens cedidas pelo Dr Diogo Castro.

3.1.2. Reconstrução óssea de pequenos defeitos com L-PRF

A região do defeito ósseo a reabilitar está diretamente relacionada com a técnica cirúrgica a utilizar. Em defeitos de pequenas dimensões de uma ou duas paredes podemos recorrer a diferentes técnicas de reconstrução óssea, tais como a regeneração óssea guiada (ROG) e a técnica de reconstrução óssea aposicional (Louis, 2010; Louis et al., 2008). No caso clínico apresentado (Figura 27 e 28), o defeito ósseo vertical originado pela deficiente cicatrização alveolar foi solucionado através da aplicação da técnica de ROG. Utilizando um L-PRF *block* constituído por um aloenxerto ósseo particulado para preenchimento alveolar e fixação de um bloco ósseo alógeno com técnica aposicional para retificação do defeito horizontal. O bloco foi recoberto com uma membrana de L-PRF sob a ferida operatória para melhor cicatrização tecidual (Brånemark et al., 1975; Zarb et al., 2002).

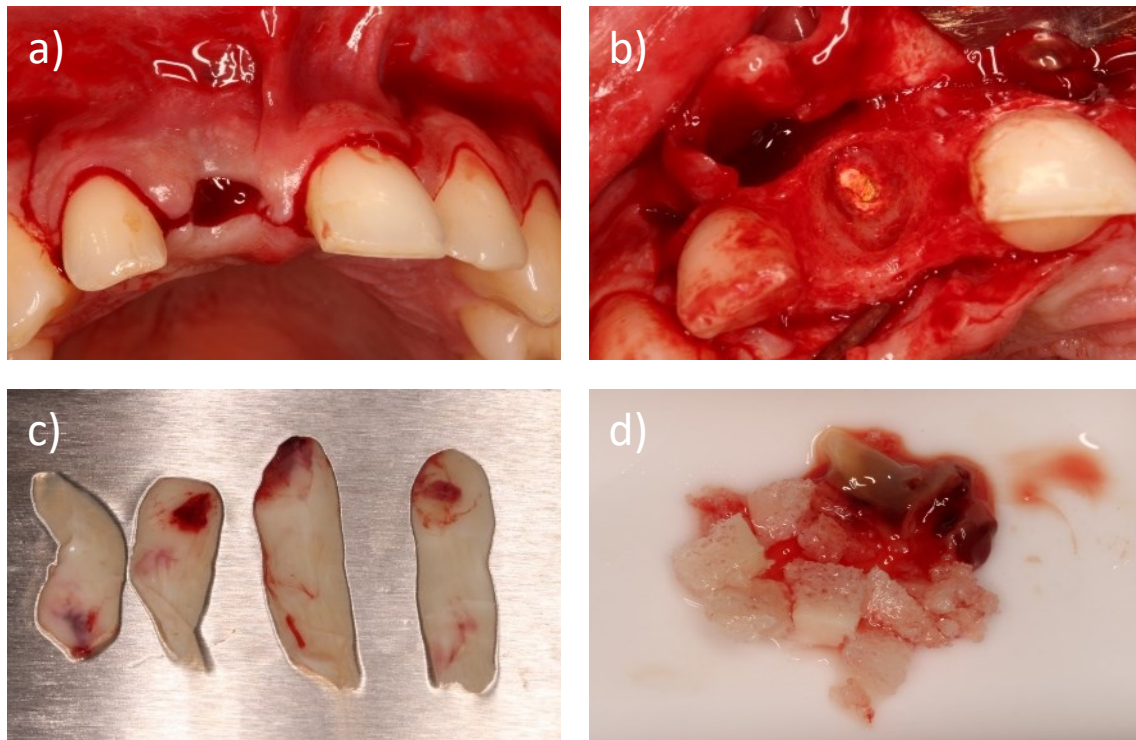


Figura 27 - Regeneração óssea guiada e alvéolo pós-extração de dente 1.1; a) – Vista intraoral do alvéolo pós-extrativo do dente 1.1; b) – Alvéolo pós-extrativo do dente 1.1 com conteúdo residual endodôntico; c) – Membranas de L-PRF obtidas pelo protocolo Intra-Spin; d) – Fragmentos de aloenxerto ósseo liofilizado de crista ilíaca. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

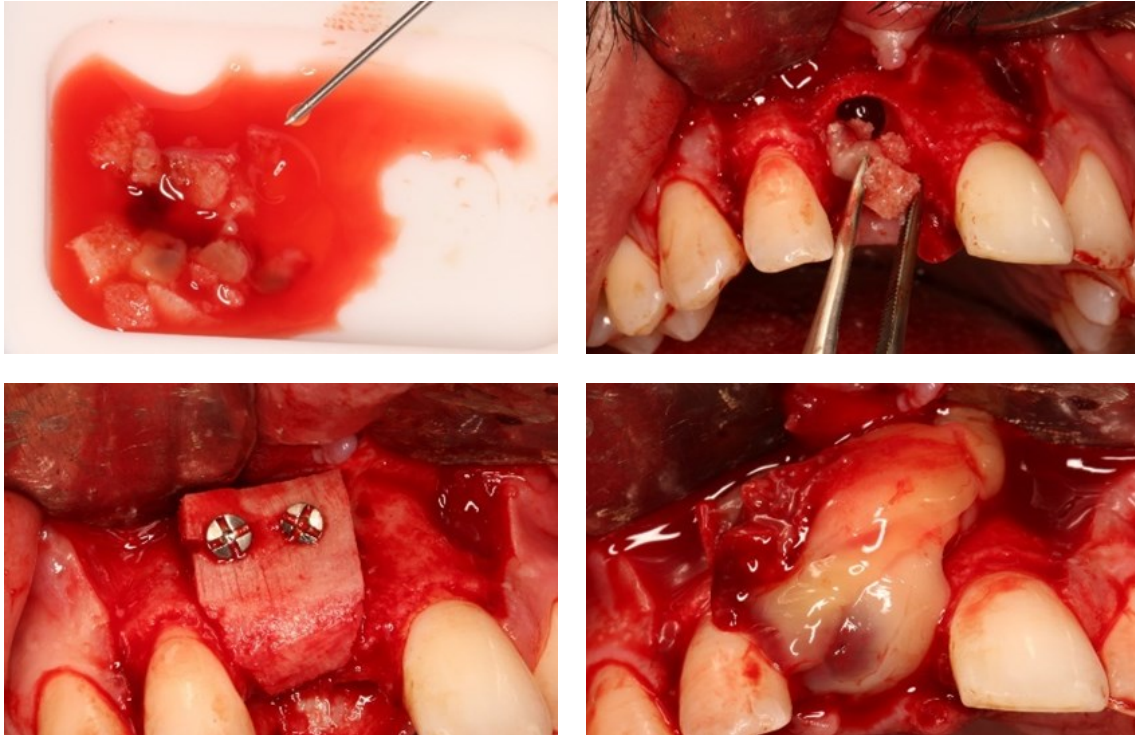


Figura 28 - e) – Formação do L-PRF *block*; f) – Preenchimento do alvéolo pós extrativo com L-PRF *block*; g) – Fixação do bloco ósseo alógeno de crista ilíaca para retificação do defeito horizontal; h) – Recobrimento do bloco com membrana de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

3.1.3. L-PRF em enxertos ósseos

Na reconstrução de defeitos ósseos de maiores dimensões com compromisso de duas ou mais paredes, a técnica de reconstrução óssea guiada associada a barreiras ou membranas reabsorvíveis ou não reabsorvíveis para contenção de partículas, constitui uma alternativa viável na reconstrução de defeitos ósseos. A estabilidade dos implantes dentários depende de uma boa estrutura óssea residual. A técnica do L-PRF *block* associada a um xenoenxerto bovino constitui uma alternativa viável nas técnicas de reconstrução de volume ósseo horizontal (Cordaro et al., 2002). No caso clínico apresentado, retificou-se um defeito ósseo horizontal provocado por uma perda óssea vertical e horizontal originada por uma periimplantites na região do quinto sextante. A técnica utilizada compreendeu a aplicação do L-PRF *block* com xenoenxerto após explantação dos implantes comprometidos das posições 3.2 e 4.2 (Figura 29 e 30).

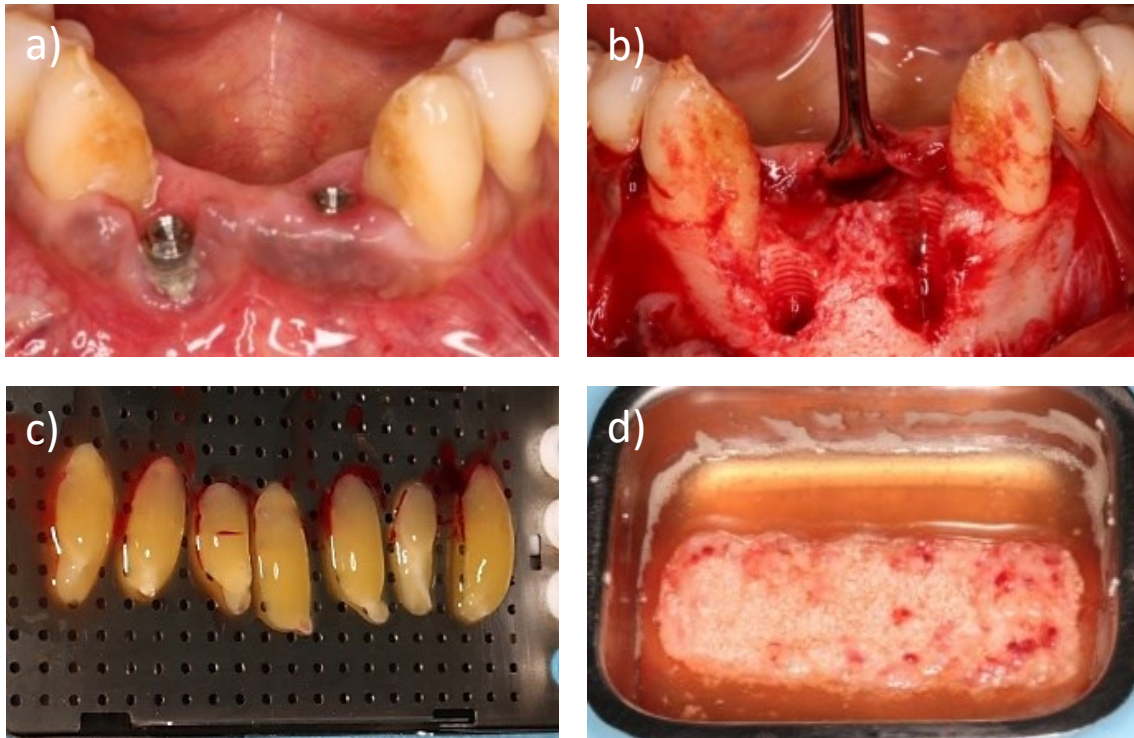


Figura 29 - Reconstituição óssea do defeito ósseo vertical e horizontal do quinto sextante com L-PRF block. a) – Imagem intraoral dos implantes 3.2, 4.2 com compromisso estrutural; b) – Vista intrã-operatória do defeito ósseo após explantação dos implantes 3.2 e 4.2; c) – Coágulos de L-PRF, fase de pré-compressão; d) - Formação do L-PRF block. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

