

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

L-PRF EM CIRURGIA ORAL, APLICAÇÕES E VARIAÇÕES.

Trabalho submetido por
Louis Rolland
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2023

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

L-PRF EM CIRURGIA ORAL, APLICAÇÕES E VARIAÇÕES.

Trabalho submetido por
Louis Rolland
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Pedro de Melo e Moura

setembro de 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Doutor Pedro de Melo e Moura a sua orientação, disponibilidade, paciência e compreensão ao longo de todo o processo de execução da dissertação.

Agradeço à minha família todo o apoio e acompanhamento ao longo da minha vida, tendo sido essenciais nos últimos sete anos para a concretização deste desafio.

Agradeço aos meus amigos por estarem sempre por perto, e por me ter trazido tanta felicidade durante os cinco anos juntos.

RESUMO

Os concentrados de plaquetas são materiais que são utilizados há mais de vinte anos, com o objetivo de utilizar as nossas próprias funções fisiológicas de cicatrização e regeneração dos tecidos para uma utilização clínica ativa. Ao longo dos anos, os cientistas estão a estudar diferentes métodos de obtenção destes concentrados de plaquetas, a fim de torná-los mais eficazes, mais seguros de utilizar e mais simples de fabricar.

Além disso, os progressos da bioquímica permitiram compreender melhor os benefícios dos componentes do nosso sangue e os seus mecanismos, tais como a arquitetura da fibrina, o papel dos factores de crescimento derivados das plaquetas e a ação anti-inflamatória dos leucócitos.

Foi neste contexto que o Dr. Joseph Choukroun propôs, em 2001, um protocolo para a obtenção de um novo concentrado de plaquetas. Sem adição de anticoagulantes ou de outras substâncias químicas. Foi possível através da centrifugação de amostras de sangue de pacientes, criar um coágulo de fibrina rico em plaquetas e leucócitos: a L-PRF.

O objetivo deste estudo é realizar uma investigação de evidência clínica atualizada sobre a tecnologia L-PRF no campo multidisciplinar da cirurgia oral, com o intuito de identificar o real interesse na sua aplicação e a evolução das suas variações.

Palavras-chave: Fibrina rica em plaquetas, Cirurgia oral, Cicatrização, Regeneração

ABSTRAT

Platelet concentrates are materials that have been used for over twenty years, with the aim of using our own physiological functions of tissue healing and regeneration for active clinical use. Over the years, scientists have been studying different methods of obtaining these platelet concentrates in order to make them more effective, safer to use and simpler to produce.

In addition, advances in biochemistry have made it possible to better understand the benefits of the components of our blood and their mechanisms, such as the architecture of fibrin, the role of platelet-derived growth factors and the anti-inflammatory action of leukocytes.

It was in this context that Dr. Joseph Choukroun proposed, in 2001, a protocol for obtaining a new platelet concentrate. Without the addition of anticoagulants or other chemical substances, it was possible, by centrifuging blood samples from patients, to create a fibrin clot rich in platelets and leukocytes: L-PRF.

The aim of this study is to carry out an investigation of up-to-date clinical evidence on L-PRF technology in the multidisciplinary field of oral surgery, in order to identify the real interest in its application and the evolution of its variations.

Keywords: Platelet-rich fibrin, Oral surgery, Healing, Regeneration

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO	15
II.	DESENVOLVIMENTO.....	17
A.	História e definição.....	17
B.	Propriedades e Interesses.....	19
1.	Composição do sangue	19
a)	O plasma.....	19
b)	Os eritrócitos	19
c)	Os leucócitos	20
d)	As plaquetas	22
2.	A hemostasia	25
3.	Preparação da PRF	28
a)	Heterogeneidade dos protocolos	28
b)	Classificações e padronização	29
c)	L-PRF	30
(1)	O protocolo L-PRF	30
(2)	A estrutura da L-PRF	33
(3)	Conteúdo celular e molecular da L-PRF	35
d)	As inovações mais recentes	38
(1)	A-PRF e A-PRF+.....	38
(2)	I-PRF	42
C.	Aplicações da L-PRF:.....	46
1.	Implantologia	46
a)	Pós-extração	47
b)	Seio maxilar.....	52
c)	Comunicações e fístulas oro-antrais	57
d)	Fase de implante	61
2.	Cirurgia periodontal.....	62
a)	Peri-implantite	63
b)	Recessão gengival	64
c)	Defeitos periodontais	66
III.	CONCLUSÃO	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: A estrutura de uma plaqueta. A figura mostra a organização subcelular de uma plaqueta em repouso vista por microscopia electrónica. (Adaptado de Semple, 2011).....	23
Figura 2: Representação esquemática das etapas consecutivas da polimerização da fibrina. (Adaptado de I. Juhan-Vague, 2003).....	26
Figura 3: Microscopia electrónica de varrimento de coágulo de fibrina humano mostrado com ampliação de x30.000 (Adaptado de Neergaard-Petersen, 2013).....	27
Figura 4: Coágulos de L-PRF (Adaptado de fgmdentalgroup.com, 2020).....	28
Figura 5: A centrifugação do sangue imediatamente após a colheita permite a formação de um coágulo de fibrina estruturado...(Realizado pelo autor e adaptado de Dohan, 2006).....	31
Figura 6: A centrifugadora e o kit para a preparação de Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca Raton, FL, EUA)...(Adaptado de Ehrenfest, 2013).....	32
Figura 7: Microscopia electrónica de varrimento de coágulos de L-PRF produzidos em 3 dispositivos diferentes...(Adaptado de Miron, 2020).....	33
Figura 8: O coágulo de fibrina PRF obtido de acordo com o protocolo Process divide-se em 3 partes (Adaptado de Dohan, 2006).....	34
Figura 9: Modelagem teórica por computador de um coágulo de PRF. (1) Citocina retida intrinsecamente dentro das fibrilas de fibrina...(Adaptado de Dohan, 2006).....	35
Figura 10: Desenvolvimento de PRF sólidos e injectáveis segundo o conceito de centrifugação de baixa velocidade. (Realizado pelo autor e adaptado de Choukroun, 2017).....	39
Figura 11: Comparação da penetração dos diferentes tipos de células no coágulo... (Adaptado de Ghanaati, 2014).....	40
Figura 12: Técnica cirúrgica para aplicação de A-PRF e avaliação da epitelização pós-operatória nos grupos A-PRF e teste...(Sousa, 2020).....	41
Figura 13: : Secções de coloração (H&E) do defeito muscular dos grupos de controlo (“a” e “c”) e I-PRF (“b” e “d”)...(Adaptado de Zhang, 2019).....	43

Figura 14: Técnica cirúrgica nos defeitos gengivais tratados com retalho avançado coronalmente + enxerto de tecido conjuntivo + I-PRF...(Adaptado de Turer, 2019).....	45
Figura 15: Etapas do procedimento do grupo I-PRF e o xenoenxerto: elevação de um retalho de espessura total (a); colocação de implantes... (Adaptado de Işık, 2021).....	46
Figura 16: Vista oclusal do osso maxilar e dos alvéolos dentários dos quatro incisivos centrais superiores de um crânio secado. (Adaptado de Araújo, 2015).....	47
Figura 17: Sequência cirúrgica da aplicação de L-PRF. (A) Dente com coroa metálica e fratura da raiz com indicação para extração...(Mourão, 2020).....	49
Figura 18: Procedimento cirúrgico para a preservação do rebordo. Vista oclusal do maxilar superior após extração e curetagem dentária...(Adaptado de Castro, 2021).....	50
Figura 19: (a) Imagem 3D do osso alveolar na linha de base após a extração (amarelo), (b) 5 meses após a extração com a aplicação de L-PRF...(Adaptado de Sultan, 2020).....	52
Figura 20: Um bloco monocortical-canceloso de osso alogénico fresco congelado da crista ilíaca foi inserido na cavidade sinusal...(Adaptado de Stacchi, 2019).....	53
Figura 21: Elevação do seio maxilar utilizando a técnica da janela lateral...(Adaptado de Aoki, 2016).....	55
Figura 22: (a) coágulos de L-PRF em forma de membrana, (b) coágulos de L-PRF cortados em fragmentos, (c) mistura de L-PRF...(Adaptado de Nizam, 2018).....	56
Figura 23: (A) Representação esquemática pré-operatória de COA em dentes molares posteriores...(Adaptado de Pandikanda, 2019).....	58
Figura 24: Um exemplo da linha de incisão (A), rotação e elevação do retalho antral como primeira barreira (B)...(Adaptado de Jung, 2023).....	59
Figura 25: Paciente do grupo PRF com uma COA na região do dente 27...(Adaptado de Hunger, 2023).....	60
Figura 26: Colocação imediata do implante em combinação com o uso de PRF. (A) e (B) Fratura da cúspide superior direita...(Adaptado de Miron, 2017).....	62
Figura 27: Representação gráfica final da situação depois do recobrimento da recessão gengival com retalho de avanço coronal...(Adaptado de Pinto, 2018).....	65

Figura 28: Aplicação de L-PRF no local dador palatino de um enxerto de tecido conjuntivo autólogo para o tratamento de recessões gengivais (Adaptado de Alpan, 2019).....	66
Figura 29: Classificação dos defeitos periodontais de uma até três paredes (Adaptado de SmileMag, 2007).....	67
Figura 30: A utilização da PRF com mineral ósseo bovino anorgânico nos defeitos periodontais...(Adaptado de Segzin, 2017).....	68
Figura 31: A utilização da PRF como único material de preenchimento vs retalho de acesso aberto convencional...(Adaptado de Ghanaati, 2018).....	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Fatores de crescimento armazenados nos grânulos alfa das plaquetas envolvidos na angiogénese (Adaptado de Martinez, 2015).....	24
Tabela 2: Critérios (Landry et al., 1998) para a avaliação da cicatrização dos tecidos moles (Adaptado de Mourão, 2020).....	48

ÍNDICE DE SIGLAS

A-PRF - Fibrina rica em plaquetas avançada
BFGF - Fator Básico de Crescimento de Fibroblastos
BMP - Fator de Crescimento Ósseo Morfogenético
BSM - Materiais de substituição óssea
CBCT - Cone Beam Computed Tomography
CE – Conformidade Europeia
COA - Comunicação oroantral
CTGF - Fator de crescimento do tecido conjuntivo
EGF - Fator de crescimento epidérmico
ELISA - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ERO - Espécies Reativas de Oxigênio
FDA - Food and Drug Administration
FDBA - Freeze-Dried Bone Allograft
FOA – Fistula oroantral
GS - Esponja de gelatina
HGF - Fator de Crescimento dos Hepatócitos
IGF - Fator de Crescimento semelhante à Insulina
I-PRF - Fibrina rica em plaquetas injetável
L-PRF - Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
NCF - Nível clínico de fixação
PB – Profundidade das bolsas
PDGF - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PRF - Fibrina rica em plaquetas
PRP - Plasma rico em plaquetas
PRGF - Plasma rico em fatores de crescimento
RCF - Força centrífuga relativa
RCFmax - Força centrífuga relativa máxima
RPM - Rotações por minuto
SCGF - Fator derivado de células estromais
S-PRF - Fibrina rica em plaquetas “standard”
TGF - Fator de Crescimento Transformador
T-PRF - Fibrina rica em plaquetas preparado com titânio
VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

I. INTRODUÇÃO

A medicina regenerativa, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, consiste em substituir e/ou regenerar diferentes tecidos de órgãos alterados, após uma patologia ou lesão, por células saudáveis, a fim de restaurar sua estrutura e função. Mais do que uma prática simples, é uma ampla área interdisciplinar de pesquisa e aplicações clínicas. Além disso, é uma nova forma de pensar a cirurgia de hoje e do futuro, pois o sucesso na decodificação de doenças e as descobertas em biologia regenerativa estão a revolucionar as perspectivas de terapias preventivas e curativas. (Waldman, 2016)

Na odontologia, e mais especificamente na cirurgia oral, os novos materiais e tecnologias permitem aos clínicos um amplo arsenal de ferramentas e aplicações para uma melhor cicatrização e regeneração tecidual. Neste trabalho vamos debruçar sobre a Fibrina Rica em Plaquetas (PRF ou Platelet-Rich Fibrin). A PRF tem sido objeto de numerosos estudos nas últimas duas décadas e é atualmente um dos meios mais eficazes para auxiliar e promover a cicatrização e regeneração de tecidos moles e duros da boca, e certamente encontrará novas aplicações no futuro e será fonte de muitos avanços na medicina regenerativa. (Castro, 2017)

O objetivo deste trabalho será, dentro da literatura disponível, tentar compreender precisamente e esclarecer o que é a L-PRF e encontrar seus reais interesses e aplicações na cirurgia oral.

Além dos muitos materiais pré-fabricados disponíveis no mercado de biomateriais para uso cirúrgico, uma das grandes inovações nessa área é o uso de produtos derivados do sangue, especialmente os concentrados plaquetários. A sua introdução no campo da saúde e o conhecimento da sua contribuição como fator de crescimento representam um grande avanço médico. Portanto, nos últimos vinte anos, estes concentrados plaquetários autólogos têm sido objeto de numerosos estudos e estão mais do que nunca no centro da prática de muitos médicos dentistas. Pesquisadores e profissionais de saúde definiram um novo paradigma médico: induzir a regeneração de tecidos moles e duros usando suas próprias células de cicatrização, em vez de materiais exógenos. Diversas famílias de concentrados plaquetários surgiram, com diferentes protocolos de obtenção, propriedades e aplicações. Ao longo dos anos, estes concentrados têm evoluído em direção à padronização do processo de obtenção e à simplificação do uso. Essas evoluções foram marcadas por controvérsias e confusões, que podem ter suscitado questões por parte da comunidade científica.

II. DESENVOLVIMENTO

A. História e definição

A fibrina é utilizada há mais de meio-século em diversos processos cirúrgicos e de reparação como adesivo ou selante tecidual para controlar ou interromper sangramentos. (Scognamiglio, 2015) Foi na década de 1960 que os hematologistas compreenderam o potencial terapêutico do plasma e das plaquetas sanguíneas, e o termo "concentrados plaquetários" foi criado. Essa fração sanguínea rica em plaquetas era principalmente utilizada para transfusões em pacientes com trombocitopenia grave causada por aplasia medular, leucemia aguda ou perda significativa de sangue durante cirurgias prolongadas. (Gaydos, 1962)

Esse mesmo concentrado plasmático plaquetário passou a ser chamado posteriormente de plasma rico em plaquetas (PRP), uma nomenclatura estabelecida na época, sem especificar a sua organização tridimensional. (Dohan Ehrenfest, 2009)

A primeira utilização documentada do PRP autólogo para suas propriedades regenerativas data de 1998, quando Marx utilizou o PRP para criar uma matriz na reconstrução óssea da mandíbula. (Marx, 1998)

Esse estudo clínico marcou o ponto de partida e a popularização do uso do PRP e dos concentrados plaquetários. Mais tarde, Marx definiu o plasma rico em plaquetas como "uma suspensão de plaquetas em plasma, caracterizada por uma concentração plaquetária superior à concentração plaquetária do sangue total coletado para obtê-lo". (Marx, 2001)

Atualmente, o PRP autólogo possui diversas aplicações na medicina dentária regenerativa. Graças à sua capacidade de libertar uma abundância de fatores de crescimento que induzem a cicatrização, promovendo a multiplicação e a diferenciação de células-tronco, além de atuar como um suporte tridimensional ideal. (Meschi, 2016)

Por exemplo, na cirurgia oral, estudos têm sugerido um efeito benéfico do PRP e das suas variações no tratamento com implantes, elevação do seio maxilar, acelerando a regeneração óssea e favorecendo a angiogênese. (Stumbras, 2019)

Além disso, na periodontologia, pode se tornar uma modalidade de tratamento rotineiro para regeneração periodontal no futuro, devido às suas vantagens e, portanto, para uma variedade de aplicações. Também na endodontia, o PRP tem surgido como uma possível ferramenta para

apoiar o crescimento celular e a diferenciação dos tecidos vitais no canal radicular após a desinfecção, melhorando assim a regeneração endodôntica. (Rezaei, 2019)

Na cirurgia ortopédica, devido à sua alta concentração de plaquetas, ele melhora a cicatrização e permite que os tecidos, ligamentos ou tendões recuperem uma melhor elasticidade. Isso popularizou-se mundialmente com as intervenções cirúrgicas em atletas de alto nível, com o objetivo de acelerar a cicatrização e não reduzir a amplitude dos movimentos. (Casca, 2020)

Logo após os primeiros avanços do PRP, o grupo de investigação de Eduardo Anitua estudou os potenciais benefícios da otimização da preparação do PRP. (Anitua, 2006)

Através da modificação do protocolo inicial, obtiveram um produto estável denominado "Plasma Rico em Factores de Crescimento" (PRGF) que tem como objetivo aumentar a eficácia do PRP em várias aplicações clínicas. (Tsay, 2005)

Este material autólogo, com o seu efeito anti-inflamatório e o seu interesse na promoção das funções celulares, continua a ser utilizado em vários campos e continua a ser estudado para determinar a extensão do seu campo de utilização. (Anitua, 2022)

Ao mesmo tempo, a PRF, descrita por Choukroun no início dos anos 2000, rapidamente se tornou um dos símbolos da odontologia regenerativa. É uma matriz de fibrina rica em plaquetas e fatores de crescimento, que serve como material de enxerto autólogo e pode ser utilizado em diferentes formas e para diversas aplicações terapêuticas. (Choukroun, 2001)

Obtido por meio de um protocolo de preparação mais simples que o PRP, esse concentrado plaquetário permite obter um coágulo de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) sem modificação bioquímica do sangue, ou seja, sem adição de anticoagulantes. (Toffler, 2009)

Ela tem sido amplamente utilizada na cirurgia oral para maximizar o sucesso cirúrgico e minimizar as complicações pós-operatórias. (Castro, 2017)

Com base na tecnologia de Choukroun, foram posteriormente desenvolvidas diversas variações, com o objetivo de adaptar as propriedades biológicas e a maneabilidade dos concentrados plaquetários às necessidades clínicas, classificando-os como concentrados plaquetários de terceira geração. Entre essas variações, Choukroun criou um derivado da L-PRF modificando o protocolo de base que, como veremos, é amplamente utilizado atualmente em cirurgia oral e medicina dentária: a A-PRF e a A-PRF+ (*Advanced Platelet-Rich Fibrin*). (Ghanaati, 2014).

Também criou a I-PRF (*Injectable Platelet-Rich Fibrin*), que estendeu, entre outras coisas, os benefícios da PRF à dermatologia e aos seus tratamentos estéticos para o rejuvenescimento da pele (Bansod, 2020). Podemos observar o contínuo desenvolvimento e investigação mundial sobre estes concentrados de plaquetas, com a recentemente criada a T-PRF (*Titanium-prepared Platelet-Rich Fibrin*). (Bhattacharya, 2020).

Essas diferentes formas de concentrados plaquetários, como membranas, géis, líquidos ou combinações com substitutos ósseos (*sticky bone*), oferecem uma diversidade de aplicações clínicas hoje em dia, e muitos mais no futuro.

B. Propriedades e Interesses

Como nosso organismo cicatriza e regenera os tecidos após uma lesão?

Primeiro, vamos rever quais as substâncias que estão presentes no nosso sangue, que são a base do nosso produto de estudo. Em seguida, veremos como essas substâncias interagem no complexo processo de hemostasia e coagulação. Isso é importante para entender como os pesquisadores aprenderam com nossos próprios mecanismos de cicatrização e regeneração tecidual, para agir clinicamente hoje através de concentrados plaquetários, especialmente a PRF.

1. Composição do sangue

a) O plasma

O sangue é composto por glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas, que estão suspensos no plasma. O plasma constitui cerca de 55% do volume total de sangue. É composto principalmente por água (92% a 93%), sais, lípidos e hormonas e o plasma é especialmente rico em proteínas (6% a 8%), incluindo a albumina (a sua principal proteína). O seu papel é transportar células sanguíneas como as imunoglobulinas e os fatores de coagulação, que conferem ao plasma um papel importante na hemostasia. (Mathew, 2023)

b) Os eritrócitos

Os glóbulos vermelhos, que representam 34% a 45% do número total de células do sangue, que têm como função principal transportar oxigênio no sangue, são pequenos discos bicôncavos

sem núcleo, cuja cor vermelha é devida a proteína hemoglobina. Desempenham também um papel ativo na trombose venosa e arterial. (Byrnes, 2017)

c) Os leucócitos

Encontramos de 6.000 a 8.000 leucócitos, mais comumente chamados de glóbulos brancos, por milímetro cúbico de sangue. Na realidade, os leucócitos são uma grande família de células que podem ser classificadas em três grupos distintos de acordo com sua morfologia. Aqui vamos ver por que esses diferentes leucócitos despertaram interesse particular na obtenção de um concentrado plaquetário eficaz, como a L-PRF. (Bielecki, 2012)

Primeiramente, a família mais importante de leucócitos são os granulócitos, que representam de 40% a 80% dos leucócitos no organismo, e são compostos por três tipos de células: neutrófilos, eosinófilos e basófilos.

Os neutrófilos granulócitos possuem alta mobilidade, grande capacidade fagocitária e desempenham um papel importante na cicatrização. Uma vez ativados, eles migram para o local da infecção e expõem as suas substâncias antimicrobianas, como os péptidos antimicrobianos e as enzimas hidrolíticas, aos agentes patogênicos. (Levy, 2000)

Os eosinófilos granulócitos, em resposta a um estímulo, são mobilizados da medula óssea para o sangue e tecidos, e estão presentes em reações inflamatórias alérgicas e infecciosas parasitárias. Em casos de asma com infecção por rinovírus humano, vários estudos observaram uma associação significativa entre a produção de fibrina e os eosinófilos, o que pode sugerir um papel fundamental dos eosinófilos na ativação da coagulação. (Majoor, 2014)

Além disso, a resposta imune envolve a migração de granulócitos para a área infetada, onde libertam diversas moléculas efectoras, como histamina e factores de crescimento. As citocinas e quimiocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α e IL-8) também podem ser libertadas, tanto pelos leucócitos quanto pelos grânulos alfa plaquetários presentes no coágulo de L-PRF, que discutiremos posteriormente. Foi recentemente referido um papel dos eosinófilos na reparação e remodelação dos tecidos, demonstrando que os eosinófilos podem reduzir a inflamação e reparar os tecidos danificados. (Chusid, 2018) A liberação dessas moléculas através destes granulócitos torna-os factores-chave no processo inflamatório, contribuindo significativamente para o papel da L-PRF.

Posteriormente, os granulócitos basófilos são os menos numerosos dos leucócitos e desempenham um papel nas reações de hipersensibilidade imediata. (Schroeder, 2011) Além

disso, os basófilos humanos segregam vários fatores angiogénicos, como o Factor de Crescimento Endotelial Vascular-A (VEGF-A) e o Factor de Crescimento dos Hepatócitos (HGF). (Cerny-Reiterer, 2012)

Paralelamente, observa-se que muitas células imunitárias e marcadores importantes no cancro também promovem a cicatrização de feridas. Ambos os mecanismos parecem estar ligados à capacidade dos basófilos de segregar citocinas reguladoras, como a IL-4/IL-13. (Sadler, 2019)

Em segundo lugar, os linfócitos, que representam entre 20% e 40% de todos os leucócitos, incluem os linfócitos B e os linfócitos T. Cada um desses linfócitos desempenha o seu papel no combate a agentes patogénicos e nas respostas imunes inatas e adaptativas.

