U.PORTO
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MONOGRAFIA DE INVESTIGAÇÃO OU RELATÓRIO DE ATIVIDADE CLÍNICA

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRAFICA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

APLICAÇÃO DO PRF EM MEDICINA DENTÁRIA

Maria Cristina Martins Pinheiro Sant'Ana de Azevedo

Orientador: Professor Doutor Pedro Sousa Gomes

Porto 2014

MONOGRAFIA DE INVESTIGAÇÃO OU RELATÓRIO DE ATIVIDADE CLÍNICA

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

APLICAÇÃO DO PRF EM MEDICINA DENTÁRIA

Maria Cristina Martins Pinheiro Sant'Ana de Azevedo

mimd08122@fmd.up.pt

Orientador: Professor Doutor Pedro Sousa Gomes

Porto 2014

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo seu amor e disponibilidade total na consecução dos meus projetos.

Ao Professor Doutor Pedro Sousa Gomes, meu orientador, pelos seus ensinamentos, pelo incentivo na realização desta monografia, pela sua eficácia, atenção permanente e oportuna e pela pessoa que é, ao nível profissional e ético.

À minha irmã, Mafalda, pelo seu carinho e paciência.

Aos meus amigos, por partilharem todos os momentos e tornarem tudo mais fácil.

Ao Professor Joseph Choukroun, por toda a atenção prestada na fase final da minha monografia.

Índice

Resumo:.....vi
Abstract:.....vii
Material e métodos:.....3
Utilização de Concentrados Plaquetários – Evolução.....4
Protocolos.....8
Aplicações em Medicina Dentária.....14
1. **Implantologia**.....14
2. **Cirurgia de levantamento de seio maxilar – *Sinus Lift***.....16
3. **Aplicação em tecidos lesados**.....16
4. **Aplicação em alvéolos pós extração**.....17
5. **Periodontologia**.....17
6. **Endodontia Regenerativa**.....22
Conclusão.....23
Referências Bibliográficas:.....24

Resumo:

O PRF foi desenvolvido por Choukroun para utilização em cirurgia oral e maxilofacial e, no âmbito da Medicina Dentária, tem vários campos de aplicação, como aumento de tecido ósseo para implantologia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas, entre outros.

Este concentrado plaquetário apresenta um processo de preparação simples: pressupõe a utilização de uma amostra de sangue do próprio paciente que é submetida a um procedimento específico de centrifugação do qual resulta uma membrana de fibrina, rica em leucócitos e fatores de crescimento, estimulando o crescimento ósseo e de tecidos moles. Apresenta, ainda, capacidade de proliferação e migração celular, bem como de angiogénese.

Esta técnica produz o produto bioativo mais natural atualmente disponível.

Ao tratar-se de um procedimento económico e com benefícios comprovados, o seu uso sistemático, em cirurgia oral e maxilofacial, deve ser considerado como uma opção clínica de relevante interesse.

Palavras-chave: Choukroun, PRF, L-PRF, regeneração tecidular, regeneração óssea, medicina dentária.

Abstract:

PRF was developed by Choukroun to be used in oral and maxillofacial surgery and, in the Dental Medicine field, it has various applications such as the increase of bone tissue for implantology, sinus lift, alveolar bone graft, peridontal surgeries and others.

This platelet concentrate has a very simple preparation mode: it supposes the use of a blood sample from the pacient which will be submited to a specific procedure of centrifugation in order to obtain a fibrin membrane, rich in leukocytes and growth factors, that will stimulate bone and soft tissue growth. This membrane also has the capacity of cellular proliferation and migration, as well as of angiogenesis.

This technique originates the most natural bioactive product currently available

PRF is an unexpensive method and its benefits have been proven so the systematic use of this procedure in oral and maxillofacial surgery should be considered as a valid clinical option.

Keywords: Choukroun, PRF, L-PRF, tissue regeneration, bone regeneration, dental medicine.

Introdução:

Hoje em dia, um dos grandes desafios da investigação clínica prende-se com o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos que auxiliem a regulação da inflamação e aumentem a velocidade do processo de cicatrização.[1,2] Com efeito, a pesquisa e o desenvolvimento de protocolos que promovam a hemóstase e a cicatrização são uma questão recorrente em todas as áreas cirúrgicas.[3]

Em 1974, foi descoberto o potencial regenerativo das plaquetas, tendo sido Ross et al.os primeiros a descrever os fatores de crescimento contidos nas plaquetas[4] que, isoladas do sangue periférico, são uma fonte autóloga de fatores de crescimento (FC). Os FC contidos nos grânulos alfa das plaquetas têm a capacidade de estimular a proliferação celular, a remodelação da matriz e a angiogénese.[2] Na realidade, as plaquetas são os principais elementos envolvidos no processo de cicatrização, através da coagulação, e pela libertação de FC que iniciam e sustentam a cicatrização.[5,6]

A regeneração de tecidos é mediada por uma grande variedade de eventos intra- e extracelulares que são regulados por proteínas de sinalização e por um processo complexo que depende de uma sequência de eventos que incluem: fixação, migração e proliferação celular.[5]

Choukroun et al. desenvolveu o PRF – plasma rico em fibrina e plaquetas[4,7,1,8,9] pertencente à segunda geração de concentrados plaquetários, com um processamento simplificado e sem manipulação bioquímica de sangue[10], tendo posto cobro às complicações legais inerentes a esta.[4]

Ao contrário dos outros concentrados de plaquetas usados até então, trata-se de uma técnica em que é necessária somente a centrifugação de sangue do paciente, sem outros aditivos.[3] Esta pretende mimetizar o processo natural de coagulação, e produz-se uma membrana bioativa simples e económica[3,11] que funciona como uma rede de fibrina que leva tanto à migração e à proliferação celulares, de forma mais eficientes.[12,10]

A matriz de fibrina é primordial no processo de cicatrização e a utilização de aditivos cirúrgicos à base de fibrina, maioritariamente, colas de fibrina, tem uma longa história de utilização com sucesso na cirurgia oral e maxilofacial.[3,1]

O PRF tem capacidade de regular a inflamação e de estimular o processo imunitário da quimiotaxia e,[11] sendo um material autólogo,[13] elimina qualquer risco de transmissão de doenças.[11]

Este material natural parece acelerar a cicatrização, além de que, quando em associação com enxertos ósseos, tenderá acelerar a formação de novo osso.[11,14] Ao mesmo tempo, tem uma função de proteção dos locais cirúrgicos e de biomateriais eventualmente implantados.[4]

Estruturalmente, o PRF permite a obtenção de uma matriz firme de fibrina, com uma arquitetura tridimensional complexa, onde estão concentrados a maioria das plaquetas e leucócitos do sangue colhido.[2]

Para além das plaquetas e dos leucócitos, as citocinas são de extrema importância neste material; contudo, é a matriz de fibrina que os suporta e auxilia na constituição dos elementos realmente responsáveis pelo potencial terapêutico do PRF.[3]

As aplicações deste biomaterial autólogo[15] têm sido descritas na medicina dentária e em outras áreas como a cirurgia plástica ou a otorrinolaringologia.[2]

No respeitante à sua utilização em Medicina Dentária, Choukroun e os seus colaboradores foram pioneiros no uso do PRF para promover a regeneração óssea em implantologia,[3] abordagem que foi, posteriormente, alargada a outros âmbitos como: enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas, endodontia regenerativa, entre outras.