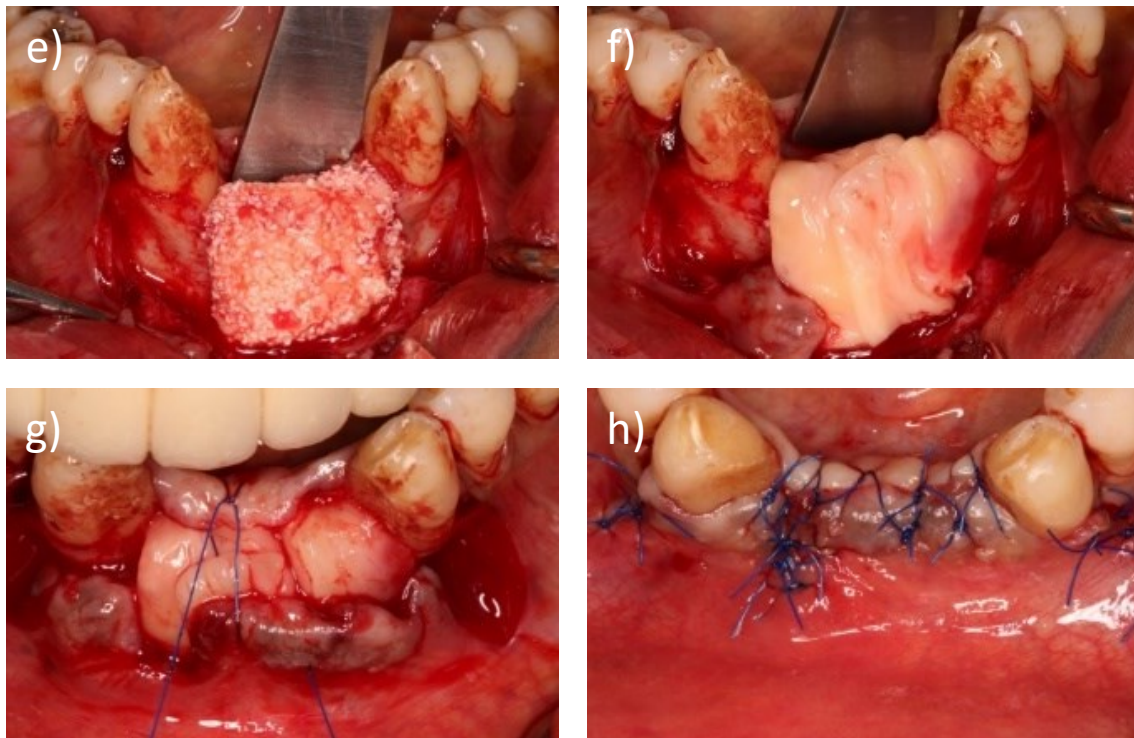


Figura 30 - e) – Aplicação do L-PRF block sobre o defeito ósseo; f) – Recobrimento do L-PRF block com membranas L-PRF; g) – Vista intraoral do ponto de sutura colchoeiro horizontal modificado sobre as membranas de L-PRF; h) - Encerramento da ferida operatória com sutura nylon 4-0. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

3.1.4. L-PRF na preservação da crista alveolar pós-extração

A perda de peças dentárias precoce e a ausência prolongada das mesma, conduzem a um processo de reabsorção da crista óssea alveolar, conduzindo a defeitos ósseos que impossibilitam a colocação de implantes dentários convencionais. Nos defeitos ósseos de espessura da crista alveolar, as técnicas de reconstrução ósseas disponíveis são: técnicas de interposição (Ridge Splitting); técnica aposicional (Onlay Grafting); regeneração óssea guiada (Guide Bone Regeneration) (Aalam & Nowzari, 2007; Burchardt, 1987; Ella et al., 2014). No caso clínico a baixo apresentado (Figuras 31 e 32), foi proposto a reabilitação total mandibular com extração dos dentes residuais, colocação de cinco implantes dentários e retificação do defeito ósseo horizontal do terceiro quadrante, com aplicação do bloco ósseo alógeno corticoesponjoso e L-PRF *block* de xenoenxerto para preenchimento dos defeitos da crista óssea alveolar.

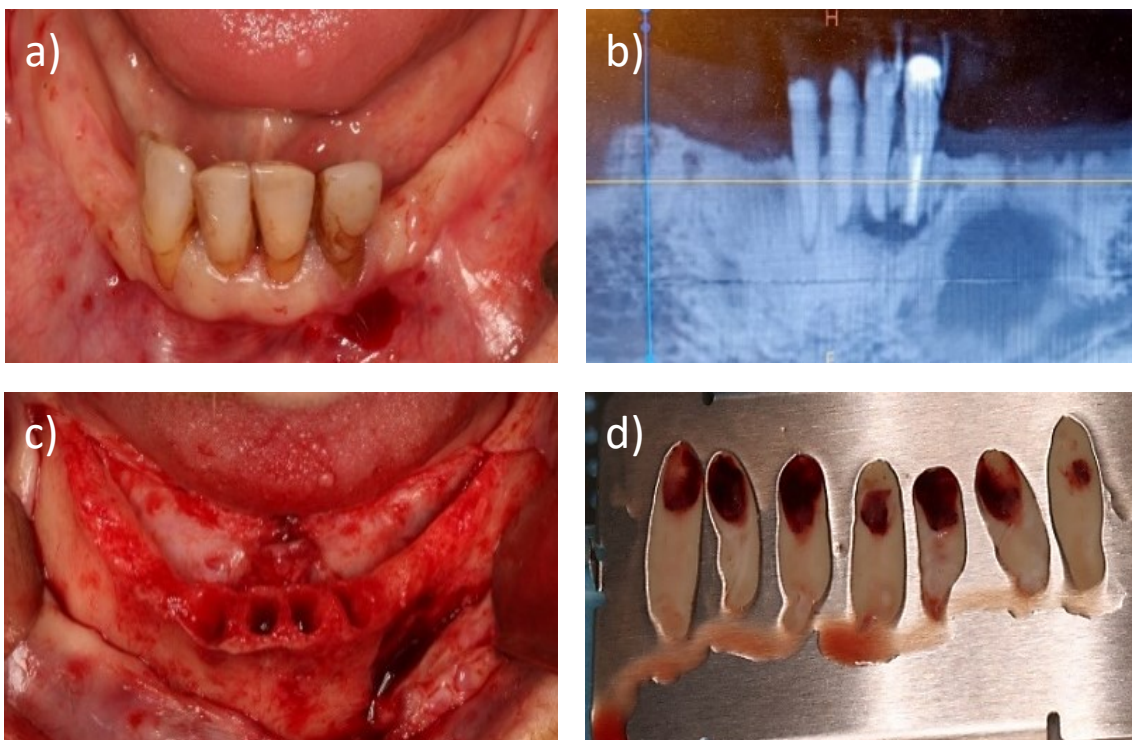


Figura 31 - Reabilitação total mandibular com implantes dentários simultânea a reconstrução óssea de defeito ósseo horizontal. a) - Vista intraoral mandibular; b) – Radiografia panorâmica mostrando o defeito ósseo horizontal mandibular; c) – Vista intra-operatória mandibular após extração dentária; d) – Membranas de L-PRF após compressão. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

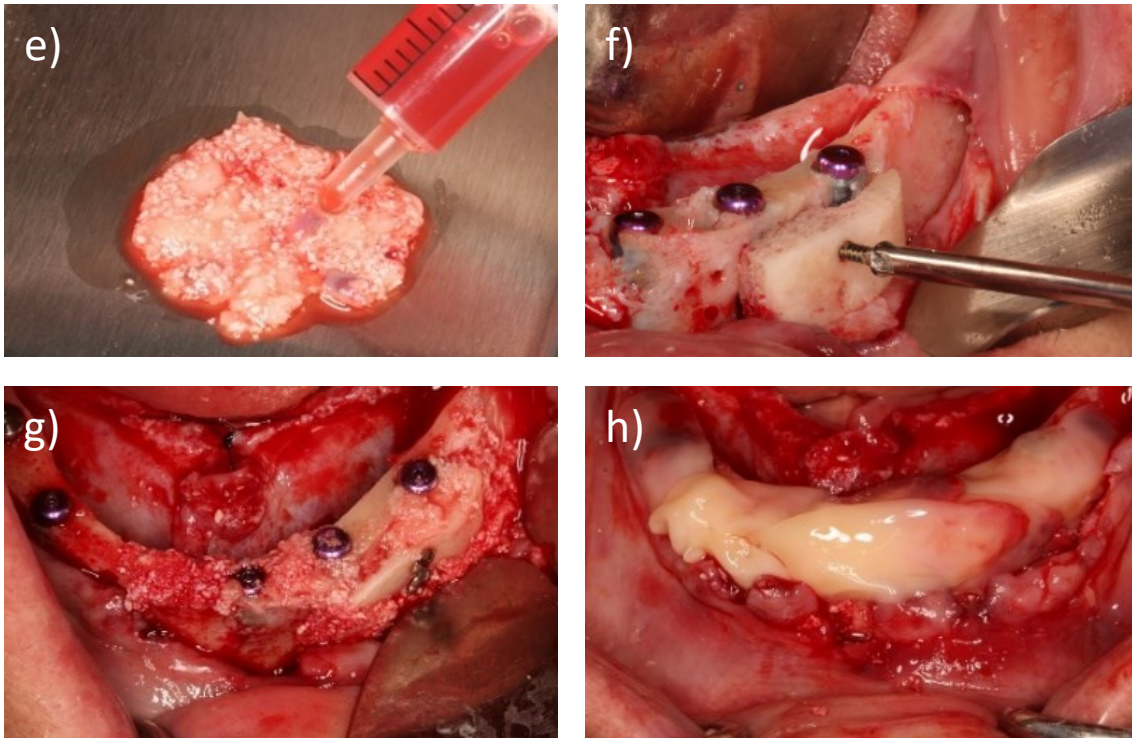


Figura 32 - e) - Aplicação do fibrinogênio sobre o xenoenxerto bovino e membranas de L-PRF para formação do *block*; f) – Fixação do bloco ósseo alógeno corticoesponjoso para retificação do defeito horizontal; g) – Vista intra-operatória dos implantes dentários instalados e preenchimento dos defeitos alveolares com o L-PRF *block*; h) – Recobrimento da reconstrução óssea alveolar com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

3.1.5. L-PRF para elevação sinusal

As regiões posteriores maxilares são muitas vezes acompanhadas de insuficiente disponibilidade óssea vertical para permitir a instalação de implantes dentários. Esses defeitos ósseos podem ter origem anatômica, traumática ou infecciosa. As técnicas cirúrgicas disponíveis para reconstrução dos defeitos ósseos maxilares posteriores são: técnica Le Fort I, elevação do pavimento do seio maxilar pela técnica trascrestal ou pela técnica da “janela lateral” (Muñoz-Guerra et al., 2009; Powell et al., 2022). No caso clínico apresentado (Figuras 33 e 34), utilizou-se a técnica da “janela lateral” com aplicação de L-PRF *block* de xenoenxerto bovino.

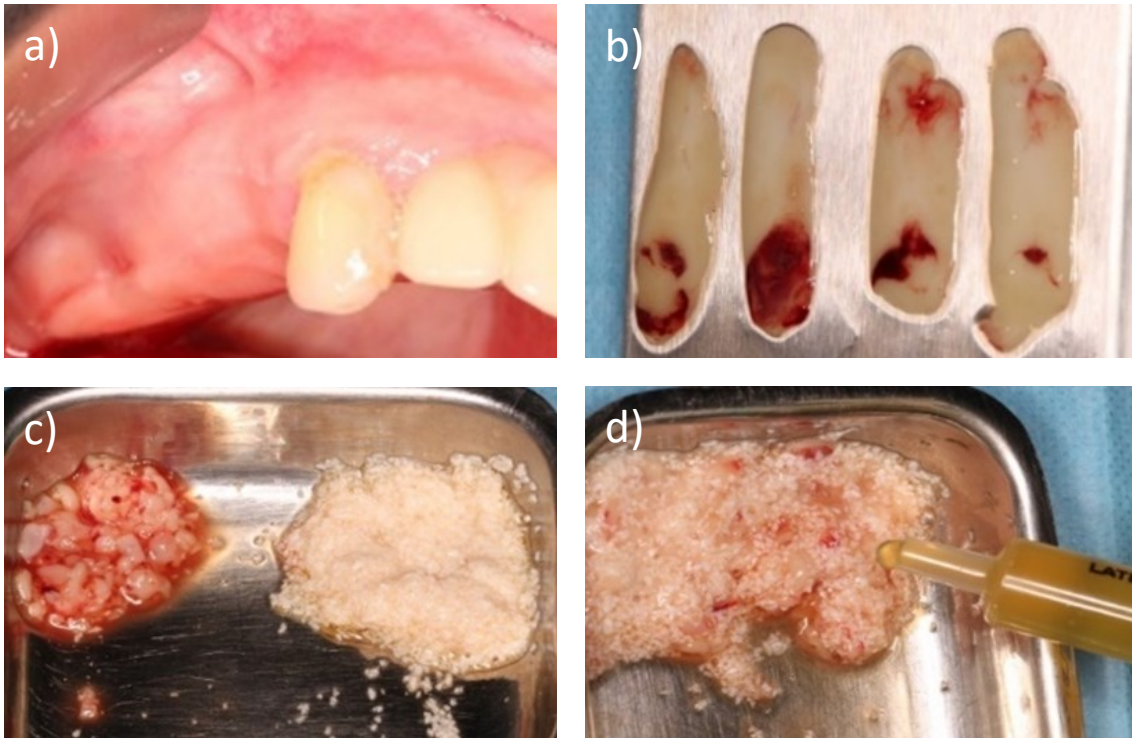


Figura 33 - Reabilitação de defeito ósseo vertical do seio maxilar direito com L-PRF *block* pela técnica da “janela lateral”. a) – Vista intraoral da zona de acesso ao seio maxilar; b) – Membranas de L-PRF obtidas pela técnica Intra-Spin; c) – Membranas de L-PRF seccionadas e xenoenxerto bovino; d) – Formação do L-PRF *block*. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

