

Melissa Roso

O potencial terapêutico da tecnologia PRGF na cicatrização dos tecidos moles após extração
dentária

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

Melissa Roso

O potencial terapêutico da tecnologia PRGF na cicatrização dos tecidos moles após extração
dentária

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

Roso Melissa

O potencial terapêutico da tecnologia PRGF na cicatrização dos tecidos moles após extração dentária

Tese apresentada à Universidade Fernando Pessoa como
parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Dentária,
Sob a orientação do Prof.º Jose de Macedo

RESUMO

A tecnologia PRGF (plasma rico em fatores de crescimento) baseia-se no estudo detalhado do uso da formulação e ativação de um preparado autógeno rico em plaquetas que, tem como característica principal, a fácil utilização e a biocompatibilidade. O estudo profundo das propriedades intrínsecas das plaquetas, juntamente com um protocolo com concentração de plaquetas, ativação e liberação cinética, permitiu o desenvolvimento de uma tecnologia muito versátil e com enorme potencial terapêutico.

O presente trabalho tem como objetivo, através de uma minuciosa revisão da literatura demonstrar que a PRGF apresenta resultados promissores no processo de cicatrização tecidual, demonstrando um valor em média inferior de dor, edema facial, maior volume alveolar residual, comprovando assim as suas capacidades regenerativas e indicando esta terapia como um possível modo de melhorar os índices de morbidade pós operatória dos pacientes após a extração dentária.

Palavras-chave: fatores de crescimento, PRGF, Endoret e preservação alveolar.

ABSTRACT

PRGF technology is based on the detailed study of the use, formulation and activation of a platelet-rich autogenic preparation with the main characteristic of easy use and biocompatibility. The deep study of the intrinsic properties of platelets, together with a protocol with platelet concentration, activation and kinetic release, allowed the development of a very versatile technology with enormous therapeutic potential.

The objective of the present study was to review the literature to demonstrate that PRGF presents promising results during the tissue healing process, showing a lower mean value of pain, facial edema, greater alveolar volume residual, attesting its regenerative abilities, indicating this therapy as a possible way to improve postoperative morbidity rates after dental extraction.

Key words: “growth factors”, “PRGF”, “Endoret” e “alveolar socket preservation”.

DEDICATORIA

Dedico esse trabalho a minha família que esteve sempre ao meu lado acreditando em mim, em especial aos meus pais, irmão, meu companheiro de vida Alessio e minha filha Clarissa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, amigo sempre presente, sem o qual nada teria feito onde muitas vezes encontrei a paz interior e a força para não desistir no meio do caminho.

Aos meus familiares por terem aguentado um ano longe e de grande sacrifício para todos.

Especial ao meu querido companheiro Alessio, que me deu forças para que eu completasse mais esta etapa importante para minha carreira profissional.

A minha filha Clarissa, que viajou comigo nesse novo desafio, aprendendo uma nova língua em pouco tempo e se dedicando com amor ao seu primeiro ano de ensino fundamental.

Aos amigos, que sempre incentivaram meus sonhos e estiveram sempre ao meu lado Elisabetta, Cristina e Claudio Dutra.

Aos meus novos amigos Claudia Grotta, Karina Milani, Paula Sauer, Fernanda Toth pela amizade e companheirismo que recebi.

Especial a minha “Mamma Italiana” Antonella que sempre acreditou no meu potencial profissional e sempre esteve me apoiando mesmo longe.

Por fim ao querido e simpaticíssimo Prof.º Jose de Macedo, que me acompanhou ao longo desse projeto final com dedicação.

INDICE

I. INTRODUÇÃO.....	1
1. MATERIAIS E MÉTODOS	2
II. DESENVOLVIMENTO.....	3
1. O PAPEL DAS PLAQUETAS NA REPARAÇÃO E REGENERAÇÃO TECIDULAR	3
2. PLASMA RICO EM FATORES DE CRESCIMENTO	4
2.1 Definição.....	4
2.2 Formas de apresentação do Endoret (PRGF)	5
2.3 Propriedades biológicas	5
2.4 Fatores de crescimento presentes no PRGF	6
3. PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DO PRGF	7
4. EFEITOS BIOLÓGICOS DO PRGF NO ALVÉOLO APÓS EXTRAÇÃO DENTÁRIA	9
5. OUTROS TIPOS DE DERIVADOS PLASMÁTICO	11
III. DISCUSSÃO	12
IV – CONCLUSÃO	13
V. BIBLIOGRAFIA.....	14

INDICE DE FIGURAS

Figura 1- Sobrenadante, Líquido, Coágulo e Fibrina Endoret (Anitua et.al, 2015).....	5
Figura 2- Processo de obtenção do PGRF - www.slideshow.com	8