De todas as aplicações clínicas conhecidas deste composto, a grande mais-valia identificada parece ser a aceleração da cicatrização tecidular devido ao desenvolvimento de neovascularização, com ausência quase total de eventos infeciosos.[16]

Este material, desenvolvido para aumentar o crescimento e a proliferação dos osteoblastos[5] proporciona uma percetível redução do tempo de cicatrização nos tecidos moles e constata-se uma redução na dor pós-operatória.[2]

De facto, a atividade biológica da fibrina é, por si só, suficiente, para explicar a capacidade cicatricial do PRF. E o modo de polimerização lento confere às membranas deste material uma arquitetura fisiológica, particularmente favorável, que sustenta o processo de cicatrização.[1,12] A matriz apresenta propriedades mecânicas que nenhum outro concentrado rico em plaquetas oferece.[5] O alcance das aplicações clínicas do PRF é amplo, porém, um conhecimento preciso deste biomaterial, a sua eficácia e os seus limites são necessários para otimizar o seu uso sistemático na prática clínica diária.[3]

Material e métodos:

Para esta revisão bibliográfica foi feita uma pesquisa nas seguintes bases de dados: PubMed, Scopus e ScienceDirect.

Relativamente aos limites da pesquisa, foram analisados artigos publicados nos últimos dez anos, escritos em Português e Inglês, disponíveis em texto completo.

Utilização de Concentrados Plaquetários – Evolução

A expressão "engenharia de tecidos" surgiu, originalmente, relacionada com a construção laboratorial de dispositivos os quais continham células e mediadores, numa matriz biológica ou sintética, que podia ser utilizada em pacientes com o intuito de facilitar a regeneração de determinados tecidos. Geralmente combina três elementos- chave: *scaffolds* (estruturas tridimensionais que serve, de suporte ao crescimento celular); moléculas de sinalização (como os fatores de crescimento) e células (e.g., osteoblastos, fibroblastos, ou outras populações adequadas à regeneração do tecido lesado).[17]

Para abordar a evolução dos biomateriais utilizados em Medicina Dentária, urge a compreensão da evolução da aplicação dos materiais autólogos derivados do sangue, desde as colas de fibrina até aos concentrados plaquetários. Embora o uso de adesivos de fibrina esteja bem documentado, nos últimos trinta anos, a sua utilização mantém-se controversa.[18] Isto deve-se à complexidade dos protocolos para a sua produção, no caso de adesivos autólogos e ao risco de infeção cruzada, nos adesivos comercializados, de origem alogénica.[1] Estes biomateriais foram alvo de críticas pelo facto de serem produtos derivados do sangue, apresentando riscos de biossegurança, na sua aplicação.[1]

As colas de fibrina foram descritas em 1970 e resultam da polimerização do fibrinogénio com adição de trombina e cálcio.[17] Porém, devido à baixa concentração de fibrinogénio no plasma, a qualidade e estabilidade das colas de fibrina é reduzida.[17]

Estes adesivos apresentam um mecanismo biológico natural – a polimerização de fibrina durante a hemóstase –, amplificada de forma artificial.[1]

Devido ao risco de transmissão de hepatite, muitas colas de fibrina, comercializadas até então, foram proibidas nos EUA, desde 1978.[1] Consequentemente foram feitas várias tentativas de desenvolvimento de adesivos de fibrina autólogos, todavia pouco frutíferas.[1] Tayapongsak et al, em 1994, descreveram a sua cola de fibrina autóloga, com um protocolo extremamente complexo. O sangue era colhido uma a três semanas antes da intervenção e eram necessários, ainda, dois dias de manuseamento do produto até se encontrar pronto para ser utilizado.[1] A utilização destes materiais recebeu um novo impulso com o desenvolvimento de um novo conceito: o uso de concentrados de plaquetas, baseados no recurso a fatores de crescimento presentes nas células.[1]

Os FC obtidos das plaquetas, para além da sua ação nos tecidos, interagem com outros FC, resultando na ativação da expressão genética e na produção de proteínas, que parece favorecer a atividade celular.[17]

Os concentrados de plaquetas convencionais são derivados do sangue e utilizados para prevenção e tratamento de hemorragias, originalmente usados na medicina, especificamente, em hematologia, na prevenção e no tratamento de hemorragias, devido a trombopenias de origem central.[1,2,17]

O uso de concentrados de plaquetas para melhorar a cicatrização, em substituição destas colas, foi primeiramente, descrito por Whitman et al. Neste contexto, diversos protocolos têm sido desenvolvidos, durante a última década.[2,19]

As plaquetas são células pequenas, com cerca de 2-4 µm de diâmetro, anucleares e de forma irregular;[17] têm um papel fundamental na hemóstase e são uma fonte natural de fatores de crescimento.[2,17] Os FC são libertados pela ativação das plaquetas por estímulos ou substâncias como: trombina, cloreto de cálcio, colagénio ou adenosina 5c-difostafo.[2]

O PRP – Plasma Rico em Plaquetas – consiste numa modificação de cola de fibrina, resultante da centrifugação do sangue do próprio paciente[20] e contém os FC que influenciam na cicatrização tendo, desse modo, um papel importante nos mecanismos de reparação tecidular:[21,10] com um papel crucial no processo de regulação celular, que inclui quimiotaxia, diferenciação e metabolismo.[17]

Geralmente, o PRP é usado sob a forma de gel, que é conseguido pela mistura de PRP (resultante da centrifugação de sangue, integralmente, autólogo) com trombina e cloreto de cálcio.[21]

O PRP é usado vulgarmente em cirurgia, otorrinolaringologia, cirurgia cardiovascular e maxilofacial.[21] Todas as técnicas de PRP disponíveis têm pontos em comum como a necessidade de recolher uma amostra de sangue com anticoagulante, imediatamente antes ou durante a cirurgia e ser, de seguida, centrifugada.[19]

Os protocolos descritos usam, geralmente, uma dupla centrifugação para aumentar a concentração de plaquetas recolhidas: a primeira centrifugação, *soft spin*, que leva à separação do sangue em três camadas distintas e a *hard spin*, onde é suposto haver uma centrifugação mais longa e mais rápida, obtendo-se, novamente, três camadas distintas.[1]

Apesar dos bons resultados biológicos obtidos com o PRP, são reportadas algumas limitações quanto à utilização rotineira desta técnica.[21,20] Sanchez et al investigaram os potenciais riscos associados ao uso do PRP: a trombina utilizada (geralmente de origem bovina) poderia estar associada ao desenvolvimento de anticorpos tanto de anti trombina como dos anti fatores V e XI, resultando em risco de alterações na coagulação.[20,17] Existe ainda a possibilidade de uma reação imunitária de corpo estranho devido à presença do fator V, na trombina utilizada.[20]

Devido às restrições legais inerentes ao manuseamento de sangue, e na tentativa de minorar as limitações do PRP, surgiu uma nova família de concentrados plaquetários, desenvolvido por Chouckroun et al., em França. Este protocolo propõe a preparação de um material que não é nem cola de fibrina, nem um concentrado plaquetário clássico – o PRF,[1] eliminando os possíveis riscos associados ao uso de trombina de origem bovina.[17]

Neste protocolo, o sangue é colhido sem qualquer anticoagulante e é, imediatamente, centrifugado. O processo de coagulação natural ocorre e permite a recolha de coágulo de L-PRF - Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos.[19]

O desenvolvimento de tecnologias relacionadas com os concentrados plaquetários originou protocolos de produção destes biomateriais simplificados e otimizados.[1] Esta técnica é a mais simples e com o protocolo menos dispendioso, até agora descrito.[19]

O PRF / L- PRF corresponde à segunda geração de concentrados plaquetários[2,17,22,5,18] e foi definido como sendo um biomaterial de fibrina rico em plaquetas e leucócitos.[22,23,19,24,5,18] O PRF permite obter membranas de fibrina enriquecidas com plaquetas e fatores de crescimento, nas quais a rede de fibrina serve como substrato a uma migração celular mais eficiente, bem como a uma proliferação otimizada e, consequentemente, a uma cicatrização mais rápida.[5]