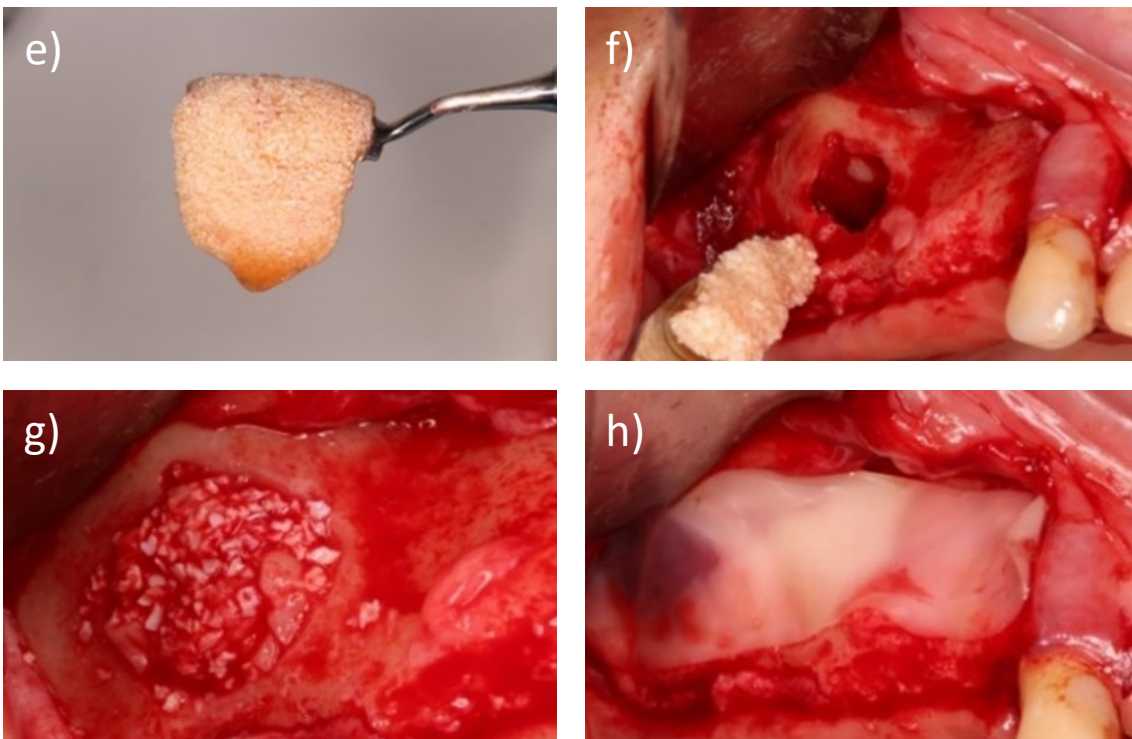


Figura 34 - e) – L-PRF *block*; f) – Vista intra-operatória da janela lateral e preparação do L-PRF *block* para colocação no seio maxilar; g) – L-PRF devidamente compactado; h) – Recobrimento da abertura da janela lateral com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

3.1.6. L-PRF em implantologia

Os implantes dentários constituem uma alternativa viável na reabilitação oral de pacientes desdentados parciais ou totais. As elevadas taxas de sucesso associadas a esta técnica constituem um indicador seguro para a sua utilização. As complicações pós-operatórias associadas à reabilitação oral com implantes dentários englobam situações como traumatismos dento-alveolares e defeitos ósseos originados por infeções. A periimplantite é uma doença associada aos tecidos moles e duros periimplantares (García & Orsini, 2020). A permanência de lesões crónicas infecciosas provocadas pela periimplantite pode originar defeitos ósseos verticais, com indicação para reconstrução óssea, através de diversas técnicas cirúrgicas. Os defeitos ósseos mais comuns originados pela periimplantites, apresentam a forma de uma cratera ou cone invertido. Em situações de perda de estrutura óssea vertical periimplantar é possível aplicar a técnica de implantoplastia na superfície do implante exposto, com a aplicação do protocolo L-PRF *block* (Quirynen & Pinto, 2022). O caso clínico apresentado (Figuras 35, 36 e 37), descreve a reconstrução do defeito ósseo vertical originado pela periimplantite associada aos implantes 4.4 e 4.6, através da técnica da regeneração óssea guiada com L-PRF *block*.

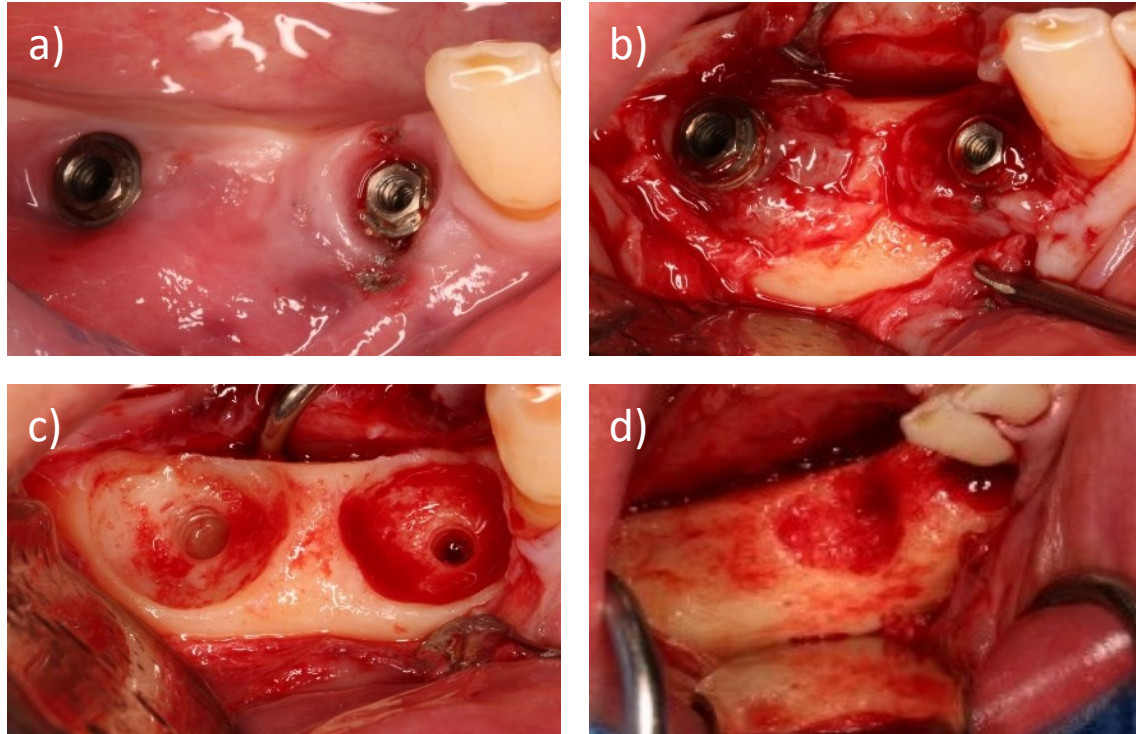


Figura 35 - Reconstrução de defeito ósseo vertical com L-PRF *block*. a) – Imagem intraoral dos implantes 4.4 e 4.6 com sinais de inflamação nos tecidos moles periimplantares; b) - Vista intra-operatória dos implantes 4.4 e 4.6 com tecido de granulação associado; c) – Vista intra-operatória dos defeitos ósseos verticais originados pela periimplantites, após explantação dos implantes; d) – Vista intra-operatória da reabertura da região 4.4 e 4.6 aos 2 meses. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

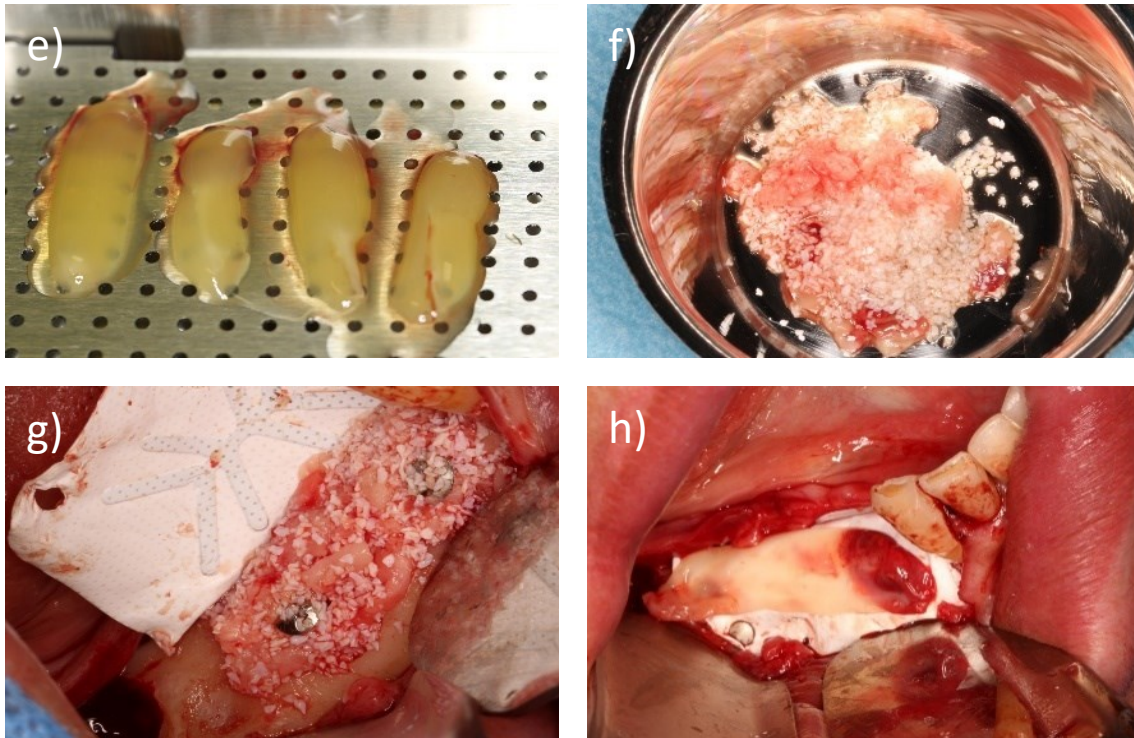


Figura 36 - e) – Coágulos de L-PRF; f) – L-PRF *block* com xenoinxerto bovino; g) – Defeito ósseo devidamente preenchido com L-PRF *block* e membrana para recobrimento com membrana PTFE reforçada com titânio; h) – membrana de PTFE estabilizada e fixada com tachas de fixação e recoberta com membranas de L-PRF. Imagens cedidas pelo Doutor Eugénio Pereira.

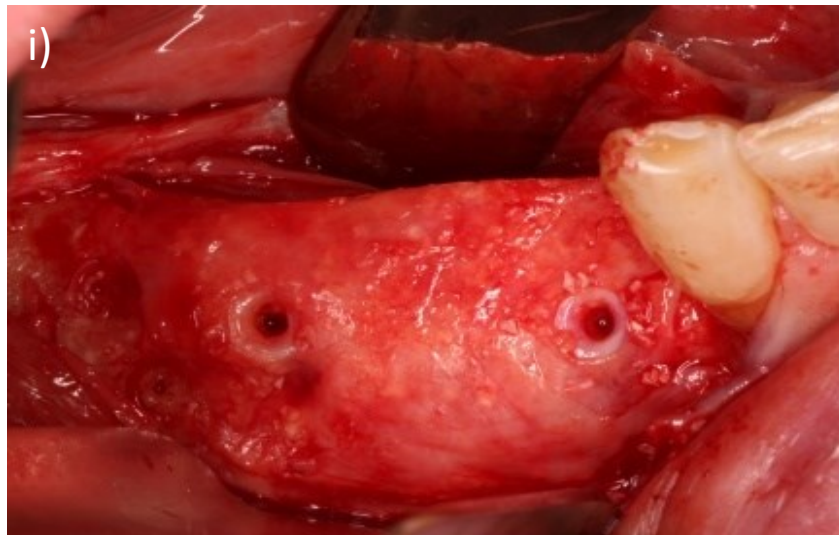


Figura 37 - i) – Vista intraoperatória da reconstrução do defeito ósseo com L-PRF *block* aos 6 meses. Imagem cedida pelo Doutor Eugénio Pereira.