Os linfócitos B, ou células B, são principalmente responsáveis pela síntese de anticorpos, proteínas capazes de reconhecer e de se ligar a substâncias estranhas, como bactérias. Eles desempenham um papel importante na resposta humoral como principal meio de defesa contra agentes patogénicos extracelulares, como as bactérias *Staphylococcus* ou *Streptococcus*. Desempenham também um papel importante nas doenças auto-imunes através de vários mecanismos independentes destes anticorpos. (Barnas, 2019)

Quanto aos linfócitos T, eles são as células da imunidade adaptativa cuja função é gerenciar e controlar a imunidade celular. Eles compreendem muitos tipos de células com funções diversas, incluindo efectoras, reguladoras e *Natural Killer*. As células efectoras têm funções especializadas, como auxiliar os linfócitos B na sua função humoral (linfócitos T CD4+, também conhecidos como linfócitos T auxiliares). Esses linfócitos também são especializados na secreção de citocinas (incluindo interleucinas), moléculas que lhes permitem cooperar com outras células e estão envolvidas na eliminação de antígenos em, por exemplo, um local de ferida. Além disso, vale ressaltar a sua atividade citotóxica (linfócitos T CD8+). Os linfócitos T citotóxicos podem induzir a morte celular liberando enzimas e proteínas presentes em grânulos intracelulares, além de controlar as respostas imunes (linfócitos T supressores). As células reguladoras, como o próprio nome sugere, têm a função de inibir as respostas imunes. Algumas têm essa função desde a sua diferenciação no timo, enquanto outras se tornam reguladoras apenas de forma periférica e/ou transitória. Foi demonstrado que os linfócitos T e, em particular, esta subpopulação de células T reguladoras, promovem a reparação e a regeneração de vários tecidos, como os músculos esqueléticos e cardíacos, as células da pele e o sistema nervoso central. (Li, 2018)

Por fim, na grande família de leucócitos, temos os monócitos que representam apenas de 2% a 10% dos leucócitos no organismo. Os monócitos são os maiores leucócitos e são extremamente importantes para a resposta imune. Os monócitos maduros, derivados da diferenciação das células-tronco hematopoiéticas, circulam na corrente sanguínea por um período de um a três dias, antes de migrarem para os tecidos. Uma vez no local de uma infecção, esses monócitos diferenciam-se em macrófagos e células dendríticas, desempenhando um papel crucial na imunidade inata. Em resposta a uma infecção causada por agentes patogênicos, esses monócitos podem ser recrutados e ativados. Eles podem eliminar patógenos por fagocitose, produzir citocinas pró-inflamatórias, libertar espécies reativas de oxigênio (ERO) e modular a resposta imune dos linfócitos T da resposta imune adaptativa. Os macrófagos melhoram a cicatrização de feridas através da secreção de Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), Fator de Crescimento semelhante à Insulina-1 (IGF-1), VEGF e Fator de Crescimento Transformador-Beta-1 (TGF- β 1) para induzir a proliferação celular e a angiogênese (Vannella, 2017).

d) As plaquetas

As plaquetas (Figura 1), ou trombócitos, são células sanguíneas menores que os glóbulos brancos. Elas desempenham um papel ativo nas respostas inflamatórias e imunes, além de contribuírem para a coagulação sanguínea e cicatrização de feridas. *In vivo*, a sua ação coagulante é ativada quando um vaso sanguíneo se rompe. Além disso, as plaquetas são capazes de libertar proteínas biologicamente ativas que podem influenciar a absorção, crescimento e morfogênese celular. Isso faz das plaquetas sanguíneas uma fonte autóloga natural de fatores de crescimento e citocinas, que podem ser utilizados para fins terapêuticos para acelerar os processos de cicatrização fisiológicos. As plaquetas são um reservatório de fatores de crescimento envolvidos na síntese de colagénio, na proliferação, na migração, na diferenciação celular e na neovascularização dos tecidos. (Miron, 2017)

As plaquetas são compostas por três tipos de grânulos: grânulos alfa (α), grânulos densos e lisossomas. O conteúdo desses grânulos é liberado na circulação ou transferido para a superfície das plaquetas durante a ativação delas. O seu principal papel é armazenar moléculas biologicamente ativas que desempenham um papel na iniciação da coagulação ou no recrutamento de outras células durante processos inflamatórios. (Cecerska-Heryć, 2022)

Essas funções são essenciais para manter a integridade da parede vascular e garantir uma resposta imune adequada.

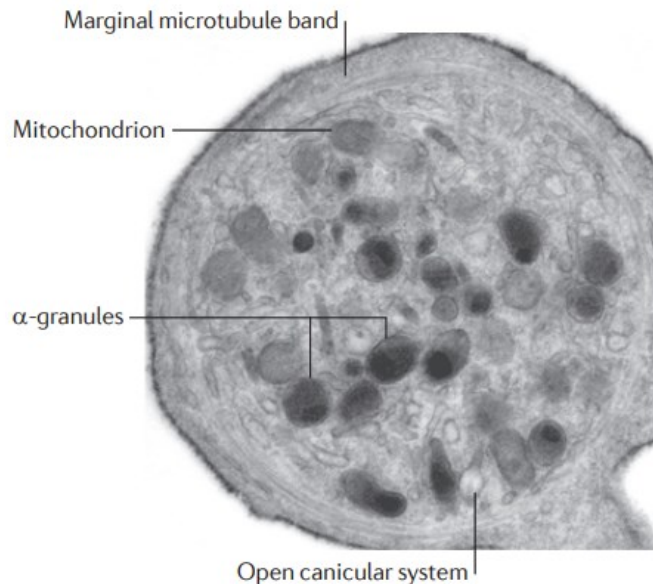


Figure 1: A estrutura de uma plaqueta. A figura mostra a organização subcelular de uma plaqueta em repouso vista por microscopia eletrônica. A banda marginal de microtúbulos circunda o citoplasma da plaqueta, mantendo a sua forma discoide. Os grânulos α constituem a maioria dos grânulos de armazenamento, intercalados com grânulos densos, mitocôndrias, peroxissomas e lisossomas. O sistema canicular aberto é formado por invaginações da membrana plasmática e é uma rede complexa de tubos de membrana entrelaçados que permeiam o citoplasma da plaqueta. (Semple, 2011)

Os grânulos alfa das plaquetas, com 40-80 por plaqueta, agrupam e armazenam uma abundância de substâncias (Tabela 1), como proteínas de coagulação, uma variedade de fatores de crescimento e inibidores de protease envolvidos nos mecanismos hemostáticos, inflamação, aterosclerose. Também para promover a defesa antimicrobiana do hospedeiro e regular a angiogênese. Eles formam um reservatório de fatores biológicos que contribuem ativamente para a angiogênese, em particular pelo papel fundamental na modulação da cicatrização de feridas. (Semple, 2011)

É claro que foram os fatores de crescimento presentes nesses grânulos plaquetários que despertaram o interesse dos pesquisadores em medicina regenerativa. Primeiro, para entender sua contribuição na cicatrização e regeneração tecidual, e posteriormente para a obtenção de concentrados plaquetários com finalidade cirúrgica. (Periayah, 2017)

Tabela 1: Fatores de crescimento armazenados nos grânulos alfa das plaquetas envolvidos na angiogênese
(Adaptado de Martinez, 2015)

Fator angiogénico	Função	Referências
Fatores de crescimento endotelial vascular (VEGFs)	Regula a angiogênese Controla a proliferação, morfogênese, migração e sobrevivência das células endoteliais. Promove o alargamento e ramificação dos vasos sanguíneos.	Min Park et al., 2014 Carmeliet e Jain, 2011
Fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF)	As isoformas PDGF-B e PDGF-C estão envolvidas na maturação dos vasos e no recrutamento de células progenitoras endoteliais da medula óssea. Recruta pericitos e células musculares lisas vasculares para manter a parede dos vasos sanguíneos.	Raz et al., 2014 Dimmeler, 2005 Herbert e Stainier, 2011
Fator de crescimento de hepatócitos (HGF)	Mitógeno para células endoteliais e estimula a secreção de VEGF.	Matsumura, 2013
Fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF)	Induz a proliferação e a formação de túbulos de células progenitoras endoteliais. Estimula a secreção de VEGF em progenitores endoteliais <i>in vitro</i> .	Litwin, 2015
Fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF)	Regula a remodelação vascular controlando o recrutamento de pericitos e induzindo a expressão de PDGF-B nas células endoteliais.	Hall-Gleen et al., 2012
Angiopietinas	Mantém o vazamento vascular e vascular e induz a quimiotaxia de pericitos.	Nurden, 2011 Klement et al., 2013 Hwang et al., 2015
Fator derivado de células estromais (SCGF)	Induz a quimiotaxia de precursores endoteliais e aumenta a formação de estruturas vasculares.	De Falco et al., 2004
Fator de crescimento epidérmico (EGF)	Induz a formação de túbulos, proliferação de células endoteliais e migração.	Klement et al., 2013

Esses fatores de crescimento podem ser considerados os elementos ativos das plaquetas na cicatrização de feridas e na regeneração tecidual. A colaboração de todos esses fatores permite-nos aprofundar a nossa compreensão sobre o papel das plaquetas e, posteriormente, direcionar melhor o impacto da L-PRF nesses fenômenos. (Martinez, 2015)

O conhecimento dessas moléculas e substâncias presentes no nosso sangue nos ajudará a entender melhor os fenômenos de hemostasia, cicatrização e regeneração dos nossos tecidos. É nesse contexto que surgiram pesquisas sobre as crescentes possibilidades terapêuticas do sangue, como um líquido biológico vital, mas também como reserva de substâncias e reações bioquímicas únicas.

2. A hemostasia

Encontramos a ação dessas substâncias na hemostasia, que engloba todos os fenômenos naturais que permitem a interrupção do sangramento em caso de ferimento, choque ou intervenção cirúrgica. É um equilíbrio fisiológico subtil entre um processo de coagulação, que pode levar a um acidente trombótico, e um processo de fibrinólise, com risco de hemorragia. A coagulação ocorre quando se forma um coágulo que obstrui a ferida formada em um ou mais vasos sanguíneos. A formação desse coágulo envolve vários participantes que entram em cena em momentos diferentes. São distinguidas classicamente três etapas interdependentes: em primeiro lugar, a hemostasia primária e, em seguida, a etapa da coagulação plasmática, que permite a interrupção do sangramento. A terceira etapa, a fibrinólise, dissolve o coágulo uma vez que ele cumpriu sua função e restaura a integridade do vaso. A hemostasia é a primeira fase da cicatrização completa de uma ferida e precede a inflamação, a proliferação e a remodelação. Durante este processo pós-hemostático, são activadas várias células, como as células imunitárias, tais como neutrófilos, monócitos e macrófagos, que são recrutadas para eliminar os agentes patogénicos no local da lesão durante a inflamação. (Codem, 2020)

A hemostasia primária permite reduzir rapidamente (3 a 5 minutos) o fluxo sanguíneo e limitar suas perdas. Quando ocorre uma lesão vascular, as células endoteliais e o tecido conjuntivo e seu colagénio que revestem os vasos sanguíneos são lesados e as plaquetas intervêm acumulando-se na área e secretando substâncias químicas ativamente. Na verdade, quando o fator tecidual dos vasos sanguíneos (fator de Von Willebrand) entra em contato com a glicoproteína GPIB das plaquetas, uma série de reações em cascata é ativada. Rapidamente, as plaquetas passam por mudanças morfológicas e formam um agregado plaquetário instável: o tampão plaquetário hemostático, que forma a primeira barreira hemorrágica. (Ellis, 2018)

Em seguida, a coagulação fortalece o tampão plaquetário por meio do desencadeamento de uma reação em cascata (Figura 2) que ativa várias moléculas enzimáticas e fatores de coagulação. Uma enzima chamada protrombina é particularmente importante entre essas moléculas enzimáticas. Quando está ativa, a protrombina transforma-se em trombina. A trombina, por sua vez, converte o fibrinogénio numa proteína insolúvel que está no cerne do nosso estudo: a fibrina. (Weisel, 2013) Por meio de várias etapas de polimerização, incluindo interações moleculares e agregações, o monómero de fibrina forma uma rede compacta de fibrina.

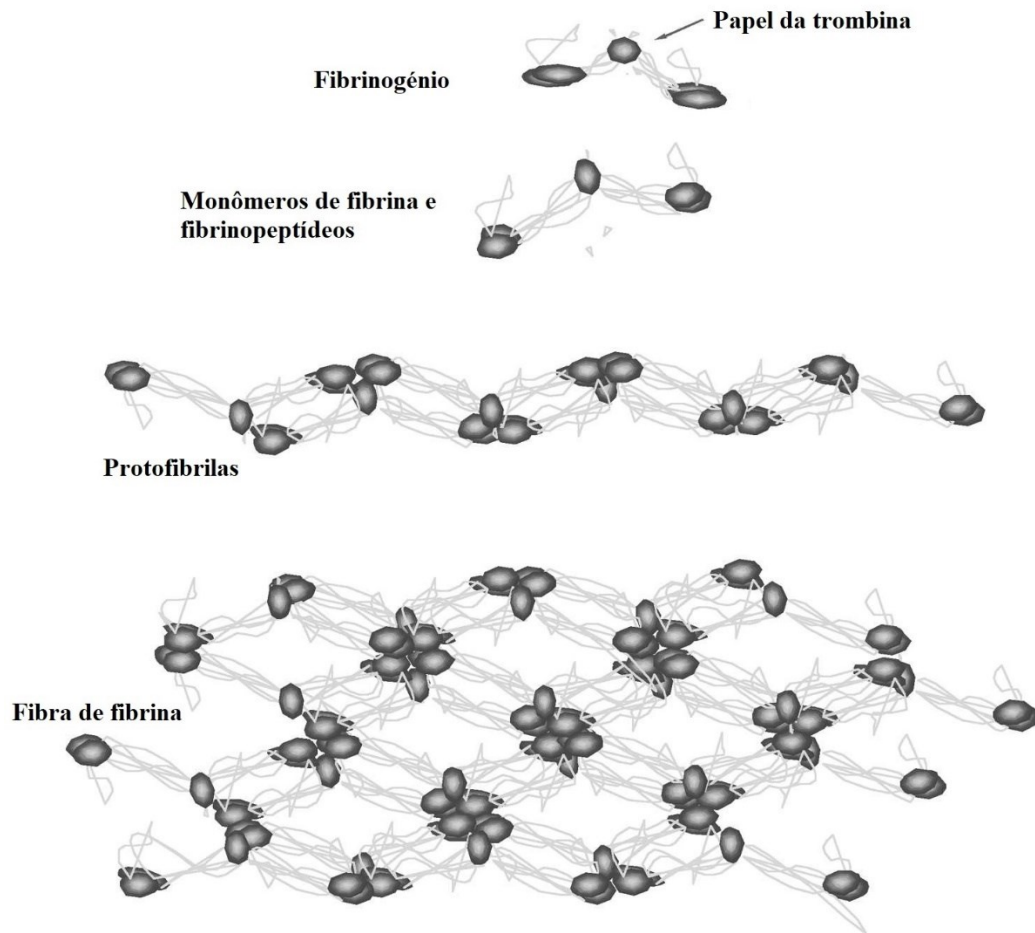


Figura 2: Representação esquemática das etapas consecutivas da polimerização da fibrina. (Adaptado de I. Juhan-Vague, 2003)

Esta proteína filamentosa, produto final desta reação em cascata da coagulação sanguínea, forma verdadeiras redes tridimensionais com propriedades viscoelásticas únicas, conferindo-lhe propriedades elásticas reversíveis e propriedades plásticas irreversíveis. Assim, este polímero de fibrina é capaz de resistir a altas extensibilidades e compressibilidades. (Litvinov, 2016)

In vivo, os coágulos de fibrina (Figura 3) formados no sangue devem ser capazes de resistir às tensões e deformações geradas pela circulação sanguínea. Eles estão sujeitos a diferentes forças externas, como as tensões hidrodinâmicas pulsáteis causadas pelo fluxo sanguíneo oscilante, as forças resultantes das flutuações na parede dos vasos sanguíneos e às geradas pela contração das plaquetas, que levam à retração do coágulo. (Weisel, 2004)

É a fibrina que confere a resistência mecânica necessária para que o coágulo ou trombo possa resistir às forças externas, e isso depende totalmente do diâmetro das suas fibras, suas ramificações e a densidade de sua rede. (Wufsus, 2015)

Veremos o papel central nos estudos da matriz de fibrina na estrutura da PRF sobre as suas aplicações em periodontologia, implantologia e em diferentes formas de cirurgia oral.



Figura 3: Microscopia eletrônica de varrimento de coágulo de fibrina humano mostrado com ampliação de $\times 30.000$ (Adaptado de Neergaard-Petersen, 2013)

Outras proteínas desempenham um papel ativo na modulação da coagulação, como a fibronectina. Trata-se de uma glicoproteína de adesão onnipresente na matriz extracelular de todos os tecidos. No local da lesão, ela liga-se à fibrina, promovendo a agregação plaquetária e, na ausência de fibrina, inibindo sua agregação. (Wang, 2014)

Ao promover a agregação plaquetária, ela ativa receptores, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF - *Platelet Derived Growth Factor*) e o fator de crescimento transformador- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ - *Transforming Growth Factor- $\beta 1$*), estimulando a síntese de componentes da matriz extracelular, incluindo a fibronectina. (Heldin, 1999)

Posteriormente, essa fibronectina bioativa, importante para o suporte da hemostasia, evolui progressivamente para inibir a coagulação (trombose). Assim, desempenha um papel único de autorregulação no processo de trombose/coagulação. Ao interagir com a fibrina, a fibronectina limita o crescimento do coágulo fora da zona da lesão, prevenindo assim a obstrução do vaso em caso de formação excessiva. (Wang, 2016)

Em conclusão, essas descobertas sugerem que a fibronectina plasmática deposita-se rapidamente na parede vascular lesionada e interage com a fibrina para criar uma barreira hemorrágica. Nas pesquisas sobre inovações cirúrgicas, definir o papel potencial de todos os fatores bioativos presentes em qualquer preparação plaquetária é essencial para compreender

suas atividades. Cada estudo traz novos conhecimentos biológicos com o objetivo final e comum de cuidar melhor dos pacientes.

3. Preparação da PRF

Vimos qual é a composição do nosso sangue e como ele age na reparação de nossos tecidos. Agora vamos ver as diferentes técnicas presentes na literatura para produzir um concentrado plaquetário com o objetivo de obter um biomaterial autólogo clinicamente eficaz.

a) Heterogeneidade dos protocolos

A primeira etapa para obter um coágulo de PRF (Figura 4), assim como de todos os concentrados plaquetários, é a coleta de sangue do paciente. Em seguida, existem diferentes técnicas de centrifugação e, portanto, vários produtos finais. É por isso que o uso de terapias biológicas autólogas é complicado devido à heterogeneidade das formulações de PRP/PRF e outras fórmulas, mas também devido às inconsistências na nomenclatura. Portanto, de acordo com os protocolos, a concentração absoluta de plaquetas, fatores de crescimento, pureza e propriedades biológicas variam consideravelmente e têm um impacto na eficácia biológica e nos resultados dos ensaios clínicos. Foram observadas muitas diferenças significativas na qualidade e nas propriedades biológicas dos produtos finais. As diferenças entre as centrifugadoras em termos de força gravitacional e tempo de centrifugação resultam em diferenças significativas nos rendimentos, concentração, pureza, viabilidade e estado de ativação das plaquetas isoladas. (Harrison, 2018)



Figura 4: Coágulos de L-PRF (Adaptado de fgmdentalgroup.com, 2020)

Por outro lado, Miron *et al.* (2021) revelaram que a utilização teórica de tubos de teste sem aditivos clínicos para obter a PRF não foi de facto respeitada em todos os protocolos de estudo apresentados na literatura. Além disso, a presença de aditivos como a sílica nos coágulos de PRF não é vantajosa, se bem que o tamanho do coágulo seja reduzido para metade em comparação com os coágulos produzidos com tubos de vidro puro, e pode ser possível uma eficácia reduzida na regeneração dos tecidos ou nas respostas inflamatórias. Estes autores sugerem que é importante ter em atenção a qualidade dos dispositivos e os aditivos químicos nos tubos de PRF, e respeitar os protocolos iniciais. (Miron, 2021)

b) Classificações e padronização

Devido a essa heterogeneidade e ao surgimento de novos produtos, houve a necessidade de classificação e padronização dos protocolos para a obtenção desses concentrados plaquetários. Assim, com o objetivo de trazer luz para essa "biblioteca cega de conhecimentos", Ehrenfest *et al.* (2009) foram os primeiros a classificar os concentrados em quatro categorias: Plasma Rico em Plaquetas (P-PRP), Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos (L-PRP), Fibrina Pura Rica em Plaquetas (P-PRF) e, finalmente, o que nos interessa nesta pesquisa, a Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF). Cada um desses produtos derivados do sangue possui um ou mais métodos de preparação e também possui suas próprias propriedades biológicas, conferindo-lhes diferentes aplicações clínicas. (Ehrenfest, 2009)

Dentro da família da L-PRF, Pinto *et al.* (2018) tentaram entender como as diferentes formas de preparar a PRF afetam sua arquitetura de fibrina e fatores de crescimento. Testaram quatro centrifugadoras diferentes no mercado e compararam a vibração radial e vertical e o seu efeito no produto final. Através desta análise, observaram que cada centrifugadora testada tinha o seu próprio perfil de vibração em função da velocidade de rotação, e que diferiam significativamente neste aspeto. Estes resultados sugerem que a centrifugadora L-PRF Intra-Spin[®] seria a mais estável, devido ao conteúdo dos tubos de colheita que estaria sujeito a menos vibrações indesejáveis e evitaria o risco de danos devido à ressonância criada por estas vibrações. (Pinto, 2018)

Crisci *et al.* (2017) também trabalharam para padronizar o protocolo e os parâmetros de obtenção, a fim de obter o melhor produto final possível e classificar melhor os biomateriais. Defendem que só quando são seguidos os passos de um protocolo rigoroso é que a L-PRF pode ser utilizado clinicamente de forma segura e eficaz. (Crisci, 2017)

Alguns anos depois, P. Harrison *et al.* (2018) formaram um grupo de especialistas e avaliaram como 'apropriadas', 'incertas' ou 'inadequadas' uma série de estudos sobre a prática da medicina regenerativa usando concentrados plaquetários, com uma abordagem abrangente nas preparações, no desenho de ensaios clínicos e na utilidade potencial em diferentes cenários clínicos. A partir disso, sua equipe propõe num relatório uma classificação abrangente dos produtos plaquetários, com recomendações consensuais para normalizar sua utilização. (Harrison, 2018)

c) L-PRF
(1) O protocolo L-PRF

O primeiro protocolo da PRF desenvolvido por Choukroun *et al.* (2001) é simples e de baixo custo, o que contribuiu para sua popularidade nos anos 2000 (Dohan, 2009).

Usando uma centrífuga PCO2 (Process, Nice, França), uma amostra de "sangue puro", sem adição de anticoagulantes ou trombina bovina, é coletada em tubos de 10 ml, que são imediatamente centrifugados a 3000 rotações por minuto por 10 minutos. (Choukroun, 2001)

Após a centrifugação, obtemos três camadas distintas (Figura 5): no fundo do tubo, o sedimento dos eritrócitos, no topo, o plasma acelular e preso entre essas duas camadas, um coágulo de fibrina resistente. A ausência de anticoagulante resulta na ativação da maioria das plaquetas da amostra sanguínea em contacto com as paredes do tubo em poucos minutos, graças ao desencadeamento da cascata de coagulação. Foi referido que o sucesso dessa técnica e a qualidade do produto final dependem inteiramente de uma manipulação rápida: desde a coleta de sangue até a transferência para a centrífuga. (Dohan, 2006)

Além disso, Wei *et al.* (2022) estudaram o efeito do tempo de repouso (após centrifugação) dos coágulos de PRF e observaram uma diminuição do peso e do tamanho para além de cinco minutos e uma diminuição das propriedades de deformação mecânica após dez minutos. Foram observados resultados equivalentes no estudo do coágulo após compressão utilizando uma caixa de compressão (Plasmatrident, China), e foi com uma duração de 3 a 5 minutos de repouso que obtiveram as membranas mais densas e maiores dos coágulos de L-PRF. (Wei, 2022)

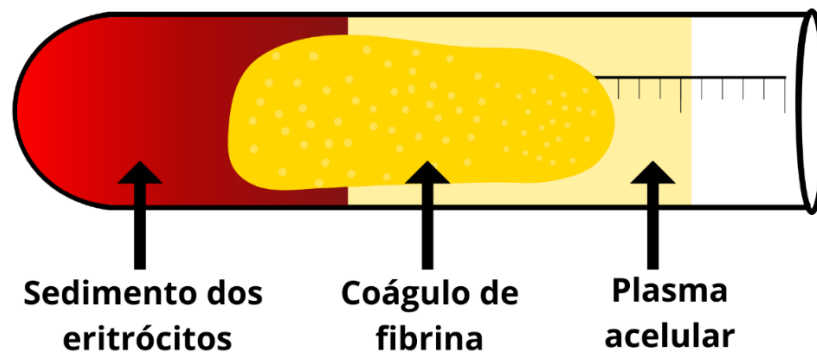


Figura 5: A centrifugação do sangue imediatamente após a colheita permite a formação de um coágulo de fibrina estruturado e resistente no meio do tubo, entre os glóbulos vermelhos no fundo do tubo e o plasma acelular. (Realizado pelo autor e adaptado de Dohan, 2006)

Para obter um biomaterial clinicamente aplicável, é utilizada uma ferramenta para transformar o coágulo de fibrina: a PRF box (Figura 6). Esta é necessária para recuperar o exsudado e preparar diferentes materiais de acordo com as necessidades cirúrgicas. É possível criar membranas resistentes com espessura constante de cerca de 1 mm, comprimindo o coágulo numa grade. Também é possível cortar partes do coágulo e depositá-las em poços de 1 cm de diâmetro que serão utilizados, com o auxílio de uma prensa, para criar *plugs* de PRF.

