

Cárin Alves de Sousa Sá

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos e a sua influência na reabilitação em
implantologia

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade ciências da Saúde

Porto, 2013

Cárin Alves de Sousa Sá

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos e a sua influência na reabilitação em
implantologia

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade ciências da Saúde

Porto, 2013

Cárin Alves de Sousa Sá

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos e a sua influência na reabilitação em
implantologia

“Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de Mestrado Integrado em Medicina Dentária.”

Sumário

Um dos grandes desafios que a pesquisa clínica enfrenta é o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos capazes de regular a inflamação e aumentar a cicatrização. Superando as restrições relacionadas com o reimplante de hemoderivados, uma nova família de concentrados de plaquetas, que não é nem um adesivo de fibrina, nem um concentrado de plaquetas clássico, foi desenvolvido na França.

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) desenvolvida por Choukroun é nada mais que sangue centrifugado sem qualquer aditivo, que pode ser considerado um biomaterial de cicatrização autólogo, incorporando leucócitos, plaquetas e uma vasta gama de proteínas-chave dentro de uma matriz densa de fibrina.

Algumas aplicações clínicas deste biomaterial autólogo foram descritas em várias áreas de medicina e relativamente a procedimentos específicos relacionados com a reabilitação em implantologia, L-PRF tem, também, várias aplicações. As membranas de L-PRF podem ser utilizadas sozinhas ou em combinação com material de enxerto ósseo como material de enchimento em alvéolos pós-extração ou técnicas de levantamento do seio, sendo que com a sua arquitetura de fibrina forte e lenta liberação de fatores de crescimento e glicoproteínas ao longo de vários dias, esta membrana bioativa natural pode aumentar a cicatrização de tecidos moles e duros enquanto protege locais cirúrgicos e materiais enxertados de agressões externas. Tem ainda a vantagem de reduzir o edema e dor pós-operatório e diminuir o aparecimento de processos infecciosos.

Abstract:

One of the biggest challenges that clinical research faces is the development of bioactive surgical additives able to regulate inflammation and enhance healing. Overcoming the constraints related to the reimplantation of blood products, a new family of platelet concentrates, which is neither fibrin glue nor a classical platelet concentrate, was developed in France.

Leucocyte- platelet rich fibrin (L-PRF) developed by Choukroun is nothing more than centrifuged blood without any addition, that may be considered an autologous healing biomaterial by incorporating leukocytes, platelets, and a wide range of key proteins within a dense fibrin matrix.

Some clinical applications of this autologous biomaterial have been described in some areas of medicine and for specific procedures related to rehabilitation in implantology, L-PRF also has several applications. The membranes of L-PRF can be used alone or in combination with bone graft as a filling material in the post-extraction sockets or sinus lifting techniques, and with its strong fibrin architecture and slow release of growth factors and glycoproteins over several days, this natural bioactive membrane can increase soft and hard tissue healing while protecting surgical sites and grafted material from external aggressions. It also has the advantage of reducing the edema and post-operative pain and limited even minor infectious phenomena.

Dedicatória

“Your pursuit of happiness is not measured by the amount of falls you take, or even your final destination, but rather, it is measured by all that you achieve along the way to becoming who you always wanted to be”

Kendall Wood

Agradecimentos

Antes de começar com os agradecimentos relacionados com a monografia em si, agradeço em primeiro lugar aos meus pais e avós, por me terem financiado os estudos possibilitando a minha graduação em medicina dentária.

Agradeço ao Dr. Paulo Macedo, por toda a informação que me disponibilizou, e por me ter orientado na redação desta monografia e respetiva correção.

Agradeço ao meu melhor amigo, Bruno Carvalho, por todo o seu apoio e por ter também escolhido este tema para realização de um artigo e apresentação oral quando eu lhe sugeri.