3.1.7. Hidratação ou revestimento do implante com L-PRF

De forma a facilitar o processo de osteointegração, tem sido sugerido o utilização de L-PRF como matriz de revestimento do implante e preenchimento dos *gaps* periféricos, beneficiando da libertação dos fatores de crescimento e da elevada concentração de plaquetas e leucócitos, que promovem a estabilidade mecânica do implante (Quirynen & Pinto, 2022). Previamente à instalação do implante dentário, este pode ser hidratado com o exsudado resultante da compressão das membranas de L-PRF (Figura 38) (García & Orsini, 2020).

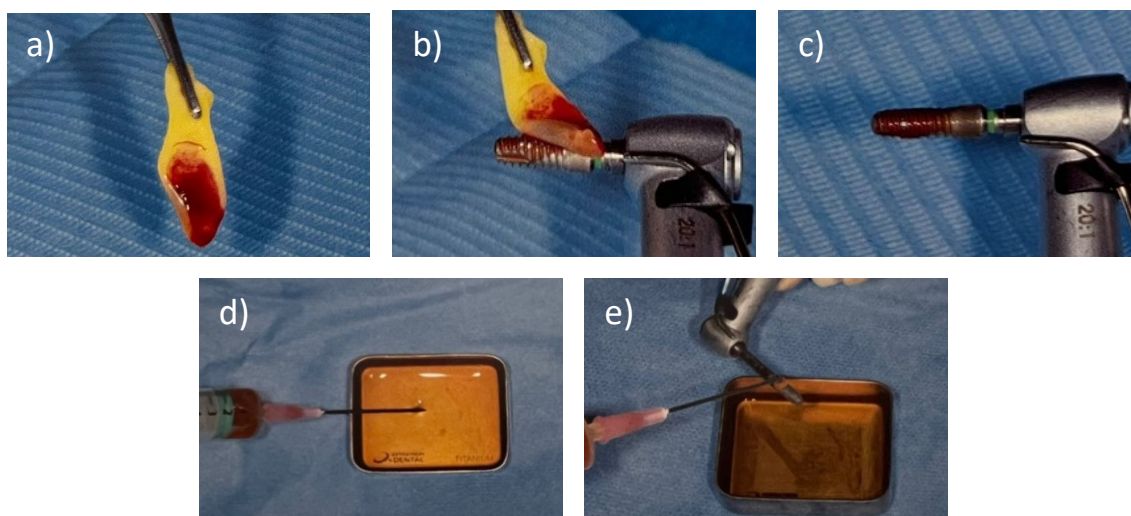


Figura 38 - Revestimento do implante com membrana L-PRF e hidratação do implante com exsudado. a) – Membrana de L-PRF com evidência da face; b) – Início do revestimento do implante pela face da membrana; c) – Implante revestido pela membrana de L-PRF previamente à colocação; d) – Colheita de exsudado de L-PRF; e) - Hidratação do implante com o exsudado. Imagens retirada de (Quirynen & Pinto, 2022).

3.1.8. Aumento da mucosa queratinizada ao redor implantes com L-PRF

A membrana de fibrina do L-PRF atua como uma barreira biológica, protegendo os fenómenos de cicatrização internos, do meio oral. Além disso, ao fornecer fatores de crescimento, leucócitos e uma matriz de fibrina permeável ao crescimento de células endoteliais e epiteliais, estimula e promove a angiogênese, acelerando a cicatrização e maturação tecidual (del Corso et al., 2012). O caso clínico seguinte (Figura 39), pretendeu avaliar a utilização de membranas de L-PRF para aumento de espessura da mucosa queratinizada associada à implantologia. Neste estudo clínico, utilizou-se uma técnica de enxerto conjuntivo livre como local de controlo, para comparação da aplicação de membranas de L-PRF. Os autores concluíram que apesar das limitações do estudo, as membranas de L-PRF promoveram um aumento de espessura tecidual periimplantar,

apresentando a vantagem da redução do tempo operatório, ausência de local de colheita, associada a menor morbilidade, refletindo-se num maior conforto para o paciente (Temmerman et al., 2018).



Figura 39 - Aumento da mucosa queratinizada periimplantar, estudo clínico comparativo. a) – Imagem pós-operatória imediata do local de controle (a1) e do local com a aplicação de L-PRF (a2); b) – Pós-operatório de uma semana; c) – Pós-operatório após seis semanas. Imagens adaptadas de (Temmerman et al., 2018).

3.1.9. L-PRF para cobertura de recessões gengivais

A recessão gengival tem sido definida como o deslocamento apical da margem gengival em relação à junção amelocementária com exposição concomitante da superfície radicular na cavidade oral (Mancini et al., 2021). As recessões gengivais são alterações que acometem atualmente um elevado número de pacientes, com etiologia multifatorial. O tratamento pode ser conservador ou necessitar de alguma intervenção cirúrgica para recobrimento radicular. As diversas técnicas cirúrgicas, utilizam vários tipos de retalhos, enxertos e L-PRF como coadjuvante (Sanz Ruiz & Beckhaus, 2015). De facto, a utilização de L-PRF deve ser divulgada, pelos potenciais benefícios biológicos, ausência de local de colheita, e maior comodidade para o paciente (Mancini et al., 2021). O seguinte caso clínico (Figura 40 e 41) reporta o tratamento cirúrgico de uma recessão gengival do dente 2.3 com aplicação de membranas de L-PRF.

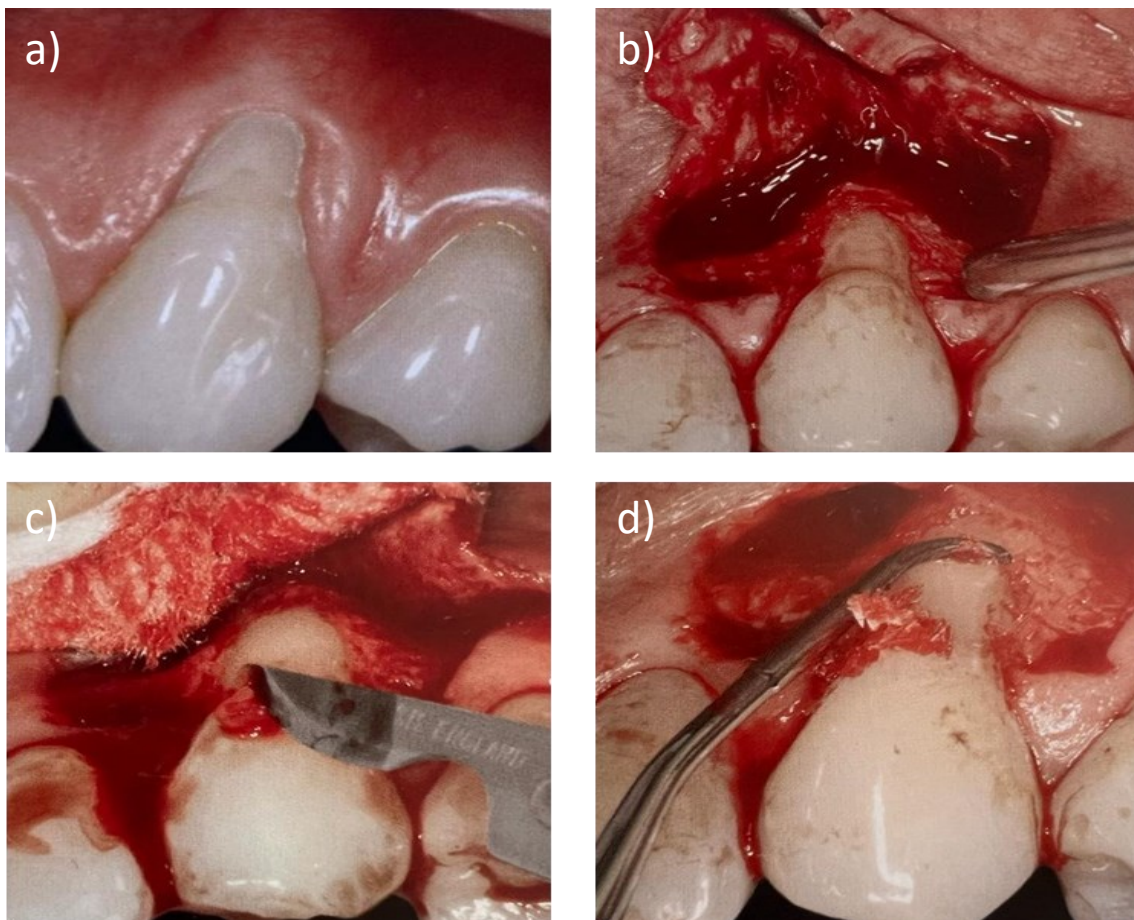


Figura 40 - Recobrimento de recessão gengival com retalho coronário; a) – Imagem pré-operatória da recessão gengival; b) – Preparação do retalho coronário; c) – Desepitelização das papilas mesial e distal; d) – Curetagem radicular para condicionamento da superfície da raiz (tetraciclina); Imagens retiradas de (Quiryrenen & Pinto, 2022).

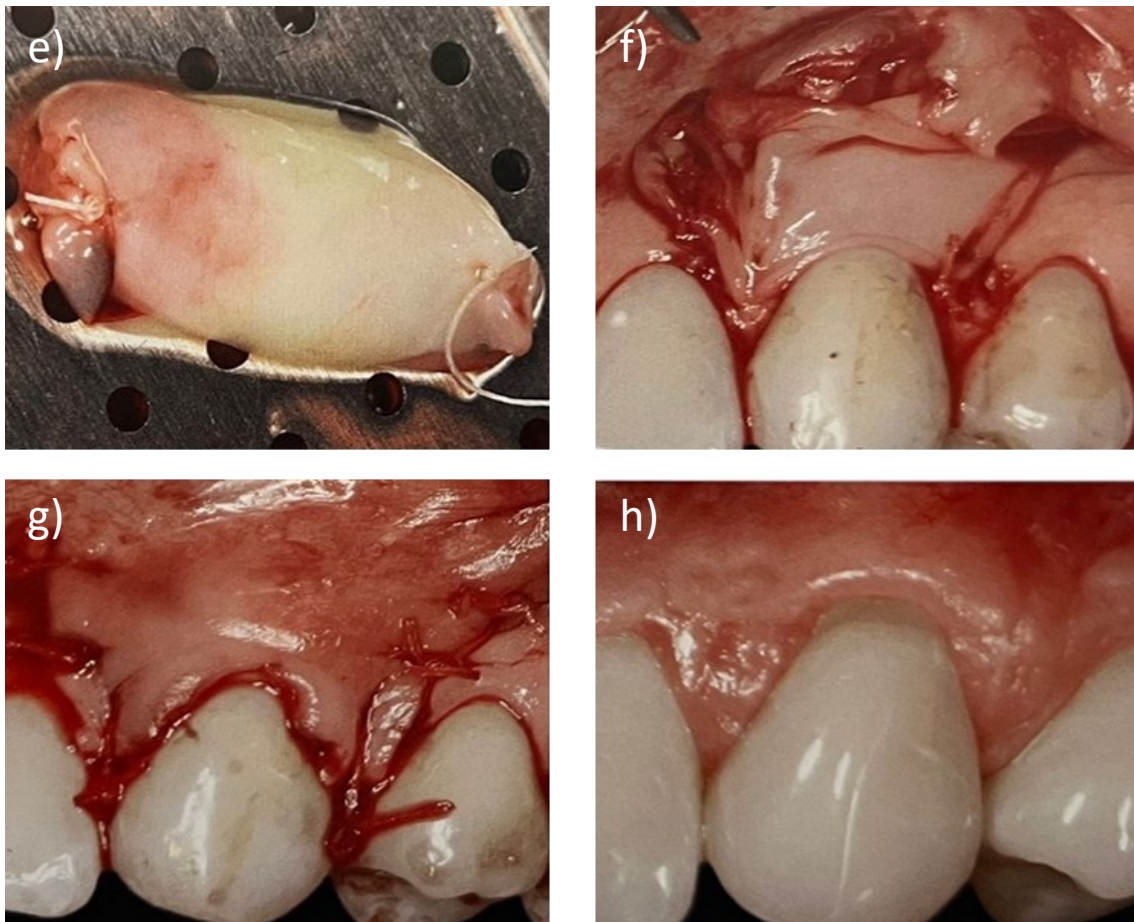


Figura 41 - e) – União de duas membranas de L-PRF em camada com sutura reabsorvível; f) – Recobrimento da superfície radicular com as duas membranas reabsorvíveis fixadas com sutura reabsorvível; g) – Reposicionamento do retalho a recobrir totalmente as membranas de L-PRF; h) Pós-operatório aos seis meses; Imagens retiradas de (Quirynen & Pinto, 2022).