A fibrina é a forma ativada do fibrinogénio;[25] uma molécula plasmática que está presente tanto no plasma como nos grânulos alfa das plaquetas, que possui um papel determinante na agregação plaquetária, durante a hemóstase.[1,26] Transforma-se numa espécie de cola biológica, capaz de consolidar a apreensão de plaquetas inicial, constituindo uma espécie de barreira aquando da coagulação.[1]

O fibrinogénio é o substrato final de todas as reações de coagulação, tratando-se de uma proteína solúvel que é transformada em fibrina (insolúvel), pela ação da trombina.[1]

O conceito de PRF de Choukroun é fundamentado no processo mecânico que ocorre durante a formação do coágulo, levando a uma arquitetura da fibrina que é bastante diferente de uma simples cola de fibrina.[24,5] Os efeitos biológicos desta matriz de fibrina podem ser divididos, segundo Choukroun et. al, em quatro aspetos da cicatrização: angiogénese, controlo imunitário, recrutamento das células precursoras circundantes e, proteção exercida pelo invólucro epitelial.[16]

A angiogénsese consiste na formação de novos vasos sanguíneos a partir de outros pré-existentes.[16] Para isso, é necessário a presença de uma matriz extracelular para permitir a migração, divisão e a alteração fenotípica das células endoteliais.[16] Relativamente aos mecanismos biológicos inerentes às plaquetas presentes neste biomaterial, a sua ativação é fundamental para iniciar a hemóstase. Contudo, a sua desgranulação implica também a libertação

de citocinas capazes de estimular a migração celular e a proliferação na matriz de fibrina.[22,19] As principais citocinas presentes nas plaquetas, incluem: TGFβ-1 – regulador inflamatório com capacidade de induzir a fibrose; PDGFs[5,10] – reguladores da migração, proliferação e sobrevivência das linhagens celulares mesenquimatosas; e IGFs – tanto o I como o II, que são reguladores da proliferação e diferenciação da maioria das células.[22] A propriedade de angiogénese deste substrato é explicada pela estrutura tridimensional e pela ação simultânea das citocinas que se encontram aprisionadas na estrutura da matriz.[16]

Do ponto de vista imunitário, a matriz de fibrina contém diversas populações do sistema imunológico, bem como todos os elementos celulares e moleculares que permitem uma cicatrização eficaz.[16] As capacidades de defesa contra infeções parecem ser significativas, devido às suas proriedades quimiotáticas, assim como à sua capacidade de facilitar o acesso das citocinas ao local da lesão.[23]

As potenciais indicações clínicas do PRF, em cirurgia oral ou maxilofacial são várias incluindo a regeneração dos tecidos moles e a indução da regeneração e remodelação do tecido ósseo.[24]

Porém, por ser obtido diretamente de sangue autólogo, as quantidades produzidas são baixas, estando esta limitação relacionada com a utilização não sistemática deste biomaterial de fibrina.[16]

É de salientar que o PRF apresenta consideráveis benefícios relativamente ao PRP: simplificação do processo e baixo custo; ausência de utilização de trombina de bovino[27] ou qualquer outro anticoagulante; cicatrização favorecida pela polimerização lenta da fibrina; migração e proliferação celular mais eficiente e efeito cooperante com o sistema imunitário.[28]

Protocolos

O uso tópico de concentrados plaquetários é recente e a sua eficiência é ainda controversa, apesar da obtenção de efeitos benéficos em muitos estudos.[19] Estão disponíveis várias técnicas para a preparação dos concentrados plaquetários; todavia, o seu modo de aplicação continua a ser um pouco confuso, uma vez que cada método origina diferentes produtos, biologicamente diferentes e com aplicações diversificadas.[19]

A classificação proposta por Dohan et. al. divide os concentrados plaquetários em quatro categorias, dependendo do seu conteúdo de leucócitos e fibrina:

- P-PRP: Plasma rico em plaquetas puro;

- L-PRP: Plasma rico em plaquetas e leucócitos;

- P-PRF: Fibrina rica em plaquetas puro;

- L-PRF: Fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

A preparação e o processamento de PRP são muito semelhantes na maioria dos concentrados de plaquetas; contudo o anticoagulante usado, a velocidade e a duração da centrifugação podem diferir.[17] O plasma rico em plaquetas puro/pobre em leucócitos foi, inicialmente, desenvolvido para aplicação nas transfusões plaquetárias clássicas e era utilizado para cirurgia maxilofacial. O P-PRP pode ser obtido por métodos manuais ou automatizados.[2]

Protocolo Clássico do PRP (manual)

1. Recolhe-se uma amostra sanguínea e centrifuga-se – *soft spin*;
2. Obtém-se três camadas distintas:
    - ✓ Eritrócitos
    - ✓ *Bufy Coat* (BC) – na qual, a maioria das plaquetas está concentrada
    - ✓ Plasma Pobre em Plaquetas (PPP)

3. A partir do resultado desta primeira centrifugação, podem ser produzidos tanto P-PRP como L-PRP;

A. Para a produção de P-PRP:

4. Transfere-se tanto a camada do PPP como parte superficial da BC para outro tubo e centrifuga-se novamente - *hard spin* - mais longa e com uma velocidade de superior à primeira;
5. Descarta-se a maioria do PPP;
6. Obtém-se uma fração de BC suspensa em plasma rico em fibrina.

B. Para a produção de L-PRP:

4. As frações: PPP e BC são transferidas, na sua totalidade, para outro tubo e faz-se uma segunda centrifugação: *hard spin*;
5. Descarta-se todo o PPP;
6. Obtém-se a totalidade da BC e a parte residual dos eritrócitos suspensas em plasma rico em fibrina.

Os concentrados de plaquetas obtidos são aplicados no local pretendido, com uma seringa, juntamente com trombina e/ou cloreto de cálcio para levar à ativação das plaquetas e à polimerização da fibrina.[19] Este processo de obtenção de PPP não está totalmente definido e o protocolo pode levar, aleatoriamente, à obtenção de P-PRP ou de L-PRP.[19]

Protocolo do P-PRP (automatizado)

1. *Plasmaferese*

O primeiro método de produção de concentrados plaquetários para uso tópico ficou conhecido como *plasmafaferese,*que utiliza um separador celular ou um dispositivo descontínuo, no qual o paciente está ligado a uma máquina e o sangue é filtrado, continuamente, até que se alcance a quantidade desejada de plaquetas.[2,19] Compostos sanguíneos como: plaquetas, leucócitos e eritrócitos eram separados do PPP, que era, posteriormente, transferido para o paciente.[2,19] Além da necessidade do equipamento sofisticado, o PRP resultante continha resíduos de eritrócitos e leucócitos. Para este procedimento era necessário, sempre, um acompanhamento por um hematologista.[2,19]

2. *Vivostat PRF centrifuge*

Este sistema consiste num separador celular avançado, e tem, como função, a produção de selantes constituídos por fibrina. Produz um concentrado de plaquetas pobre em leucócitos para uso cirúrgico, com o recurso de um *kit* de centrifugação específico.[2,19]

Desvantagens: poucos estudos publicados; procedimento incómodo; custos elevados; risco de dano das plaquetas, durante o procedimento.[2,19]

Protocolo do P-PRP (manual)

Anitua's PRGF – Plasma Rico em Fatores de Crescimento

Em 1999, Anitua descreveu o PRGF / Preparação Rica em Fatores de Crescimento, um dos primeiros protocolos de concentrados de plaquetas.[2,19,29]

1. Recolhe-se uma amostra de sangue venoso do paciente;
2. Centrifuga-se em vários tubos de 5 $_{mL}$, 460g, durante oito minutos – uma centrifugação lenta;
3. Formam-se três camadas:
    - ✓ Eritrócitos
    - ✓ BC
    - ✓ Plasma acelular (que contém PPGF e PRGF)
4. Descarta-se a camada de PPGF;
5. Retira-se com uma pipeta o PRGF (imediatamente acima da camada de eritrócitos);
6. Repetem-se estes passos nos vários tubos e coloca-se o conteúdo pipetado num só tubo;
7. A este tubo adiciona-se 10% de cloreto de cálcio para induzir a polimerização da fibrina.
8. Obtém-se um gel de PRGF que tem de ser usado logo de seguida.