Agradeço a toda a equipa do departamento de cirurgia da Universidade de Başkent, em Ancara, que me elucidou acerca deste tema, e inclusive ensinou o seu protocolo, aquando o meu período de Erasmus na Turquia. Agradeço em particular ao Dr. Burak Bayram, professor neste mesmo departamento, por me ter orientado na escolha do tema e a Dra. Tuba Develi por me ter possibilitado assistir ao estudo da sua tese de pós graduação, tendo como base o L-PRF e a regeneração óssea estudado em coelhos.

Agradeço por fim, ao Dr. Deniz Gochan, por me ter permitido assistir e inclusive redigir um relatório final de um caso clinico seu de auto-transplante dentário usando L-PRF.

Índice

I – Introdução.....	1
I.1 – Material e Métodos.....	2
II - Sangue	3
II.1 Leucócitos – inflamação.....	3
II.1.i Citoquinas inflamatórias:	4
II.1.ii Citoquinas de cicatrização:	6
II.2 Plaquetas e coagulação.....	7
II.2.1 Citoquinas plaquetárias	8
II.3 Hemóstase.....	10
II.4 Coagulação – Cascata da coagulação.....	11
III - Regeneração óssea	13
IV – Concentrados de plaquetas e adesivos de fibrina	14
IV.1 Classificação dos diferentes concentrados de plaquetas.....	16
V. L-PRF	20
V.1 O que é o L-PRF?	20

V.2 Protocolo do L-PRF	20
V.3 L-PRF e citocinas plaquetárias	25
V.4 L-PRF e citocinas leucocitárias	26
V.5 L-PRF e tecido ósseo	27
V.6 Análise citotóxica do L-PRF	28
V.7 Aplicações clínicas do L-PRF	29
VI. PRF na reabilitação em implantologia:	32
VI.1 Uso de L-PRF em técnicas de levantamento do seio.....	33
VI.1.i Uso de L-PRF sozinho em técnicas de levantamento do seio	34
VI.1.ii Uso de L-PRF em associação com FDBA em técnicas de levantamento do seio	37
VI.2 Uso do L-PRF em associação com metronidazol e aloenxerto em técnicas de aumento do rebordo alveolar	40
VI.3 Uso do L-PRF em alvéolos após extração	41
VI.6 Uso do L-PRF para prevenção de complicações hemorrágicas após exodontias em pacientes sob terapia anticoagulante	44
VII. Conclusão	48

VIII. Referências bibliográficas.....	51
---------------------------------------	----

Índice de Figuras

Figura 1	9
Figura 2	11
Figura 3	12
Figura 4	17
Figura 5	19
Figura 6	21
Figura 7	21
Figura 8	21
Figura 9	22
Figura 10	22
Figura 11	22
Figura 12	23
Figura 13	23
Figura 14	24
Figura 15	24

Figura 16	24
Figura 17	36
Figura 18	36
Figura 19	37
Figura 20	37
Figura 21	42
Figura 22	42
Figura 23	43

Índice de tabelas

Tabela 1	4
Tabela 2	6
Tabela 3	8

Lista de abreviaturas

L-PRF	Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
pH	Potencial hidrogénico
O₂	Oxigénio
CO₂	Dióxido de carbono
IL-1β	Interleucina beta 1
TNF-α	Fator de necrose tumoral - alfa
IL-6	Interleucina 6
CTL	Células T citotóxicas
IL-2	Interleucina 2
IL-3	Interleucina 3
IL-4	Interleucina 4
IL-Ra	Recetor antagonista da IL-1
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
IGF-I	Fator de crescimento do tipo insulina 1

TGFβ-1	Fator transformador de crescimento beta 1
PDGFs	Fatores de crescimento derivados de plaquetas
FCFb	Fator de crescimento de fibroblastos básico
IGF axis	Fatores de crescimento semelhantes à insulina (I e II)
FvW	Fator von Willebrand
ADP	Adenosina difosfato
GFs	Fatores de crescimento
BMP	Proteínas morfogenéticas ósseas
FGF	Fatores de crescimento fibroblástico
PRP	Plaquetas ricas em plasma
P-PRP	Puro plasma rico em plaquetas
L-PRP	Plasma rico em plaquetas e leucócitos
P-PRF	Fibrina rica em plaquetas pura
L-PRF	Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
RCB	Glóbulos vermelhos