Dohan *et al.* (2010) também indicam que o uso da PRF box permite garantir a preparação adequada de membranas de PRF homogêneas com uma maior quantidade de fatores de crescimento, evitando a morte de leucócitos presentes no coágulo de PRF e prevenindo a contração da arquitetura da matriz de fibrina e a desidratação durante o procedimento cirúrgico. (Dohan, 2010)

Existem diferentes *kits* de fabricação de L-PRF como o Xpression™ kit (Intra-Lock International, FL-EUA), que é projetado da mesma forma que a PRF Box com um conjunto de prensa e pistão para criar membranas homogêneas e idênticas, bem como outras formas. Graças às suas ferramentas, a L-PRF é fácil de utilizar, é personalizável e flexível para cada situação clínica. O coágulo pode ser rapidamente transformado em membranas de diferentes espessuras e dimensões, e a fusão de duas ou mais membranas é útil para facilitar a sutura ou formar enxertos maiores. A membrana de L-PRF também pode ser cortada, adaptada e prensada para formar *plugs*. (Crisci, 2019)

Atualmente, o sistema IntraSpin® (Intra-Lock International, FL-EUA) é o único dispositivo médico certificado pela FDA (Food and Drug Administration) e possui marcação CE (Conformidade Europeia) para a produção de L-PRF no consultório. Após a coleta de sangue

em tubos de vácuo de plástico revestidos com sílica sem anticoagulante, o sangue é rapidamente centrifugado a 2700 RPM por 12 minutos, o que permite produzir L-PRF de alta qualidade. Esse sistema possui um protocolo rigorosamente desenvolvido e clinicamente comprovado, baseado em mais de duzentos estudos conduzidos ao longo de um período de mais de dez anos. Os componentes utilizados nesse protocolo foram otimizados para garantir a biocompatibilidade dos materiais e um desempenho clínico adequado. (Melo-Ferraz, 2021)

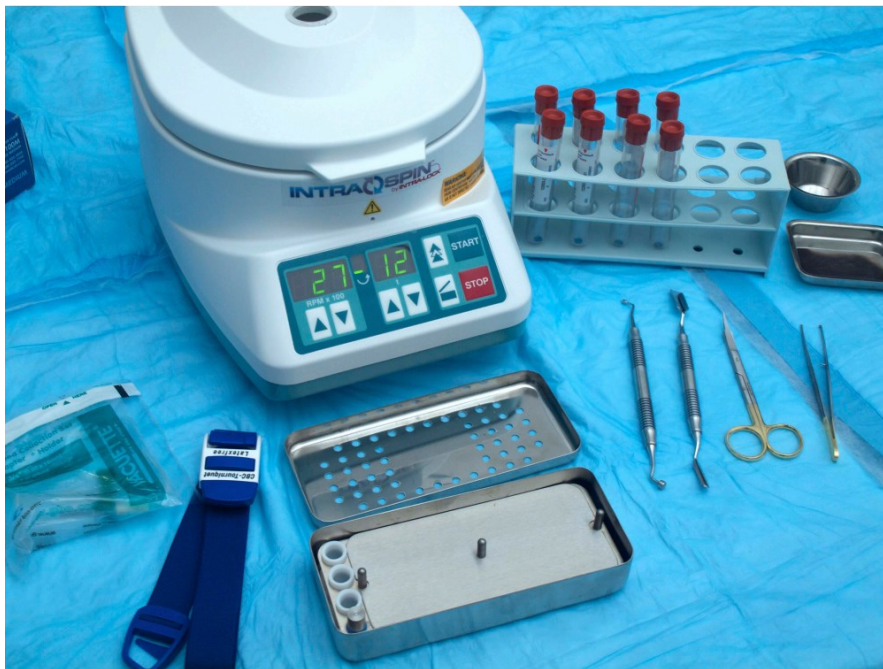


Figura 6: A centrifugadora e o kit para a preparação de Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca Raton, FL, EUA).

Todos os sistemas para a produção de concentrados de plaquetas existentes no mercado requerem uma centrífuga específica e um kit de recolha e de preparação adaptado (neste caso, essencialmente tubos e uma caixa de recolha). (Adaptado de Ehrenfest, 2013)

O estudo da otimização da centrifugação tem sido destacado na literatura nos últimos anos e é hoje em dia o foco de muita investigação para obter novos produtos como a A-PRF e a I-PRF. (Choukroun, 2017)

Entre as experiências realizadas por Tovar *et al.* (2021), estas incluíram a análise dos pesos dos coágulos de L-PRF (com a utilização de uma centrífuga Intra-spin, Intra-Lock) em função da velocidade entre 200g RCF (Relative Centrifugal Force - Força centrífuga relativa), 400g e 600g da centrífuga. A análise revelou um aumento de peso proporcional à velocidade de centrifugação (até ao limite estudado de 600g). Utilizando forças que vão de 200g a 600g, não alteraram radicalmente a concentração/número de plaquetas no coágulo e também não

encontraram diferenças significativas quando estudaram o número de glóbulos brancos, neutrófilos, linfócitos e outras células de interesse. (Tovar, 2021)

Outros estudos também registam a capacidade de melhorar o impacto *In vivo* da L-PRF aplicando uma RCF mais elevada para obter um produto mais denso, independentemente do dispositivo de centrifugação utilizado (Figura 7). Por outro lado, analisando as diferentes amostras, os coágulos de L-PRF produzidos com forças e tempos de centrifugação elevados apresentavam uma rede de fibrina mais densa, mas contendo células menos concentradas e com baixa expressão de fatores de crescimento como o PDGF. Em oposição, os coágulos produzidos a baixas velocidades eram mais pequenos, mais concentrados em plaquetas e mais homogêneos. Estes coágulos segregavam níveis mais elevados de fatores de crescimento ao longo do tempo (Miron, 2020).

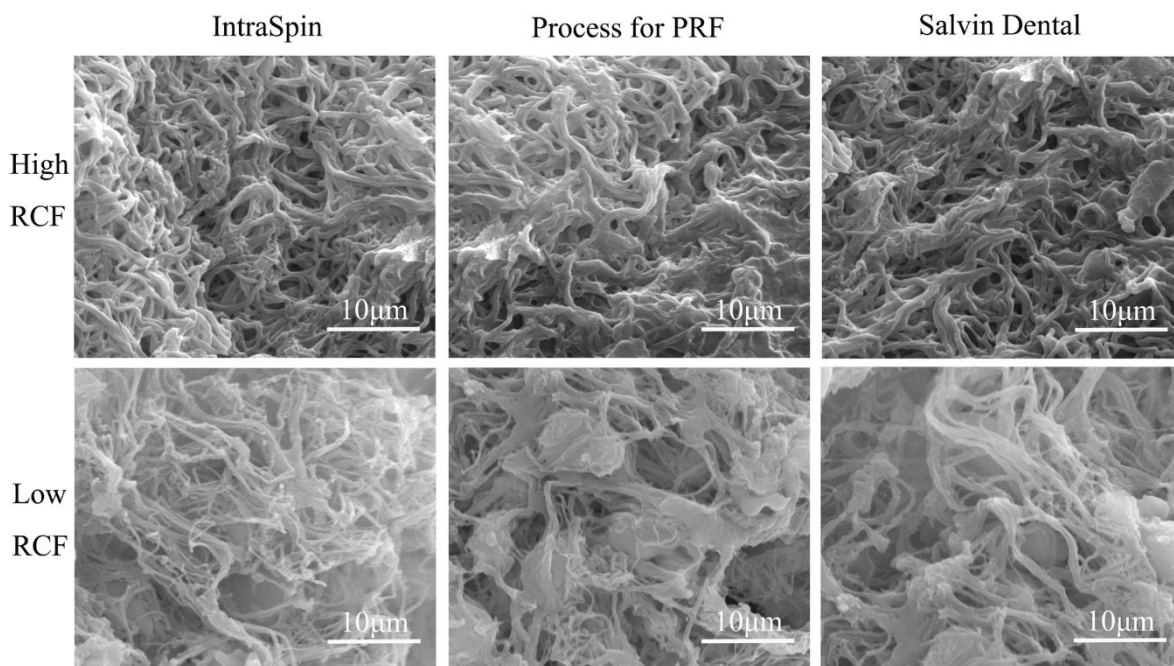


Figura 7: Microscopia electrónica de varrimento de coágulos de L-PRF produzidos em 3 dispositivos diferentes em protocolos altos (High RCF, 700g) ou baixos (Low RCF, 200g) forças de centrifugação relativas. Observe que os coágulos produzidos em alta força normalmente produzem um coágulo mais densamente compactado com fibrina (Adaptado de Miron, 2020)

(2) A estrutura da L-PRF

Através desta única etapa de centrifugação durante sua preparação, obtém-se a L-PRF, que se apresenta em três partes (Figura 8): um coágulo vermelho em contato com o sedimento de hemácias, um gel de fibrina acelular e uma rede de colunas esbranquiçadas que corresponde ao

acúmulo de plaquetas aprisionadas na matriz de fibrina da PRF. Essa rede é uma camada leucoplaquetária também conhecida como “*Buffy Coat*”. (Dohan, 2006)

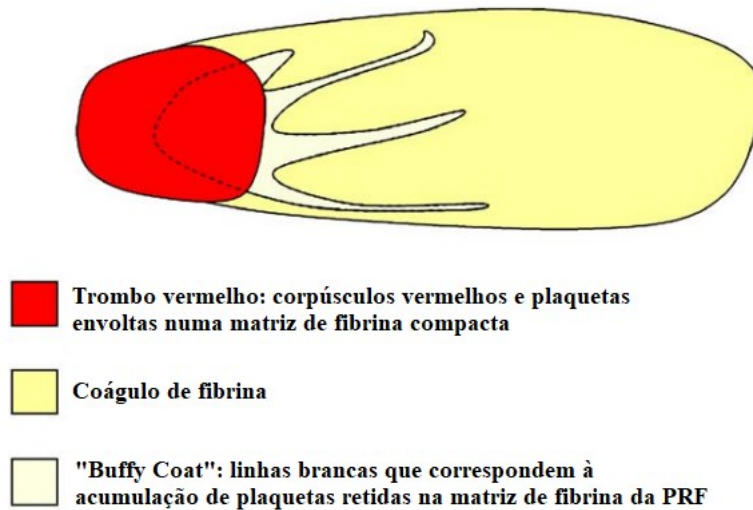


Figura 8: O coágulo de fibrina PRF obtido de acordo com o protocolo Process divide-se em 3 partes. (Adaptado de Dohan, 2006)

Vamos nos concentrar aqui na sua estrutura e propriedades como um biomaterial único. Primeiramente, a ausência de anticoagulante resulta na formação de trombina, que, assim como na sua função *in vivo* durante a coagulação, ativa as plaquetas e simultaneamente induz a formação de uma densa rede de fibrina por meio do fibrinogénio. (Miron, 2017)

A arquitetura da matriz de fibrina da L-PRF é sua principal característica e assinatura biológica, com uma polimerização de fibrina natural e elevada, e uma rede tridimensional densa e homogênea, ainda mais eficiente do que a fibrina natural. A densidade da rede de fibrina cria uma verdadeira armadilha (Figura 9) para os grânulos alfa das plaquetas, diferentes famílias de leucócitos e também outras moléculas biologicamente ativas, tornando a L-PRF um biomaterial único. (Dohan, 2006)

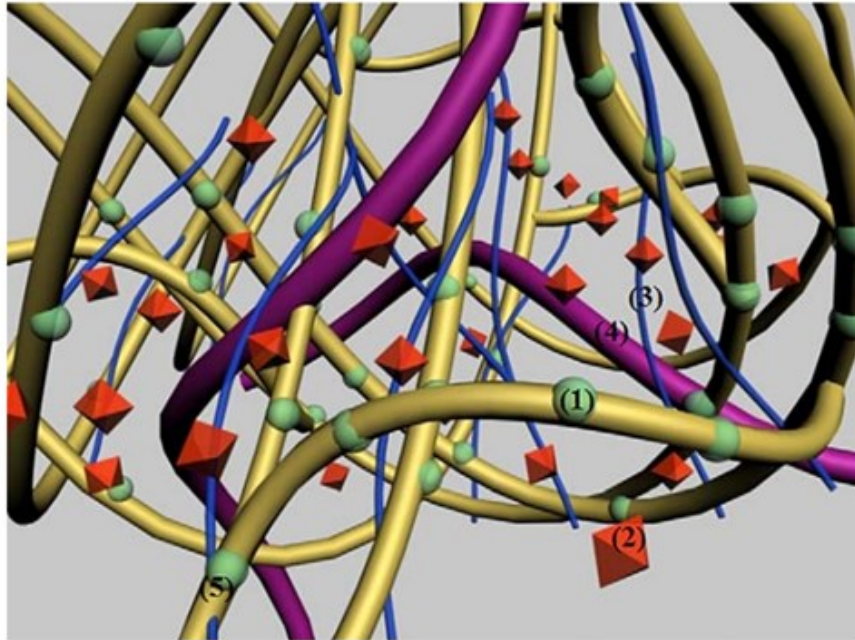


Figura 9: Modelagem teórica por computador de um coágulo de PRF. (1) Citocina retida intrinsecamente dentro das fibrilas de fibrina. (2) Citocina plaquetária em solução (associada extrinsecamente aos polímeros de fibrina). (3) Cadeias glicânicas associadas à fibrina. (4) Glicoproteínas circulantes (fibronectina). (5) Fibrina fibrilar associada a cadeias glicânicas e citocinas intrínsecas. (Adaptado de Dohan, 2006)

(3) Conteúdo celular e molecular da L-PRF

Agora vamos nos concentrar nas moléculas presentes nessa matriz de fibrina do coágulo de L-PRF e entender o seu papel nesse concentrado plaquetário.

A grande maioria das plaquetas (> 90%) do sangue é ativada durante esse processo, resultando na liberação de diferentes fatores de crescimento (como PDGF, TGF- β 1, EGF e VEGF) a partir dos grânulos alfa das plaquetas. Esses fatores de crescimento são incorporados na matriz tridimensional de fibrina. Além disso, mais de metade dos leucócitos (> 60%) concentram-se na camada intermediária entre o coágulo de L-PRF e os glóbulos vermelhos (Eren, 2016).

Os seguintes estudos têm investigado a liberação de fatores de crescimento pela PRF, bem como comparado com outros concentrados plaquetários, com o objetivo de obter mais conhecimentos sobre essa ferramenta para um uso clínico mais direcionado e adequado.

Dohan *et al.* (2014) estudaram a liberação desses fatores de crescimento *in vitro* num coágulo de L-PRF ao longo de um período de sete dias. O protocolo utilizado envolveu a coleta rápida de sangue (em média, 17 segundos, sempre menos de 20 segundos por tubo) e centrifugação

imediate (menos de um minuto), à temperatura ambiente, com a centrífugadora Intra-Spin, a uma velocidade de 2700 rotações por minuto (cerca de 400g) por 12 minutos para produzir os coágulos de L-PRF. Após a coleta, foram feitas quantificações da libertação de vários fatores de crescimento de interesse mencionados anteriormente (PDGF-AB, TGF- β 1, VEGF) e do Fator de Crescimento Ósseo Morfogenético 2 (BMP-2), que desempenha um papel importante no desenvolvimento ósseo. Devido à densa arquitetura da fibrina, a L-PRF mantém sua forma intacta durante todo a experiência. Além disso, ele apresenta uma libertação prolongada e significativa dos quatro fatores de crescimento, com um rápido aumento nas primeiras 24 horas e, em seguida, um progresso mais lento até sete dias. (Dohan, 2014)

A equipa de pesquisa de Kobayashi *et al.* (2016) também quantificou e comparou a libertação de fatores de crescimento *in vitro* entre duas PRF (L-PRF e A-PRF) e o PRP ao longo de um período de dez dias. O protocolo escolhido para a L-PRF envolveu a coleta de dez mililitros de sangue total sem anticoagulante, seguida de centrifugação a 2700 rpm (325 g) por 12 minutos. Em seguida, como no estudo anterior, vários fatores de crescimento foram quantificados por meio do ensaio ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Os resultados desse estudo suportam uma libertação prolongada de fatores de crescimento pela L-PRF (até dez dias), enquanto o PRP induz uma libertação mais intensa, mas mais curta, de alguns fatores de crescimento (PDGF, IGF) e globalmente em menor quantidade. O mais recente desses concentrados plaquetários (A-PRF), neste estudo, induziu uma libertação progressiva de fatores de crescimento superior à da L-PRF padrão ao longo do tempo, o que sugere que seu uso pode apresentar vantagens biológicas e clínicas. (Kobayashi, 2016)

Em seguida, veremos depois as diferenças no protocolo e o produto final desta variação da L-PRF, graças às modificações no protocolo de centrifugação.

No campo da medicina regenerativa e nos concentrados plaquetários, a presença de leucócitos foi negligenciada por muito tempo devido às descobertas dos efeitos da fibrina e das plaquetas, mas não deve ser negligenciada. Devido ao seu potencial imunológico e antibacteriano, os leucócitos têm um impacto importante na biologia intrínseca e nas propriedades dos concentrados plaquetários, além de serem fatores-chave no processo de cicatrização e na regulação dos fatores locais. (Bielecki, 2012)

Com a ajuda da análise por microscopia electrónica de varrimento, Miron *et al.* (2017) examinaram a estrutura e a distribuição molecular em vários coágulos de L-PRF. Eles observaram que a densidade mais alta de plaquetas/leucócitos estava no primeiro milímetro do

coágulo, a partir da ausência de eritrócitos, e que a densidade diminuía à medida que se afastava dessa extremidade. Nos dois primeiros milímetros além da fronteira entre o coágulo de PRF e os eritrócitos, a distribuição de plaquetas/leucócitos era homogênea em toda a largura do coágulo e, em seguida, tornava-se central ao se afastar. Devemos destacar o facto de que a arquitetura era semelhante de um coágulo para outro, independentemente dos pacientes, dos tubos de coleta ou do método de compressão do coágulo de PRF. Portanto, sua conclusão foi que o protocolo da PRF de Choukroun baseava-se principalmente num conceito mecânico em que as plaquetas e os leucócitos eram impulsionados para dentro do coágulo de fibrina em formação, e pareciam manter uma estabilidade notável, mesmo com pequenas modificações na produção. (Miron, 2017)

As plaquetas e os leucócitos não são as únicas moléculas de interesse presentes na L-PRF. Desde o início dos anos 2000, Clark *et al.* (2001) destaca que a matriz de fibrina da PRF em si pode ter efeitos cicatrizantes, mas também incorpora glicosaminoglicanos (como a heparina e o ácido hialurônico) derivados do sangue e das plaquetas. Com alta afinidade por peptídeos circulantes, eles desempenham um papel de suporte na migração celular e, especialmente, nos processos de reparação tecidual. Histologicamente, eles seguem a arquitetura fibrilar da fibrina, o que indica que essas ligações glicânicas estão integradas aos polímeros de fibrina. (Clark, 2001)

Após muitos anos de estudos, a equipe de pesquisa de Dohan *et al.* (2012) entendeu que o interesse clínico dos concentrados plaquetários não reside apenas na quantidade de plaquetas, mas sim na forma como as plaquetas, os leucócitos, a fibrina e os fatores de crescimento estão interconectados no produto final. Primeiramente, a polimerização da fibrina sofrida por centrifugação e a arquitetura final da matriz de fibrina influenciam drasticamente as propriedades mecânicas e o potencial de presença e liberação dos fatores de crescimento da membrana. A abordagem quantitativa dos estudos sobre a liberação de fatores de crescimento, ou a quantificação das moléculas presentes na PRF, tem sido obrigatória para demonstrar seus benefícios no seu papel na reparação tecidual, mas isso não permite determinar os mecanismos biológicos completos de um concentrado plaquetário. (Dohan, 2012)

Este conjunto de células bioativas poderia também, com base nas suas propriedades *in vivo*, ter um efeito antimicrobiano sob a forma de um concentrado sanguíneo. Castro *et al.* (2019) tentaram avaliar a capacidade antimicrobiana de uma membrana de L-PRF e de um exsudado de L-PRF contra os principais agentes patogênicos periodontais, como a *Porphyromonas gingivalis*, e demonstraram a eficácia da membrana e do exsudado de L-PRF. (Castro, 2019)

Com o objetivo de caracterizar os mecanismos envolvidos no efeito antimicrobiano da L-PRF contra *P. gingivalis*, Sanchez *et al.* (2021) estudaram o impacto da L-PRF em culturas celulares em vários meios *in vitro*. O efeito antimicrobiano do exsudado de L-PRF sobre *P. gingivalis* foi significativamente mais fraco do que o efeito da clorexidina a 0,2% em cultura planctónica, mas igual ao da clorexidina a 0,12%. Embora os mecanismos não tenham sido totalmente elucidados, a presença de L-PRF inibiu a *P. gingivalis* em vários meios de cultura e bloqueou o seu desenvolvimento. Os autores sugerem, portanto, que a aplicação de L-PRF poderia melhorar os procedimentos de tratamento periodontal cirúrgico e/ou não cirúrgico para manter uma cicatrização saudável. (Sanchez, 2021)

d) As inovações mais recentes

Há cerca de vinte anos que os investigadores se interessam pela PRF e estudos recentes propuseram novos protocolos para melhorar a eficácia deste concentrado de plaquetas e alargar o seu campo de ação. (Castro, 2021)

(1) A-PRF e A-PRF+

Em 2014, Choukroun *et al.* (2014) propuseram um novo protocolo para a obtenção de um concentrado de plaquetas: a Advanced Platelet-Rich Fibrin (A-PRF). Trata-se de uma nova geração de concentrados de plaquetas, obtida por centrifugação a baixa velocidade, ou seja, um máximo de 276g (RCF_{max}) durante um período de 14 minutos, em comparação com a L-PRF obtida a cerca de 708g (RCF_{max}) durante 12 minutos. Recentemente, foi introduzida outra modificação, a A-PRF+, que reduziu novamente a velocidade e a duração da centrifugação para 208g (RCF_{max}) durante 8 minutos. A hipótese era que, ao reduzir a velocidade de centrifugação (Figura 10) poderia ser observado um aumento no número de leucócitos e plaquetas na matriz da PRF. (Choukroun, 2017)

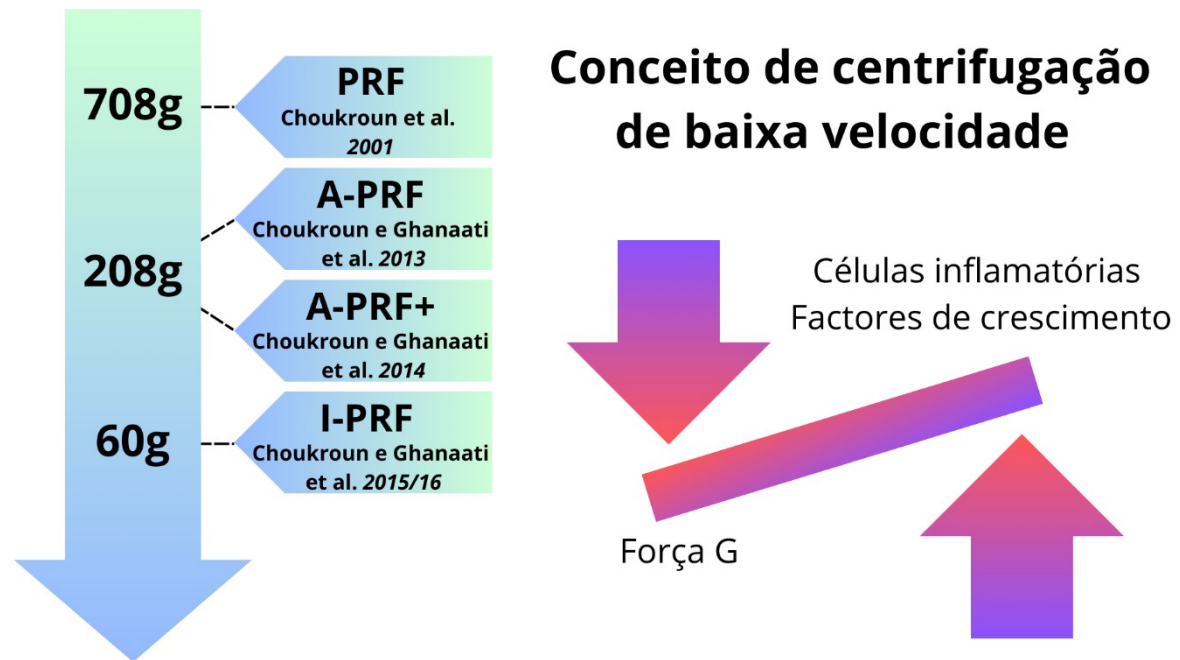


Figura 10: Desenvolvimento de PRF sólidos e injectáveis segundo o conceito de centrifugação de baixa velocidade. (Realizado pelo autor e adaptado de Choukroun, 2017)