3.1.10. L-PRF para a gestão do tratamento da osteonecrose da mandíbula induzida por bifosfonatos

Os bifosfonatos são comumente prescritos em pacientes com osteoporose, doença de Paget, mieloma múltiplo, tumores metastáticos e displasia fibrosa. O mecanismo de ação é baseado na inibição da reabsorção óssea por inibição da atividade e diferenciação osteoclástica, aumento da apoptose dos osteoclastos, inibição da reabsorção óssea, e efeito inibitório na atividade de proliferação de células tumorais e angiogênese (Salazar et al., 2018). O objetivo do tratamento consiste em controlar a infecção, minimizando a progressão da necrose óssea, através de antibioterapia e colutórios orais antissépticos. Desta forma consegue-se promover a cicatrização tecidual. O tratamento cirúrgico é controverso, pois trata-se de um método invasivo que provoca trauma no local

intervencionado, podendo agravar o quadro clínico (Cano-Durán et al., 2017; Salazar et al., 2018). No entanto, um novo método foi introduzido em 2006, o qual associa um concentrado de leucócitos, conhecido como concentrado de fibrina rico em leucócitos e plaquetas (L-PRF) à proteína morfogénica BMP-2 (Cano-Durán et al., 2017). O seguinte caso clínico (Figura 42) representa o tratamento com membranas de L-PRF, de uma osteonecrose provocada pela extração dentária maxilar numa paciente diagnosticada com carcinoma pulmonar e metástases ósseas.

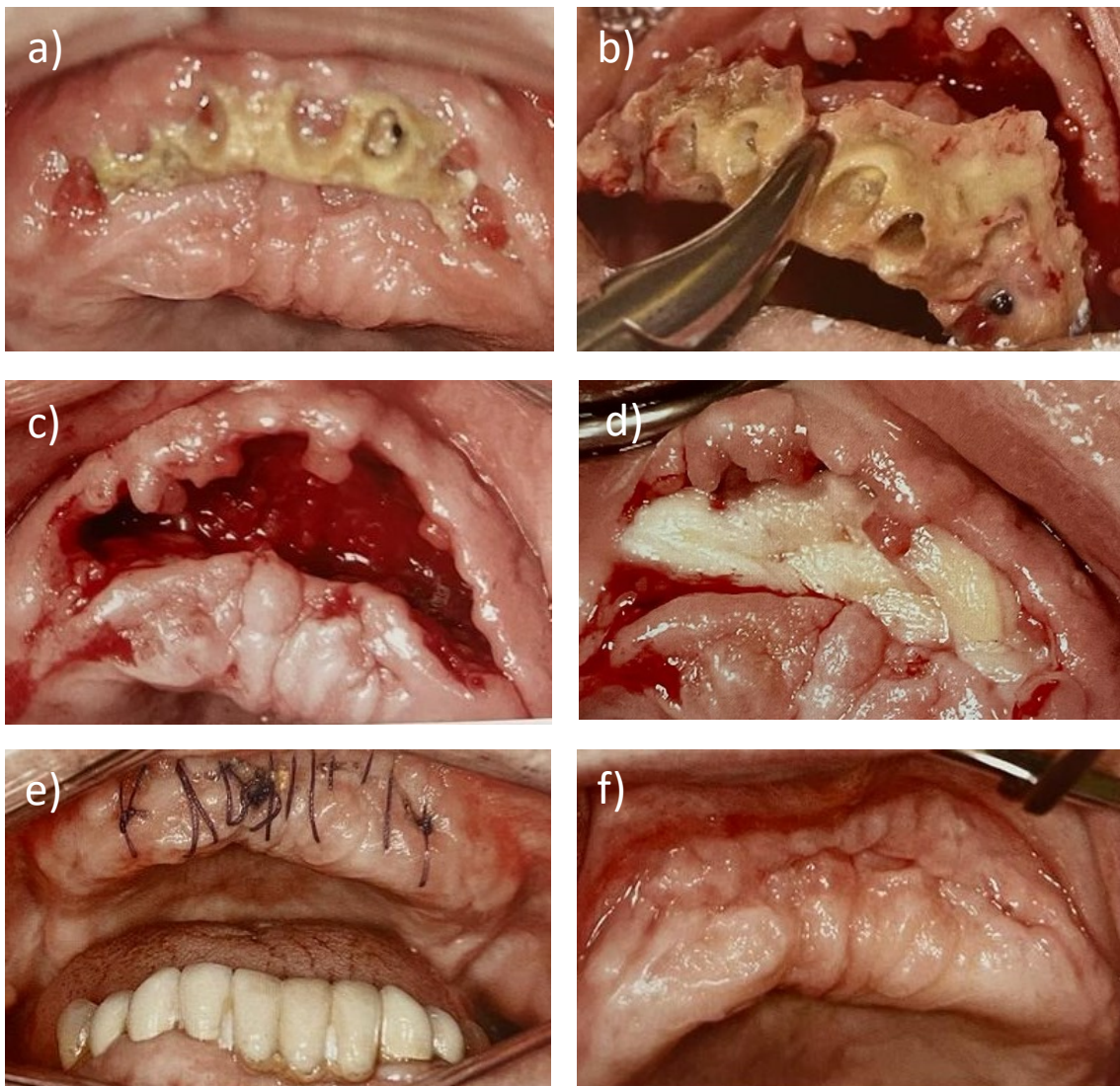


Figura 42 - Tratamento da osteonecrose com membranas de L-PRF. a) - Aspeto intraoral da osteonecrose maxilar; b) - Vista intraoral do sequestro maxilar; c) - Imagem intraoral da região pé maxilar após remoção; d) - Preenchimento de defeito ósseo com membranas de L-PRF; e) - Pós-operatório de uma semana; f) Pós-operatório após cinco meses. Imagens retiradas de (Quirynten & Pinto, 2022).

3.1.11. L-PRF em endodontia – cirurgia apical

Procedimentos endodônticos regenerativos (REPs) associados à cirurgia apical podem representar uma estratégia alternativa de tratamento para pacientes que apresentem formação radicular incompleta e lesões apicais extensas. A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) apresenta benefícios potenciais em REPs, como a promoção da apexificação e a cicatrização óssea (N. Pinto et al., 2017).

Os coágulos de L-PRF apresentam propriedades que podem ser favoráveis para REPs, nas quais se inclui a capacidade de constituir uma matriz tridimensional, fornecimento de fatores de crescimento, fatores quimiotáticos e diferenciação celular. O L-PRF é capaz de induzir diferentes tipos de células como osteoblastos, fibroblastos e células endoteliais. (N. Pinto et al., 2017). O seguinte caso clínico demonstra a aplicação de membranas de L-PRF na regeneração de um defeito ósseo em cirurgia apical (Figura 43 e 44).

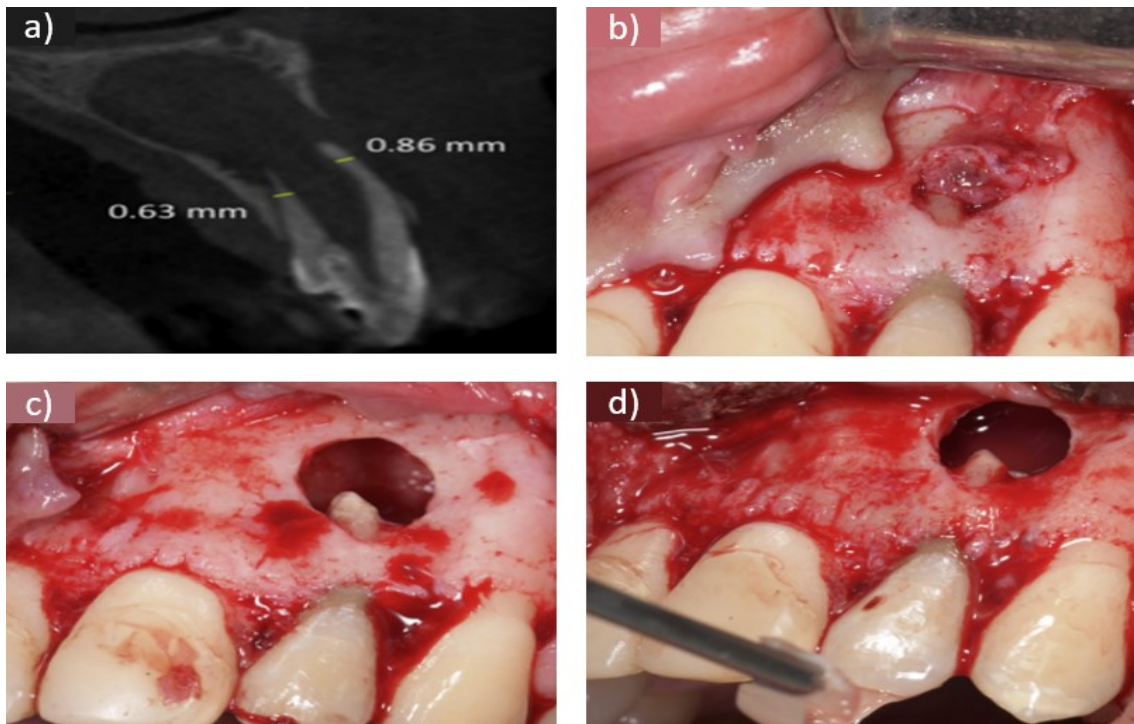


Figura 43 - Cirurgia apical com L-PRF. a) – Imagem radiográfica pré-operatória (CBCT) do dente 2.2, note-se a extensão da loca quiástica; b) – Vista intraoperatória da lesão apical do dente 2.2; c) – Imagem intraoperatória quiástica após enucleação e apicectomia; d) - Vista intraoperatória da aplicação das membranas de L-PRF na loca quiástica. Imagens adaptadas de (N. Pinto et al., 2017).

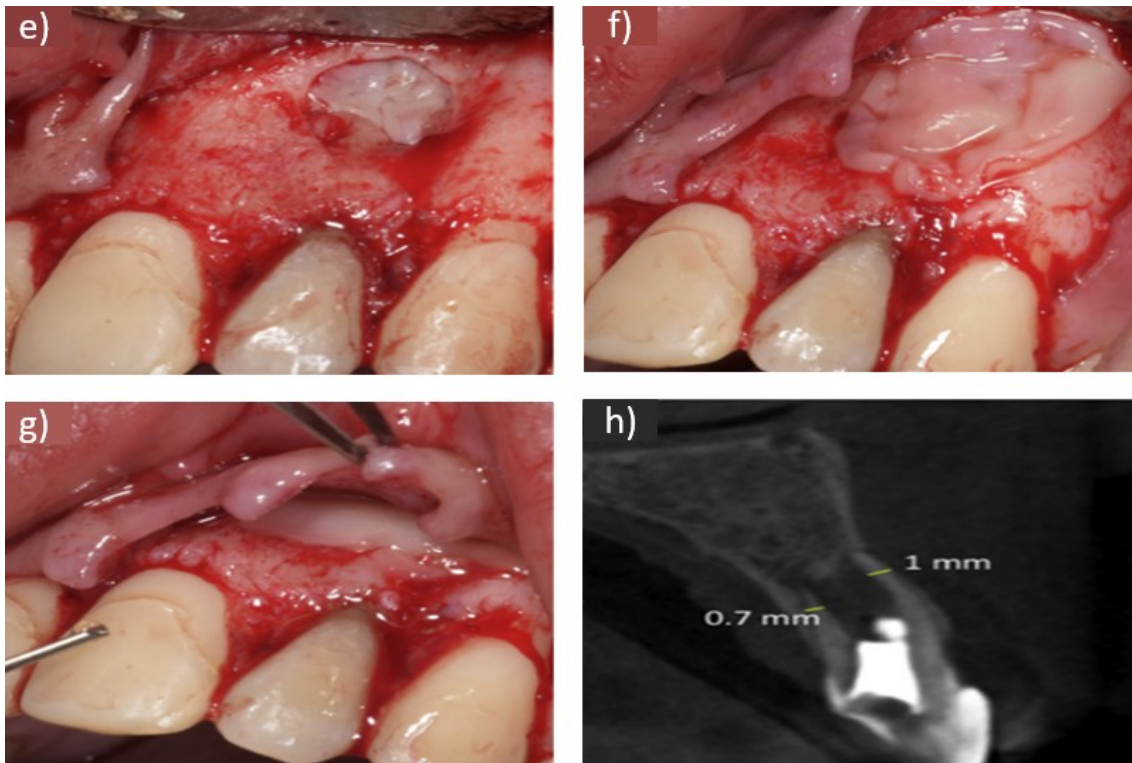


Figura 44 - e) – Defeito ósseo preenchido com membranas de L-PRF; f) – Encerramento do defeito ósseo com membranas de L-PRF; g) – Reposicionamento do retalho vestibular; h) – Imagem radiográfica (CBCT) de controle após um ano. Imagens adaptadas de (N. Pinto et al., 2017).