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP - ADENOSINA DIFOSFATO

ATP - ADENOSINA TRIFOSFATO

BTI - BIOTECHNOLOGY ISTITUTE

BFGF - FATOR DE CRESCIMENTO BASICO FIBROBLÁSTICO

CaCl₂ - CLORETO DE CÁLCIO

cc – CENTIMETRO CUBICO

CTGF – FATOR DE CRESCIMENTO DO TECIDO CONJUNTIVO

EGF - FACTOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO

EGFR - RECEPTOR DO FACTOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO

FGFR1 - RECEPTOR DO FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

ENDORET – TECNOLOGIA PRGF

F1 – FRAÇÃO 1

F2 – FRAÇÃO 2

F3 – FRAÇÃO 3

G – GIROS POR MINUTO

GF - FACTOR DE CRESCIMENTO

IGF-I - FACTOR DE CRESCIMENTO INSULÍNICO TIPO I

IL-6 - INTERLEUCINA 6

IL-8 - INTERLEUCINA 8

L-PRF - FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS

L-PRP - PLASMA RICO EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS

ml - MILILITRO

PDGF - FACTOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DAS PLAQUETAS

PRF - FIBRINA RICA EM PLAQUETAS

PRP - PLASMA RICO EM PLAQUETAS

PRF - PLAQUETAS RICA EM FIBRINA

PRGF- PLASMA RICO EM FATORES DE CRESCIMENTO

PTD2 – PLASMA TRANSFER DEVICE 2

TGF-β1 - FACTOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADO TIPO BETA 1

VEGF – FACTOR DE CRESCIMENTO VASCULAR ENDOTELIAL

μl - MICROLITRO

μm – MICRÓMETRO

I. INTRODUÇÃO

Pretende-se com esta revisão bibliográfica clarificar a mais recente informação sobre os efeitos da utilização da tecnologia PRGF na cicatrização dos tecidos moles após extração dentária.

Com recurso aos vários estudos realizados pelo Dr. Eduardo Anitua foi possível desenvolver um protocolo de obtenção de agregados plaquetários ricos em fatores de crescimento conhecido como tecnologia Endoret (PRGF). Esta tecnologia foi publicada pela primeira vez em 1997 e devido à evolução e à contínua procura pela perfeição houve o desenvolvimento de diversos estudos (randomizados, *in vitro*) para efectivar a utilização do PRGF não só em casos de extração dentária, mas também em diversas áreas da Medicina.

O plasma rico em fatores de crescimento é uma técnica de plasma rico em plaquetas (PRP) que procura estimular a regeneração tecidual através da sua formulação que pode ser líquida, em gel ou sob a forma de membrana, que irá actuar através da presença de um vasto número de fatores de crescimento (FC) plaquetários causando efeitos mitogénicos, entre os quais: a diferenciação celular, angiogénese, a ação anti-inflamatória local e anti-edémica local.

Segundo Anitua et al. (2012), os fatores de crescimento promovem importantes funções regenerativas entre as quais a estimulação da proliferação celular ou seja mitose, migração celular e quimiotaxia. A ideia de que o PRP serve apenas para aumentar angiogénese e a proliferação celular é muito simplista. O PRP possui um enorme efeito antibacteriano em relação aos *stafilococcus aureus* e à *echerichia colli*, através da sua componente leucocitária enriquecida. No entanto, esta resposta antibacteriana transforma-se numa resposta inflamatória que faz com que as plaquetas ricas em leucocitos (L-PRP) aumentem os mediadores da inflamação (IL-6 e IL-8) e muitas vezes ativam a quimiotaxia de neutrófilos que, ativando por sua vez os osteoclastos, induzem a reabsorção óssea e consequentemente conduzem à perda óssea no local da extração dentária. Este efeito ocorre mais frequentemente em derivados plasmáticos, nos quais há a presença da parte branca leucocitária, que estimulada pela inflamação local, aumentará a presença dos mediadores pró inflamação, já esta não está quase presente no PRGF pois concentração leucocitária é quase inexistente.

Este trabalho pretende analisar os benefícios na utilização do PRGF após extração dentária e os seus efeitos na cicatrização do tecidos moles. No PRGF as plaquetas estão presentes em concentrações duas a três vezes superiores quando comparado com o sangue periférico logo a sua dosagem permite induzir um benefício biológico ideal.

Existem diversas aplicações do PRGF na Medicina além das relacionadas com a área da Medicina Dentária, como no tratamento de patologias oftálmicas, dermatológicas, alopecia e na Medicina estética e desportiva .

1. MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados artigos dos últimos 5 anos randomizados, em vitro, meta-análise, recorrendo às seguintes palavras: “growth factors”, “PRGF”, “Endoret” e “alveolar socket preservation”.

II. DESENVOLVIMENTO

1. O PAPEL DAS PLAQUETAS NA REPARAÇÃO E REGENERAÇÃO TECIDULAR

Segundo Eming et al. (2014), a reparação tecidular consiste na recuperação do tecido sem que este restabeleça a sua arquitetura original, tendo como consequência a redução da sua função. A regeneração acontece quando o tecido restabelece as suas propriedades tornando-se indiferenciável do tecido original.