Para compreender o efeito destas alterações no coágulo de PRF, Fujioka-Kobayashi *et al.* (2017), investigaram a expressão dos fatores de crescimento do coágulo *in vitro*, a biocompatibilidade e a atividade dos coágulos de PRF em células de fibroblastos gengivais humanos, utilizando diferentes coágulos obtidos por três protocolos de centrifugação. Dez mililitros de sangue, sem adição de anticoagulantes, foram centrifugados a 2 700 RPM durante 12 minutos para a L-PRF, a 1 300 RPM durante 14 minutos para a A-PRF e a 1 300 RPM durante 8 minutos para a A-PRF+ numa centrifugadora Duo (Process, Nice, França). Verificaram uma menor libertação de muitos factores de crescimento, tais como PDGF, TGF- β 1, VEGF, IGF, EGF, no grupo L-PRF em comparação com os dois grupos A-PRF durante vários períodos de tempo. Além disso, os três grupos mostraram uma excelente biocompatibilidade no meio celular, com uma forte capacidade de promover a proliferação e migração de células de fibroblastos gengivais. Por isso, o estudo apoia o possível benefício de reduzir o tempo de centrifugação e a velocidade do protocolo. (Fujioka-Kobayashi, 2017)

Para compreender as propriedades intrínsecas da L-PRF e da A-PRF, foi feita uma análise histomorfométrica. O objetivo deste estudo foi destacar os marcadores imunohistoquímicos que representa a distribuição de cada tipo de célula, por exemplo, para detetar a presença de linfócitos T ou granulócitos neutrófilos. Observando os exames totais de L-PRF e A-PRF, verifica-se que as plaquetas estão distribuídas uniformemente em ambos os coágulos, embora

a quantidade de plaquetas pareça diminuir em direção às partes periféricas do coágulo no grupo L-PRF. Além disso, a alteração do protocolo resultou numa maior migração de algumas células específicas totais no coágulo de A-PRF. Como se pode observar, foi estabelecida uma diferença altamente significativa na distribuição dos granulócitos neutrófilos entre os dois grupos (Figura 11). Com base nestes resultados, sugeriram, portanto, que as velocidades de centrifugação eram demasiado elevadas no protocolo original, empurrando os leucócitos para o fundo dos tubos de centrifugação e para fora do coágulo de PRF. (Ghanaati, 2014)

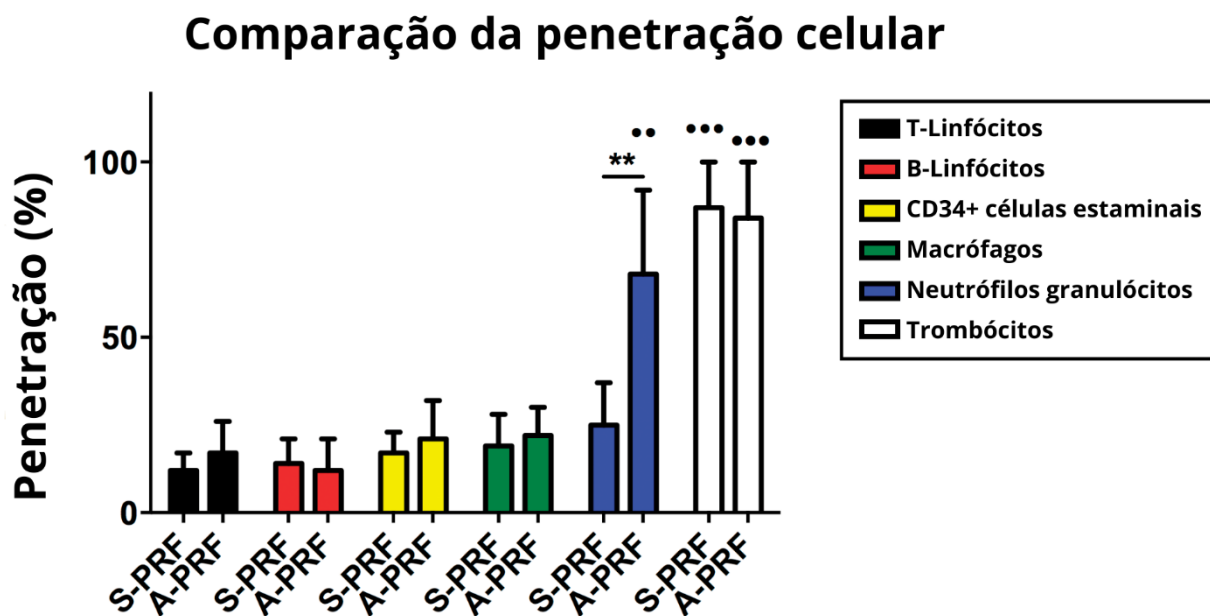


Figura 11: Comparação da penetração dos diferentes tipos de células no coágulo, tanto para a fibrina rica em plaquetas “standard” (S-PRF) como para a fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF) (Adaptado de Ghanaati, 2014).

Alguns estudos obtiveram resultados diferentes, em que não houve diferenças estatísticas entre os novos protocolos e o protocolo original da L-PRF. Como salientado por Castro *et al.* (2021), relativamente aos resultados encontrados que demonstrariam potenciais melhorias destes novos protocolos em comparação com a L-PRF. Dos seis protocolos utilizados, não encontraram diferenças significativas no tamanho das membranas de PRF, no seu conteúdo celular ou na libertação de fatores de crescimento. Por outro lado, os resultados radiológicos mostraram um aumento estatisticamente significativo da formação óssea no grupo A-PRF+ em comparação com o grupo de controlo, o que não aconteceu com a L-PRF. Devido às discrepâncias existentes entre os vários estudos sobre os protocolos e utilizações destes novos concentrados de

plaquetas, o autor recorda-nos que é importante adotar uma atitude prudente e um sentido crítico na extrapolação de resultados *in vitro* aplicáveis na prática clínica. (Castro, 2021)

Apesar disso, a grande maioria da literatura atual sugere que a aplicação de A-PRF e A-PRF+ seria benéfica na promoção da cicatrização e regeneração de tecidos moles e duros em medicina dentária em diferentes situações em comparação com a cicatrização natural de feridas e outros biomateriais. Na cirurgia periodontal, Sousa *et al.* (2020) registaram o efeito positivo da A-PRF na cicatrização de feridas palatinas (Figura 12), duas semanas e um mês após a cirurgia de colheita de enxertos palatinos, com uma redução da dor pós-operatória. (Sousa, 2020)

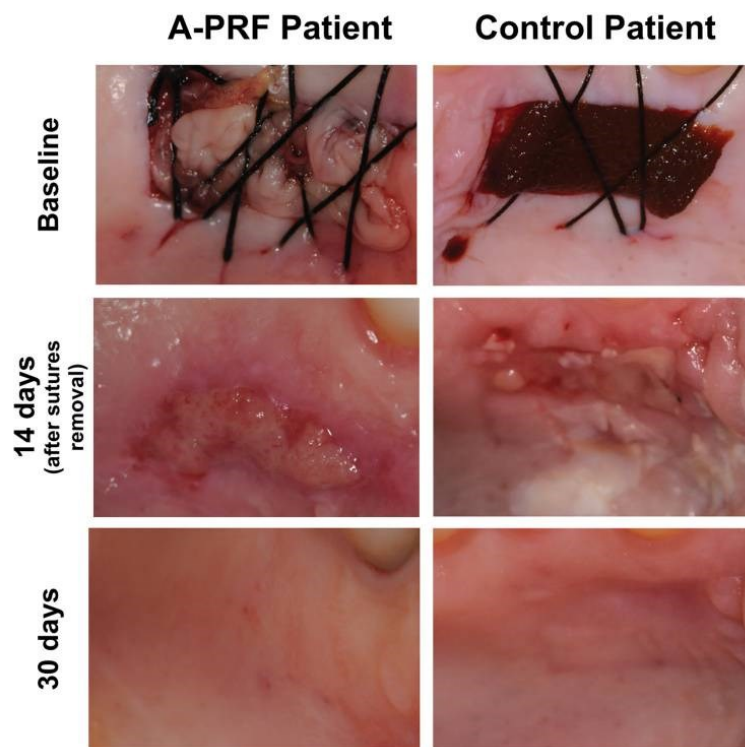


Figura 12: Técnica cirúrgica para aplicação de A-PRF e avaliação da epitelização pós-operatória nos grupos A-PRF e teste (esponja de colagénio hidrolisado liofilizado) no início, 14 dias e 30 dias após a cirurgia. (Sousa, 2020)

O seu interesse clínico foi também demonstrado no estudo de Clark *et al.* (2018) para melhorar a formação óssea pós-extração. Ao avaliar quatro abordagens diferentes para a preservação do rebordo: A-PRF sozinha, em combinação com aloenxerto ósseo liofilizado, o aloenxerto sozinho ou sem enxerto (coágulo sanguíneo). Utilizando análises das dimensões alveolares e das estruturas ósseas, demonstraram que a A-PRF é um biomaterial adequado para a preservação do rebordo e observaram um aumento ósseo em comparação com o aloenxerto e a cicatrização natural. Assim, os resultados encontrados sugerem que a aplicação da A-PRF no

alvéolo de extração de dentes monoradiculares promoveria uma melhor formação óssea do que o aloenxerto, preservando da mesma forma o rebordo alveolar. Para além disso, a combinação destes dois materiais resultaria em efeitos positivos na regeneração óssea da mesma ordem que a aplicação do material sozinho, sem melhorias significativas. (Clark, 2018)

Num objetivo semelhante, para avaliar a eficácia da A-PRF na melhoria da cicatrização e regeneração do alvéolo de extração, Riaz *et al.* (2022) compararam aqui os dois protocolos de obtenção dos concentrados de plaquetas L-PRF e A-PRF. Todos os pacientes apresentavam terceiros molares inferiores impactados bilateralmente, para os quais está indicada a remoção cirúrgica que consiste na exodontia e colocação de A-PRF ou L-PRF nos alvéolos de extração com sutura oclusal do alvéolo de extração. O grupo A-PRF mostrou uma melhoria significativa na dor, inchaço e abertura da boca no primeiro dia, no terceiro dia e na primeira semana após a extração dos terceiros molares, em comparação com o grupo L-PRF. (Riaz, 2022)

(2) I-PRF

Utilizando o conceito de centrifugação a baixa velocidade, Choukroun *et al.* (2017) desenvolveram um concentrado de plaquetas em forma líquida. Com o nome de Fibrina Rica em Plaquetas Injetável (I-PRF), este novo concentrado de plaquetas obtém um elevado nível de plaquetas e leucócitos graças à sua centrifugação, o que poderia proporcionar um benefício significativo para o processo de regeneração de tecidos. (Choukroun, 2017)

Este concentrado de plaquetas é obtido por centrifugação a baixa velocidade (700 RPM, aproximadamente 60g) durante apenas 3 minutos e deve ser utilizado nos 15 minutos seguintes à formação do coágulo de fibrina. O objetivo foi melhorar a mistura de biomateriais com concentrados de plaquetas, mantendo as propriedades da PRF em combinação com os interesses dos biomateriais ósseos disponíveis, o que promoveria a sua estabilidade durante os procedimentos de regeneração. (Wang, 2017)

São necessários mais estudos para avaliar plenamente os benefícios da I-PRF na medicina regenerativa e na cirurgia oral, mas vamos ver que vários autores já publicaram os seus resultados positivos da sua utilização para diferentes interesses em várias áreas (Farshidfar, 2022).

Assim, este concentrado de plaquetas poderia ser utilizado clinicamente para atenuar a resposta imunitária e inflamatória (Figura 13), de acordo com os resultados encontrados por Zhang *et*

al. (2019), promovendo um interesse no alívio da dor dos doentes após transplantes e outros procedimentos cirúrgicos. (Zhang, 2019)

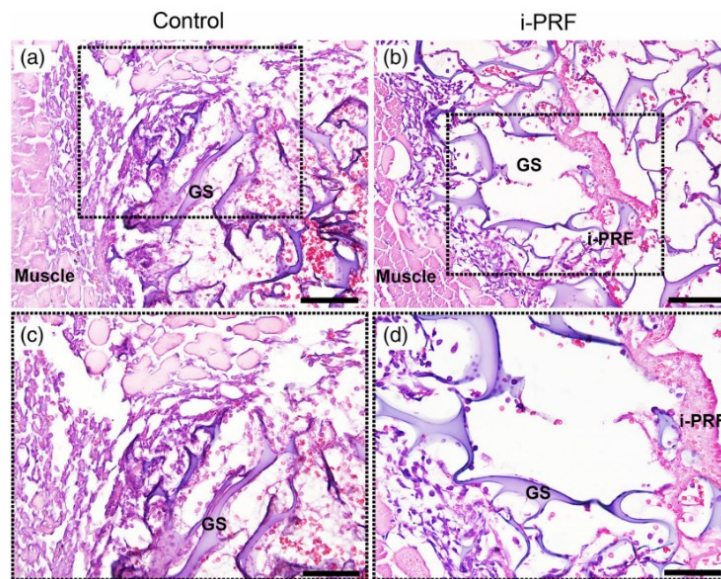


Figure 13: Secções de coloração (H&E) do defeito muscular dos grupos de controlo (“a” e “c”) e I-PRF (“b” e “d”). Menos células inflamatórias foram circundadas em torno dos defeitos no grupo I-PRF. Abreviatura: GS, Gelatin Sponge (esponja de gelatina). Barra de escala em (a) e (b): 50 μ m; (c) e (d): 20 μ m (Adaptado de Zhang, 2019)

Além disso, Karde *et al.* (2017) compararam o efeito antimicrobiano e a quantidade de plaquetas de diferentes concentrados de plaquetas, como I-PRF, L-PRF e PRP, num estudo *in vitro*. Recolhendo amostras de cerca de dez pacientes que sofriam de gengivite crónica generalizada, examinaram a atividade microbiológica em discos de ágar na presença destes concentrados de plaquetas e observaram as diferenças. Os autores observaram um número significativamente mais elevado de plaquetas no grupo I-PRF em comparação com os outros dois concentrados de plaquetas. Na avaliação antimicrobiana, a I-PRF e a L-PRF apresentaram resultados promissores em comparação com o PRP e o grupo de controlo (coágulo de sangue). Paralelamente aos benefícios da elevada presença de plaquetas na I-PRF, o seu estudo também sugere que a atividade leucocitária da L-PRF e da I-PRF poderia ser benéfica para a sua ação antimicrobiana *in vivo*. (Karde, 2017).

Graças à sua forma líquida, ao seu conteúdo em factores de crescimento e aos seus benefícios anti-inflamatórios, a I-PRF está a encontrar rapidamente aplicações no tratamento de várias patologias orais. Nomeadamente no tratamento do líquen plano, uma doença inflamatória crónica que pode afetar tanto a pele como a mucosa oral, as gengivas e a língua. Bennardo *et al.* (2021) estudaram a eficácia da utilização deste concentrado de plaquetas de nova geração

em comparação com o acetonido de triamcinolona no tratamento do líquen plano oral sintomático. Sugerem que ambos os tratamentos são eficazes e que a utilização do I-PRF poderia tornar-se uma alternativa autóloga promissora ao acetonido de triancinolona, o que já foi confirmado por numerosos estudos (Bennardo, 2021).

Além disso, na medicina dentária moderna, as perturbações da articulação temporo-mandibular ocupam um lugar especial na visão ampla e global das patologias que os dentistas podem prevenir, diagnosticar e tratar nos seus pacientes. A diminuição da viscosidade do líquido sinovial aumenta a fricção articular, conduzindo a uma inflamação crónica (sinovite/capsulite) e a aderências fibrosas. A tendência dos tratamentos não invasivos para estes distúrbios dolorosos e degenerativos da articulação temporo-mandibular visa interromper o ciclo de deterioração através da administração intra-articular de várias substâncias e, recentemente, da I-PRF, como no estudo de Albilia *et al.* (2018). Após a primeira injeção de 1,5 ml de I-PRF depositada no espaço articular superior e 0,5 ml no tecido retrodiscal e na zona pericapsular (máximo de 2 ml/articulação), os pacientes foram entrevistados e auto-avaliaram a evolução da sua dor e disfunção de quinze em quinze dias. Posteriormente, o protocolo só era continuado se houvesse uma resposta positiva em relação aos valores anteriores e era repetido até que o valor da dor fosse satisfatório. Para os outros pacientes que não responderam, o protocolo foi interrompido. Assim, quase três quartos dos pacientes tratados no seu estudo clínico por injeção de I-PRF mostraram uma redução significativa da dor ao fim de um mês e meio, três, oito e doze meses e a abertura máxima da boca também apresentou melhorias promissoras. Além disso, não foram registadas complicações relacionadas com a injeção ao longo do estudo. (Albilia, 2018)

A I-PRF também foi recentemente utilizada clinicamente como auxiliar de outros biomateriais ou para melhorar os protocolos cirúrgicos existentes. Turer *et al.* (2019) compararam a associação de um enxerto de tecido conjuntivo em combinação com I-PRF (Figura 14) com o enxerto autógeno sozinho no tratamento cirúrgico da recessão gengival em setenta e dois pacientes usando a técnica de retalho de avanço coronal. Para a grande maioria dos pacientes, a operação cirúrgica foi um sucesso (88% no grupo I-PRF e 80% no grupo sem I-PRF), sem diferenças significativas na profundidade da recessão ou na quantidade de tecido queratinizado. No entanto, a avaliação do desconforto pós-operatório mostrou melhores resultados, obtidos através de uma escala visual analógica, para o grupo I-PRF. (Turer, 2019)



Figure 14: Técnica cirúrgica nos defeitos gengivais tratados com retalho avançado coronalmente + enxerto de tecido conjuntivo + I-PRF. (a) Recessão gengival afectando o canino inferior esquerdo. (b) O enxerto de tecido conjuntivo com I-PRF. (c) Coágulo de I-PRF que cobre todas as superfícies do enxerto de tecido conjuntivo. (d) Após a elevação do retalho, a estrutura foi suturada sobre a superfície da raiz. (e) O retalho foi avançado coronalmente para cobrir completamente o enxerto. (f) Vista intra-oral do local da recessão vestibular após 6 meses. (Adaptado de Turer, 2019)

Na mesma abordagem de avaliar o efeito da combinação de I-PRF com outro biomaterial, Işık *et al.* (2021) realizaram regeneração óssea guiada múltipla com colocação de implante usando xenoenxerto bovino com I-PRF (Figura 15) ou sem. A perda óssea coronal, apical e medial no grupo I-PRF foi significativamente menor em comparação com o grupo de teste aos seis meses de pós-operatório. Além disso, registou-se uma alteração ligeira, mas clinicamente insignificante, no nível ósseo marginal. Com uma taxa de sobrevivência do implante de 100% em ambos os grupos de estudo aos dois anos de pós-operatório. Os autores sugerem que ambos os protocolos são eficazes para uma boa regeneração óssea com o objetivo de alcançar uma estabilidade suficiente do implante a médio prazo, e que a I-PRF pode ser benéfica na promoção da formação óssea (Işık, 2021).

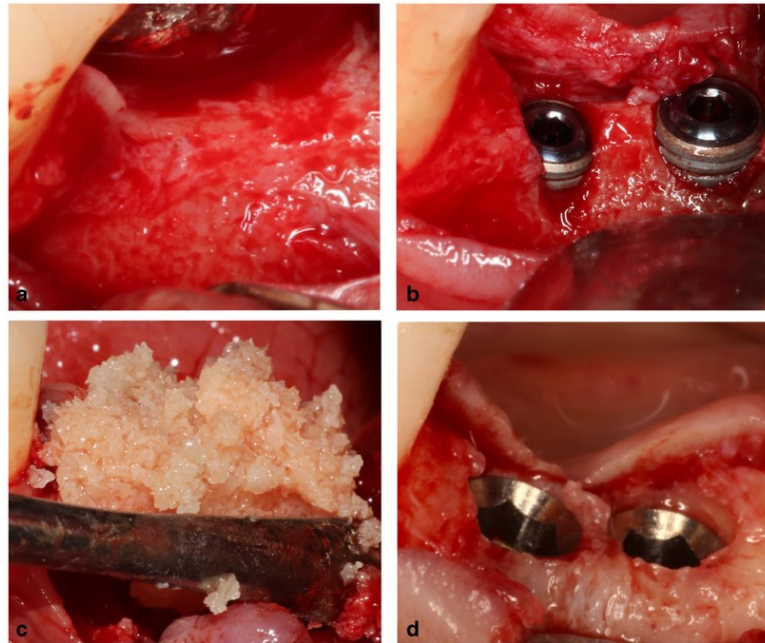


Figure 15: Etapas do procedimento do grupo I-PRF e o xenoenxerto: elevação de um retalho de espessura total (a); colocação de implantes (b); aumento da espessura dos implantes (c); correção da deiscência óssea vestibular em torno dos implantes com um xenoenxerto de origem bovina enriquecido com a I-PRF (c); cicatrização aos 6 meses pós-operatório (d) (Adaptado de 1, 2021).

C. Aplicações da L-PRF:

Com base nestas descobertas biológicas e nos interesses emergentes da PRF, a sua utilização foi democratizada e é hoje uma ferramenta clínica quotidiana em várias áreas da medicina dentária e da cirurgia regenerativa. Depois de estudarmos as propriedades deste material inovador, vamos abordar as suas aplicações em cirurgia oral. Esta investigação permitir-nos-á avaliar os potenciais benefícios da PRF como adjuvante de uma ampla variedade de tratamentos com implantes, periodontais e de regeneração de tecidos.

1. Implantologia

Atualmente, a implantologia é utilizada com frequência em casos de perda parcial ou total de dentes. Graças à sua previsibilidade, segurança e longevidade, a reabilitação com sucesso de um ou mais dentes utilizando implantes foi amplamente reconhecida desde a descoberta pelo Dr. Branemark (1965) da biocompatibilidade do titânio e da sua utilização em cirurgia oral. Apesar disso, os médicos dentistas ainda se deparam com numerosos desafios, tais como a

cicatrização pós-operatória, a osseointegração, a prevenção e a gestão da peri-implantite e a estética protética e periodontal.

Com o objetivo de encontrar soluções para estes desafios clínicos, começaremos por analisar os benefícios da PRF na gestão e preservação dos tecidos duros e moles, pré-implante e/ou pré-protético. Posteriormente, detalharemos os seus benefícios na fase pró-implantar para melhorar a sua taxa de sucesso, tentando averiguar o estado atual da evidência científica na literatura.

a) Pós-extração

A extração de um ou mais dentes é um procedimento de rotina em projetos de reabilitação com implantes ou próteses e em patologias dentárias não tratáveis, nos casos de fraturas radiculares ou graus elevados de mobilidade. Nestes casos, é essencial preservar o rebordo alveolar residual (Figura 16). A cicatrização alveolar pós-extração envolve a remodelação do osso e dos tecidos moles, com um pico de alterações dimensionais a ocorrer nos primeiros três meses (Jiing, 2011).

Fisiologicamente, 50-60% do osso alveolar atrofia-se durante este período de tempo. O final do processo de cicatrização alveolar é observado clinicamente pelo fechamento da entrada por tecido mole epitelizado e/ou preenchimento ósseo (Araújo, 2015).