Existem algumas inconsistências no protocolo do PRGF, como, por exemplo, o facto de na descrição original do protocolo, a maioria do plasma ser recolhido, incluindo a *buffy coat* que contém a maioria das plaquetas e dos leucócitos; contudo, na aplicação clínica deste método, alguns autores alegam que a BC se recolhe.[2,19] Sendo o objetivo desta abordagem evitar a recolha dos leucócitos, parece ser tecnicamente imprecisa e leva a resultados irreproduzíveis. Origina, igualmente, uma recolha baixa de plaquetas, já que os leucócitos e plaquetas se encontram juntos na camada intermédia, após a centrifugação.[19]

Protocolo do L-PRP (manual)

O objetivo inicial no desenvolvimento deste protocolo foi a utilização de concentrados de plaquetas, na prática clínica diária, sem que fosse necessário um laboratório de transfusões.[19] Sem um separador celular, a eliminação dos leucócitos, inicialmente prevista, tornou-se complicada e os concentrados de plaquetas continham uma elevada quantidade.[19]

Protocolo do P-PRF (manual)

1. *Fibrinet PRFM*

A Fibrina rica em Plaquetas ou Fibrina Rica em Plaquetas e Pobre em Leucócitos[19]
Dentro desta categoria, o *Kit Fibrinet PRFM* é o único sistema.
Este compreende dois tubos, um para colheita do sangue e outro para a coagulação do PRFM, unidos por um dispositivo de transferência.

1. Recolhem –se 9 mLde sangue para um tubo coletor que contem citrato de sódio como anticoagulante que é centrifugado, a alta velocidade, por 6 minutos;
2. Obtém-se três camadas:
    - ✓ Eritrócitos
    - ✓ BC
    - ✓ PPP (camada de plasma pobre em plaquetas).
3. A BC e a PPP são facilmente transferidos para o segundo tubo que contém cloreto de cálcio, com o auxílio de um sistema de tubos de condução.
4. O processo de coagulação é desencadeado pela presença de cloreto de cálcio e centrifuga-se, imediatamente, o tubo, durante quinze minutos;
5. Posteriormente recolhe-se o coágulo estável de PRF.

Uma grande vantagem prende-se ao facto de não usar trombina de origem bovina; este sistema produz um concentrado de plaquetas “natural”; contudo, há autores que revogam esta afirmação uma vez que o sangue é misturado com anticoagulante e com gel separador, o que podem ser consideradas condições não naturais.[2]

Este protocolo é similar ao do L-PRP, como o método de Curasan. A principal diferença é que somente quantidades muito baixas de leucócitos são recolhidas, devido à utilização do gel separador específico usado neste método. [2]

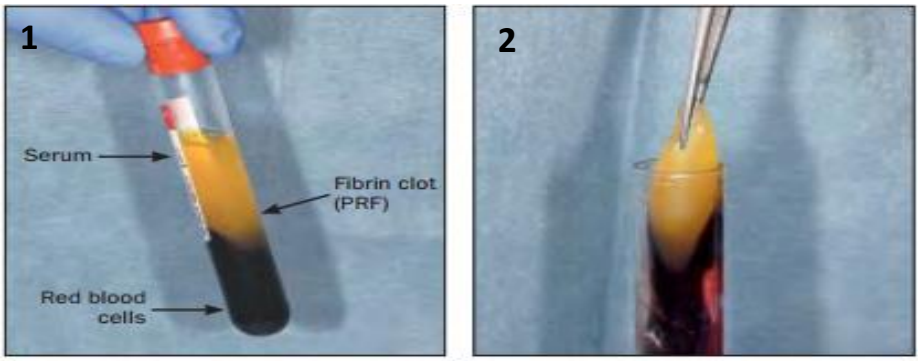
Protocolo do L-PRF (manual)

Atualmente, o protocolo do PRF, sugerido e elaborado por Choukroun et al., é considerado a forma mais simples e menos dispendiosa de produzir concentrados de plaquetas. O sangue é colhido diretamente do paciente, na altura do procedimento cirúrgico e é, posteriormente, centrifugado, sendo, para esse efeito, requeridos o *Kit* de colheita, a centrifugadora específica e a *PRF box* a fim de preparar membranas *standarizadas* e para recolha do exsudado de PRF, em ambiente estéril. Não são adicionados nem anticoagulantes, nem trombina de bovino ou cloreto de cálcio.[3,27]

1. Colhe-se uma amostra de sangue de paciente sem qualquer adição de anticoagulantes, e coloca-se em tubos de 10 mL;
2. Imediatamente após o primeiro passo faz-se a centrifugação, a 3.000 $_{rpm}$, cerca de 800g, durante 10 minutos;
3. Obtém-se três camadas:

    - ✓ Eritrócitos
    - ✓ Coágulo de PRF – onde estão contidos a maioria das plaquetas e leucócitos[19]
    - ✓ PPP

4. A camada superior do tubo – PPP – é removida e coleta-se e fração intermédia, 2 milímetros abaixo da divisão entre esta camada e os eritrócitos;
5. Obtém-se, assim, o coágulo de PRF.



Figuras 1 e 2: Depois da centrifugação, a cascata de coagulação leva à formação de um coágulo de fibrina natural, acima dos eritrócitos (porção média do tubo) (1). O coágulo de fibrina, ao ser removido do tubo, pode ser separado dos eritrócitos da base e usado como material de enxerto (2). *(Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of Sinus Floor Augmentation with Simultaneous Implant Placement Using Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. 2013, 77-83.)*

O sucesso desta técnica depende do período de tempo entre a colheita do sangue e a sua transferência para a centrifugadora, que deve ser feita no melhor intervalo possível. O sangue, sem a adição do anticoagulante, começa a coagular imediatamente com o simples contato com as paredes do tubo[28] – ativando a via intrínseca da cascata de coagulação.[7]

Quando se pretende preparar uma proposta de protocolo *standard*, o aspeto mais importante a considerar deverá ser o tipo de utilização. No âmbito da engenharia de tecidos e da medicina regenerativa, existem três aplicações principais para as preparações de PRF:

- ✓ Membrana para a regeneração óssea guiada: neste caso, ter-se-á uma preocupação acrescida com a textura e mecânica inerentes - não necessita de grande quantidade de FC;
- ✓ Fonte de FC, em forma de gel, para regeneração de tecidos, fomentando a indução óssea;
- ✓ *Scaffold* para engenharia de tecidos: é necessária uma boa estrutura tridimensional, bem como uma quantidade apropriada de FC.