PPP	Plasma acelular
PRF	Fibrina rica em plaquetas
FDBA	Oso liofilizado mineralizado
GBR	Regeneração óssea guiada
OMSFE	Levantamento do seio maxilar com osteótomos
MCAF	Retalho avançado posicionado coronalmente
OFD	Retalho de espessura total
INR	Índice internacional normalizado ou razão normalizada internacional
PKB	Proteína quinase B

I – Introdução

Esta monografia tem como objetivo um estudo bibliográfico acerca de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) e a sua influência na reabilitação em implantologia.

Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) é um concentrado de plaquetas imune de segunda geração que contém numa única membrana de fibrina todos os constituintes de uma amostra de sangue favoráveis à cicatrização e imunidade. (Choukroun et al. 2006a). A membrana de L- PRF consiste numa malha 3D de fibrina de alta densidade e com junções trimoleculares equilaterais entre si resultante de uma polimerização lenta com a incorporação de plaquetas, leucócitos, fatores de crescimento, e com a presença de células estaminais circulantes. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

Esta técnica não requer o uso de anticoagulantes ou trombina bovina (nem outro agente gelificante), é simplesmente sangue centrifugado sem qualquer aditivo. (D. M. Dohan et al. 2006a). É, assim, a técnica mais simples e rápida de preparar e aplicar e com o protocolo mais económico desenvolvido até à data.

L-PRF é utilizado na reabilitação em implantologia, em medicina dentária, com o objetivo de melhorar as condições e diminuir o tempo de cicatrização dos tecidos. De facto, após cada intervenção, os cirurgiões enfrentam fenómenos complexos de remodelação de tecidos e as consequências da cicatrização e sobrevivência dos tecidos.

Com o intuito de uma melhor compreensão dos fenómenos fisiológicos por trás desta nova geração de concentrado de plaquetas, foi estudado nesta monografia o seu protocolo standard, as citoquinas constituintes e a forma como se integram na inflamação e cicatrização, e as suas aplicações clínicas na área de implantologia. Foram salientadas as suas vantagens comparativamente a outros métodos usados, como, adesivos de fibrina e outros concentrados de plaquetas. Foi, ainda, abordada a citotoxicidade deste material e, por fim, a sua utilização em combinação com outros materiais de enxerto.

I.1 – Material e Métodos

A pesquisa para a realização desta monografia foi conduzida nos motores de busca MEDLINE/Pubmed, Scielo, Lilacs e B-On (através do site da Universidade Fernando Pessoa) em que foram utilizadas as seguintes palavras-chave: “L-PRF”, “L-PRF and implantology”, “PRP”, “PRGF”, “L-PRF and post-avulsion sites”, “L-PRF and osteointegration”, “L-PRF and healing”, “L-PRF and sinus lifting”.

Os artigos selecionados foram publicados entre 2006 e 2013. Os artigos obtidos resultaram de cópias adquiridas na Faculdade de Medicina dentária da Universidade do Porto (FMDUP) e na Universidade de Baskent, em Ancara.

Além disso, ainda foi realizada uma pesquisa manual em livros que incluíam o tema de fisiologia, implantologia e periodontologia para melhor compreensão e abordagem do tema.

Sendo esta técnica relativamente recente, alguns limites temporais se apresentaram aquando a pesquisa de artigos, pois a sua maioria tem como base os mesmos artigos. Alguns artigos salientam, também, a necessidade de se efetuar mais estudos que comprovem os resultados.