Figura 16: Vista oclusal do osso maxilar e dos alvéolos dentários dos quatro incisivos centrais superiores de um crânio seco. (Adaptado de Araújo, 2015)

Para melhorar a taxa de cicatrização e formação óssea, foram propostos vários protocolos, utilizando uma grande variedade de biomateriais, como materiais de substituição óssea (BSM) ou concentrados de plaquetas, como a L-PRF. (Juodzbalys, 2019)

No seu estudo clínico com trinta e dois pacientes, Mourão *et al.* (2020) analisaram o efeito da L-PRF na melhoria da epitelização e na redução da dor pós-operatória em alvéolos pós-

extração, em comparação com a cicatrização espontânea. Durante a primeira e a segunda semana após a extração, a cicatrização dos tecidos moles à volta dos alvéolos foi analisada utilizando o índice de cicatrização descrito por Landry *et al.* (1998) (Tabela 2). Verificaram uma melhor cicatrização do alvéolo uma semana após a extração no grupo L-PRF e resultados similares entre os dois grupos às duas semanas. Além disso, a dor pós-operatória pareceu ser menor no grupo L-PRF, com uma necessidade reduzida de analgésicos para aliviar a dor. Estes resultados sugerem que a aplicação de L-PRF nos alvéolos dentários pode ser benéfica para melhorar a cicatrização e a regeneração dos tecidos moles nos primeiros dias pós-operatório e para aliviar a dor (Mourão, 2020).

Tabela 2: Critérios (Landry *et al.*, 1998) para a avaliação da cicatrização dos tecidos moles (Adaptado de Mourão, 2020)

Índice de cicatrização	Critérios
 Muito fraco 1	<ul style="list-style-type: none"> ● Cor dos tecidos: mais de 50% das gengivas vermelhas Resposta à palpação: sangramento Tecido de granulação: presente Margem da incisão: não epitelizada, com perda de epitélio para além das margens Supuração: presente
 Fraco 2	<ul style="list-style-type: none"> ● Cor do tecido: mais de 50% da gengiva vermelha Resposta à palpação: sangramento Tecido de granulação: presente Margem da incisão: não epitelizada, com tecido conjuntivo exposto
 Bom 3	<ul style="list-style-type: none"> ● Cor do tecido: menos de 50% da gengiva vermelha Reação à palpação: sem hemorragia Tecido de granulação: nenhum Margem da incisão: nenhum tecido conjuntivo exposto
 Muito bom 4	<ul style="list-style-type: none"> ● Cor do tecido: menos de 25% da gengiva vermelha Resposta à palpação: sem sangramento Tecido de granulação: nenhum Margem da incisão: nenhum tecido conjuntivo exposto
 Excelente 5	<ul style="list-style-type: none"> ● Cor do tecido: todas as gengivas de cor rosa Resposta à palpação: sem sangramento Tecido de granulação: nenhum Margem da incisão: nenhum tecido conjuntivo exposto

A cicatrização e a regeneração óssea do alvéolo após a extração, com e sem coágulos de PRF, foram avaliadas em 30 pacientes por Srinivas *et al.* (2018). O estudo foi realizado utilizando o índice de Landry *et al.* (1998) para medir qualitativamente a cicatrização e duas CBCT (Cone Beam Computed Tomography), vinte e quatro horas e três meses após a cirurgia, para medir a densidade óssea na região apical do alvéolo e a sua altura. Uma proporção significativamente mais elevada de pessoas no grupo PRF apresentou um melhor índice de cicatrização e uma maior densidade óssea do que o grupo sem a PRF, tendo havido pouca diferença quando se comparou a altura do alvéolo. Os investigadores puderam observar nos seus pacientes que,

graças à utilização exclusiva de PRF neste caso, o processo de cicatrização foi mais rápido e, devido à sua natureza autóloga, não provocou uma reação de rejeição que pudesse ter um efeito negativo no tecido ósseo (Figura 17). Por conseguinte, a presença de PRF enxertado imediatamente após a extração no alvéolo poderia melhorar a formação óssea no local. (Srinivas, 2018)

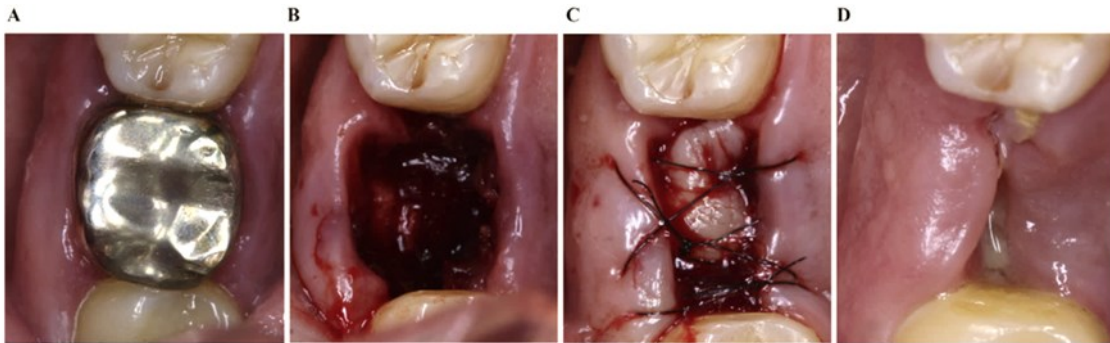


Figura 17: Sequência cirúrgica da aplicação de L-PRF. (A) Dente com coroa metálica e fratura da raiz com indicação para extração. (B) Extração minimamente traumática. (C) Membrana L-PRF colocada no alvéolo. (D) Sétimo dia pós-operatório do alvéolo (Índice de Landry 5) dos tecidos moles. (Mourão, 2020)

Durante o mesmo período de tempo e com o mesmo método radiográfico para medir a alteração dimensional do osso, Canellas *et al.* (2020) estudaram a ação da PRF na preservação do alvéolo de extração. Os resultados mostraram uma reabsorção óssea estatisticamente significativa menor no grupo PRF em comparação com o grupo de controle, particularmente na área 1-3 mm abaixo da crista alveolar e nas paredes linguais/palatinas. Apesar disso, não foi observada qualquer diferença na avaliação da perda óssea horizontal. (Canellas, 2020)

No seu estudo, Castro *et al.* (2021) investigaram as alterações dimensionais do rebordo alveolar após a extração dentária com a aplicação de L-PRF (Figura 18) ou A-PRF+ em comparação com a cicatrização natural do alvéolo. As variáveis estudadas foram as alterações na largura horizontal, reabsorção vertical, volume e microestrutura óssea em sessenta locais de extração no osso maxilar. As observações radiográficas usando CBCT, mostraram que os dois grupos PRF não mostraram diferenças após três meses para alterações nas dimensões verticais e horizontais em comparação com o grupo de controle. Além disso, verificaram-se diferenças significativas na percentagem de preenchimento do alvéolo entre os dois grupos PRF (L-PRF e A-PRF+) em comparação com o grupo de controle. A análise histológica também mostrou o

potencial benefício das matrizes de PRF em comparação com o grupo de controle na promoção da formação óssea mesmo após três meses de cicatrização (Castro, 2021).

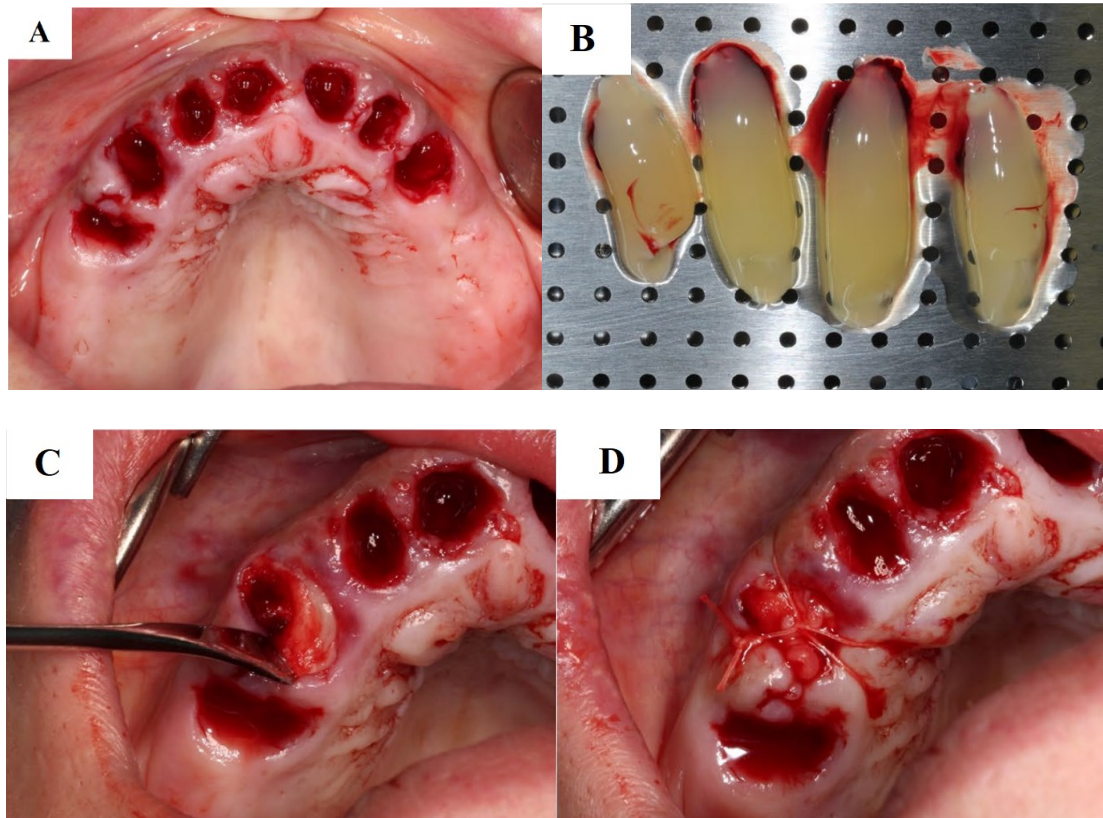


Figura 18: Procedimento cirúrgico para a preservação do rebordo. Vista oclusal do maxilar superior após extração e curetagem dentária (A) Coágulos de L-PRF antes da compressão em membranas (B) Colocação de membranas de L-PRF nos alvéolos dentários. (C) Sutura horizontal modificada para fixação das membranas de L-PRF (D) (Adaptado de Castro, 2021)

In vitro, sabemos que este concentrado de plaquetas pode estimular a proliferação de osteoblastos humanos e induzir fortemente a sua diferenciação. Na análise histológica de Zhao *et al.* (2011), foi salientada a formação de novo osso em amostras dos alvéolos com a aplicação de PRF. Quando o alvéolo dentário é preenchido com PRF, estabelece-se a neovascularização e desenvolve-se uma cobertura epitelial. (Zhao, 2011)

Esta preservação do osso alveolar foi também observada por Anwandter *et al.* (2016) no seu estudo clínico e radiográfico, durante um período de quatro meses, com a aplicação pós-extração de L-PRF. Observaram que a L-PRF é promissora na limitação da reabsorção óssea, graças às suas propriedades bioativas que promovem a regeneração dos tecidos. Aumentaria

o estabelecimento de novos capilares, a mineralização e a aposição da matriz óssea, tornando a PRF um enxerto ideal para a cicatrização das feridas. (Anwandter, 2016)

Vários autores, utilizando diversos métodos de inclusão/exclusão de artigos, analisaram recentemente a literatura em busca de estudos clínicos controlados e/ou ensaios clínicos aleatórios relevantes sobre a preservação óssea do rebordo alveolar na presença de concentrados de plaquetas. Del Fabbro *et al.* (2017) investigaram a eficácia de vários concentrados de plaquetas, o PRP, a L-PRF e o PRGF nesta situação clínica através da revisão de vinte artigos com um baixo risco de desvios. A meta-análise confirmou os benefícios significativos dos concentrados de plaquetas autólogos para a cicatrização de tecidos moles após a extração dentária. A densidade óssea medida radiograficamente ao fim de um, três e seis meses e as profundidades de sondagem ao fim de três meses também foram melhoradas para o grupo do concentrado de plaquetas, sem que o autor tenha efectuado uma avaliação das diferenças de eficácia entre estes concentrados. (Del Fabbro, 2017).

Da mesma forma, Al-Maawi *et al.* (2021) recolheram vinte artigos relevantes apenas sobre a utilização da PRF e o seu potencial papel na cicatrização e regeneração tecidual de alvéolos pós-extração. Tal como os estudos anteriores, este promove a ação bioactiva da PRF. A maioria dos estudos clínicos afirma que a PRF promove a regeneração dos tecidos moles e previne a perda óssea dimensional no tempo de 2-3 meses após a extração dentária. (Al-Maawi, 2021)

Podemos observar na literatura que a PRF também é utilizada em combinação com outros materiais de enxerto para a regeneração de alvéolos de extração, e que a sua utilização não se limita à sua aplicação sozinha. Destas combinações com a PRF, Sultan *et al.* (2020) observaram recentemente no seu estudo que não houve diferença significativa na alteração das dimensões do alvéolo dentário após a extração entre a aplicação de sulfato de cálcio, que é um material aloplástico, em comparação com o material de xeno-enxerto MinerOss®. Verificaram uma excelente cicatrização e formação óssea (Figura 19) no local da extração em ambos os grupos (Sultan, 2020).

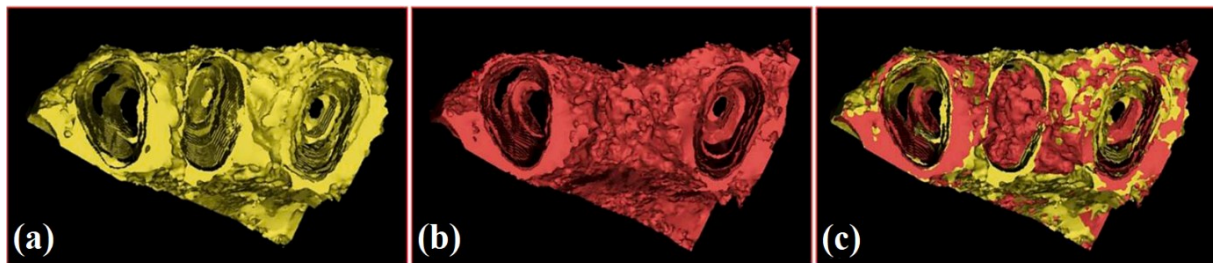


Figura 19: (a) Imagem 3D do osso alveolar na linha de base após a extração (amarelo), (b) 5 meses após a extração com a aplicação de L-PRF em combinação com o sulfato de cálcio (vermelho) e (c) sobreposição do osso na linha de base e 5 meses. (Adaptado de Sultan, 2020)

Vale a pena adicionar aqui que os resultados diferem de estudo para estudo, e que os protocolos utilizados na literatura não são todos idênticos. Jambhekar *et al.* (2015) compararam os resultados obtidos por diferentes métodos de preservação do rebordo alveolar. Em comparação, ao nível da reabsorção óssea alveolar horizontal, os resultados da utilização de L-PRF da mesma forma que os resultados encontrados com xeno-enxertos e aloenxertos foram semelhantes. Para além disso, a L-PRF foi mais eficaz do que os enxertos aloplásticos e a remodelação natural. Paralelamente, a reabsorção óssea vertical da parede vestibular obtida com o uso de concentrado de plaquetas foi menor do que a descrita para qualquer enxerto ósseo (Jambhekar, 2015).

Thakkar *et al.* (2016), no seu estudo clínico e radiográfico, compararam a aplicação de aloenxerto ósseo desmineralizado liofilizado em combinação com a PRF ou isoladamente. Conseguiram observar os benefícios da combinação de PRF com o aloenxerto no seu paciente, para minimizar a perda de largura/altura do rebordo alveolar. (Thakkar, 2016)

b) Seio maxilar

Os concentrados de plaquetas, como a PRF, têm sido estudados pelo seu papel na regeneração óssea em muitos contextos clínicos, incluindo a ajuda à reconstrução de altura e volume ósseos suficientes para locais de implantes dentários. A sua utilização pode ser particularmente benéfica no osso maxilar posterior gravemente atrofiado, onde a perfuração do seio maxilar é uma complicação frequente e é necessária a elevação do pavimento do seio maxilar como solução terapêutica. Veremos que a PRF pode ser aplicável com o objetivo de promover a regeneração óssea neste contexto clínico, melhorando a qualidade da formação óssea e reduzindo a sua duração. Para além disso, analisaremos a literatura para perceber porque é que esta abordagem autóloga e minimamente invasiva pode reduzir o risco de transmissão de doenças, bem como potenciais complicações e riscos associados com infeções. (Otero, 2022)

Vários biomateriais e substitutos ósseos têm sido propostos para a restauração e reconstrução do volume ósseo maxilar posterior e elevação do pavimento do seio maxilar, permitindo um elevado nível de osteocondução e osteoindução. Os enxertos ósseos autógenos ou autoenxertos são considerados o padrão ouro na regeneração óssea, apesar da intensa investigação e desenvolvimento de potenciais alternativas. (Schmidt, 2021)

O enxerto ósseo alogénico liofilizado ou Freeze-Dried Bone Allograft (FDBA) é um enxerto humano com osso recolhido de um dador. Depois de ser tratado, esterilizado e liofilizado, fornece um suporte para o crescimento ósseo e tem um baixo risco de transmissão de doenças. É comumente utilizado em muitas áreas cirúrgicas (Figura 20) e tem demonstrado ser eficaz no tratamento de defeitos ósseos maxilares e noutros tratamentos de regeneração óssea oral. (Clark, 2018).

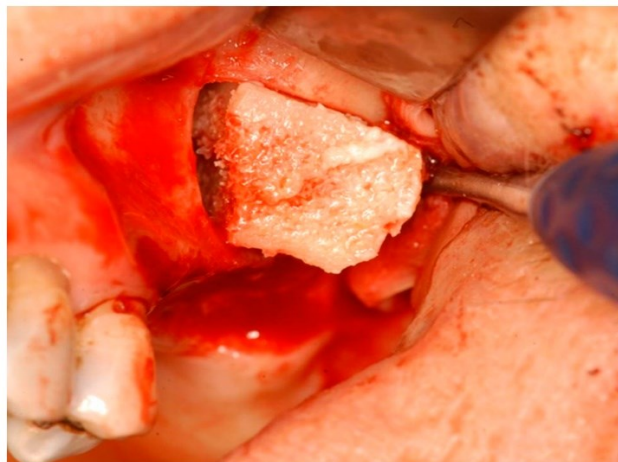


Figura 20: Um bloco monocortical-canceloso de osso alogénico fresco congelado da crista ilíaca foi inserido na cavidade sinusal após a abertura de uma janela lateral e o descolamento cuidadoso da membrana de Schneider. (Adaptado de Stacchi, 2019)

Por outro lado, os substitutos ósseos aloplásticos são materiais sintéticos concebidos para imitar as propriedades do osso natural. Estes materiais podem incluir cerâmicas fosfocálcicas e vitrocerâmicas, bio-vidros e outros. Os substitutos ósseos aloplásticos eliminam a necessidade de recolher osso do corpo do doente ou de um terceiro e podem ser fabricados com características específicas, como a porosidade, a resistência mecânica ou a reabsorção. (Fukuba, 2021)

Paralelamente ao progresso constante dos enxertos ósseos e à chegada ao mercado de numerosos biomateriais, como o cerabone®, o xenograft® ou o boneceramic® (Straumann®)

e muitos outros, os concentrados de plaquetas têm sido estudados e aplicados isoladamente ou como complemento destes biomateriais na cirurgia de elevação do pavimento sinusal e na manutenção do volume ósseo maxilar, em vários campos de interesse há mais de quinze anos (Choukroun, 2006).

Relembrando, quando a PRF é aplicada num local de defeito ou lesão óssea, pode libertar níveis elevados de factores de crescimento e proteínas bioactivas. Esta administração local de factores de crescimento pode melhorar o processo natural de cicatrização e estimular o recrutamento, a proliferação e a diferenciação de células envolvidas na regeneração óssea, como os osteoblastos e as células estaminais mesenquimais (Zumstein, 2012).

No seu estudo, Aoki *et al.* (2016) analisaram dois casos de aumento ósseo do pavimento do seio maxilar utilizando apenas a PRF. No primeiro caso, foi selecionado um enxerto por via crestal, seguido de implantação imediata, tendo em conta a altura óssea residual entre a crista alveolar e o pavimento do seio maxilar, que era de 2,7 mm na região do segundo pré-molar e 2,2 mm na região do primeiro molar. Ao mesmo tempo, foram aplicados coágulos e membranas de L-PRF isoladamente no local. No segundo caso, devido à elevada reabsorção óssea, foram removidos dois implantes e substituídos numa segunda operação. A altura óssea abaixo do seio na região posterior era inferior a 2 mm, pelo que se optou pela técnica de abordagem lateral. Foram inseridos dois coágulos de L-PRF na cavidade sinusal e foi utilizada uma membrana L-PRF para cobrir a janela cirúrgica (Figura 21). Após uma análise de vinte e quatro meses após a cirurgia, os resultados do primeiro caso clínico mostraram que o uso exclusivo de L-PRF deve ser suficiente para manter a formação de osso novo natural à volta dos implantes no seio. Para além disso, o protocolo de duas fases demonstrou que os coágulos de PRF sozinhos podem criar um espaço entre o pavimento original do seio e a membrana de Schneider elevada. Este espaço pode confirmar histologicamente a formação de novo osso, e seria uma escolha terapêutica mais segura e simples do que usar PRF com outros materiais de enxerto. Assim, os coágulos de PRF podem ser considerados uma opção mais favorável do que uma membrana de PRF neste cenário clínico (Aoki, 2016).

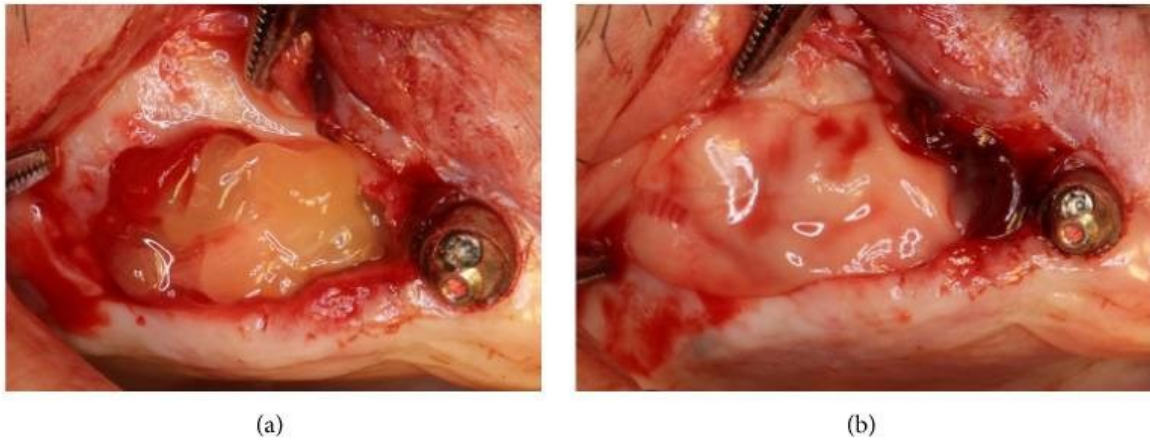


Figura 21: Elevação do seio maxilar utilizando a técnica da janela lateral. (a) Coágulos de PRF isolados foram colocados no interior da cavidade sinusal e (b) a membrana de PRF foi utilizada para cobrir a janela de osteotomia. (Adaptado de Aoki, 2016)

Mais tarde, num estudo retrospectivo e radiográfico com um seguimento de um a sete anos, a mesma equipa de investigação confirmou o valor da PRF sozinha na elevação do seio maxilar. Adicionaram, no entanto, que a longevidade dos implantes intrasinais era significativamente maior se a altura média do osso residual pré-operatório fosse superior a 4 mm (Aoki, 2018).