Para que um tecido regenere é fundamental a presença dos sinais estimuladores que desencadeiam e regulam este processo, daí a importância da presença de fatores de crescimento e proteínas morfogénicas nas células reparadoras. No entanto, quando ocorre uma lesão dos tecidos é formado um estímulo que irá desencadear um aumento do turn over celular. Deste modo, para que um defeito tecidular consiga regenerar recuperando a sua estrutura original e evitando a formação de fibrose, é indispensável a remoção do tecido necrótico, o controlo da inflamação, a proliferação e a diferenciação celular (Eming, 2014).

As plaquetas têm origem de megacariócitos, que são células gigantes presentes na medula óssea. As plaquetas são células anucleadas cuja função é caracterizada como efetores primários de hemostasia sendo constituídas por muitos grânulos de diferentes tipos. Esses grânulos contêm substâncias ativas que são libertadas após a adesão a componentes da matriz extracelular, como por exemplo o colagénio. Segundo Gobbi et al. (2012), existem 3 tipos de grânulos de plaquetas:

Grânulos densos: são libertados pela exocitose e contêm várias substâncias activas, tais como a serotonina, ADP e ATP. Estimulam a ativação plaquetária e mediadores da hemostasia, que promovem a vasoconstrição e a permeabilidade capilar, enquanto que o cálcio é essencial para a formação de fibrina.

Grânulos alfa: as proteínas secretadas por plaquetas, tais como fatores de crescimento, quimiocinas e citocinas, são armazenadas nos grânulos alfa. As quimiocinas aumentam o recrutamento de células hematopoiéticas, tais como monócitos e neutrófilos, para a parede vascular, participando na reparação vascular e na regeneração após lesão vascular, enquanto as citocinas segregadas, como a interleucina-1beta, IL-6 e IL-8, induzem resposta inflamatória em células endoteliais.

Lisossomas: os lisossomas plaquetários contêm enzimas capazes de induzir a degradação da proteína e da matriz.

As plaquetas libertam muitas substâncias bioativas responsáveis pela atração de macrófagos, células-tronco mesenquimais e osteoblastos, facilitando não só a remoção de tecidos necróticos

cos, mas também participando nas funções biológicas de reparação e regeneração de tecidos. Isto implica uma orquestração complexa de diferenciação celular e angiogénese, conduzindo à cicatrização de feridas. Os grânulos alfa libertados no processo de cicatrização pela ativação das plaquetas têm um papel chave nestes processos. A análise proteómica da secreção das plaquetas mostrou que mais de 300 proteínas podem ser libertadas, apenas algumas das quais bem caracterizadas, o que nos leva à necessidade de estudos mais aprofundados que nos auxiliem na distinção entre proteínas e respetivas funções. Embora tanto a diferenciação celular como a angiogénese sejam processos essenciais na reparação, elas também estão envolvidas no processo de desenvolvimento de algumas patologias (Gobbi, 2012).

O processo de cicatrização compreende quatro etapas principais: coagulação, inflamação, proliferação celular e reparação da epitelização da matriz e remodelação do tecido cicatricial . Após a lesão, as plaquetas são estimuladas a agregarem-se e a libertarem fatores de crescimento, citocinas e outros fatores homeostáticos necessários para a cascata de coagulação que caracterizam, portanto, a primeira fase. A coagulação e a degranulação plaquetária levam à fase inflamatória por meio da libertação de serotonina e histamina, fatores bioativos que aumentam a permeabilidade capilar que permitirá a chegada de células inflamatórias maiores ao lugar, tais como leucócitos, macrófagos e neutrófilos, que agem sobre a fagocitose do material resultante da lise celular. As células epiteliais residuais ou as que migraram para a área lesionada multiplicam-se e formam cicatrizes inicialmente avermelhadas e elevadas. A cicatriz é então remodelada a partir de um equilíbrio entre a degradação por proteases ea produção de matriz extracelular, além da redução do processo de fibroblastos (Marques, 2015).

A razão para o uso terapêutico de plaquetas é o facto de tornar disponíveis fatores plaquetários locais para o tecido a ser regenerado. Nos últimos anos, vários sistemas de preparação de plaquetas tornaram-se comercialmente disponíveis e, apesar do uso terapêutico crescente do PRP, os seus efeitos clínicos relatados são bastante variáveis (Gobbi, 2012).

2. PLASMA RICO EM FATORES DE CRESCIMENTO

2.1 Definição

Segundo Anitua et al. (2012), o PRGF Endoret é uma tecnologia inovadora que permite formular a partir do plasma do paciente, um derivado rico em fatores de crescimento que irão melhorar as prestações de cicatrização tecidular.