II - Sangue

O sangue é um fluido que circula no sistema cardiovascular formada por uma porção celular diversificada que circula em suspensão numa porção líquida, o plasma. O sangue ajuda a manter a hemóstase de diversas formas, tendo como funções, o transporte de gases, nutrientes e produtos de degradação, o transporte de moléculas processadas, o transporte de moléculas reguladoras, a regulação do pH e da osmose, a manutenção da temperatura do corpo, a proteção contra substâncias estranhas e a formação de coágulos. (R. Seeley et al. 2005)

O plasma trata-se de um fluido amarelo pálido composto por cerca de 92% de água, 7% de proteínas, e o 1% restante é constituído por moléculas orgânicas dissolvidas, íons, vitaminas, oxigénio (O₂) e dióxido de carbono (CO₂). (Silverthorn 2003)

A maioria das proteínas que constituem o plasma são proteínas plasmáticas onde se incluem albumina, globulinas e fibrinogénio. A albumina (58% das proteínas do plasma) é responsável pela viscosidade do sangue e pela pressão osmótica. As globulinas (38%) funcionam como moléculas de transporte e outras globulinas, tais como anticorpos estão envolvidos na função imunitária. O fibrinogénio (4%) forma a fibrina sendo essencial para a coagulação sanguínea. (R. Seeley et al. 2005)

Os três elementos celulares principais encontrados no sangue são os glóbulos vermelhos (eritrócitos), os glóbulos brancos (leucócitos) e plaquetas. (Silverthorn 2003)

II.1 Leucócitos – inflamação

A inflamação é definida por todos os fenómenos de reação iniciados em resposta a uma agressão específica. O processo inflamatório procede em três fases sucessivas: fase vascular, fase celular, e fase de cicatrização. A fase vascular é caracterizada pelo desenvolvimento de hemóstase (isto é, a constituição de uma matriz de fibrina cicatricial) e a instalação de um nódulo leucocitário (isto é, a chegada de células inflamatórias do sistema imune ao local danificado). Finalmente, todos os processos

hemostáticos levam à coagulação ao longo da ferida vascular e à formação de um coágulo de fibrina. (D. M. Dohan et al. 2006c)

No decorrer da migração de leucócitos para o local da inflamação, os primeiros a chegar são os neutrófilos polimorfonucleares, sendo posteriormente substituídos por monócitos / macrófagos, com a sua alta capacidade de fagocitose. Os linfócitos e plasmócitos participam na reação antigénica específica. (D. M. Dohan et al. 2006c)

Todas essas células são ativadas nos locais de inflamação e secretam citocinas e fatores de crescimento. Os mediadores inflamatórios participam no recrutamento fibroblástico, induzem a proliferação e estimulam a atividade biossintética, levando à secreção de proteases (matriz de metaloproteases, plasmina) como também na neossíntese das macromoléculas matriciais. (D. M. Dohan et al. 2006c)

II.1.i Citoquinas inflamatórias:

O número de mediadores implicados no processo inflamatório é significativo. De seguida apresento 3 citocinas principais:

Citoquinas inflamatórias Função

IL-1β	<i>Interleukin 1-β</i>	Mediador-chave do controlo da inflamação. A sua principal atividade é a estimulação dos linfócitos T-helper. Em combinação com o TNF- α , IL-1 β poderá estar implicado na osteólise, onde ativa osteoclastos e inibe a formação óssea. (D. M. Dohan et al. 2006c)
-------------------------------	---	---

IL-6	<i>Interleukin 6</i>	A IL-6 é uma citocina multifuncional que foi originalmente identificada como um fator de diferenciação de células B que induzem a maturação final das células B em células produtoras de anticorpos. (Kishimoto et al. 1995 cit. in Kumar & Shubhashini 2012). Dentro das
-------------	----------------------	---

populações de linfócitos B, a IL-6 estimula significativamente a secreção de anticorpos por 120-400 vezes. (D. M. Dohan et al. 2006c)

Além disso, a IL-6 é um fator acessório essencial para a ativação e proliferação das células T. IL-6 induz não só a proliferação, mas também a diferenciação de células T citotóxicas (CTL), na presença de IL-2 de murino, assim como os timócitos humanos e células T esplênicas (Kishimoto, 1989 cit. in Kumar & Shubhashini 2012). IL-6 e IL-3, agem de forma sinérgica para promover a proliferação de células hematopoiéticas in vitro enquanto IL-6 ativa células na fase G 0 para entrarem na fase G 1 (Kishimoto, 1989; Dohan et al 2006c cit. in Kumar & Shubhashini 2012).