Na revisão de Ali *et al.* (2015), também concluíram que a PRF sozinha é eficaz como cobertura para a membrana sinusal e a janela de osteotomia, mas também para efeitos de formação de novo osso e retenção do implante no local num enquadramento clínico idêntico. (Ali, 2015)

O método PRF aplicado sozinho é teoricamente idêntico na elevação do seio maxilar sem enxerto, porque a PRF vai reproduzir o coágulo sanguíneo *in-vivo* no local da cirurgia. A principal diferença em relação ao método sem enxerto é que o coágulo de PRF pode ser aplicado localmente para melhorar a cicatrização e libertar moléculas bioactivas. Ao controlar a hemorragia natural, os cirurgiões podem controlar e otimizar a cicatrização óssea eficaz. É por isso que a utilização de PRF parece ser benéfica para promover a regeneração óssea em torno de um futuro implante e limitar as complicações pós-operatórias. (Kanayama, 2016)

Também foram efectuados numerosos estudos para testar a eficácia da PRF como adjuvante dos biomateriais utilizados na cirurgia reconstructiva oral. Zhang *et al.* (2012) analisaram onze situações envolvendo dez pacientes com atrofia óssea na região sinusal. Um grupo foi tratado com um protocolo utilizando uma combinação do substituto ósseo Bio-Oss® (Geistlich Biomaterials®), que é um mineral ósseo bovino desproteinizado, com PRF preparado com o protocolo inicial de Choukroun (2001) na zona de elevação do seio. Para além disso, a janela

de osteotomia foi coberta com uma membrana de PRF. No grupo de controlo, o protocolo incluiu apenas a aplicação de Bio-Oss®. Isto mostrou que a percentagem de formação de osso novo no grupo da PRF era cerca de 1,4 vezes superior à do grupo de controlo. A análise histológica mostrou que, após um período de cicatrização de seis meses, a densidade óssea e a morfologia no local eram equivalentes com o substituto ósseo sozinho e com a PRF. (Zhang, 2012)

Utilizando a mesma abordagem, Nizam *et al.* (2018) realizaram 26 procedimentos de aumento de seio maxilar com a aplicação de Bio-Oss® e L-PRF (Figura 22) num grupo de teste e substituto ósseo sozinho no grupo de controlo. Como a análise se concentrou principalmente na percentagem de osso formado e enxerto residual, os investigadores conseguiram obter resultados histológicos e histo-morfométricos relevantes. Não foram observadas diferenças qualitativas ou quantitativas na formação óssea, e em todas as análises o tecido ósseo formado estava em contacto direto com o material de enxerto residual. Radiograficamente, aos seis meses de pós-operatório, o aspeto era semelhante e a regeneração óssea suficiente para a colocação de implantes numa segunda fase da cirurgia. (Nizam, 2018)

Estes dois estudos clínicos, neste contexto, não mostram qualquer benefício, aos seis meses de pós-operatório, da combinação da PRF com este tipo de biomaterial para melhorar a formação óssea no preenchimento e elevação do seio maxilar.

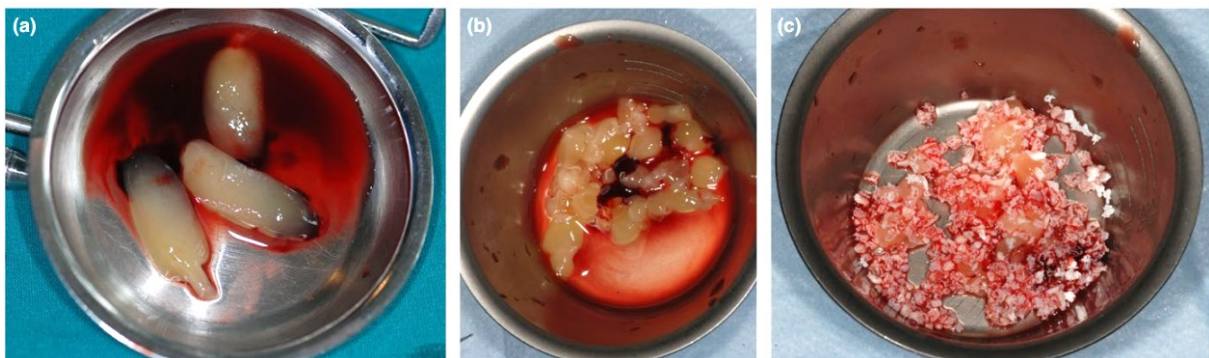


Figura 22: (a) coágulos de L-PRF em forma de membrana, (b) coágulos de L-PRF cortados em fragmentos, (c) mistura de L-PRF e BioOss®. (Adaptado de Nizam, 2018)

Por outro lado, Castro *et al.* (2017) afirmam que este substituto ósseo bovino desproteinizado não tem um efeito estimulador direto na formação óssea. Portanto, ao combinar este material de enxerto com um ativador biológico como a PRF, que contém factores de crescimento

essenciais envolvidos no processo de regeneração óssea, seria possível reduzir o tempo de cicatrização e completar o processo osteoindutivo do Bio-Oss® (Castro, 2017).

A L-PRF, enquanto material biologicamente ativo, pode ser considerado como uma preparação de "tecido vivo" para a regeneração natural guiada dos tecidos, em vez de um simples adjuvante cirúrgico rico em moléculas e outros factores de crescimento. (Damsaz, 2020)

O estado atual da literatura e da evidência científica mostra a heterogeneidade dos resultados sobre o benefício a longo prazo da L-PRF como adjuvante cirúrgico de outros biomateriais em procedimentos de elevação do seio maxilar e regeneração óssea. Mas todos estes resultados apontam para a hipótese de que a L-PRF leva a uma maturação mais rápida do enxerto ósseo, o que poderia resultar num aumento do seio maxilar com um tempo de cicatrização mais curto.

Isso foi observado por Pichotano *et al.* (2019), que selecionaram e trataram doze pacientes para aumento bilateral do seio maxilar. Também comparando o uso de L-PRF com mineral ósseo bovino desmineralizado e biomaterial sozinho, após 4 meses de cicatrização, seu estudo histológico e radiográfico demonstrou o benefício da adição de L-PRF na preparação do enxerto ósseo (Pichotano, 2019).

c) Comunicações e fístulas oro-antrais

Recentemente, vários estudos avaliaram a eficácia da PRF no tratamento da comunicação oro-antral (COA), uma abertura não natural entre a cavidade oral e o seio maxilar, e das fístulas oro-antrais (FOA), uma comunicação patológica epitelizada na mesma zona. O tratamento destas complicações, que é causado pela perda de volume de tecido mole e/ou duro na região posterior da maxila e pode estar relacionado com exodontias e outras situações, tem como objetivo fechar a comunicação de forma permanente e recuperar um local saudável. (Parvini, 2018)

Várias abordagens de tratamento foram desenvolvidas para o tratamento de comunicação oro-antral e fístulas oro-antrais, demonstrando altas taxas de sucesso no fechamento do defeito. Atualmente, a abordagem mais utilizada é a intervenção cirúrgica com recurso a um retalho de avanço bucal, e têm sido desenvolvidos outros protocolos com recurso a biomateriais. No entanto, desde a democratização do uso de concentrados de plaquetas para melhorar a cicatrização de tecidos intra-orais, a aplicação da PRF com várias técnicas (Figura 23) para promover o fechamento de COA/FOA foi clinicamente testada (Pandikanda, 2019).

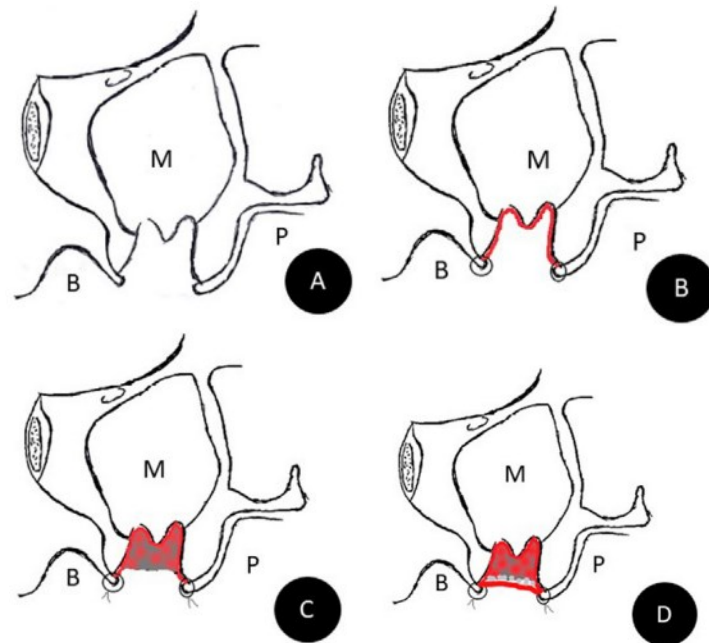


Figura 23: (A) Representação esquemática pré-operatória de COA em dentes molares posteriores. (B) Primeira colocação da membrana de PRF no alvéolo e fixada ao retalho mucoperiosteal palatino e bucal. (C) Colocação da combinação de PRF e colágeno no alvéolo sobre a membrana. (D) Colocação da segunda membrana de PRF entre o retalho mucoperiosteal palatino e o retalho mucoperiosteal vestibular. (Adaptado de Pandikanda, 2019)

Atualmente foram demonstradas várias técnicas de enxerto com PRF e estão a surgir novos protocolos, como a "técnica da dupla barreira" (Figura 24), que consiste em formar uma barreira antral e uma segunda barreira vestibular, com o objetivo de melhorar a qualidade do tecido recém-formado devido às propriedades anti-inflamatórias, angiogénicas e activadoras da PRF. (Jung, 2023)

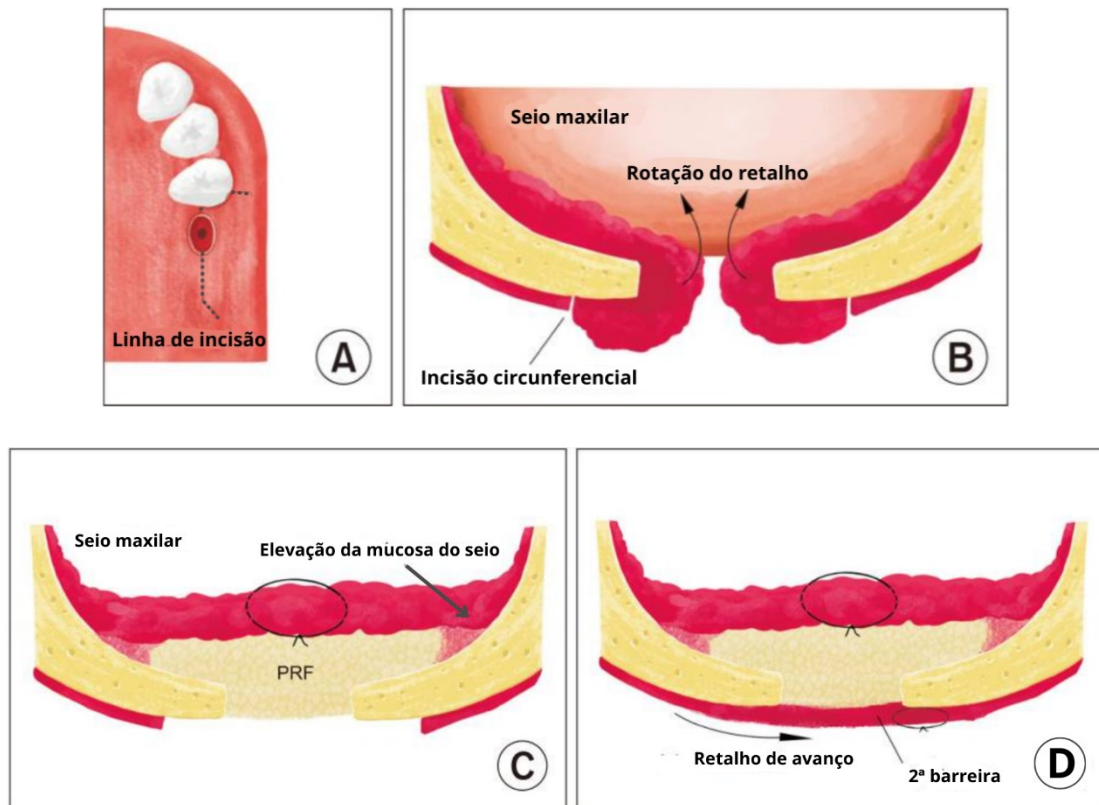


Figura 24: Um exemplo da linha de incisão (A), rotação e elevação do retalho antral como primeira barreira (B), inserção de fibrina rica em plaquetas (PRF) no espaço do seio maxilar preparado (C), um retalho de avanço vestibular como segunda barreira (D) (Adaptado de Jung, 2023)

Hunger *et al.* (2023) compararam o resultado da cicatrização do encerramento da comunicação oro-antral em quarenta pacientes após tratamento com coágulos de PRF (Figura 25) ou após tratamento cirúrgico com retalho de avanço bucal e avaliaram os factores de risco associados ao paciente e aos dois tipos de protocolo cirúrgico. Os seus resultados mostram um encerramento com sucesso (95% de sucesso após uma semana e 80% após três semanas, de acordo com os critérios escolhidos pelos autores), sem diferença significativa entre os dois grupos após uma semana e três semanas pós-operatórias. A cicatrização observada e avaliada através do índice de Landry *et al.* (1998) foi excelente em ambos os grupos, com uma melhoria mais significativa no grupo com retalho de avanço bucal ao fim de uma semana e uma evolução mais significativa no grupo PRF ao fim de três semanas. Para além disso, os níveis de dor e a quantidade de analgésicos necessários foram significativamente mais elevados no grupo com retalho de avanço bucal em comparação com o grupo PRF. Sugerem, portanto, que a utilização de PRF para estes defeitos pode ser benéfica, da mesma forma que outros protocolos, mas reduzindo a dor pós-operatória graças aos efeitos anti-inflamatórios deste concentrado de plaquetas autólogo (Hunger, 2023).



Figura 25: Paciente do grupo PRF com uma COA na região do dente 27 (lado esquerdo: pós-operatório, centro: uma semana pós-operatório, lado direito: três semanas pós-operatório) (Adaptado de Hunger, 2023)

Com base nos onze artigos revistos por Salgado-Peralvo et al (2022), estes sugerem que a PRF pode ser utilizada sozinha para o tratamento de COA/FOA até 5 mm. Para defeitos maiores, recomenda-se a sua combinação com outras técnicas de enxerto para solidificar o enxerto e assegurar uma cicatrização e regeneração eficazes. (Salgado-Peralvo, 2022)

Alguns doentes podem ter problemas devido a patologia do seio maxilar e a outras condições anatómicas complexas. O volume ósseo no local recetor de um projeto de reabilitação oral com implantes é um fator crítico para obter uma osseointegração bem-sucedida. Por este motivo, a utilização de PRF nestas situações clínicas, com ou sem outros biomateriais, pode contribuir para uma melhor formação óssea. (Chen, 2009)

É de salientar que são necessárias mais evidências e estudos para determinar o real interesse clínico da PRF na promoção da formação óssea e na gestão dos défices ósseos, apesar de ser amplamente utilizado hoje em dia.

d) Fase de implante

A osseointegração é o processo pelo qual o osso maxilar se une ao implante dentário. Para além disso, a qualidade da formação óssea em torno do implante, uma vez integrado, desempenha um papel fundamental na sua estabilidade e durabilidade. (Apostolopoulos, 2017)

Como resultado, os investigadores estão a trabalhar não só na melhoria das superfícies dos implantes, mas também em técnicas de preparação e gestão do local do implante para promover uma boa osseointegração. Foram feitos progressos na nossa abordagem às soluções de reabilitação de edêntulos, como a colocação imediata de implantes em alvéolos de extração recentes, que se revelou uma técnica benéfica tanto para o paciente como para o profissional (Ketabi, 2016).

Esta abordagem visa reduzir a alteração dos tecidos após a extração dentária, permitindo simultaneamente a osseointegração dos implantes em posições estáveis para uma função e estética de qualidade. É graças a este esforço contínuo para melhorar as técnicas cirúrgicas que vamos analisar os benefícios clínicos da PRF numa abordagem de implante imediato.

A sua eficácia clínica na formação óssea à volta do implante dentário para um implante de uma etapa única na região anterior do maxilar foi constatada por Boora *et al.* (2015), num estudo aleatório de vinte pacientes tratados com ou sem L-PRF. Através da análise da perda óssea marginal média no grupo PRF, constatou-se que foi estatisticamente inferior à do grupo de controlo. (Boora, 2015)

Kapoor *et al.* (2022) também observaram uma melhoria na osseointegração de trinta implantes com a presença de L-PRF em comparação com um grupo de controlo de trinta implantes sem L-PRF. Apesar de um tamanho de amostra limitado, sugerem que a PRF pode melhorar a estabilidade e a integração do implante durante o período de cicatrização precoce (Figura 26), ou seja, no primeiro mês pós-operatório. (Kapoor, 2022)

Além disso, os benefícios da PRF não foram apenas observados em termos de manutenção óssea e formação óssea melhorada. De facto, Zhou *et al.* (2018) avaliaram a PRF como material de enxerto com osso bovino desproteínizado no espaço peri-implantar e a PRF sozinha no seu segundo caso. No seu estudo, encontraram benefícios da PRF na formação óssea e na promoção da regeneração de tecidos moles, observando um aumento nos factores de crescimento, citocinas e uma redução significativa na inflamação local. (Zhou, 2018).

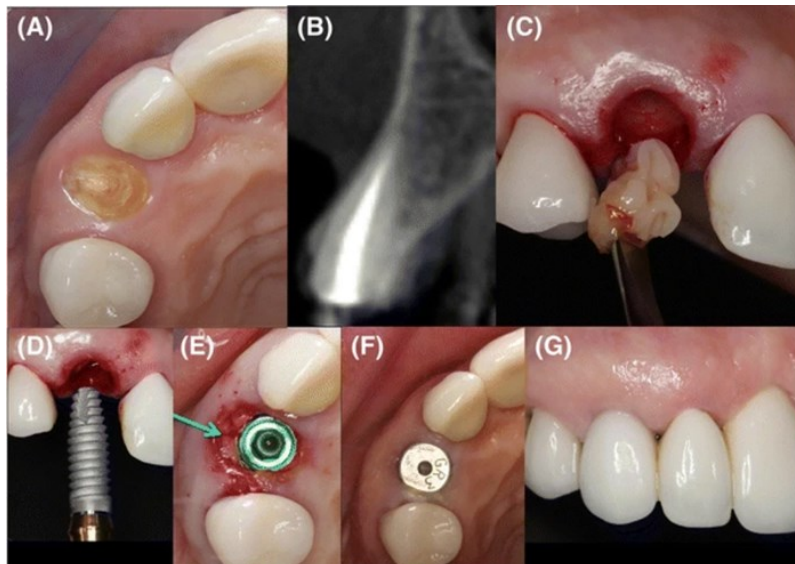


Figura 26: Colocação imediata do implante em combinação com o uso de PRF. (A) e (B) Fratura da cúspide superior direita, extração. (C) PRF colocada em alvéolo de extração fresco. (D) Colocação do implante dentário com fragmentos da PRF visíveis após a colocação (seta em E). (F) Acompanhamento de três semanas, excelente cicatrização de tecidos moles. (G) Controle três anos pós-operatório (Adaptado de Miron, 2017)

Para além das suas propriedades bioactivas, a PRF foi capaz de servir como membrana de substituição da membrana reabsorvível, com resultados positivos aos 15 dias de pós-operatório com vascularização visível dos tecidos moles e posterior gengiva queratinizada de qualidade, no caso clínico de Sun *et al.* (2019). Para a colocação de implantes combinada com o aumento do pavimento sinusal, o procedimento escolhido foi a combinação de Bio-Oss[®] Collagen e um coágulo PRF colocado entre o implante e as paredes alveolares, para promover a regeneração óssea e aumentar a estabilidade do implante, seguido de uma membrana PRF para fechar a ferida, para promover uma boa cicatrização. O paciente não sentiu dor ou inchaço e o tecido ósseo recém-formado era visível numa radiografia peri-apical seis meses após a operação. (Sun, 2019)

2. Cirurgia periodontal

O principal objetivo do tratamento periodontal é estabilizar a periodontite, ou seja, melhorar ou mesmo eliminar os sintomas clínicos e travar a evolução destrutiva da doença. Este estado de estabilidade reflete-se no encerramento das bolsas periodontais e na resolução da inflamação. (Chapple, 2018)

a) Peri-implantite

Após a colocação de implantes e reabilitação protética, sabemos que a estabilidade óssea peri-implantar é crucial para a saúde e longevidade do implante. A má higiene oral e os factores patológicos existentes, como os pacientes que sofrem de diabetes ou doenças autoimunes, podem levar a complicações futuras. É por isso que é necessário efetuar enxertos ou outras cirurgias para tratar esta perda óssea. Com o objetivo de regeneração óssea, dezanove pacientes com perda óssea peri-implantar foram tratados no estudo de Hamzacebi *et al.* (2015). Divididos aleatoriamente em dois grupos, o grupo de PRF foi composto por pacientes que receberam PRF como material de enxerto autólogo e um grupo de controlo sem PRF. Um total de trinta e oito defeitos peri-implantares tratados com PRF mostrou um aumento significativo na quantidade de gengiva queratinizada e maiores reduções médias de sondagem periodontal do que no grupo de controlo, com uma taxa de sobrevivência dos implantes dos dois grupos de 100%. (Hamzacebi, 2015).