Aplicações em Medicina Dentária

O PRF é definido como um biomaterial de fibrina rica em plaquetas e leucócitos, que corresponde à segunda geração de concentrados plaquetários[27] e a sua utilização é favorecida, na prática clínica, pelo seu processo de produção simples, rápido[29,30,18,31] e pouco dispendioso, quando comparado com outros métodos que incluem diferentes concentrados plaquetários.[29,31]
Os concentrados de plaquetas são conhecidos por melhorar a cicatrização dos tecidos moles, porém, o PRF, quando comparado com os restantes,parece permitir a obtenção de resultados clínicos superiores.[32]
O uso de preparações à base de plaquetas assenta no facto dos grânulos alfa das plaquetas serem um reservatório de fatores de crescimento, que têm um papel fundamental nos mecanismos de reparação dos tecidos duros e moles.[27] Muitos fatores, como o fator de crescimento derivados das plaquetas (PDGF) e o TGF-β são obtidos, em níveis elevados, no PRF.[27,5,10] Aparentemente a libertação dos FC é afetada pela quantidade de FC que constituem a preparação, pelo manuseamento e pelo armazenamento do preparado plaquetário.[27]
Após a centrifugação, o coágulo de PRF é retirado com material esterilizado e é comprimido, criando uma densa membrana de PRF, elástica, que pode ser utlizada em várias aplicações clinicas.[29,1] A membrana de PRF pode ser preparada utilizando uma *box* especialmente concebida para o efeito – *PRF Box Process*.[27] Quando usado como membrana ou fragmento, o PRF proporciona proteção quanto a agressões externas, nos sítios cirúrgicos, e atua como matriz que acelera a cicatrização dos bordos operatórios; se usado em conjunto com material de enxerto ósseo, o coágulo de fibrina funciona como uma conexão entre os diferentes elementos do enxerto; ao tratar-se de uma matriz natural, favorece a neo-angiogénese, a capacidade recrutar células precursoras e a migração de células osteoprodutoras para o enxerto.[33]
Relativamente às suas aplicações, apresenta uma grande área de intervenção em Medicina Dentária desde periodontologia, cirurgia oral e maxilofacial e implantologia oral.[17]
Para o sucesso desta técnica, é necessário treino específico do operador[29,33] e requer cuidados tanto de preparação como de conservação.[29]

1. Implantologia

Relativamente à utilização deste biomaterial, no âmbito da implantologia, a sua principal aplicação associa-se ao aumento do tecido ósseo envolvente para a colocação de implantes. O problema encontrado mais frequentemente é a falta de espessura óssea adequada, bem como a

proximidade de estruturas anatómicas como os seios maxilares ou o nervo alveolar inferior.[17] Desta forma surgiram procedimentos cirúrgicos que atuam, em conjunto com a implantologia (como o levantamento do seio maxilar e a regeneração óssea guiada,[17,34] ou seja, uma variedade de procedimentos de aumento de osso têm sido utilizados com o intuito de criar osso suficiente que suporte a colocação de implantes.[35] A falta de tecido ósseo tanto na maxila como na mandibula é um dos principais problemas na implantologia e, como tal, em alguns casos, a única solução passa por alcançar dimensões ótimas pré-implantares.[33]

A adição do PRF aos materiais de enxerto pode tornar-se uma oportunidade de desenvolvimento de novas formas terapêuticas que melhorem a integração de substitutos ósseos aquando do enxerto pré-implante.[33]

Simonpierie os seus colaboradores pesquisaram a viabilidade de uma técnica cirúrgica de enxerto ósseo pré-implantar utilizando para este fim: enxerto ósseo aloplástico de origem sintética - membranas de PRF e metronidazol. Neste caso, o enxerto ósseo consistia na combinação de osso aloplástico liofilizado, PRF e metronidazole (solução de 0,5%) misturados entre si.[33] Verificou-se que as membranas de PRF permitiram um rápido encerramento do local cirúrgico, mesmo tendo sido introduzido um volume substancial de enxerto.[33] Dez semanas após a cirurgia, de acordo com a análise de uma tomografia computorizada, verificou-se homogeneidade radiológica entre o enxerto ósseo e o osso alveolar remanescente.[33] Concluiu-se então que o PRF proporcionou um ambiente regenerativo adequado no local cirúrgico, acelerando a integração e remodelação do material enxertado.[33]

Num outro estudo, em continuação do supracitado, Simonpieri et al., debruçaram-se nas fases de colocação de implantes e protética, avaliando a relevância do PRF durante esta parte específica do tratamento.[32] O uso de membranas de PRF aquando da colocação dos implantes permite a obtenção de outros efeitos benéficos; nesta parte da reabilitação, as membranas de PRF foram usadas para cobrir os implantes – toda a zona cirúrgica foi coberta por membranas de PRF para promoção da cicatrização da incisão, controlo da inflamação, e aumento da maturação da gengiva queratinizada. O uso de PRF levou ao aumento da espessura to tecido gengival que circunda os implantes. Os autores referiram também que a estabilização do osso pré-implantar e da gengiva pode ser, facilmente, melhorada se a escolha do implante for a adequada, associado ao uso repetido de membranas de PRF. Quando os implantes foram colocados, o osso enxertado mostrou, sempre, uma densidade adequada. Concluiu-se que o PRF apresenta efeitos claros na maturação e regeneração gengival, o que pode apresentar um papel fundamental na estabilidade da superfície do osso enxertado.[32]

2. Cirurgia de levantamento de seio maxilar – *Sinus Lift*

O levantamento do seio maxilar, ou vulgarmente denominado *sinus lift*, é uma técnica cirúrgica aceite, simples, com a finalidade de reabilitar áreas edêntulas da maxila,[37,38,6] em zonas com reabsorções ósseas.[38] O seio maxilar é delimitado por uma membrana – membrana de Schneider – muito fina, aderida ao osso subjacente.[38]

Existem vários tipos de enxerto ósseo: autoenxertos, aloenxertos, xenoenxertos e materiais aloplásticos[38,39] Contudo, a utilização de materiais xenégenos e alógenos podem envolver risco de transmissão de doenças.[40] Neste contexto, a utilização do PRF pretende favorecer o processo regenerativo.[38]

Zhang e os seus colaboradores analisaram a influência do PRF na promoção da regeneração óssea quando associado a um xenoenxerto – osso de bovino desproteinado na elevação do seio maxilar.[41] Os xenoenxertos são enxertos em que a sua espécie difere daquela onde vão ser enxertados.[38] Para este estudo foram selecionados dez pacientes com o maxilar posterior atrófico; o grupo teste foi constituído por seis elevações do seio maxilar que foram tratadas com *Bio-Oss* misturado com PRF e o grupo de controlo foi formado por cinco seios atróficos, tratados apenas com *Bio-Oss*.[41] Os seis meses seguintes, a cicatrização ocorreu sem complicações, para todos os pacientes; as radiografias pós-operatórias revelaram a presença de tecido mineralizado, em quantidade e densidade adequadas em todos os casos.[41] Foram executadas biopsias e as características ósseas foram analisadas histologicamente: tanto as biopsias de PRF como as do grupo de controlo, mostraram composição e distribuição muito semelhantes das estruturas histológicas e sem sinais significativos de reação inflamatória. Quanto à formação de novo osso, a percentagem no grupo em que foi utilizado PRF foi, aproximadamente, 1,4 vezes, superior, quando comparado com o grupo de controlo.[41] Relativamente à quantidade de *Bio-Oss* residual presente, bem como ao tamanho do contacto entre o *Bio*-Oss e o novo osso formado, não se observaram diferenças estatisticamente significativas.[41]

3. Aplicação em tecidos lesados

Outra possibilidade de utilização do PRF é quando não é possível a cicatrização por primeira intensão. Nestes casos, o PRF sob a forma de membrana, pode cobrir a zona lesada.[3] Assim, promove-se a re-epitelização e acelera-se a junção dos bordos gengivais.[3] A cicatrização dos

tecidos: epitelial e conjuntivo relaciona-se tanto com a matriz de fibrina como com a presença de FC.[3]