2.2 Formas de apresentação do Endoret (PRGF)

O PRGF-Endoret possui uma caixa de ferramentas versátil com 04 formulações diferentes que são obtidas a partir do sangue do doente, dependendo da coagulação e grau de ativação das amostras (Fig.01). Estas formulações podem ser utilizadas para diferentes fins terapêuticos (Anitua, 2015):

- *Sobrenadante Endoret (PRGF)*: é um excelente meio de cultivo para manter as células primárias e osso agregado, e apresenta-se em forma líquida. Contém fatores e proteínas plasmáticas e uma concentração plaquetária de 2 a 3 vezes maior do que o normal.
- *Endoret líquido ativado*: a ativação do PRGF com Cloruro de Cálcio permite que o conteúdo proteico e os fatores de crescimento plaquetários sejam libertados. Pode ser usado na superfície de implantes dentários, acelerando assim a osteointegração, nas infiltrações de lesões musculares, tendinosas, pele, articulações etc.
- *Coágulo de Endoret (PRGF)*: após apenas 3-5 minutos, o PRGF líquido ativado transforma-se numa matriz tridimensional de fibrina e componentes celulares ensamblados em fatores de crescimento que apresentam diferentes aplicações que vão da regeneração alveolar pós-extrativa ao tratamento de patologias musculo-esqueléticas e vasculares.
- *Fibrina autóloga*: a retração do coágulo obtido através da primeira fração do preparado de Endoret permite obter uma fibrina densa, elástica e totalmente biocompatível que poderá ser usada como membrana sobre as feridas.

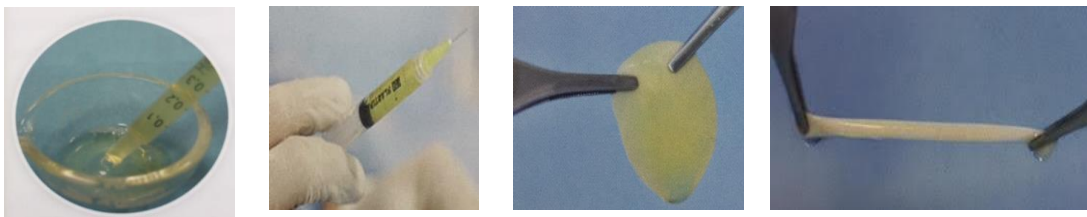


Figura 1- Sobrenadante, Líquido, Coágulo e Fibrina Endoret (Anitua et.al, 2015).

2.3 Propriedades biológicas

A utilização do PRGF como concentrado plaquetário na Medicina e Medicina Dentária apresenta-se como um produto de alta qualidade e com certificações Europeias e Mundiais afirmando assim uma enorme biossegurança durante o tratamento (Anitua, 2012).

Nos últimos anos tem sido demonstrado por diferentes grupos de investigadores que num derivado plasmático o que realmente é importante, frequentemente não condiz com o fato de se elevar 7 a 8 vezes o concentrado plaquetário, mas sim que a sua concentração (no caso PRGF

de 2 a 3 superior ao normal) seja terapêutica e não crie efeitos negativos ao tratamento realizado. Na área da Medicina Dentária, o PRGF produz diversos efeitos sobre os tecidos moles e duros, seja na regeneração cirúrgica, endodôntica, periodontal e na implantologia (Anitua, 2015).

Os efeitos biológicos causados pela utilização do PRGF podem ser diversos (Anitua, 2015):

- mitogénicos, diferenciadores e angiogénicos devido à presença dos fatores de crescimento.
- Ação anti-inflamatória através de mediadores proteicos. Os pacientes geralmente apresentam uma menor inflamação local dos tecidos e conseqüentemente menor edema e dor. A ausência de inflamação também é devida ao fato de na formulação do PRGF os leucócitos serem quase totalmente eliminados, portanto as citocinas proinflamatórias, enzimas e espécies reativas do Oxigénio secretadas pelos leucócitos, que são nocivas para os tecidos são quase ausentes, o que acelera a regeneração tecidual.
- anti-bacterianos contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2.4 Fatores de crescimento presentes no PRGF

Segundo Eming et.al. (2014), torna-se necessário um detalhado estudo dos factores de crescimento presentes no PRGF :

- *IGF-I – Fator de crescimento insulínico tipo 1.* Está envolvido na migração dos queratinócitos e cicatrização de feridas, estimulando e mantendo a formação de matriz óssea e proliferação de pré-osteoblastos.
- *TGF-Beta 1 – Fator de crescimento transformado tipo beta 1.* O seu efeito irá depender do tipo de tecido e célula envolvida. A bioativação do TGF-beta 1 latente contribui para o início da resposta de reparação celular, tais como, a migração de células, neovascularização e angiogénese na área da ferida, regulando os marcadores para osteoblastos e atua como factor de crescimento tanto de forma autócrina como parácrina na cicatrização a longo prazo, e fim regula a mitogénese das células endoteliais e a síntese de colágeno.
- *PDGF- Fator de crescimento derivado das plaquetas.* É um fator mitogénico e quimiotático para todas as células de origem mesenquimal. É importante na reparação dos tecidos articulares, incluindo cartilagem e meniscos. O PDGF tem como alvo o osso influenciando o seu metabolismo de reparação, recrutando periócitos para estabilizar

novos vasos sanguíneos. É o primeiro factor de crescimento presente numa ferida e é responsável pela cicatrização do tecido conjuntivo.