3.2. Aplicações do L-PRF na medicina

3.2.1. Tratamento de úlceras de perna refratária

O termo “úlceras cutâneas” refere-se a um grupo heterogêneo de feridas, incluindo úlcera venosa da perna, úlcera do “pé diabético”, úlcera por pressão, úlceras arteriais e neurotróficas (N. R. Pinto et al., 2018). A ulceração crônica da região inferior da perna (incluindo o pé), é uma doença frequente, que causa dor e rejeição social, além de ter custos consideráveis (García & Orsini, 2020). A utilização de fibrina rica em plaquetas e leucócitos no tratamento de úlceras cutâneas, constitui um método simples e económico, amplamente utilizado em alguns países, mas desconhecido ou negligenciado na maioria dos outros (N. R. Pinto et al., 2018). O L-PRF surgiu, portanto, como um biomaterial cicatrizante, utilizado no recobrimento de feridas cutâneas, com resultados preliminares que mostraram o seu efeito regenerador nas feridas ulceradas crônicas (García & Orsini, 2020, N. R. Pinto et al., 2018). O caso clínico a baixo apresentado (Figura 45) mostra a aplicação de membranas de L-PRF no tratamento de feridas cutâneas de maiores dimensões. A ferida cutânea deve ser lavada e desinfetada previamente à colocação das membranas. Estas devem cobrir toda a área de extensão da lesão. É recomendado a

repetição deste procedimento até ao encerramento completo da ferida (N. R. Pinto et al., 2018).

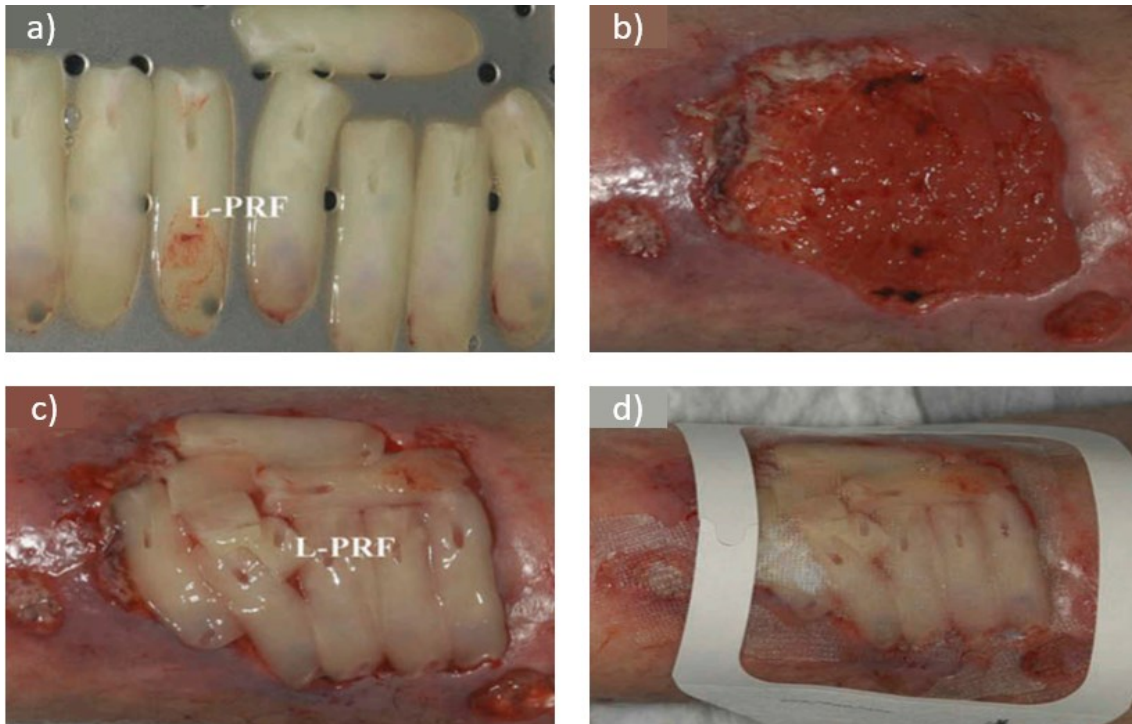


Figura 45 - Regeneração de úlcera crónica da pele com L-PRF. A) – Membranas de L-PRF pelo protocolo Intra-Spin; b) – Imagem de uma ferida cutânea da perna após lavagem cutânea; c) – Colocação das membranas de L-PRF cobrindo toda a área da ferida cutânea; d) – Isolamento da ferida operatória e das membranas com gaze vaselinada. Imagens retiradas de (N. R. Pinto et al., 2018).

III. CONCLUSÃO

Ao longo dos anos, tem se estudado a utilização dos concentrados plaquetários na prática diária em Medicina e na Medicina Dentária. Os concentrados plaquetários têm demonstrado uma grande importância nas áreas médicas, contribuindo como fator coadjuvante nos processos de regeneração e cicatrização tecidual. Já muito se conhece sobre as propriedades da fibrina rica em plaquetas e leucócitos, a qual constitui um concentrado plaquetário de segunda geração autólogo, o que lhe confere propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e regenerativas, devido à liberação de fatores de crescimento e citocinas derivadas dos leucócitos e plaquetas. O L-PRF apresenta-se sob a forma de membranas, *plugs*, fibrinogénio e *block* o que lhe confere versatilidade. Apesar de existirem outros protocolos de obtenção de concentrados plaquetários, o protocolo de centrifugação Intra-Spin apresenta bons resultados clínicos. Verificou-se que as membranas de L-PRF dele resultantes, apresentam melhores características como o peso, a dimensão, maior estabilidade tridimensional flexível devido à matriz de fibrina trimolecular, maior conteúdo celular, refletindo-se numa maior liberação de fatores de crescimento e citocinas, quando comparado com outras centrifugadoras de outros protocolos. A utilização do L-PRF tem como vantagens, a ausência de manipulação bioquímica, a facilidade de preparação, baixo custo, possibilidade de ser suturada, capacidade regeneradora de tecidos e cicatrização de feridas e capacidade de diminuir a dor pós-operatória, no entanto serão necessários mais estudos para comprovar esta evidência. De acordo com os objetivos propostos, verificámos que o L-PRF apresenta aplicabilidade em diversas áreas da Medicina Dentária, sobretudo na cirurgia oral, na periodontologia e na implantologia. Outras áreas de aplicação do L-PRF como o controlo da dor da articulação temporomandibular, os movimentos dentários ortodônticos, a medicina estética orofacial, constituem novos desafios da sua utilização. Na medicina o L-PRF demonstrou alcançar elevado sucesso em tratamentos regenerativos de queimaduras e pés diabéticos, evidenciando-se na rapidez da cicatrização e redução dos custos para o paciente. Este protocolo apresenta enorme indicação para utilização na maioria dos procedimentos clínicos regenerativos em cirurgia oral ou maxilofacial, no entanto a falta de preparação do médico dentista na realização das venopunções, requer planeamento antecipado com salvaguarda da presença de técnico habilitado para esse propósito, constituindo assim um obstáculo à sua utilização. A formação complementar nesta área, será essencial para um maior desenvolvimento e divulgação da técnica.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Aalam, A.-A., & Nowzari, H. (2007). Mandibular cortical bone grafts part 1: anatomy, healing process, and influencing factors. *Compendium of Continuing Education in Dentistry (Jamesburg, N.J.: 1995)*, 28(4), 206–212; quiz 213
- Andia, I., & Abate, M. (2013). Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regenerative Medicine*, 8(5), 645–658. <https://doi.org/10.2217/rme.13.59>
- Andrade, C., Camino, J., Nally, M., Quirynen, M., Martínez, B., & Pinto, N. (2020). Combining autologous particulate dentin, L-PRF, and fibrinogen to create a matrix for predictable ridge preservation: a pilot clinical study. *Clinical Oral Investigations*, 24(3), 1151–1160. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02922-z>
- Anitua, E., Fuente, M. de la, Muruzabal, F., & Merayo-Llodes, J. (2021). Development and optimization of a personalized fibrin membrane derived from the plasma rich in growth factors technology. *Experimental Eye Research*, 203. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108402>
- Anitua, E., Muruzabal, F., de la Fuente, M., Riestra, A., Merayo-Llodes, J., & Orive, G. (2016). PRGF exerts more potent proliferative and anti-inflammatory effects than autologous serum on a cell culture inflammatory model. *Experimental Eye Research*, 151, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.08.012>
- Bass, S. L., Saxon, L., Daly, R. M., Turner, C. H., Robling, A. G., Seeman, E., & Stuckey, S. (2002). The Effect of Mechanical Loading on the Size and Shape of Bone in Pre-, Peri-, and Postpubertal Girls: A Study in Tennis Players. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(12), 2274–2280. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.12.2274>
- Bielecki, T., & M. Dohan Ehrenfest, D. (2012). Editorials [Hot Topic: Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma/Fibrin in Medicine - Past, Present, Future (Guest Editors: Tomasz Bielecki and David M. Dohan Ehrenfest)]. *Current Pharmaceutical*

Biotechnology, 13(7), i–ii. <https://doi.org/10.2174/138920112800624274>

Brånemark, P.-I., Lindström, J., Hallén, O., Breine, U., Jeppson, P.-H., & Öhman, A. (1975). Reconstruction of the Defective Mandible. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*, 9(2), 116–128. <https://doi.org/10.3109/02844317509022776>

Burchardt, H. (1987). Biology of bone transplantation. *The Orthopedic Clinics of North America*, 18(2), 187–196

Cano-Durán, J. A., Peña-Cardelles, J. F., Ortega-Concepción, D., Paredes-Rodríguez, V. M., García-Riart, M., & López-Quiles, J. (2017). The role of Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the treatment of the medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 9(8), e1051–e1059. <https://doi.org/10.4317/jced.54154>

Castro, A. B., Cortellini, S., Temmerman, A., Li, X., Pinto, N., Teughels, W., & Quirynen, M. (2019). Characterization of the Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin Block: Release of Growth Factors, Cellular Content, and Structure. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 34(4), 855–864. <https://doi.org/10.11607/jomi.7275>

Castro, A. B., Herrero, E. R., Slomka, V., Pinto, N., Teughels, W., & Quirynen, M. (2019). Antimicrobial capacity of Leucocyte-and Platelet Rich Fibrin against periodontal pathogens. *Scientific Reports*, 9(1), 8188. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44755-6>

Castro, A. B., Meschi, N., Temmerman, A., Pinto, N., Lambrechts, P., Teughels, W., & Quirynen, M. (2017). Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(1), 67–82. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12643>

Castro, A., Cortellini, S., Temmerman, A., Li, X., Pinto, N., Teughels, W., & Quirynen,

- M. (2019). Characterization of the Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin Block: Release of Growth Factors, Cellular Content, and Structure. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 34(4), 855–864. <https://doi.org/10.11607/jomi.7275>
- Clark, R. A. F., Musillo, M., & Stransky, T. (2020). Wound repair: basic biology to tissue engineering. In *Principles of Tissue Engineering* (pp. 1309–1329). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818422-6.00072-1>
- Cordaro, L., Amadè, D. S., & Cordaro, M. (2002). Clinical results of alveolar ridge augmentation with mandibular block bone grafts in partially edentulous patients prior to implant placement. *Clinical Oral Implants Research*, 13(1), 103–111. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2002.130113.x>
- Cortellini, S., Castro, A. B., Temmerman, A., van Dessel, J., Pinto, N., Jacobs, R., & Quirynen, M. (2018). Leucocyte- and platelet-rich fibrin block for bone augmentation procedure: A proof-of-concept study. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(5), 624–634. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12877>
- da Silva, M. T., de Almeida Barros Mourão, C. F., Mello-Machado, R. C., Montemezzi, P., de Lima Barbosa, R., Sartoretto, S. C., Leite, P. E. C., Javid, K., Kawase, T., Alves, G. G., & Calasans-Maia, M. D. (2021). Effects of Leukocyte-Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) on Pain, Soft Tissue Healing, Growth Factors, and Cytokines after Third Molar Extraction: A Randomized, Split-Mouth, Double-Blinded Clinical Trial. *Applied Sciences*, 11(4), 1666. <https://doi.org/10.3390/app11041666>
- Daugela, P., Grimuta, V., Sakavicius, D., Jonaitis, J., & Juodzbaly, G. (2018). Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on the outcomes of impacted mandibular third molar removal surgery: A split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)*, 49(5), 377–388. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a40113>
- de Almeida Barros Mourão, C. F., de Mello-Machado, R. C., Javid, K., & Moraschini, V. (2020). The use of leukocyte- and platelet-rich fibrin in the management of soft