Sun *et al.* (2021) também obtiveram resultados promissores na reconstrução de defeitos ósseos peri-implantares com PRF. Oitenta pacientes com peri-implantite foram tratados com uma técnica convencional de curetagem com abertura de retalho cirúrgico (grupo de controlo). Por outro lado, o grupo de estudo recebeu uma mistura, após centrifugação do seu sangue venoso, de plasma destituído de plaquetas e FDBA (Haiao prosthodontic bone powder, XCT005149) para preencher o defeito após a curetagem, para além de um coágulo de PRF na ferida e uma membrana de PRF comprimida para cobrir o local. Os investigadores pretendiam comparar a dor vinte e quatro horas após a operação, o estado periodontal no local sete dias após a cirurgia e a densidade óssea formada dois e três meses após a operação. No que respeita à dor, verificaram uma redução significativa da dor pós-operatória no grupo de observação. Neste contexto, a PRF poderia ajudar a aliviar a dor nas primeiras horas após a cirurgia. Relativamente ao estado periodontal, os resultados mostraram uma forte melhoria na cicatrização e que a utilização de uma membrana de PRF de cobertura associada a um preenchimento do defeito de PRF combinado com FDBA poderia acelerar a recuperação pós-operatória do paciente. Tal como em estudos anteriores sobre a regeneração óssea no rebordo alveolar e noutros contextos clínicos, os investigadores observaram aqui uma maior densidade óssea com a PRF como adjuvante cirúrgico combinado com outro biomaterial, do que no grupo de controlo. (Sun, 2021)

b) Recessão gengival

O procedimento de retalho avançado coronalmente é uma abordagem comum baseada na deslocação coronal de tecido mole na superfície radicular exposta para cobertura radicular de dentes com recessões gengivais. Além disso, existem muitas desvantagens na escolha de um autoenxerto palatino e outros enxertos de tecido conjuntivo autógeno, como dor, sangramento pós-operatório e os fatores de risco associados ao uso de um segundo local cirúrgico. O estudo de Kumar *et al.* (2017) foi realizado em trinta e seis pacientes para comparar diferentes técnicas cirúrgicas e avaliar a PRF e enxertos de tecido conjuntivo autólogos em defeitos de recessão gengival em comparação com retalho avançado coronalmente. Com a Classificação de Miller, diferenciamos entre os casos de Classe I, que apresentam uma ou mais recessões coronais até à junção mucogengival, e os casos de Classe II, que apresentam recessões que se estendem para além da linha mucogengival. Ambos os grupos não apresentam perda de substância interdentária ou papilar, e o prognóstico para o sucesso do tratamento de recobrimento em ambos os casos é quase de 100%. Os autores sugerem que para pacientes com pelo menos um dente na região anterior da maxila com um defeito de recessão gengival Classe I/II de Miller em vestibular, a PRF pode ser considerada como um material alternativo devido ao sucesso da cobertura radicular, bem como à aceitação do paciente. (Kumar, 2017)

Tal como no estudo anterior, com o objetivo de estabelecer o melhor protocolo para o tratamento de pacientes com múltiplos defeitos de recessão gengival Classe I de Miller, Culhaoglu *et al.* (2018) compararam a eficácia da PRF e enxertos de tecido conjuntivo, combinados com uma técnica de retalho de avanço coronal. Várias medidas como a profundidade da recessão, a altura do tecido queratinizado ou o nível de fixação clínica foram utilizadas para analisar as sessenta e três situações de recessões gengivais. Os autores afirmam que a técnica que utiliza a PRF (Figura 27) é uma alternativa eficaz ao tratamento com enxertos de tecido conjuntivo (na situação clínica estabelecida), e que a cobertura da superfície radicular foi preservada significativamente mais tempo durante o período de acompanhamento. (Culhaoglu, 2018)

Observando esses potenciais benefícios da aplicação da PRF no tratamento da recessão gengival de Classe I e II, Rodas *et al.* (2020) estudaram as evidências científicas presentes na literatura nos últimos anos. Os estudos envolveram um total de 122 pacientes, mais de duzentas cirurgias em que foi utilizado enxerto de tecido conjuntivo e mais de duzentas cirurgias em que foi utilizada a PRF, com um protocolo aceitável e um baixo risco de viés. A meta-análise não

revelou diferenças significativas entre os grupos PRF e enxerto de tecido conjuntivo em termos de profundidade de sondagem, nível de fixação clínica ou recessão gengival. A única variável que diferiu significativamente entre os grupos a favor da PRF foi a largura da mucosa queratinizada nos locais de recessão gengival, seis meses após a cirurgia. Os autores sugerem que os resultados obtidos apontam para um futuro promissor na utilização de membranas de PRF como alternativa para o recobrimento de raízes expostas. (Rodas, 2020)

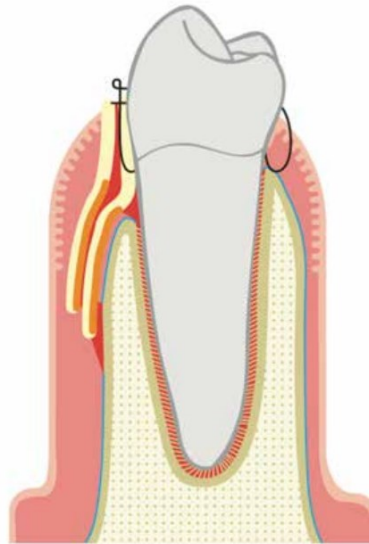


Figura 27: Representação gráfica final da situação depois do recobrimento da recessão gengival com retalho de avanço coronal e membranas de L-PRF. Várias membranas de L-PRF (3 ou mais) são colocadas no leito receptor e sobre a recessão. Suturar o retalho de avanço coronal sobre a recessão. (O periosteio, linha azul, foi cortado previamente para permitir o avanço coronal do retalho). (Adaptado de Pinto, 2018)

Recentemente, Alpan *et al.* (2019) lembram-nos que, numa situação de enxerto palatino, algumas complicações potenciais podem ocorrer no local doador, como necrose do enxerto e do local palatino, dor, sangramento excessivo, desconforto prolongado, infecção do local doador e, em alguns casos, parestesia do local doador. Comparando a cicatrização e a regeneração de feridas palatinas com L-PRF (Figura 28) ou sem, o grupo que foi tratado com o concentrado de plaquetas apresentou clinicamente uma melhor cicatrização da ferida até 14 dias, tanto durante os primeiros eventos de cicatrização como no final do intervalo do estudo, em comparação com o grupo de controlo, e reduziu a dor nos primeiros dias do pós-operatório. (Alpan, 2019)



Figura 28: Aplicação de L-PRF no local dador palatino de um enxerto de tecido conjuntivo autólogo para o tratamento de recessões gengivais (Adaptado de Alpan, 2019).

c) Defeitos periodontais

Em paralelo com a aplicação de concentrados de plaquetas no tratamento de doenças periodontais, como a recessão gengival, os benefícios da PRF foram testados noutras áreas. A cirurgia periodontal é uma opção de tratamento para pacientes com doença periodontal avançada quando o alisamento radicular por si só não é suficiente. Em casos mais graves, o osso também pode ser afetado. (Figura 29) O objetivo é eliminar as bolsas periodontais e restaurar a saúde dos tecidos periodontais. Graças a uma série de procedimentos cirúrgicos, como o retalho de acesso aberto ou enxertos ósseos, é agora possível esperar uma regeneração dos tecidos, que é complexa porque consiste numa interação complexa entre o epitélio, o tecido conjuntivo gengival, o ligamento periodontal e o osso alveolar. Os cirurgiões têm estudado muito os benefícios dos concentrados de plaquetas, como a PRF, no tratamento de defeitos periodontais, porque continuam a ser um desafio clínico diário e ainda estão presentes para muitos pacientes. (Tarallo, 2020)

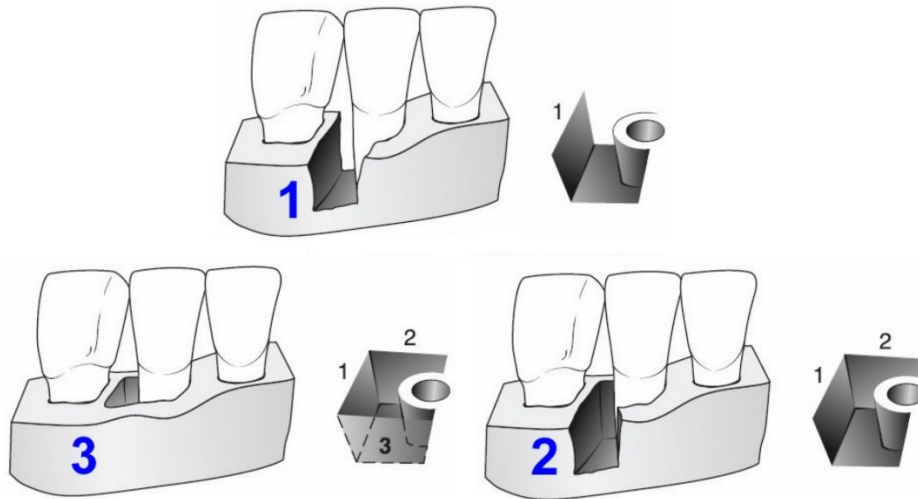


Figura 29: Classificação dos defeitos periodontais de uma até três paredes (1;2;3) (Adaptado de SmileMag, 2007)

A eficácia da L-PRF isolada ou em combinação com enxerto ósseo foi testada por Chandradas *et al.* (2016) no tratamento de defeitos intra-ósseos periodontais. Utilizando parâmetros clínicos como a profundidade de sondagem, o nível de inserção relativo e parâmetros radiográficos como a percentagem de preenchimento ósseo, os autores encontraram diferenças significativas entre os diferentes grupos de estudo. Durante um período de nove meses, verificaram uma redução da profundidade de sondagem e uma melhoria da fixação clínica no grupo PRF e no grupo PRF + matriz óssea desmineralizada. A densidade e o volume ósseo na análise radiográfica mostraram resultados significativamente melhores para o grupo PRF + combinação de enxerto ósseo. Os autores sugerem que o uso de L-PRF em defeitos intra-ósseos melhora os parâmetros clínicos e radiográficos nos casos em que o defeito tem três paredes, e salientam que são necessários mais estudos para provar que a PRF é realmente benéfico para todos os diferentes graus e fases da periodontite. Além disso, a incorporação do enxerto ósseo reforça os benefícios da PRF, promovendo um ganho de inserção clínica e melhor preenchimento dos defeitos. (Chandradas, 2016)

Com os mesmos parâmetros de análise clínica durante um período de seis meses, Segzin *et al.* (2017) testaram a eficácia da regeneração óssea e a cicatrização de defeitos periodontais tratados apenas com mineral ósseo bovino inorgânico e aplicado com a L-PRF de acordo com o protocolo original de Choukroun. Todos os pacientes foram diagnosticados com doença periodontal crônica generalizada grave, classificada como tal quando >30% dos locais foram afectados por uma perda do nível de inserção clínica de ≥ 5 mm. Clinicamente, a melhoria do nível de inserção clínica foi estatisticamente significativa no grupo PRF em comparação com o

grupo de controlo. Radiograficamente, ambos os grupos apresentaram excelentes resultados de preenchimento ósseo, sem diferença significativa na presença de PRF. De acordo com os autores, o PRF oferece uma oportunidade como biomaterial cicatrizante graças às suas propriedades mecânicas adesivas e funções biológicas, e cumpre o seu papel nesta situação clínica em combinação com o mineral ósseo bovino inorgânico (Segzin, 2017).

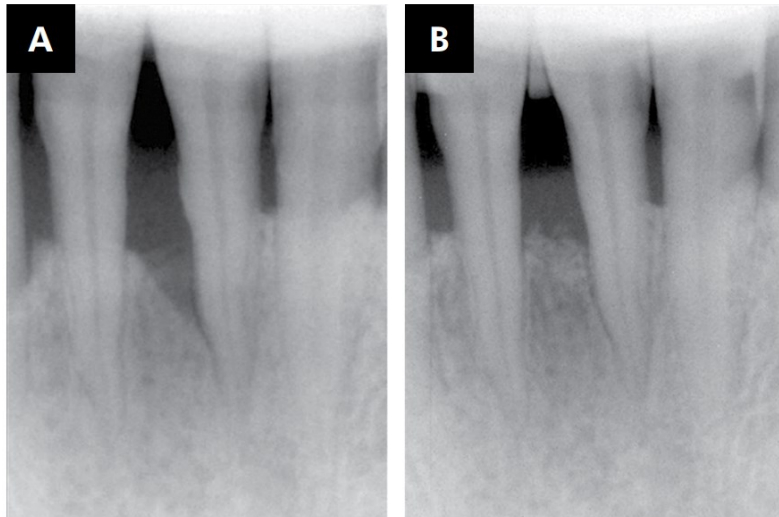


Figura 30: A utilização da PRF com mineral ósseo bovino anorgânico nos defeitos periodontais. (A) radiografia periapical do defeito intraósseo na linha de base; (B) radiografia periapical do defeito intraósseo 6 meses após o tratamento combinado PRF e ósseo bovino. (Adaptado de Segzin, 2017)

Com o mesmo objetivo de melhorar a saúde periodontal e ao analisar os resultados obtidos em dez artigos que testaram a aplicação da PRF nos últimos quinze anos, Ghanaati *et al.* (2018) observaram seus benefícios no tratamento da remodelação da bolsa periodontal e redução da profundidade de sondagem, e no tratamento da recessão gengival localizada e/ou generalizada. Neste estudo amplo, as patologias tratadas foram casos de periodontite crónica com diferentes graus de defeitos ósseos e recessão gengival. Apesar dos resultados heterogéneos (Figura 31) e a elevada heterogeneidade que foi encontrada entre os grupos, a aplicação da PRF melhorou ou teve um benefício igual a outros métodos cirúrgicos no tratamento destas situações periodontais. (Ghanaati, 2018)

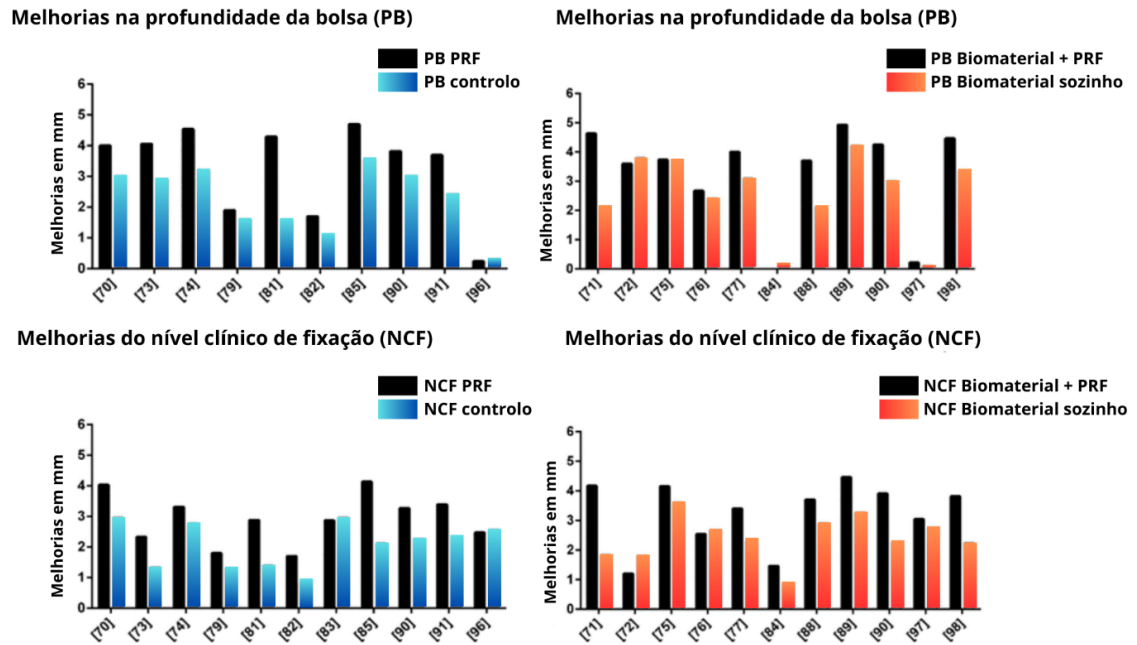


Figura 31: A utilização da PRF como único material de preenchimento vs retalho de acesso aberto convencional (lado esquerdo) e a utilização de PRF com biomaterial vs. biomateriais sozinhos (lado direito) (Adaptado de Ghanaati, 2018)

III. CONCLUSÃO

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos tem-se tornado, ao longo dos anos, um importante tópico de estudo na medicina regenerativa e, em particular, na cirurgia oral.

A literatura recente demonstra o papel eficaz da L-PRF no tratamento de numerosas situações clínicas. Atualmente, as propriedades únicas da L-PRF revelaram ser benéficas para melhorar a cicatrização de feridas e promover a regeneração dos tecidos duros e moles orais.

Na cirurgia reconstrutiva e na implantologia, os cirurgiões podem agora tirar partido dos benefícios deste material para melhorar a qualidade das operações cirúrgicas, como a elevação do seio maxilar ou a preservação do rebordo alveolar, e assim evitar a perda óssea que influenciará a sobrevivência dos implantes ou de outras reabilitações protéticas a longo prazo.

O mesmo se aplica à cirurgia periodontal, onde a PRF melhora vários procedimentos, incluindo enxertos de tecidos moles ou regeneração periodontal, com o objetivo de tornar as gengivas e o periodonto como um conjunto mais saudável e estável.

Graças à investigação de desenvolvimento, novos protocolos como a A-PRF ou a I-PRF e novas aplicações estão atualmente a ser testados *in vitro* e *in vivo*, para melhorar as taxas de sucesso cirúrgico utilizando concentrados de plaquetas. De facto, observamos na literatura um grande interesse por estes materiais autólogos, com o desejo de estruturar a sua utilização, de modo a prever uma aplicação mais segura. A evolução em relação ao protocolo original parece aumentar os seus benefícios mas as evidências científicas continuam a ser limitadas e não está bem comprovada a sua eventual superioridade, sendo necessários mais estudos.

Os concentrados de plaquetas como a L-PRF oferecem soluções de tratamento significativamente menos custosas para os nossos pacientes, devido à sua facilidade de utilização, o que define atualmente a PRF como uma excelente ferramenta quotidiana para os cirurgiões.

BIBLIOGRAFIA

- Albilía, J., DMD, MSc, Herrera-Vizcaíno, C., DDS, Weisleder, H., BSc, Choukroun, J., MD, & Ghanaati, S., MD, DMD, PhD (2020). Liquid platelet-rich fibrin injections as a treatment adjunct for painful temporomandibular joints: preliminary results. *Cranio : the journal of craniomandibular practice*, 38(5), 292–304. <https://doi.org/10.1080/08869634.2018.1516183>
- Ali, S., Bakry, S. A., & Abd-Elhakam, H. (2015). Platelet-Rich Fibrin in Maxillary Sinus Augmentation: A Systematic Review. *The Journal of oral implantology*, 41(6), 746–753. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-14-00167>
- Al-Maawi, S., Becker, K., Schwarz, F., Sader, R., & Ghanaati, S. (2021). Efficacy of platelet-rich fibrin in promoting the healing of extraction sockets: a systematic review. *International journal of implant dentistry*, 7(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s40729-021-00393-0>
- Anitua, E., Fuente, M., Troya, M., Zalduendo, M., & Alkhraisat, M. H. (2022). Autologous Platelet Rich Plasma (PRGF) Preserves Genomic Stability of Gingival Fibroblasts and Alveolar Osteoblasts after Long-Term Cell Culture. *Dentistry journal*, 10(9), 173. <https://doi.org/10.3390/dj10090173>
- Anitua, E., Sánchez, M., Nurden, A. T., Nurden, P., Orive, G., & Andía, I. (2006). New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends in Biotechnology*, 24(5), 227–234. doi:10.1016/j.tibtech.2006.02.010
- Anwandter, A., Bohmann, S., Nally, M., Castro, A. B., Quirynen, M., & Pinto, N. (2016). Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with Leukocyte- and Platelet Rich Fibrin: A clinical pilot study. *Journal of dentistry*, 52, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.06.005>
- Aoki, N., Kanayama, T., Maeda, M., Horii, K., Miyamoto, H., Wada, K., Ojima, Y., Tsuchimochi, T., & Shibuya, Y. (2016). Sinus Augmentation by Platelet-Rich Fibrin Alone: A Report of Two Cases with Histological Examinations. *Case reports in dentistry*, 2016, 2654645. <https://doi.org/10.1155/2016/2654645>
- Aoki, N., Maeda, M., Kurata, M., Hirose, M., Ojima, Y., Wada, K., & Shibuya, Y. (2018). Sinus floor elevation with platelet-rich fibrin alone: A Clinical retrospective study of 1-7 years. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 10(10), e984–e991. <https://doi.org/10.4317/jced.55113>
- Apostolopoulos, P., & Darby, I. (2017). Retrospective success and survival rates of dental implants placed after a ridge preservation procedure. *Clinical oral implants research*, 28(4), 461–468. <https://doi.org/10.1111/clr.12820>
- Araújo, M. G., Silva, C. O., Misawa, M., & Sukekava, F. (2015). Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology 2000*, 68(1), 122–134. doi:10.1111/prd.12082
- Bansod, S., & Madke, B. (2020). Injectable Platelet Rich Fibrin (PRF): the newest biomaterial and its use in various dermatological conditions in our practice: A case series. *Journal of Cosmetic Dermatology*. doi:10.1111/jocd.13742
- Barnas, J. L., Looney, R. J., & Anolik, J. H. (2019). B cell targeted therapies in autoimmune disease. *Current opinion in immunology*, 61, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.09.004>
- Bennardo, F., Liborio, F., Barone, S., Antonelli, A., Buffone, C., Fortunato, L., & Giudice, A. (2021). Efficacy of platelet-rich fibrin compared with triamcinolone acetonide as injective therapy in the treatment of symptomatic oral lichen planus: a pilot study. *Clinical Oral Investigations*, 25(6), 3747–3755. doi:10.1007/s00784-020-03702-w
- Bhattacharya, H. S., Gummaluri, S. S., Astekar, M., & Gummaluri, R. K. (2020). Novel method of determining the periodontal regenerative capacity of T-PRF and L-PRF: An immunohistochemical study. *Dental and medical problems*, 57(2), 137–144. <https://doi.org/10.17219/dmp/117721>
- Bielecki, T., Dohan Ehrenfest, D. M., Everts, P. A., & Wiczowski, A. (2012). The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7), 1153–1162. <https://doi.org/10.2174/138920112800624373>

- Boora, P., Rathee, M., & Bhoria, M. (2015). Effect of Platelet Rich Fibrin (PRF) on Peri-implant Soft Tissue and Crestal Bone in One-Stage Implant Placement: A Randomized Controlled Trial. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 9(4), ZC18–ZC21. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/12636.5788>
- Byrnes, J. R., & Wolberg, A. S. (2017). Red blood cells in thrombosis. *Blood*, 130(16), 1795–1799. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-03-745349>
- Canellas, J. V. D. S., da Costa, R. C., Breves, R. C., de Oliveira, G. P., Figueredo, C. M. D. S., Fischer, R. G., Thole, A. A., Medeiros, P. J. D., & Ritto, F. G. (2020). Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin: A randomized, single-blind, controlled clinical trial. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 48(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.11.006>
- Cascua S. (2020, 15 décembre). Plasma riche en plaquettes : une colle biologique pour vos blessures. <https://www.docduport.com/plasma-riche-en-plaquettes-une-colle-biologique-pour-vos-blessures/>
- Castro AB et al. 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. *J Clin Periodontol* 2017; 44 (1): 67-82
- Castro, A. B., Andrade, C., Li, X., Pinto, N., Teughels, W., & Quirynen, M. (2021). Impact of g force and timing on the characteristics of platelet-rich fibrin matrices. *Scientific reports*, 11(1), 6038. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85736-y>
- 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 B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. *Journal of clinical periodontology*, 44(2), 225–234. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12658>
- Castro, A. B., Van Dessel, J., Temmerman, A., Jacobs, R., & Quirynen, M. (2021). Effect of different platelet-rich fibrin matrices for ridge preservation in multiple tooth extractions: A split-mouth randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(7), 984–995. doi:10.1111/jcpe.13463
- Cecerska-Heryć, E., Goszka, M., Serwin, N., Roszak, M., Grygorcewicz, B., Heryć, R., & Dołęgowska, B. (2022). Applications of the regenerative capacity of platelets in modern medicine. *Cytokine & growth factor reviews*, 64, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.11.003>
- Cerny-Reiterer, S., Ghanim, V., Hoermann, G., Aichberger, K. J., Herrmann, H., Muellauer, L., Repa, A., Sillaber, C., Walls, A. F., Mayerhofer, M., & Valent, P. (2012). Identification of basophils as a major source of hepatocyte growth factor in chronic myeloid leukemia: a novel mechanism of BCR-ABL1-independent disease progression. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 14(7), 572–584. <https://doi.org/10.1593/neo.12724>
- Chandradas, N. D., Ravindra, S., Rangaraju, V. M., Jain, S., & Dasappa, S. (2016). Efficacy of platelet rich fibrin in the treatment of human intrabony defects with or without bone graft: A randomized controlled trial. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 6(Suppl 2), S153–S159. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.189753>
- Chapple, I. L. C., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M. L., Genco, R. J., Glogauer, M., Goldstein, M., Griffin, T. J., Holmstrup, P., Johnson, G. K., Kapila, Y., Lang, N. P., Meyle, J., Murakami, S., Plemons, J., Romito, G. A., Shapira, L., ... Yoshie, H. (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89 Suppl 1, S74–S84. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0719>
- Chen, S. T., & Buser, D. (2009). Clinical and esthetic outcomes of implants placed in postextraction sites. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 24 Suppl, 186–217.

- Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie* 2001;42:55-62.
- Choukroun, J., & Ghanaati, S. (2017). Introducing the Low-Speed Centrifugation Concept. Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry: Biological Background and Clinical Indications, 33–46. doi:10.1002/9781119406792.ch3
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.012>
- Chusid M. J. (2018). Eosinophils: Friends or Foes?. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 6(5), 1439–1444. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.04.031>
- Clark R. A. (2001). Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936, 355–367. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03522.x>
- Clark, D., Rajendran, Y., Paydar, S., Ho, S., Cox, D., Ryder, M., Dollard, J., & Kao, R. T. (2018). Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*, 89(4), 379–387. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0466>
- Coden, M. E., & Berdnikovs, S. (2020). Eosinophils in wound healing and epithelial remodeling: Is coagulation a missing link?. *Journal of leukocyte biology*, 108(1), 93–103. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0120-390R>
- Crisci A (2019) The L-PRF Membrane (Fibrin Rich in Platelets and Leukocytes) and Its Derivatives (A-PRF, I-PRF) Are Useful as a Source of Stem Cells in Regenerative Wound Therapy: Experimental Work on the Horse. *Regen Med Ther* 3(1):37-45.
- Crisci A, Lombardi D, Serra E, Lombardi G, Cardillo F, Crisci M. Standardized protocol proposed for clinical use of L-PRF and the use of L-PRF Wound Box®. *Journal of Unexplored Medical Data*. 2017; 2:77-87
- Culhaoglu R, Taner L, Guler B (2018) Evaluation of the effect of dose-dependent platelet-rich fibrin membrane on treatment of gingival recession: a randomized, controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci* 26:e20170278. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0278>Return to ref 52 in article
- D. M. Dohan Ehrenfest, L. Rasmusson, et T. Albrektsson, « Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) », *Trends Biotechnol*, vol. 27, no 3, p. 158-167, mars 2009, doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009
- Damsaz, M., Castagnoli, C. Z., Eshghpour, M., Alamdari, D. H., Alamdari, A. H., Noujeim, Z. E. F., & Haidar, Z. S. (2020). Evidence-Based Clinical Efficacy of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin in Maxillary Sinus Floor Lift, Graft and Surgical Augmentation Procedures. *Frontiers in surgery*, 7, 537138. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2020.537138>
- 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-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 48(4), 452–457. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2020.02.020>
- Del Fabbro, M., Bucchi, C., Lolato, A., Corbella, S., Testori, T., & Taschieri, S. (2017). Healing of Postextraction Sockets Preserved With Autologous Platelet Concentrates. A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 75(8), 1601–1615. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2017.02.009>
- Del Fabbro, M., Lolato, A., Bucchi, C., Taschieri, S., & Weinstein, R. L. (2016). Autologous Platelet Concentrates for Pulp and Dentin Regeneration: A Literature Review of Animal Studies. *Journal of endodontics*, 42(2), 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.10.012>
- Dohan Ehrenfest D. M. (2010). How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 110(3), 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.05.048>

Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Kang BS, Lanata N, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. 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. Part 3: comparison of the growth factors content and slow release between the original L-PRF and the modified A-PRF (Advanced Platelet-Rich Fibrin) membranes. *POSEIDO*. 2014;2(2):155-66.