- *VEGF – Fator de crescimento vascular endotelial.* É um mediador chave na cicatrização das feridas e o principal indutor da angiogénese, porque estimula a quimiotaxia e proliferação de células endoteliais. Ligado à homeostasia de diversos órgãos, o seu papel é crucial na regeneração de tecidos mediada por células e regula a secreção de colagenase.
- *BFGF - Fator de crescimento basico fibroblástico.* É uma proteína multifuncional com efeito mitogénico e com função regulatória, morfológica e endócrina, regula células endoteliais, células osteoblásticas e células fibroblásticas, promove mitogénese de condrócitos a angiogénese e a formação de novos vasos sanguíneos a partir da vascularização pré-existente.
- *EGF - Fator de crescimento epidérmico.* Possui um mitógeno potente que aumenta a expressão de vários genes levando à síntese de DNA e proliferação celular, regula a mitogénese das células epiteliais; promove a quimiotaxia das células endoteliais e angiogénese; regula a secreção de colagenase. Atua na regeneração múltipla dos tecidos, dos quais a pele, córnea, trato gastrointestinal e sistema nervoso.
- *CTGF - Factor de crescimento do tecido conjuntivo.* É uma proteína de matriz extracelular que está contida nas plaquetas numa concentração 20 vezes mais elevada do que qualquer outra. Promove a adesão plaquetária, a angiogénese, estimula a migração de glóbulos brancos, regula a atividade das células osteoblásticas e a síntese do colagénio. O seu papel é importante na reparação observada nos tecidos dos quais, ossos, tendões e tecido periodontal.

3. PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DO PRGF

Segundo Anitua et al. (2012), para manter as condições ideais de obtenção do PRGF foi desenvolvido um protocolo fácil, dinâmico e versátil que permite obter formulações de grande potencial terapêutico.

O PRGF não contém leucócitos e é activado por Cloreto de cálcio. Os tubos de ensaio contêm citrato de sódio como anticoagulante, assim as plaquetas são preservadas. Depois os tubos são centrifugados na centrífuga BTI Systema IV por 8 minutos, a uma velocidade de centrifugação de 580 G por minuto para os tubos de ensaio de 9ml e 460G para os tubos de 5ml à temperatura ambiente, seguindo parâmetros específicos para a produção das plaquetas e

a eliminação dos leucócitos do plasma. Nesses tubos após a centrifugação as plaquetas ricas em fatores de crescimento são fracionadas em 3 frações (Anitua, 2015).

Com o objetivo de juntar essas frações de plaquetas a Tecnologia do PRGF-Endoret recentemente desenvolveu um dispositivo para a transferência do plasma, um sistema descartável de aspiração estéril que permite separar as diferentes frações obtidas após a centrifugação (PTD2).

O volume que se obtém após a centrifugação pode variar de paciente para paciente isto porque o volume é dependente do hematócrito do paciente, que é o volume percentual dos eritrócitos do sangue inteiro, o que irá variar somente na fração 1, que é pobre em fatores de crescimento (Anitua, 2015).

Antes de começarmos a pipetar as frações de cima para baixo com a pipeta PTD2 nos tubos obtidos, temos que fazer as marcações na banda milimetrada presente no tubo onde foi obtido o PRGF individualizando o fim da porção branca logo após a vermelha, esta marcação de baixo para cima, denominando assim a série rica em plaquetas (F3), logo após a série intermediária (F2) e por fim a série pobre em plaquetas (F1). Cada fração coletada é colocada no interior de outro tubo com legendagem sempre a caneta da fração existente no próprio, a quantidade para um tubo de 9cc será respectivamente F1 2cc, F2 1cc e F3 1 cc. É muito importante lembrar que mesmo pipetando de cima para baixo, as contagens das frações iniciam-se da série branca para cima (Anitua, 2015).