- tissue healing and pain in post-extraction sockets: A randomized clinical trial. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 48(4), 452–457. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2020.02.020>
- del Corso, M., Mazor, Z., Rutkowski, J. L., & Ehrenfest, D. M. D. (2012). The Use of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin During Immediate Postextractive Implantation and Loading for the Esthetic Replacement of a Fractured Maxillary Central Incisor. *Journal of Oral Implantology*, 38(2), 181–187. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-12-CL.3802>
- di Liddo, R., Bertalot, T., Borean, A., Pirola, I., Argentoni, A., Schrenk, S., Cenzi, C., Capelli, S., Conconi, M. T., & Parnigotto, P. P. (2018). Leucocyte and Platelet-rich Fibrin: a carrier of autologous multipotent cells for regenerative medicine. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(3), 1840–1854. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13468>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbé, G., del Corso, M., Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2012). 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). *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1145–1152. <https://doi.org/10.2174/138920112800624382>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Corso, M. del, Kang, B. S., Nally, M., Lanata, N., Wang, H. L., & Quirynen, M. (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*, 29(2), 171–184. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1293812>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>

- Dragonas, P., Katsaros, T., Avila-Ortiz, G., Chambrone, L., Schiavo, J. H., & Palaiologou, A. (2019). Effects of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(2), 250–262. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.06.003>
- Ella, B., Laurentjoye, M., Sedarat, C., Masson, E., & Rouas, A. (2014). Mandibular Ridge Expansion Using a Horizontal Bone-Splitting Technique and Synthetic Bone Substitute: An Alternative to Bone Block Grafting? *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 29(1), 135–140. <https://doi.org/10.11607/jomi.2201>
- Faot, F., Deprez, S., Vandamme, K., Camargos, G. v., Pinto, N., Wouters, J., van den Oord, J., Quirynen, M., & Duyck, J. (2017). The effect of L-PRF membranes on bone healing in rabbit tibiae bone defects: micro-CT and biomarker results. *Scientific Reports*, 7(1), 46452. <https://doi.org/10.1038/srep46452>
- Fujioka-Kobayashi, M., Kono, M., Katagiri, H., Schaller, B., Zhang, Y., Sculean, A., & Miron, R. J. (2020). Histological comparison of Platelet rich fibrin clots prepared by fixed-angle versus horizontal centrifugation. *Platelets*, 32(3), 413–419. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1754382>
- García, H. E., & Orsini, F. R. (2020). *Concentrado de plaquetas, fibrina y leucocitos : uso en odontología y en otras especialidades* (First Edition, Vol. 1). EDRA.
- Giannini, S., Cielo, A., Bonanome, L., Rastelli, C., Derla, C., Corpaci, F., & Falisi, G. (2015). Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 19(6), 927–930. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855914>
- Greaves, N. S., Ashcroft, K. J., Baguneid, M., & Bayat, A. (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of Dermatological Science*, 72(3), 206–217. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.07.008>

- Haapasalo, H., Kontulainen, S., Sievänen, H., Kannus, P., Järvinen, M., & Vuori, I. (2000). Exercise-induced bone gain is due to enlargement in bone size without a change in volumetric bone density: a peripheral quantitative computed tomography study of the upper arms of male tennis players. *Bone*, 27(3), 351–357. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(00\)00331-8](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(00)00331-8)
- Hermida-Nogueira, L., Barrachina, M. N., Morán, L. A., Bravo, S., Diz, P., García, Á., & Blanco, J. (2020). Deciphering the secretome of leukocyte-platelet rich fibrin: towards a better understanding of its wound healing properties. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71419-7>
- Jasmine, S., Thangavelu, A., Krishnamoorthy, R., Alshuniaber, M. A., & Alshatwi, A. A. (2021). Cytokine Expression Pattern and Protein-Protein interaction network analysis of Leucocyte Rich Platelet Rich Fibrin and Injectable Form of Platelet Rich Fibrin. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 25(2), 223–229. <https://doi.org/10.1007/s10006-020-00899-8>
- Kobayashi, E., Flückiger, L., Fujioka-Kobayashi, M., Sawada, K., Sculean, A., Schaller, B., & Miron, R. J. (2016). Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical Oral Investigations*, 20(9), 2353–2360. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1719-1>
- lewis, V. S., Rodriguez K, Bissonni M, Nuñez M, & Jm *. (2020). *Utilización de Fibrina Rica en Plaquetas y leucocitos L-PRF en defectos de lesiones periapicales y periodontales de larga evolución.* <https://www.semanticscholar.org/paper/Utilizaci%C3%B3n-de-Fibrina-Rica-en-Plaquetas-y-L%E2%80%93PRF-y-Lewis-Pena/49010cffd735a6525b43360399e80ccf38a8fe84>
- Louis, P. J. (2010). Vertical Ridge Augmentation Using Titanium Mesh. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 22(3), 353–368. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2010.04.005>
- Louis, P. J., Gutta, R., Said-Al-Naief, N., & Bartolucci, A. A. (2008). Reconstruction of

- the Maxilla and Mandible With Particulate Bone Graft and Titanium Mesh for Implant Placement. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 66(2), 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2007.08.022>
- Lourenço, E. S., Alves, G. G., de Lima Barbosa, R., Spiegel, C. N., de Mello-Machado, R. C., Al-Maawi, S., Ghanaati, S., & de Almeida Barros Mourão, C. F. (2020). Effects of rotor angle and time after centrifugation on the biological in vitro properties of platelet rich fibrin membranes. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 109(1), 60–68. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34680>
- Mancini, L., Tarallo, F., Quinzi, V., Fratini, A., Mummolo, S., & Marchetti, E. (2021). Platelet-Rich Fibrin in Single and Multiple Coronally Advanced Flap for Type 1 Recession: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina*, 57(2), 144. <https://doi.org/10.3390/medicina57020144>
- Mauceri, R., Murgia, D., Cicero, O., Paternò, L., Fiorillo, L., de Caro, V., & Campisi, G. (2021). Leucocyte- and Platelet-Rich Fibrin Block: Its Use for the Treatment of a Large Cyst with Implant-Based Rehabilitation. *Medicina*, 57(2), 180. <https://doi.org/10.3390/medicina57020180>
- Muñoz-Guerra, M. F., Naval-Gías, L., & Capote-Moreno, A. (2009). Le Fort I Osteotomy, Bilateral Sinus Lift, and Inlay Bone-Grafting for Reconstruction in the Severely Atrophic Maxilla: A New Vision of the Sandwich Technique, Using Bone Scrapers and Piezosurgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 67(3), 613–618. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2008.09.004>
- Nogueira, L. S., Martinez, E. F., Peruzzo, D. C., Joly, J. C., & Napimoga, M. H. (2020). Inflammatory cell profile using different autologous fibrin protocols. *Tissue and Cell*, 67, 101407. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101407>
- Orwoll, E. S. (2003). Toward an expanded understanding of the role of the periosteum in skeletal health. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 18(6), 949–954.

<https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.6.949>

- Padilha, W., Soares, A., Navarro-Junior, H., Joly, J., Peruzzo, D., Napimoga, M., & Martinez, E. (2018). Histologic Evaluation of Leucocyte- and Platelet-Rich Fibrin in the Inflammatory Process and Repair of Noncritical Bone Defects in the Calvaria of Rats. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 33(6), 1206–1212. <https://doi.org/10.11607/jomi.6604>
- Peck, M. T., Hiss, D. C., & Stephen, L. (2016). Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *South African Dental Journal*, 298–302. http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0011-85162016000700004
- Pinto, N., Harnish, A., Cabrera, C., Andrade, C., Druttman, T., & Brizuela, C. (2017). An Innovative Regenerative Endodontic Procedure Using Leukocyte and Platelet-rich Fibrin Associated with Apical Surgery: A Case Report. *Journal of Endodontics*, 43(11), 1828–1834. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.07.002>
- Pinto, N. R., Ubilla, M., Zamora, Y., del Rio, V., Dohan Ehrenfest, D. M., & Quirynen, M. (2018). Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medicine strategy for the treatment of refractory leg ulcers: a prospective cohort study. *Platelets*, 29(5), 468–475. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327654>
- Powell, C. A., Casarez-Quintana, A., Zellner, J., Al-Bayati, O., & Font, K. (2022). The application of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) in maxillary sinus augmentation. *Clinical Advances in Periodontics*. <https://doi.org/10.1002/cap.10216>
- Quirynen, M., & Pinto, N. R. (2022). *LEUKOCYTE - AND PLATELET-RICH FIBRIN IN ORAL REGENERATIVE PROCEDURES* (1st Edition). Quintessence Publishing Company
- Raëssadat, S. A., Babae, M., Rayegani, S. M., Hashemi, Z., Hamidieh, A. A., Mojgani, P., & Vanda, H. F. (2017). An overview of platelet products (PRP, PRGF, PRF, etc.)

in the Iranian studies. *Future Science OA*, 3(4), FSO231.
<https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0045>

Ratajczak, J., Vangansewinkel, T., Gervois, P., Merckx, G., Hilkens, P., Quirynen, M., Lambrechts, I., & Bronckaers, A. (2018). Angiogenic Properties of 'Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin.' *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32936-8>

Salazar, J. D., Unda, P., Ortiz, A., & Sandoval Portilla, F. (2018). Utilización de PRF como tratamiento alternativo de la osteonecrosis por bifosfonatos. Primeras impresiones. *OdontoInvestigación*, 4(2). <https://doi.org/10.18272/oi.v4i2.1283>

Sam, G., Vadakkekuttical, R., & Amol, N. (2015). In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(1), 32. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.145821>

Sanz Ruiz, A., & Beckhaus, A. A. (2015). Cubrimiento de recessiones múltiples: técnica de túnel con autoinjerto de tejido conectivo y L-PRF. *Revista DM Modern Dentista*. <https://www.eldentistamoderno.com/texto-diario/mostrar/3523395/cubrimiento-recesiones-multiples-tecnica-tunel-autoinjerto-tejido-conectivo-l-prf-casos-clinicos>

Solakoglu, Ö., Heydecke, G., Amiri, N., & Anitua, E. (2020). The use of plasma rich in growth factors (PRGF) in guided tissue regeneration and guided bone regeneration. A review of histological, immunohistochemical, histomorphometrical, radiological and clinical results in humans. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 231, 151528. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151528>

Temmerman, A., Cleeren, G. J., Castro, A. B., Teughels, W., & Quirynen, M. (2018). L-PRF for increasing the width of keratinized mucosa around implants: A split-mouth, randomized, controlled pilot clinical trial. *Journal of Periodontal Research*, 53(5), 793–800. <https://doi.org/10.1111/jre.12568>

- Tovar, N., Benalcázar Jalkh, E. B., Ramalho, I. S., Rodriguez Colon, R., Kim, H., Bonfante, E. A., Torroni, A., Coelho, P. G., & Witek, L. (2021). Effects of relative centrifugation force on L-PRF: An in vivo submandibular boney defect regeneration study. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 109(12), 2237–2245. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34885>
- Tunali, M., Özdemir, H., Küçükodaci, Z., Akman, S., Yaprak, E., Toker, H., & Firatli, E. (2014). A novel platelet concentrate: Titanium-prepared platelet-rich fibrin. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/209548>
- Vahabi, S., Vaziri, S., Torshabi, M., & Rezaei Esfahrood, Z. (2015). Effects of Plasma Rich in Growth Factors and Platelet-Rich Fibrin on Proliferation and Viability of Human Gingival Fibroblasts. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 12(7), 504–512. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26877740>
- Xu, J., Gou, L., Zhang, P., Li, H., & Qiu, S. (2020). Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Australian Dental Journal*, 65(2), 131–142. <https://doi.org/10.1111/adj.12754>
- Zarb, G., Lekholm, U., Albrektsson, T., & Tenenbaum, H. (2002). *Aging, Osteoporosis, and Dental Implants* (First Edition, Vol. 1). Quintessence Publishing Company.