Os fibroblastos gengivais migram facilmente e remodelam o tecido.[3] Deste modo, o sítio cirúrgico torna-se menos sensível a agressões (mecânicas, bacteriológicas e químicas), melhorando o pós-operatório e a função estética.[3]

4. Aplicação em alvéolos pós extração

É comumente recomendada a inserção de material nos locais de avulsão ou extração para que se mantenha o volume de osso adequado.[3] Usada nestas situações, a utilização de membranas de PRF otimiza a formação do coágulo sanguíneo, de forma a melhorar o processo natural de cicatrização.[3] Atua como um coágulo sanguíneo estável para a neovascularização e acelera a remodelação tecidular.[3] É especialmente importante em sítios com infeção e em pacientes com condições médicas que possam comprometer todo o processo de cicatrização: diabéticos, pacientes medicados com imunossupressores ou anticoagulantes.[3]

Figuras 3, 4 e 5: Local de avulsão/ extração (3), colocação de membrana de PRF (4), cicatrização – 15º dia do pós- operatório (5). *(Del Corso M, Toffler M, Ehrenfest DMD. Use of Autologous Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry. 2010, Vol.1, Nº 9: 27-35.)*

5. Periodontologia

O desenvolvimento do PRF tem sido relacionado com a cirurgia oral e maxilofacial[29] o que conduziu à investigação desta forma terapêutica para o tratamento de recessão gengival e do recobrimento radicular, quando a raíz se encontra exposta.[29]

A doença periodontal é uma patologia inflamatória que leva à destruição do periodonto e do osso alveolar e, quando não tratada, leva a uma perda progressiva da aderência e pode, eventualmente, conduzir à perda precoce dos dentes.[18]

O tecido periodontal é destruído no decorrer da doença periodontal por respostas imunológicas desproporcionadas a agentes como as bactérias presentes no biofilme.[30]

A finalidade do tratamento da doença periodontal, quer cirúrgico quer não cirúrgico, tem como objetivo melhorar a saúde dos tecidos e estruturas periodontais; todavia, não permite uma restituição dos tecidos perdidos.[29] O principal objetivo do tratamento periodontal é a manutenção da saúde e da função relativas à dentição natural.[31] A regeneração foi definida como sendo a reprodução ou reconstituição de uma área perdida ou danificada[18,42] restaurando a arquitetura e função do periodonto.[31,10,42] A regeneração periodontal é um processo multifatorial e requer uma sequência de eventos biológicos que incluem: adesão celular, migração, proliferação e diferenciação.[43,18,10] Têm sido feitos, portanto, progressos para a compreensão da regeneração periodontal.[43] Para ser considerado uma terapêutica regenerativa, o material ou técnica têm de demonstrar, histologicamente, que o osso, o cemento e um ligamento periodontal funcional podem ser formados numa raiz anteriormente danificada.[31]

O PRF pode ser considerado um biomaterial com conteúdo de fibrina, favorável ao desenvolvimento da microvascularização e capaz de conduzir a migração celular até à área da lesão.[43]

O potencial cicatricial e regenerativo das plaquetas tem vindo a atrair muita atenção, nos últimos anos.[29] Além disso, os FC podem manter a sua atividade,[10] com uma libertação controlada, num período de, pelo menos, sete dias.[29,43,10]

Atualmente, as aplicações do PRF na periodontologia incluem tratamento de recessões gengivais e, mais recentemente, regeneração óssea nos defeitos intraósseos (IBD) periodontais.[29] O PRF em membrana, ou como material de enchimento, proporciona o efeito de barreira que gera eventos celulares conducentes à regeneração periodontal.[43]

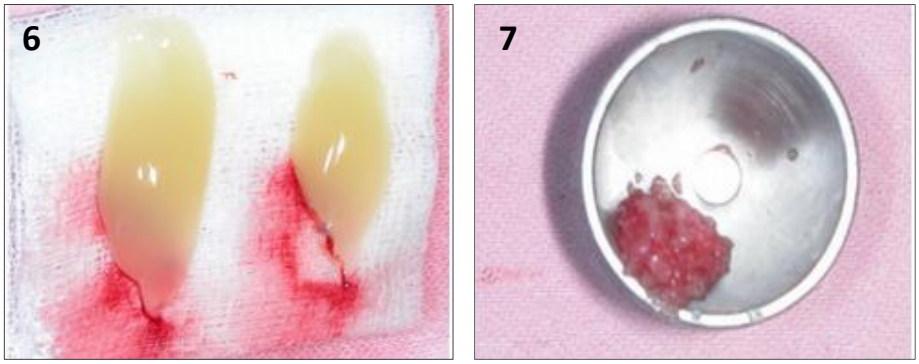
Uma das técnicas possíveis consiste na colocação de um coágulo de PRF na zona do IBD que é, posteriormente, coberto por duas membranas de PRF;[29,30,31] pensa-se que as membranas vão funcionar como barreira.

Outra técnica viável é triturar a membrana de PRF, colocá-la no local de IBD e, em seguida, cobrir com uma segunda membrana de PRF.[43] Outro método utilizado em periodontologia consiste em produzir uma membrana de PRF que é depois triturada e misturada com material

sintético como a hidroxiapatite, sendo, posteriormente, coberta a área por uma segunda membrana de PRF.[18]

Chang, Yu. et al avaliaram as alterações clínicas e radiográficas numa paciente diagnosticada com periodontite crónica que apresentava IBD e foi tratada com PRF.[43] Estes concluíram que a utilização exclusiva de PRF parece ser efetiva no tratamento regenerativo de IBD e de lesões de furca.[43] O PRF foi preparado, formou-se uma membrana por ação da pressão entre duas gazes secas esterilizadas e esta foi triturado e colocado nas áreas de lesão, nomeadamente nos dentes 27 e 36[43] tanto nas superfícies radiculares dos dentes em questão, como na zona da furca. Foi adaptada uma outra membrana de PRF com a finalidade de cobrir o defeito ósseo.[43]

Neste caso, após a aplicação de PRF, houve redução da profundidade das bolsas periodontais e aumento da adesão clínica,[43,44] que é um resultado desejável e pode ser consequência de uma regeneração periodontal verdadeira, significando novas aderências. Relativamente ao aspeto radiográfico, a aplicação de PRF pareceu aumentar a intensidade radiográfica, seis meses depois, nas áreas de lesão envolvidas.[43]



1. **Figuras 6 e 7:** O coágulo de fibrina foi facilmente separado da parte inferior do sangue centrifugado (6). O PRF pode ser triturado como material para enxerto (7). *(Chang Y, Wu K, Zhao J. Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. Journal of Dental Sciences. 2011, 6: 181-188.)*

MK, Thorat et al. investigaram, igualmente, os aspetos clínicos e radiográficos da utilização do PRF nos IBD, em trinta e dois pacientes com periodontite crónica: destes, dezasseis realizaram a cirurgia de retalho, de forma convencional, e os restantes foram sujeitos ao mesmo procedimento, todavia com aplicação de PRF autólogo.[31]

Neste estudo, verificou-se uma redução da profundidade de sondagem e um aumento dos níveis de aderência clínica em ambos os grupos; porém, no grupo em que foi aplicado o PRF, a redução

da profundidade de sondagem foi mais evidente, bem como o aumento da aderência clínica.[31] O mesmo estudo mostra ainda que a percentagem da redução do IBD é maior nos casos onde foi aplicado PRF, sendo este resultado estatisticamente significativo.[31]

Panda, Saurav et al., analisaram as alterações clinicas e radiográficas de pacientes que recorreram à utilização de PRF em associação a um material de enxerto aloplástico (OSSIFI^{TM}) - de origem sintética[38] - para tratamento de IBD periodontais, com comprometimento endodôntico. Neste caso clínico, o PRF não foi aplicado sob a forma de uma membrana, mas em pequenas porções, de modo a facilitar a manipulação, e de ser mais fácil a distribuição na zona da lesão.[10] Clinicamente verificou-se redução de profundidade das bolsas e aumento do nível de aderência; radiograficamente observou-se preenchimento das zonas com IBD.[10] De acordo com os resultados obtidos, neste caso, o PRF, associado ao material aloplástico, demonstra ter um impacto positivo.