Figura 2- Processo de obtenção do PGRF -www.slideshow.com

O PRGF pode ser activado pelo Cloreto de Cálcio (CaCl_2), proporcionando um coágulo que reproduz a sua estrutura natural. Além de ser conduzida a uma velocidade que permite controlar todo o processo, isso também evita o uso de trombina exógena, uma fonte possível de reação imunológica. Ao adicionar 5ul de cloreto de sódio, obtém-se um coágulo após cerca de 5-8 minutos. Para aumentar a velocidade deste procedimento basta colocar o

derivado à temperatura 37 graus, próximo à temperatura corporal e haverá um controlo maior no tempo de formação do coágulo. Ao contrário, se queremos misturar o PRGF com um osso autólogo ou eterólogo para enxertos orais, temos que colocar primeiro o material de enxerto e logo após acrescentar o acelerador e assim, após 2-5 minutos, forma-se um agregado com uma consistência muito fácil de ser utilizado, sendo que aumentando a sua temperatura a 37 graus mais uma vez o processo será mais rápido 2-3 minutos. Para o levantamento do seio maxilar é indicado misturar 0,5cc de biomaterial com 1cc de PRGF e em 5 minutos podemos obter um material fácil de se utilizar dentro do seio maxilar. Quando necessitarmos de uma ativação rápida, podemos misturar o plasma com a trombina humana obtida no sobrenadante da preparação da fibrina autóloga. A agregação será quase imediata (15-30 segundos) se misturarmos por exemplo 1cc de plasma com 50 microlitros activados de PRGF e 300ul de trombina humana (sobrenadante). A vantagem será uma agregação quase imediata das plaquetas, as quais começarão logo a libertar os seus grânulos alfa e em consequência os seus FC, portanto deverá ser utilizado logo no local da extração dentária (Anitua, 2014).

O coágulo recém-formado comporta-se como uma esponja embebida de FC, englobando ou não um enxerto, o coágulo continua sofrendo modificações e o último passo será a sua retração. Esta última fase de retração do coágulo pode ser acelerado mantendo o coágulo a 37 graus utilizando o forno Plasmaterm, o sobrenadante obtido nesta fase contem trombina autóloga, a fibrina autóloga a forma obtida pode ser utilizada como tampa após uma extração dentária para a cicatrização de feridas, para proteger o coágulo de PRGF da aspiração ou da ação da língua ou também em forma de membrana biológica para recobrir um enxerto. Assim a retração do coagulo é completada e obtém-se a fibrina, excelente barreira física e biológica com função de membrana no local da extração (Anitua, 2014).

4. EFEITOS BIOLÓGICOS DO PRGF NO ALVÉOLO APÓS EXTRAÇÃO DENTÁRIA

A extração dentária é um procedimento cirúrgico e, como qualquer outra cirurgia, requer um processo de regeneração e cicatrização que irá afectar, neste caso, o volume e a arquitectura óssea e tecidual alveolar remanescente (Hauser, 2013).

A reconstituição funcional dos tecidos perdidos está directamente dependente de uma regeneração tecidual satisfatória no mínimo tempo possível, deste modo uma exodontia traumática ou dificuldades na regeneração dos tecidos levam a uma excessiva perda óssea, podendo ser necessárias cirurgias reconstrutivas geralmente dispendiosas protelando a

substituição da peça dentária perdida ou até mesmo provocando defeitos ósseos impossíveis de corrigir (Castro, 2016).

Imediatamente após o procedimento de extração dentária inicia-se uma cascata de reacções inflamatórias e a loca cirúrgica é temporariamente encerrada por um coágulo. A integridade do tecido é geralmente restituída após a proliferação e migração do tecido epitelial no final da primeira semana e os primeiros sinais histológicos de formação óssea são geralmente encontrados após duas semanas, na medida em que a regeneração óssea total demora em média cerca de 6 meses após a extração dentária (Anitua, 2015).

Por conseguinte seria benéfico, não só para os clínicos, mas principalmente para os pacientes, um procedimento de extração dentária com uma terapia regenerativa simples, eficaz e económica. Terapia esta responsável pela diminuição do tempo necessário à regeneração tecidual ampliando a predictabilidade de resultados favoráveis o que pode ser obtido com o uso da técnica do PRGF após a extração dentária. Portanto, após uma extração dentária meticulosa e a eliminação do tecido de granulação, aplicamos o Endoret coágulo dentro do alvéolo pós-extrativo com a utilização de uma pinça delicada e em seguida é fechado com a utilização final da membrana de fibrina obtida pela preparação da fração 1. A sutura do alvéolo serve para manter o coágulo e a fibrina no interior do mesmo. Este protocolo irá proporcionar um mais rápido e eficaz fechamento da ferida, uma menor dor e inflamação local pós-extração referida pelos pacientes (Mozzati, 2014).

Segundo Mozzati et al. (2014), a aplicação do PRGF pode prevenir significativamente a osteíte alveolar devido às suas propriedades angiogénicas e promoção da regeneração, principalmente em pacientes mais susceptíveis como os bruxómanos ou com história de pericoronarite.

A terapia PRGF está sobretudo indicada nas situações que é necessária uma completa regeneração do alvéolo pós-extração, assim iremos obter uma regeneração tecidual da gengiva queratinizada optimizada que irá permitir um resultado estético e funcional melhor. A terapia dentária será posteriormente utilizada para a reposição daquele elemento dentário perdido. Portanto, casos de grandes lesões periapicais, defeitos de 3 paredes onde é necessário regenerar o osso alveolar, aumento do seio maxilar e recessões gengivais importantes são algumas das indicações para a utilização da tecnologia Endoret na Medicina Dentária nos dias de hoje (Mozzati, 2014).