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., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J. B. (2010). Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Journal of periodontology*, 81(4), 546–555. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090531>

Dohan Ehrenfest, D. M., Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Corso, M. D., 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. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 27, 158–167 (2009).

Dohan S, Choukroun J, Dohan A, Donsimoni J., Gabrieleff D, Fioretti F, *et al.* Platelet Rich Fibrin (PRF) : un nouveau biomatériau de cicatrisation. *Implantodontie*. avr 2004;13(2):87-97.

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e37–e44. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.008

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), e45–e50.

Ehrenfest, D.M. & Sammartino, Gilberto & Shibli, Jamil & Wang, Hom-Lay & Zou, D.R. & Bernard, J.P.. (2013). Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): The international classification of the POSEIDO. *POSEIDO*. 1. 17-27.

Ellis, S., Lin, E. J., & Tartar, D. (2018). Immunology of Wound Healing. *Current dermatology reports*, 7(4), 350–358. <https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9>

Eren, G., Gürkan, A., Atmaca, H., Dönmez, A., & Atilla, G. (2016). Effect of centrifugation time on growth factor and MMP release of an experimental platelet-rich fibrin-type product. *Platelets*, 27(5), 427–432. <https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1131253>

Farshidfar, N., Jafarpour, D., Firoozi, P., Sahmeddini, S., Hamedani, S., de Souza, R. F., & Tayebi, L. (2022). The application of injectable platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: A systematic scoping review of In vitro and In vivo studies. *The Japanese dental science review*, 58, 89–123. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2022.02.003>

Fujioka-Kobayashi, M., Miron, R. J., Hernandez, M., Kandalam, U., Zhang, Y., & Choukroun, J. (2017). Optimized Platelet-Rich Fibrin With the Low-Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility, and Cellular Response. *Journal of Periodontology*, 88(1), 112–121. doi:10.1902/jop.2016.160443

Fukuba, S., Okada, M., Nohara, K., & Iwata, T. (2021). Alloplastic Bone Substitutes for Periodontal and Bone Regeneration in Dentistry: Current Status and Prospects. *Materials (Basel, Switzerland)*, 14(5), 1096. <https://doi.org/10.3390/ma14051096>

- Ghanaati, S., Booms, P., Orłowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., Landes, C., Sader, R., Kirkpatrick, C., & Choukroun, J. (2014). Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *The Journal of oral implantology*, 40(6), 679–689. <https://doi.org/10.1563/aid-joi-D-14-00138>
- Ghanaati, S., Booms, P., Orłowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., ... Choukroun, J. (2014). Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology*, 40(6), 679–689. doi:10.1563/aid-joi-d-14-00138
- Ghanaati, S., Herrera-Vizcaino, C., Al-Maawi, S., Lorenz, J., Miron, R. J., Nelson, K., Schwarz, F., Choukroun, J., & Sader, R. (2018). Fifteen Years of Platelet Rich Fibrin in Dentistry and Oromaxillofacial Surgery: How High is the Level of Scientific Evidence?. *The Journal of oral implantology*, 44(6), 471–492. <https://doi.org/10.1563/aid-joi-D-17-00179>
- Hamzacebi, B., Oduncuoglu, B., & Alaaddinoglu, E. E. (2015). Treatment of Peri-implant Bone Defects with Platelet-Rich Fibrin. *The International journal of Periodontics & Restorative dentistry*, 35(3), 415–422. <https://doi.org/10.11607/prd.1861>
- Harrison, P.; The Subcommittee on Platelet Physiology. The use of platelets in regenerative medicine and proposal for a new classification system: Guidance from the SSC of the ISTH. *J. Thromb. Haemost.* 2018, 16, 1895–1900.
- Heldin et B. Westermark, « Mechanism of action and in vivo role of platelet_derived growth factor », *Physiol Rev*, vol. 79, no 4, p. 1283-1316, oct. 1999, doi: 10.1152/physrev.1999.79.4.1283.
- Hunger, S., Krennmair, S., Krennmair, G., Otto, S., Postl, L., & Nadalini, D. M. (2023). Platelet-rich fibrin vs. buccal advancement flap for closure of oroantral communications: a prospective clinical study. *Clinical oral investigations*, 27(6), 2713–2724. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04846-7>
- Işık, G., Özden Yüce, M., Koçak-Topbaş, N., & Günbay, T. (2021). Guided bone regeneration simultaneous with implant placement using bovine-derived xenograft with and without liquid platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*, 25(9), 5563–5575. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-03987-5>
- Jambhekar, S., Kernen, F., & Bidra, A. S. (2015). Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *The Journal of prosthetic dentistry*, 113(5), 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.12.009>
- 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>
- Jiing HZ, Chung HT, Yu CC. Clinical and histologic evaluation of healing in an extraction socket filled with platelet-rich fibrin *J Dent Sci.* 2011;6:116–22
- Jung, J. W., Hong, S. O., Lee, E. J., Kim, R. Y., & Jee, Y. J. (2023). The double-barrier technique using platelet-rich fibrin for closure of oroantral fistulas. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 49(3), 163–168. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2023.49.3.163>
- Juodzbaly, G., Stumbras, A., Goyushov, S., Duruel, O., & Tözüm, T. F. (2019). Morphological Classification of Extraction Sockets and Clinical Decision Tree for Socket Preservation/Augmentation after Tooth Extraction: a Systematic Review. *Journal of oral & maxillofacial research*, 10(3), e3. <https://doi.org/10.5037/jomr.2019.10303>
- Kanayama, T., Shibuya, Y., Wada, K., & Asanami, S. (2016). Noticeable Bone Regeneration beyond the Implant Tip after A Crestal Approach Sinus Lift Using Only Platelet Rich Fibrin: A Report of Two Cases. *oral health and dental management*, 2016, 153-156.
- Kapoor, A., Ali, A. R., Saini, N., Gautam, K., Goyal, A., & Prakash, V. (2022). Comparative evaluation of implant stability with and without autologous platelet-rich fibrin prior to prosthetic loading - A split-mouth randomized clinical trial. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 26(2), 137–142. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_74_21

- Karde, P. A., Sethi, K. S., Mahale, S. A., Khedkar, S. U., Patil, A. G., & Joshi, C. P. (2017). Comparative evaluation of platelet count and antimicrobial efficacy of injectable platelet-rich fibrin with other platelet concentrates: An *in vitro* study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 21(2), 97–101. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_201_17
- Kızıltoprak, M., & Uslu, M. Ö. (2020). Comparison of the effects of injectable platelet-rich fibrin and autologous fibrin glue applications on palatal wound healing: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*, 24(12), 4549–4561. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03320-6>
- 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>
- Kumar A, Bains VK, Jhingran R, Srivastava R, Madan R, Rizvi I (2017) Patient-centered microsurgical management of gingival recession using coronally advanced flap with either platelet-rich fibrin or connective tissue graft: a comparative analysis. *Contemp Clin Dent* 8:293–304. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_70_17
- L. A. Gaydos, E. J. Freireich, et N. Mantel, « The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patients with acute leukemia », *N Engl J Med*, vol. 266, p. 905-909, mai 1962, doi: 10.1056/NEJM196205032661802.
- Lektemur Alpan A, Torumtay Cin G (2019) PRF improves wound healing and postoperative discomfort after harvesting subepithelial connective tissue graft from palate: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 24:425–436. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02934-9>
- Levy O. (2000). Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood*, 96(8), 2664–2672.
- Li, J., Tan, J., Martino, M. M., & Lui, K. O. (2018). Regulatory T-Cells: Potential Regulator of Tissue Repair and Regeneration. *Frontiers in immunology*, 9, 585. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00585>
- Litvinov, R. I., & Weisel, J. W. (2016). What Is the Biological and Clinical Relevance of Fibrin?. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 42(4), 333–343. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1571342>
- Martínez CE, Smith PC and Palma Alvarado VA (2015) The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front. Physiol.* 6:290. doi: 10.3389/fphys.2015.00290
- Mathew, J., Sankar, P., & Varacallo, M. (2023). *Physiology, Blood Plasma*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Melo-Ferraz, A., Coelho, C., Miller, P. *et al*. Platelet activation and antimicrobial activity of L-PRF: a preliminary study. *Mol Biol Rep* 48, 4573–4580 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06487-7>
- Meschi, N., Castro, A. B., Vandamme, K., Quirynen, M., & Lambrechts, P. (2016). The impact of autologous platelet concentrates on endodontic healing: a systematic review. *Platelets*, 27(7), 613–633. <https://doi.org/10.1080/09537104.2016.1226497>
- Miron, R. J., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Hernandez, M., & Choukroun, J. (2017). Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 23(1), 83–99. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2016.0233>
- Miron, R. J., Kawase, T., Dham, A., Zhang, Y., Fujioka-Kobayashi, M., & Sculean, A. (2021). A technical note on contamination from PRF tubes containing silica and silicone. *BMC oral health*, 21(1), 135. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01497-0>
- Miron, R. J., Xu, H., Chai, J., Wang, J., Zheng, S., Feng, M., Zhang, X., Wei, Y., Chen, Y., Mourão, C. F. A. B., Sculean, A., & Zhang, Y. (2020). Comparison of platelet-rich fibrin (PRF) produced using 3 commercially available centrifuges at both high (~ 700 g) and low (~ 200 g) relative centrifugation forces. *Clinical oral investigations*, 24(3), 1171–1182. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02981-2>
- Miron, R. J., Zucchelli, G., Pikos, M. A., Salama, M., Lee, S., Guillemette, V., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Wang, H. L., Chandad, F., Nacopoulos, C., Simonpieri, A., Aalam, A. A., Felice, P., Sammartino,

- G., Ghanaati, S., Hernandez, M. A., & Choukroun, J. (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations*, 21(6), 1913–1927. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2133-z>
- Miron, R. J., Zucchelli, G., Pikos, M. A., Salama, M., Lee, S., Guillemette, V., Fujioka-Kobayashi, M., Bishara, M., Zhang, Y., Wang, H. L., Chandad, F., Nacopoulos, C., Simonpieri, A., Aalam, A. A., Felice, P., Sammartino, G., Ghanaati, S., Hernandez, M. A., & Choukroun, J. (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations*, 21(6), 1913–1927. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2133-z>
- Miron, Richard J. (Richard John), Choukroun, J. Platelet Rich Fibrin in regenerative dentistry - Biological Background and Clinical Indications. (2017). doi:DDC 617.522–dc23
- Neergaard-Petersen, S., Ajjan, R., Hvas, A. M., Hess, K., Larsen, S. B., Kristensen, S. D., & Grove, E. L. (2013). Fibrin clot structure and platelet aggregation in patients with aspirin treatment failure. *PloS one*, 8(8), e71150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071150>
- Nizam, N., Eren, G., Akcalı, A., & Donos, N. (2018). Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clinical oral implants research*, 29(1), 67–75. <https://doi.org/10.1111/clr.13044>
- Otero, A. I. P., Fernandes, J. C. H., Borges, T., Nassani, L., Castilho, R. M., & Fernandes, G. V. O. (2022). Sinus Lift Associated with Leucocyte-Platelet-Rich Fibrin (Second Generation) for Bone Gain: A Systematic Review. *Journal of clinical medicine*, 11(7), 1888. <https://doi.org/10.3390/jcm11071888>
- P. Blair et R. Flaumenhaft, « Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates », *Blood Rev*, vol. 23, no 4, p. 177-189, juill. 2009, doi: 10.1016/j.blre.2009.04.001.
- Pandikanda, R., Singh, R., Patil, V., Sharma, M., & Shankar, K. (2019). Flapless closure of oro-antral communication with PRF membrane and composite of PRF and collagen - a technical note. *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*, 120(5), 471–473. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2018.12.012>
- Parvini, P., Obreja, K., Sader, R., Becker, J., Schwarz, F., & Salti, L. (2018). Surgical options in oroantral fistula management: a narrative review. *International journal of implant dentistry*, 4(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s40729-018-0152-4>
- Periayah, M. H., Halim, A. S., & Mat Saad, A. Z. (2017). Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*, 11(4), 319–327.
- Peterson, J., Zurakowski, D., Italiano, J., Michel, L., Fox, L., Klement, G. L., *et al.* (2010). Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. *Am. J. Hematol.* 85, 487–493. doi: 10.1002/ajh.21732
- Pichotano, E. C., de Molon, R. S., de Souza, R. V., Austin, R. S., Marcantonio, E., & Zandim-Barcelos, D. L. (2019). Evaluation of L-PRF combined with deproteinized bovine bone mineral for early implant placement after maxillary sinus augmentation: A randomized clinical trial. *Clinical implant dentistry and related research*, 21(2), 253–262. <https://doi.org/10.1111/cid.12713>
- R. Dhurat et M. Suresh, « Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective », *J Cutan Aesthet Surg*, vol. 7, no 4, p. 189-197, déc. 2014, doi: 10.4103/0974-2077.150734.
- R. E. Marx, « Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? », *Implant Dent*, vol. 10, no 4, p. 225-228, 2001, doi: 10.1097/00008505-200110000-00002.
- R. E. Marx, E. R. Carlson, R. M. Eichstaedt, S. R. Schimmele, J. E. Strauss, et K. R. Georgeff, « Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts », *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol. 85, no 6, p. 638-646, juin 1998, doi: 10.1016/s1079-2104(98)90029-4.
- R. Flaumenhaft, « Molecular basis of platelet granule secretion », *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 23, no 7, p. 1152-1160, juill. 2003, doi: 10.1161/01.ATV.0000075965.88456.48.
- Rezaei, M., Jamshidi, S., Saffarpour, A., Ashouri, M., Rahbarghazi, R., Rokn, A. R., & Motahari, P. (2019). Transplantation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells, Platelet-Rich Plasma, and Fibrin Glue for

- Periodontal Regeneration. The International journal of periodontics & restorative dentistry, 39(1), e32–e45. <https://doi.org/10.11607/prd.3691>
- Riaz, R., Radhakrishnan, M., & Perumal, J. (2022). Comparative Study of the Efficacy of Advanced Platelet-rich Fibrin and Standard Platelet-rich Fibrin in Mandibular Third Molar Surgery. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 14(Suppl 1), S781–S787. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_157_22
- Rodas, M. A. R., Paula, B. L., Pazmiño, V. F. C., Lot Vieira, F. F. D. S., Junior, J. F. S., & Silveira, E. M. V. (2020). Platelet-Rich Fibrin in Coverage of Gingival Recession: A Systematic Review and Meta-Analysis. *European journal of dentistry*, 14(2), 315–326. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1701907>
- Rodríguez Sánchez, F., Verspecht, T., Castro, A. B., Pauwels, M., Andrés, C. R., Quirynen, M., & Teughels, W. (2021). Antimicrobial Mechanisms of Leucocyte- and Platelet Rich Fibrin Exudate Against Planktonic *Porphyromonas gingivalis* and Within Multi-Species Biofilm: A Pilot Study. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 722499. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.722499>
- Rosenberg, H.F. Eosinophil-derived neurotoxin / RNase 2: connecting the past, the present and the future. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2008, 9(3), 135-140.
- Sadtler, K., Wolf, M. T., Ganguly, S., Moad, C. A., Chung, L., Majumdar, S., Housseau, F., Pardoll, D. M., & Elisseff, J. H. (2019). Divergent immune responses to synthetic and biological scaffolds. *Biomaterials*, 192, 405–415. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.11.002>
- Salgado-Peralvo, A. O., Mateos-Moreno, M. V., Uribarri, A., Kewalramani, N., Peña-Cardelles, J. F., & Velasco-Ortega, E. (2022). Treatment of orofacial communication with Platelet-Rich Fibrin: A systematic review. *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*, 123(5), e367–e375. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2022.03.014>
- Schmidt A. H. (2021). Autologous bone graft: Is it still the gold standard?. *Injury*, 52 Suppl 2, S18–S22. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2021.01.043>
- Schroeder J. T. (2011). Basophils: emerging roles in the pathogenesis of allergic disease. *Immunological reviews*, 242(1), 144–160. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01023.x>
- Scognamiglio F, Travan A, Rustighi I, et al. Interfaces adhesives et scellantes pour les applications de chirurgie générale. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* (2015)
- Semple, J. W., Italiano, J. E., Jr, & Freedman, J. (2011). Platelets and the immune continuum. *Nature reviews. Immunology*, 11(4), 264–274. <https://doi.org/10.1038/nri2956>
- Sousa, F., Machado, V., Botelho, J., Proença, L., Mendes, J. J., & Alves, R. (2020). Effect of A-PRF Application on Palatal Wound Healing after Free Gingival Graft Harvesting: A Prospective Randomized Study. *European journal of dentistry*, 14(1), 63–69. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1702259>
- Srinivas, B., Das, P., Rana, M. M., Qureshi, A. Q., Vaidya, K. C., & Ahmed Raziuddin, S. J. (2018). Wound Healing and Bone Regeneration in Postextraction Sockets with and without Platelet-rich Fibrin. *Annals of maxillofacial surgery*, 8(1), 28–34. https://doi.org/10.4103/ams.ams_153_17
- Stacchi C, Berton F, Fiorillo L, Nicolini V, Lombardi T, Cicciù M, Di Lenarda R. Fresh Frozen Allogeneic Bone Block in Maxillary Sinus Floor Elevation: Histomorphometric Analysis of a Bone Specimen Retrieved 15 Years after Grafting Procedure. *Applied Sciences*. 2019; 9(6):1119. <https://doi.org/10.3390/app9061119>
- Stumbras, A., Krukis, M. M., Januzis, G., & Juodzbalys, G. (2019). Regenerative bone potential after sinus floor elevation using various bone graft materials: a systematic review. *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)*, 50(7), 548–558. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a42482>
- Sultan, T., Cheah, C. W., Ibrahim, N. B., Asif, M. K., & Vaithilingam, R. D. (2020). Three-dimensional assessment of the extraction sockets, augmented with platelet-rich fibrin and calcium sulfate: A clinical pilot study. *Journal of dentistry*, 101, 103455. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103455>
- Sun, G., Cao, L., & Li, H. (2021). Effects of platelet-rich fibrin combined with guided bone regeneration in the reconstruction of peri-implantitis bone defect. *American journal of translational research*, 13(7), 8397–8402.

- Sun, X. L., Mudalal, M., Qi, M. L., Sun, Y., Du, L. Y., Wang, Z. Q., & Zhou, Y. M. (2019). Flapless immediate implant placement into fresh molar extraction socket using platelet-rich fibrin: A case report. *World journal of clinical cases*, 7(19), 3153–3159. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v7.i19.3153>
- Tarallo, F., Mancini, L., Pitzurra, L., Bizzarro, S., Tepedino, M., & Marchetti, E. (2020). Use of Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Grade 2 Furcation Defects: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of clinical medicine*, 9(7), 2104. <https://doi.org/10.3390/jcm9072104>
- Textor J. Platelet-rich plasma (PRP) as a therapeutic agent: plate-let biology, growth factors and a review of the literature, in: plate-let-rich plasma. *Regen Med Sport Med Orthop Recover Muscu-loskelet Inj*. 2013;61–94. doi:10.1007/978-3-642-40117-6_2
- Thakkar, D. J., Deshpande, N. C., Dave, D. H., & Narayankar, S. D. (2016). A comparative evaluation of extraction socket preservation with demineralized freeze-dried bone allograft alone and along with platelet-rich fibrin: A clinical and radiographic study. *Contemporary clinical dentistry*, 7(3), 371–376. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.188567>
- Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Dohan Ehrenfest D. Introducing Choukroun’s platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. *J Impl Adv Clin Dent* 2009;1:21-32.
- 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>
- Tsay, R. C., Vo, J., Burke, A., Eisig, S. B., Lu, H. H., & Landesberg, R. (2005). Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 63(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2004.09.012>
- Ucak Turer, O., Ozcan, M., Alkaya, B., Surmeli, S., Seydaoglu, G., & Haytac, M. C. (2020). Clinical evaluation of injectable platelet-rich fibrin with connective tissue graft for the treatment of deep gingival recession defects: A controlled randomized clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 47(1), 72–80. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13193>
- Vannella, K. M., & Wynn, T. A. (2017). Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annual review of physiology*, 79, 593–617. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034356>
- Waldman, S. A., & Terzic, A. (2016). Bioinnovation Enterprise: An engine driving breakthrough therapies. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 99(1), 8–13. <https://doi.org/10.1002/cpt.272>
- Wang, X., Zhang, Y., Choukroun, J., Ghanaati, S., & Miron, R. J. (2017). Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 331. <https://doi.org/10.3390/ijms18020331>
- Wang, Y., & Ni, H. (2016). Fibronectin maintains the balance between hemostasis and thrombosis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 73(17), 3265–3277. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2225-y>
- Wang, Y., Reheman, A., Spring, C. M., Kalantari, J., Marshall, A. H., Wolberg, A. S., Gross, P. L., Weitz, J. I., Rand, M. L., Mosher, D. F., Freedman, J., & Ni, H. (2014). Plasma fibronectin supports hemostasis and regulates thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 124(10), 4281–4293. <https://doi.org/10.1172/JCI74630>
- Wei, Y., Cheng, Y., Wang, Y., Zhang, X., Miron, R. J., & Zhang, Y. (2022). The effect of resting and compression time post-centrifugation on the characteristics of platelet rich fibrin (PRF) membranes. *Clinical oral investigations*, 26(8), 5281–5288. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04496-9>
- Weisel J. W. (2004). The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians. *Biophysical chemistry*, 112(2-3), 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2004.07.029>
- Weisel, J. W., & Litvinov, R. I. (2013). Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood*, 121(10), 1712–1719. doi:10.1182/blood-2012-09-306639

Wufsus, A. R., Rana, K., Brown, A., Dorgan, J. R., Liberatore, M. W., & Neeves, K. B. (2015). Elastic behavior and platelet retraction in low- and high-density fibrin gels. *Biophysical journal*, 108(1), 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.11.007>

Zhang, Y., Tangl, S., Huber, C. D., Lin, Y., Qiu, L., & Rausch-Fan, X. (2012). Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 40(4), 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2011.04.020>

Zhao, Jiing-Huei & Tsai, Chung-Hung & Chang, Yu-Chao. (2011). Clinical and histologic evaluation of extraction socket healing filled with platelet rich fibrin. *Journal of Dental Sciences - J DENT SCI*. 6. 116-122. 10.1016/j.jds.2011.03.004.

Zhou, J., Li, X., Sun, X., Qi, M., Chi, M., Yin, L., & Zhou, Y. (2018). Bone regeneration around immediate placed implant of molar teeth with autologous platelet-rich fibrin: Two case reports. *Medicine*, 97(44), e13058. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000013058>

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

Zumstein, M. A., Berger, S., Schober, M., Boileau, P., Nyffeler, R. W., Horn, M., & Dahinden, C. A. (2012). Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7), 1196–1206. <https://doi.org/10.2174/138920112800624337>

Sezgin, Y., Uraz, A., Taner, I. L., & Çulhaoğlu, R. (2017). Effects of platelet-rich fibrin on healing of intra-bony defects treated with anorganic bovine bone mineral. *Brazilian oral research*, 31, e15. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0015>