A aplicação de PRF foi, igualmente, testada num caso de periodontite agressiva generalizada; esta patologia apresenta outros fatores envolvidos, como a progressão e a severidade da doença, bem como a idade de início da mesma e os fatores genéticos que podem estar relacionados.[28] Desarda, H et al., analisaram dois pacientes de dezoito anos, sendo um do género masculino e outro do género feminino que realizaram tratamento periodontal cirúrgico com aplicação de PRF e, em ambos os casos, a cicatrização nos pós-operatório mostrou ser excelente.[28] Houve redução da profundidade de sondagem, não tendo sido observados sinais de inflamação gengival.[28]

Noutras situações patológicas, a recessão dos tecidos marginais acontece devido ao deslocamento da margem gengival apical para a junção esmalte-cemento, com exposição das superfícies radiculares na cavidade oral.[27] A recessão gengival é causa de preocupação por parte dos pacientes por diversos motivos como considerações estéticas, hipersensibilidade na zona da raiz exposta e por cárie,[27,45] e pode envolver um único dente ou vários dentes adjacentes.[27]

Para o tratamento das recessões gengivais são propostos procedimentos cirúrgicos sendo a mais utilizada a técnica de reposicionamento coronário.[27]

Tanya, J. e os seus associados, referiram um caso de recessão gengival em vários dentes adjacentes tratados pela combinação de técnica de reposicionamento coronário e PRF.[27] O PRF foi preparado e após a centrifugação, a coágulo foi retirado e posteriormente colocado diretamente na zona da lesão; foi depois adaptado às zonas da raiz expostas e esta área foi comprimida, por pressão digital, de forma a obter-se a formação de uma membrana.[27] Concluiu-

se que o PRF otimizou a remodelação celular, a cicatrização e a angiogénese; este caso reflete o sucesso deste biomaterial a cobrir múltiplas recessões.[27]

Padma, R. et al elaboraram um estudo para avaliar o efeito do PRF, em gel, na cirurgia de reposicionamento coronário, em quinze pacientes com recessões gengivais (classe I e II de Miller).[45] Nesta investigação, foram tratados trinta locais de lesão em quinze pacientes. Assim, em cada paciente havia dois locais a serem avaliados, bilateralmente. Os locais de lesão foram divididos em dois grupos, em que um foi tratado pela técnica convencional de reposicionamento coronário e o segundo grupo, em que o reposicionamento coronário foi complementado com PRF. Após um período de seis meses, a grupo de associação da técnica cirúrgica com PRF apresentou benefícios relativos ao recobrimento da raiz e ao nível da recessão gengival.[45]

Aroca et al., num estudo de seis meses, quiseram avaliar a eficácia da junção de PRF a uma técnica de reposicionamento coronário modificado, e verificar se o PRF conduziria a resultados clínicos mais vantajosos do que a execução da mesma técnica sem a adição do composto autólogo.[46] Estes autores concluíram que a aplicação do PRF proporcionou um recobrimento radicular menor, havendo, contudo, um aumento da espessura entre a gengiva e a mucosa, seis meses depois, quando comparado com a técnica convencional.[46]

Outra aplicação do PRF em periodontologia é em lesões de furca.[47,30] O tratamento deste tipo de lesões mantém-se um desafio na prática clínica.[47]

As furcas são, normalmente, de difícil acesso para a realização de desbridamento, uma vez que a sua entrada é pequena e os instrumentos periodontais podem não conseguir alcançar toda a sua extensão; além disso, apresentam cristas, convexidades e concavidades que dificultam a sua instrumentação.[47] Clinicamente, a regeneração destas lesões acontece quando há aumento da aderência clínica e preenchimento ósseo que se repercute na redução ou eliminação tanto dos componentes horizontais como dos verticais da lesão.[47] Contudo, só há resultados conclusivos da regeneração das lesões de furca, com recurso a meios histológicos.[47]

Atualmente nenhum material regenerativo é considerado o *golden standard* no tratamento de lesões de furca.[30]

Pradeep, Ar et al., avaliaram a influência tanto do PRF como do PRP no tratamento de lesões de furca de grau II, comparativamente à técnica de desbridamento convencional, em pacientes com periodontite crónica.[47]

Neste estudo ficou demonstrado que tanto o uso de PRP como de PRF foi efetivo no tratamento das lesões, com cicatrização sem complicações, não tendo sido observadas diferenças

significativas relativamente aos compostos autólogos utilizados. A utilização destes compostos parece diminuir ora o custo da terapia regenerativa, ora o tempo dispensado. Embora não se concluam diferenças nos parâmetros clínicos e radiográficos analisados, o PRF apresenta vantagens quando comparado com o PRP: o PRF produzido como membrana serve como matriz que acelera a cicatrização dos bordos gengivais[47] e difere dos outros sistemas de produção de PRP comercialmente disponíveis, nomeadamente pela ausência de trombina ou outros ativadores exógenos, no seu processo de produção.[47,30]

Considerando que o PRF pode aumentar o poder de cicatrização do osso e tecidos moles, Sharma e Pradeep avaliaram a eficácia do PRF associado ao desbridamento radicular no tratamento de lesões de furca mandibulares de grau II, comparada com a técnica de desbridamento radicular isolada.[30] A utilização do PRF demonstrou ser eficaz; houve uma redução da profundidade de sondagem e aumento dos níveis de aderência horizontais e verticais.[30]

6. Endodontia Regenerativa

Relativamente à endodontia regenerativa, a revascularização pode ser considerada uma opção mais favorável do que a tradicional apexificação.[44] Os três fatores-chave da endodontia regenerativa incluem: utilização de células precursoras, que se podem diferenciar e garantir a continuação do desenvolvimento da raiz; FC que induzam a proliferação e diferenciação celulares; e *scaffolds* apropriados que promovam o crescimento celular e a diferenciação.[44] Keswani et al., analisaram os resultados clínicos a radiológicos da revascularização em dentes imaturos com polpa necrótica, utilizando PRF.[44] Quanto à aplicação do PRF, este, depois de preparado, foi introduzido e condensado no canal até ser atingida a junção esmalte-cemento.[44] Imediatamente sobre este foi colocado MTA, numa camada de aproximadamente três milímetros de espessura. Concluiu-se que o PRF tem elevado potencial na revascularização: é rico em FC, aumenta a proliferação celular e a diferenciação, aumenta a angiogénese, atua como matriz para as células em crescimento, regula as reações inflamatórias, e além disso, constitui uma matriz para a fixação do MTA.[44]

Contudo, verificou-se ter como desvantagem a necessidade de equipamento específico, o facto de se recolherem amostras de sangue periférico e a dificuldade de manipulação do produto dentro do canal.[44]

Conclusão

O PRF de Choukroun incorpora leucócitos, plaquetas e uma grande variedade de proteínas relacionadas com a cicatrização, contidas numa densa matriz de fibrina. Apresenta, igualmente, fatores de crescimento que promovem o potencial generativo tanto do tecido ósseo como dos tecidos moles. Embora pertença a uma nova geração de concentrados plaquetários, ocupa o primeiro lugar na tecnologia de fibrina. O PRF pode ser considerado um coágulo imunitário: graças às suas capacidades de defesa contra infeções e às propriedades quimiotáticas das citocinas presentes, bem como à sua capacidade de facilitar o acesso ao local da lesão. É uma técnica simples e económica e o uso sistemático deste biomaterial parece ser uma opção muito promissora.