5. OUTROS TIPOS DE DERIVADOS PLASMÁTICO

Em seguida menciono os derivados plasmáticos mais comuns:

- *PRP - Plasma Rico em Plaquetas.* Esta formulação tem como particularidade a possibilidade de ser aplicado sob forma líquida ou de gel. Podem ser aplicados topicamente ou sobre uma sutura após um procedimento cirúrgico sendo a forma líquida bastante utilizada na medicina desportiva. A sua preparação é feita utilizando um método de separação dos constituintes sanguíneos segundo o seu gradiente de concentração, através de centrifugação (Paes, 2015).
- *PRF - Plaquetas Ricas em Fibrina.* Trata-se de preparações sem leucócitos com uma rede de fibrina de elevada densidade. A principal característica destes produtos é a capacidade de se obter um derivado denso e maleável. Exclui-se assim o seu uso de modo injectável ou como as tradicionais colas de fibrina, diferenciando-se deste modo das preparações supracitadas (Vokurka, 2016).
- *L-PRP Plasma Rico em Plaquetas e Leucócito.* Esta preparação difere das anteriores no seu conteúdo celular pois apresenta células brancas denominadas leucócitos. Alguns autores atribuem efeitos deletérios à presença de leucócitos, devido à libertação de mediadores pró inflamatórios, como as proteases e oxigénio reactivo por estas células. Por outro lado, os leucócitos podem ser considerados como uma fonte de citocinas e enzimas que parecem estar envolvidos na prevenção da infecção. O seu modo de aplicação é idêntico ao dos PRPs, aplicação tópica ou injectável, devido à semelhante rede de fibrina (Anitua, 2015).
- *L-PRF- Plasma Rico em Leucocitos e Fibrina.* Este derivado plasmático, como o seu nome indica, incluem leucócitos no seu constituinte e apresenta uma rede de fibrina densa, portanto são manipulados como um material sólido. O L-PRF têm a particularidade de não utilizar anticoagulante e agregante plaquetário na sua preparação (Castro, 2016).

III. DISCUSSÃO

Nos dias de hoje após uma extração dentária muitas vezes a técnica do PRGF e do PRP nas suas diversas fórmulas é bastante utilizada pois através da libertação dos seus FC, promove a melhor regeneração tecidular num menor espaço de tempo.

No entanto apesar destas terapias revelarem-se promissoras, existem ainda poucos estudos relativos a sua eficácia, assim como numerosos resultados contraditórios, criando assim a existência de lacunas nos seus pressupostos e uma grande necessidade de novas respostas.

Segundo Mozzati et al. (2014), o PRGF é eficaz na regeneração alveolar após exodontias em pacientes com diabetes mellitus, demonstrando resultados significativos na melhoria da hemóstase, formação do epitélio e um decréscimo no volume alveolar residual, comparando com o grupo controlo até ao sétimo dia. De acordo com o autor a aplicação do PRGF após a extração dentária favorece uma recuperação precoce e saudável, acelerando a regeneração e o encerramento dos alvéolos e melhorando as condições clínicas em geral do paciente.

Outra limitação dos estudos é que alguns não apresentam uma boa avaliação da eficácia do PRGF na regeneração dos tecidos duros, devido à falta de disponibilidade de meios de avaliação eficientes, há ausência de uma análise histológica e tomográfica que permitisse avaliar com maior rigor a maturação e epitelização dos tecidos moles proporcionada pelo PRGF.

IV – CONCLUSÃO

Podemos concluir, após uma atenta revisão bibliográfica dos últimos 5 anos que:

O PRGF é uma tecnologia que promove a regeneração tecidual através das suas formulações de plaquetas ricas em FC, e deste modo melhora a qualidade de vida dos pacientes após as exodontias, diminuindo edema, dor e acelerando a cicatrização tecidual.

Os FC são fundamentais no processo de regeneração tecidual participando nas diversas fases: inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização, formação e remodelação da matriz celular, promovendo a quimiotaxia, angiogénese, proliferação e diferenciação celular.

O PRGF é uma técnica simples mais ao mesmo tempo comporta um investimento de capital inicial que não está acessível a todos os dentistas e também eleva o custo do procedimento em medicina dentária, além de ter que ser aceito pelo próprio paciente.

- Após esta aprofundada revisão bibliográfica internacional concluo que é necessário aumentar o número das amostras, de forma a encontrar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nas diferentes variáveis. Ainda em relação aos mesmos, seria indispensável aumentar o acompanhamento, e padronizá-lo de maneira a poder assim obter informações específicas, seja para o PRGF, quanto para os outros derivados plaquetários utilizados no dia a dia da Medicina Dentária.

- Em nenhum dos trabalhos citados notou-se o cuidado dos pesquisadores em verificar a contagem de plaquetas após o processo de centrifugação e preparo dos diversos tipos de derivados plaquetários.