ANEXOS

U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION

Home Food Drugs Medical Devices Radiation-Emitting Products Vaccines, Blood & Biologics Animal & Veterinary Cosmetics Tobacco Products

510(k) Premarket Notification

FDA Home Medical Devices Databases

CDRH SuperSearch

510(k) | DeNovo | Registration & Listing | Adverse Events | Recalls | PMA | HDE | Classification | Standards
CFR Title 21 | Radiation-Emitting Products | X-Ray Assembler | Medsun Reports | CLIA | TPLC

New Search		Biologics Clearance Letters and 510(k) Summaries		Back To Search Results	
Device Classification Name		Platelet And Plasma Separator For Bone Graft Handling			
510(K) Number		BK120048			
Tradename		Intra-Spin System			
Device Name		Platelet And Plasma Separator For Bone Graft Handling			
Original Applicant		Intra-Lock International 6560 West Rogers Circle Boca Raton, FL 33487			
Regulation Number		864 9245			
Classification Product Code		ORG			
Date Received		08/17/2012			
Decision Date		01/28/2013			
Decision		Substantially Equivalent (SE)			
Classification Advisory Committee		Hematology			
Review Advisory Committee		Hematology			
Type		510(K) Traditional			
Total Product Life Cycle (TPLC)		TPLC Device Report			
Reviewed By Third Party		No			
Expedited Review		No			
Combination Product		No			
In Vitro Product		No			

Submit an article Journal homepage

22,021 Views
127 CrossRef citations to date
2 Altmetric

Original Article

The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane

David M. Dohan Ehrenfest, Nelson R. Pinto, Andrea Pereda, Paula Jiménez, Marco Del Corso, Byung-Soo Kang, ...show all
Pages 171-184 | Received 20 Dec 2016, Accepted 23 Jan 2017, Published online: 24 Apr 2017

Download citation <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1293812> Check for updates

Full Article Figures & data References Citations Metrics Licensing Reprints & Permissions PDF

Licensing

Published with license by Taylor & Francis© David M. Dohan Ehrenfest, Nelson R. Pinto, Andrea Pereda, Paula Jiménez, Marco Del Corso, Byung-Soo Kang, Mauricio Nally, Nicole Lanata, Hom-Lay Wang, and Marc Quiryren.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, and is not altered, transformed, or built upon in any way.

Relate

- People read
- Leucocy regener of refract study
- Nelson F Platelets Published
- Slow rel thromb fibrin (F surgical

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number 5335651496214

License date Jun 24, 2022

Licensed Content Publisher John Wiley and Sons

Licensed Content Publication Journal of Periodontal Research

Licensed Content Title L-PRF for increasing the width of keratinized mucosa around implants: A split-mouth, randomized, controlled pilot clinical trial

Licensed Content Author A. Temmerman, G. J. Cleeren, A. B. Castro, et al

Licensed Content Date Jun 2, 2018

Licensed Content Volume 53

Licensed Content Issue 5

Licensed Content Pages 8

Type of use Dissertation/Thesis

Requestor type University/Academic

Format Print and electronic

Portion Figure/table

Number of figures/tables 3

Will you be translating? No

Title Applications of L-PRF in oral surgery

Institution name Instituto Universitário Egas Moniz

Expected presentation date Oct 2022

Order reference number 3/2022

Portions Figura 1 na página 3; Figura 2 e 3 na página 4

Requestor Location Instituto Universitário Egas Moniz
Praça António Macedo Nº5
Praça António Macedo Nº5
Lisboa, 2610-289
Portugal
Attn: Instituto Universitário Egas Moniz

Publisher Tax ID EU826007151

Total 0.00 EUR

Terms and Conditions

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	5335071227273
License date	Jun 23, 2022
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH PART A
Licensed Content Title	Effects of relative centrifugation force on L-PRF: An in vivo submandibular boney defect regeneration study
Licensed Content Author	Nick Tovar, Ernesto B. Benalcázar Jalkh, Ilana S. Ramalho, et al
Licensed Content Date	Jun 3, 2021
Licensed Content Volume	109
Licensed Content Issue	12
Licensed Content Pages	9
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	2
Will you be translating?	No
Title	Applications of L-PRF in oral surgery
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2022
Order reference number	2/2022
Portions	Figura 1 na página 2; Figura 6 na página 7
Requestor Location	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo N.º5 Praça António Macedo N.º5 Lisboa, 2610-289 Portugal Attn: Instituto Universitário Egas Moniz
Publisher Tax ID	EU826007151
Billing Type	Invoice
Billing Address	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo N.º5
Total	0.00 EUR

Terms and Conditions

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	5364270225417
License date	Aug 08, 2022
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Journal of Clinical Periodontology
Licensed Content Title	Leucocyte- and platelet-rich fibrin block for bone augmentation procedure: A proof-of-concept study
Licensed Content Author	Marc Quirynen, Reinhilde Jacobs, Nelson Pinto, et al
Licensed Content Date	Apr 10, 2018
Licensed Content Volume	45
Licensed Content Issue	5
Licensed Content Pages	11
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	5
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Title	Applications of L-PRF in oral surgery
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2022
Order reference number	4 em 2022
Portions	Figura 1, figura 3, figura 4, figura 5, figura 7
Specific Languages	português
Requestor Location	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo Nº5 Praça António Macedo Nº5 Lisboa, 2610-289 Portugal Attn: Instituto Universitário Egas Moniz
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 EUR

Terms and Conditions

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5384580833855
License date	Sep 09, 2022
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Journal of Dermatological Science
Licensed Content Title	Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing
Licensed Content Author	Nicholas S. Greaves, Kevin J. Ashcroft, Mohamed Baguneid, Ardeshir Bayat
Licensed Content Date	Dec 1, 2013
Licensed Content Volume	72
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	12
Start Page	206
End Page	217
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Title	Applications of L-PRF in oral surgery
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2022
Order reference number	5 em 2022
Portions	Figura 1, figura 2
Specific Languages	Português
Requestor Location	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo N°5 Praça António Macedo N°5 Lisboa, 2610-289 Portugal Attn: Instituto Universitário Egas Moniz
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR

Terms and Conditions

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5318840096825
License date	May 30, 2022
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Trends in Biotechnology
Licensed Content Title	Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)
Licensed Content Author	David M. Dohan Ehrenfest,Lars Rasmusson,Tomas Albrektsson
Licensed Content Date	Mar 1, 2009
Licensed Content Volume	27
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	10
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	4
Format	electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Title	Applications of L-PRF in oral surgery
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2022
Order reference number	112505
Portions	Tabela1, tabela 2, Figura 3, fFigura 4
Specific Languages	Português
Requestor Location	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo N°5 Praça António Macedo N°5 Lisboa, 2610-289 Portugal Attn: Instituto Universitário Egas Moniz
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR

Terms and Conditions

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Sep 09, 2022

This Agreement between Instituto Universitário Egas Moniz -- Gonçalo Martins ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5370280461406
License date	Aug 15, 2022
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Journal of Endodontics
Licensed Content Title	An Innovative Regenerative Endodontic Procedure Using Leukocyte and Platelet-rich Fibrin Associated with Apical Surgery: A Case Report
Licensed Content Author	Nelson Pinto,Alexandra Harnish,Carolina Cabrera,Catherine Andrade,Tony Druttman,Claudia Brizucla
Licensed Content Date	Nov 1, 2017
Licensed Content Volume	43
Licensed Content Issue	11
Licensed Content Pages	7
Start Page	1828
End Page	1834
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Title	Applications of L-PRF in oral surgery
Institution name	Instituto Universitário Egas Moniz
Expected presentation date	Oct 2022
Order reference number	4 em 2022
Portions	Figura 2, figura 3
Specific Languages	Português
Requestor Location	Instituto Universitário Egas Moniz Praça António Macedo N.º5 Praça António Macedo N.º5 Lisboa, 2610-289 Portugal Attn: Instituto Universitário Egas Moniz
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR

Home ▶ All Journals ▶ Platelets ▶ List of issues ▶ Volume 29, Issue 5 ▶ Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medi...

Submit an article Journal homepage

9,018 Views
56 CrossRef citations to date
1 Altmetric

Original Article
Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medicine strategy for the treatment of refractory leg ulcers: a prospective cohort study
Nelson R. Pinto, Matias Ubilla, Yelka Zamora, Verónica Del Rio, David M. Dohan Ehrenfest & Marc Quirynen
Pages 468-475 | Received 30 Jan 2017, Accepted 02 May 2017, Published online: 20 Jul 2017

Download citation <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327654> Check for updates

Full Article Figures & data References Citations Metrics Licensing Reprints & Permissions PDF

Licensing

Published with license by Taylor & Francis© Nelson R. Pinto, Matias Ubilla, Yelka Zamora, Verónica Del Rio, David M. Dohan Ehrenfest, Marc Quirynen.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, and is not altered, transformed, or built upon in any way.

Related rese

People also read

The impact of th centrifugation p factors, and fibr and platelet-ri ...

David M. Dohan E Platelets
Published online: 24

Platelet-rich fibr factors as novel hard-to-heal ski Meta-analysis ...

Jianguo Chen et a



Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
Para guga_t.m; Alda Teixeira

Responder

De: Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
Enviado: martes, 6 de septiembre de 2022 22:02
Para: IÑAKI GAMBORENA

From: IÑAKI GAMBORENA <gambmila@gmail.com>
Sent: Tuesday, September 6, 2022 9:43:18 PM
To: Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
Subject: Re: Pedido de utilização de imagens

Todos muy bien, gracias
por medio de la presente autorizo a Gonçalo Teixeira Martins a utilizar mis fotos para su trabajo de fin de curso obviamente con la utilizacion de mi nombre escrito en ellas
Sin otro particular
saludos
Iñaki


De: Gonçalo Teixeira Martins <guga_t.m@hotmail.com>
Enviado el: jueves, 28 de julio de 2022 19:08
Para: Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
Asunto: Pedido de utilização de imagens

Muito boa tarde D. Luis Garralda.
O meu nome é Gonçalo Teixeira Martins, sou aluno do 5º ano de medicina dentária do Instituto Universitário Egas Moniz.
Estou a realizar a minha dissertação cujo o tema é "As aplicações do L-PRF em cirurgia oral".
Venho por este e-mail pedir autorização de utilização das imagens presentes no catálogo do L-PRF que se encontra disponível em vosso site www.intralock.es.
Muito obrigado.
Melhores cumprimentos,

Gonçalo Martins

AUTORIZACIÓN DR. NELSON PINTO

 Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
Para: guga_fm
Cc: Alida Teixeira

 Dar seguimiento. Concluído em 9 de setembro de 2022.
Respondeu a esta mensagem a 07/09/2022 17:18.

 Responder  Responder a Todos  Reencaminhar 


De: Dr. Nelson Pinto <cursosdrpinto@gmail.com>
Enviado el: miércoles, 7 de septiembre de 2022 17:53
Para: Luis Garralda <luisgarralda@intralock.es>
CC: cursosdrpinto <cursosdrpinto@gmail.com>
Asunto: Re: MENSAJE AUTORIZACIÓN

Por medio de la presente , autorizo a Gonçalo Martins a que incluya en su trabajo de fin de curso titulado " As aplicações do L-PRF em cirurgia oral " imágenes obtenidas del libro "Leukocyte-and Platelet-Rich Fibrin in Oral Regenerative Procedures del que soy co-autor publicado por la Editorial Quintessence en el año 2022

Muy cordialmente

Prof. Dr. Nelson R. Pinto

Department of Periodontics and Implant Dentistry,
Faculty of Dentistry, University of the Andes, Santiago, Chile.
Visiting Professor Department of Oral Health Sciences / Periodontology
University Hospitals, Catholic University Leuven, Belgium.
Chairman of Research Center for Regenerative Medicine and Tissue Engineering.
Concepcion,Chile.
Av. Mons. Álvaro del Portillo 12.455
Las Condes, Santiago, Chile
Phone : +56 9 81 56 8439
<http://www.uandes.cl>

d.castro94@hotmail.com sent you caso siso via WeTransfer 



WeTransfer

This transfer expires on 2022-10-04 d.castro94@hotmail.com sent you caso siso 10 items, 111 MB in total · Expires on 4 October, 2022 Get your files [Download link](#)



Gonçalo Martins

Boa noite Dr. Diogo. Obrigado pelas fotografias que mandou. Posso utilizar estas fotografias na dissertação da minha tese "As aplicações do L-PRF na cirurgia or



Diogo Teixeira de Castro

para mim ▾

Bom dia Dr. Gonçalo ,

Pode utilizar as minhas fotos que lhe facultei.

Cumprimentos

Diogo Castro

Enviado do meu iPhone

No dia 27/09/2022, às 22:56, Gonçalo Martins <goncalomartins96@gmail.com> escreveu:

...

 Responder

 Encaminhar