Referências Bibliográficas:

1. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts an evolution. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 101: E37-44.
2. Sood V, Masamatti SS, Khatri M, Kumar A, Jindal V. Platelet Concentrates – Part I. Indian Journal of Dental Sciences. 2012, Vol.4, Issue 2: 119-123.
3. Del Corso M, Toffler M, Ehrenfest DMD. Use of Autologous Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry. 2010, Vol.1, Nº 9: 27-35.
4. Chatterjee A, Agarwal P, Subbaiah S. Platelet rich fibrin: an autologous bioactive membrane. Apollo Medicine II. 2014, 24-26.
5. Wu C-L, Lee S-S, Tsai C-H, Lu K-H, Zhao J-H, Chang Y-C. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. Australian Dental Journal. 2012, 57: 207-212.
6. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Ehrenfest DMD. Sinus Floor Augmentation with Simultaneous Implant Placement Using Choukroun's Platelet-Rich Fibrin as the Sole Grafting Material: A Radiologic and Histologic Study at 6 Months. Journal of Periodontol. 2009, 80: 2056-2064.
7. Kobayashi M, Kawase T, Horimizu M, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. 2012, 1-7.
8. Gupta V, Bains VK, Singh GP, Mathur A, Bains R. Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin in Dentistry: Literature review. Asian Journal of Oral Health & Allied Sciences. 2011, Volume 1, Issue 1: 22-28.
9. SG, Bhat P, Nagest KS, Rao GHR, Mirle B, Kharbhari L, Gangaprasad B. Bone Regeneration in Extraction Sockets with Autologous Platelet Rich Fibrin Gel. Journal of Maxillofacial Oral Surgery. 2013, 12 (1): 11-16.
10. Panda S, Ramamoorthi S, Jayakumar ND, Sankari M, Varghese SS. Platelet rich fibrin and alloplast in the treatment of intrabony defect. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2014, Vol.6, Issue 2: 127-131.
11. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, Dipalma G, Pacifici L, Inchingolo F. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in Reconstructive Surgery of

Atrophied Maxillary Bones: Clinical and Histological Evaluations. International Journal of Medical Sciences. 2012; 9 (10): 872-880.

12. Saravanakumar B, Julius A, Sarumathi T, Aarthinisha V, Manisundar N. Therapeutic Effects and Concepts in the Use of Platelet-Rich Fibrin (PRF) on Alveolar Bone Repair – A Literature Review. Middle-East Journal of Scientific Research. 2014, 19 (5): 669-673.
13. Ehrenfest DMD, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier J.Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. Archives of Oral Biology. 2010, 55: 185-194.
14. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 101: 299-303.
15. Tunali M, Ozdemir H, Kuçukodaci Z, Akman S, Firatli E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2013, 51: 438-443.
16. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard M, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 101: E56-60.
17. Sunitha RV, Munirathnam NE. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second-generation platelet concentrate. Indian Journal of Dental Research. 2008, 19 (1): 42-46.
18. Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. Journal of Periodontology. 2012, Vol.83, nº12: 1499-1507.
19. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in Biotechnology. 2008, Vol.27, nº3: 158-167.
20. Desarda HM, Gurav AN, Gaikwad SP, Inamdar SP. Platelet rich fibrin: A new hope for regeneration in aggressive periodontitis patients: Report of two cases. Indian Journal of Dental Research. 2013, 24 (5): 627-630.

21. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. Immunity & Ageing. 2013, 10:23.
22. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 101: E45-50.
23. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrations? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006; 101: E51-55.
24. Ehrenfest DMD, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier J. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. Journal Periodontol. 2010, Vol. 81, Nº 4: 546-555.
25. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is Platelet-rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A current review. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. 2003; 18: 93-103.
26. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2005, 3: 1894-1904.
27. Jadhav T, Thomas BS. Platelet Rich Fibrin Membrane For Recession Coverage. Journal of Dentistry. 2012, Vol.2, Issue 3: 223-227.
28. Naik B, Karunakar P, Jayadev M, Marshal VR. Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. Journal of Conservative Dentistry. 2013, Vol.16, Issue 4: 284-293.
29. Rock L. Potential of platelet rich fibrin in regenerative periodontal therapy: literature review. Canadian Journal Dental Hygiene. 2013, 47, nº1: 33-37.
30. Sharma A, Pradeep AR. Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Mandibular Degree II Furcation Defects: A Randomized Clinical Trial. Journal of Periodontology. 2011, Vol.82, nº10: 1396-1403.
31. Thorat MK, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. Journal of Clinical Periodontology. 2011, 38: 925-932.

32. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Ehrenfest DMD. The Revelance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part II: Implant Surgery, Prosthodontic and Survival. Implant Dentistry. 2009, Vol.18, nº3: 220-229.
33. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Ehrenfest DMD. The Revelance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part I: A New Grafting Protocol. Implant Dentistry. 2009, Vol.18, nº2: 102-111.
34. Jang E, Park J, Kweon H, Lee K, Kang S, Baek D, Choi J, Kim S. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010, 109: 831-836.
35. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008, 105: 572-579.
36. Krasny K, Kaminski A, Krasny M, Zadurska M, Piekarczyk P, Fiedor P. Clinical Use of Allogeneic Bone Granulates to Reconstruct Maxillary and Mandibular Alveolar Processes. Transplantation Proceedings. 2011, 43: 3142-3144.
37. Gassling V, Purcz N, Braesen J, Will M, Gierloff M, Behrens E, Açil Y, Wiltfang J. Comparison of two different absorbable membranes for the coverage of lateral osteotomy sites in maxillary sinus augmentation: A preliminary sudy. Journal of Cranio-Maxilo-Facial Surgery. 2013, 41: 76-82.
38. Correia F, Almeida RF, Costa AL, Carvalho J, Felino A. Levantamento do seio maxilar pela técnica da janela lateral: tipos enxertos. Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial.2012, 53 (3): 190-196.
39. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Ehrenfest DMD. Simultaneous Sinus-Lift and Implantation Using Microthreaded Implants and Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material: A Six-Year Experience. Implant Dentistry. 2011, Vol. 20, nº1.
40. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of Sinus Floor Augmentation with Simultaneous Implant Placement Using Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. 2013, 77-83.

41. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. 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. 2012 (40) 321-328.
42. Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, George S. Combination of platelet rich fibrin, hydroxyapatite and PRF membrane in the management of large inflammatory periapical lesion. Journal of Conservative Dentistry. 2013, Vol.16, Issue 3: 261-264.
43. Chang Y, Wu K, Zhao J. Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. Journal of Dental Sciences. 2011, 6: 181-188.
44. Keswani D, Pandey RK. Revascularization of the immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. International Endodontic Journal. 2013, 46: 1096-1104.
45. Padma R, Shilpa A, Kumar P, Nagasri M, Kumar C, Annaji S. A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller´s class-I and II recession defects. Journal of Indian Society of Periodontology. 2013, Vol. 17, Issue 5: 631-636.
46. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical Evaluation of a Modified Coronally Advanced Flap Alone or in Combination With a Platelet-Rich Fibrin Membrane for the Treatment of Adjacent Multiple Gingival Recessions: A 6-Month Study. Journal of Periodontology. 2009, Vol. 80, nº2: 244-252.
47. Bajaj P, Pradeep AR, Agarwal E, Rao NS, Naik PN, Kalra N. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. Journal of Periodontal Research. 2013, 48: 573-581.