- É necessária a realização de mais pesquisas científicas para o aprimoramento dos PRPs e PRGF, uma vez que estes procedimentos tem saumentado seu utilizo pelos profissionais da área da saúde, principalmente na Medicina Dentária, quando se deseja regenerar, de maneira célere, os tecidos moles e duros durante os diversos procedimentos intra-orais.

V. BIBLIOGRAFIA

- Albanese, A., et alii. (2013). Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing*, 23(10), pp. 2-10.
- Anitua, E., et alii. (2012). Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Operative techniques in orthopaedics*, 22, pp. 25-32.
- Anitua, E., Alkhraisat, M. H., & Orive, G. (2012). Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *Journal of Controlled Release*, 157(1), 29-38.
- Anitua, E., et alii. (2014). Un approccio biologico all'impiantologia. Vitoria, *Team Work Media*, pp. 92-103
- Anitua, E., et alii. (2015). Alveolo post-extracción una aproximación biológica. Vitoria, *Team Work Media*, pp. 115-126.
- Anitua, E., et alii. (2015). High-throughput proteomic characterization of plasma rich in growth factors (PRGF) – derived fibrin clot interactome. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 9, pp. E1- E12.
- Anitua, E., et alii. (2015). Clinical, radiographical, and histological outcomes of plasma rich growth factors in extraction socket: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*, 19, pp. 589-600.
- Anitua, E., Prado, R. & Orive, G. (2015). Closing regulatory gaps: new ground rules for platelet-rich plasma. *Trends in biotechnology*, 33(9), pp.492-495.
- Anitua, E., et alii. (2015). Leukocyte inclusion within a platelet rich plasma-derived fibrin scaffold stimulates a more pro-inflammatory environment and alters fibrin properties. *Plos one*, march 30, pp.1-19.
- Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., & Tomic-Canic, M. (2014). Clinical Application of Growth Factors and Cytokines in Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16, pp. 585-601.
- Castro, A. B., et alii. (2016). Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with leukocyte- and platelet rich fibrin: A clinical pilot study. *Journal of dentistry*, 52, pp. 23-29.
- De Pascale, M. R., et alii. (2015). Platelet derivatives in regenerative medicine: An update. *Transfusion medicine reviews*, 29, pp. 52-61.
- Dohan, D. M. E., et alii. (2012). In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF),

fibrin gel polymerization and leukocytes. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13 (7), pp. 1131-37.

Eming, S. A., Martin, P., Tomic, C. M. (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science translational medicine*, 6, pp. 1-36

Esna, P., Aydin, F. & Albayrak, D. (2015). Platelet collection efficiencies of three different platelet-rich plasma preparation systems. *Journal of cosmetic an laser therapy*, 17, pp. 165-168.

Falisi, G., et alii. (2015). Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but diferent protocols. *European Review for medical an pharmacological sciences*, 19, pp. 927-930.

Gobbi, G., Vitale, M. (2012). Platelet Rich Plasma preparation for biological therapy: Application and limits. *Operative Techiniques in Orthopedics*, 22, pp.10-15.

Hauser, F., et alii. (2013). Clinical and histological evaluation of post-extraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dentistry*, 22, pp.295–303.

Marques, F., et alii. (2014). A manual method to obtain platelet rich plasma. *Acta ortopédica brasileira*, 22, pp. 75-77.

Masuki, H., et alii. (2016). Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International Journal of implant dentistry*, 19(2), pp.1-6.

Mazzocca, A., et alii. (2012). Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *Journal of bone and joint surgery*, 94, pp. 308-316.

Moraschini, V., Barboza, E. S. P. (2015). Effect of autologous platelet concentrates for alveolar socket preservation: a systematic review. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgerons*, 44, pp. 632–641.

Mozzati, M., et alii. (2014). Efficacy of plasma-rich growth factor in the healing of postextraction sockets in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 72(3), pp. 456-462.

Oliveira, M. R., et alii. (2015). Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *International association of oral and maxillofacial surgerons*, 44, pp. 649-655.

Paes, J. T. R, et alii. (2015). Platelet-rich plasma (PRP): Methodological aspects and clinical applications. *Platelet*, 26(2), pp.101-103.

Scala, A., et alii. (2014). Sequential healing of open extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research*, 25, pp. 288–95.

Trombelli, L., et alii. (2012). Plasma rich in growth factors in human extraction sockets: a radiographic and histomorphometric study on early bone deposition. *Clinical Oral Implants Research*, 24, pp. 1360–1368

Trombelli, L., et alii. (2013). Plasma rich in growth factors had limited effect on early bone formation in extraction sockets. *Clinical Oral Implants Research*, 25, pp. 1189-1191.

Vokurka, J., et alii. (2016). Concentrations of growth factors in platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in rabbit model. *Veterinarni Medicina*, 10, pp. 567-570.