Por fim, a IL-6 funciona como um fator de estimulação de hepatócitos e induz a expressão de vários genes de fase aguda (Kishimoto et al. 1995 cit. in Kumar & Shubhashini 2012) .

IL-6, por conseguinte, constitui uma via principal de amplificação para os sinais transmitidos para as células do sistema imunológico. Assim, ela suporta as cadeias de reação que conduzem à inflamação, destruição e de remodelação. (D. M. Dohan et al. 2006c)

TNF - α <i>Tumor necrosis factor α</i>	O nome TNF deriva da sua capacidade de estimular ou regredir a necrose tumoral. É uma das primeiras citocinas libertadas durante a resposta inflamatória às agressões bacterianas. Ativa os monócitos e estimula a capacidade de remodelação dos fibroblastos. Aumenta a fagocitose e a citotoxicidade dos neutrófilos e modula
---	---

mediadores-chave como IL-1 e IL-6. (D. M. Dohan et al. 2006c)

II.1.ii Citoquinas de cicatrização:

Citoquinas de cicatrização		Função
IL-4	<i>Interleukin 4</i>	IL-4 induz a diferenciação de células T-helper em células Th2. Esta citocina também suporta a proliferação e diferenciação das células B ativas. Durante a inflamação, esta citocina suporta a cicatrização regularizando a inflamação. IL-4 é um potente indutor do recetor antagonista da IL-1 (IL-Ra), que contribui para ações anti-inflamatórias neutralizando efeitos da IL-1. (D. M. Dohan et al. 2006c)
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>	VEGF é considerado como uma principal molécula reguladora da angiogénese. Fatores como o IGF-I e IL-1 β regulam a angiogénese através da sobre-regulação da expressão do VEGF. Esta citocina tem um papel direto no controlo do comportamento de células endoteliais como a proliferação, migração, especialização ou sobrevivência. (D. M. Dohan et al. 2006c)

II.2 Plaquetas e coagulação

Plaquetas

As plaquetas são fragmentos de células, produzidos na medula óssea, compostos por uma pequena quantidade de citoplasma rodeados por uma membrana plasmática contendo grânulos que dividiram-se a partir de um megacariócito. Contêm glicoproteínas e proteínas na sua superfície que lhes permite fixarem-se a outras moléculas, como por exemplo, o colagénio do tecido conjuntivo. No seu citoplasma contêm muitos grânulos cujo conteúdo é secretado no momento da ativação. α -Grânulos contêm muitas proteínas, plaquetas específicas (como β -tromboglobulina) ou plaquetas não específicas (fibronectina, trombospondina, fibrinogénio e outros fatores de coagulação, promotores de crescimento, inibidores de fibrinólise, imunoglobulinas, etc.) Os grânulos densos contêm serotonina, cálcio, etc. Além disso, a membrana de plaquetas é uma camada dupla de fosfolípidos em que os recetores para muitas moléculas são inseridos (colagénio, trombina, etc.). (D. M. Dohan et al. 2006b)

A ativação das plaquetas é fundamental para iniciar e apoiar a hemóstase devido à sua agregação no tecido danificado e às interações com os mecanismos de coagulação. No entanto, a desgranulação implica também a libertação de citoquinas capazes de estimular a migração e proliferação de células, iniciando, desta forma, as primeiras fases de cicatrização. (D. M. Dohan et al. 2006b)

Têm cerca de 3 μm de diâmetro e como função a formação do rolhão plaquetário que oclui os orifícios dos pequenos vasos, e promover a formação e contração de coágulos que ajudam a ocluir lesões maiores existentes nos vasos. A média de vida de uma plaqueta é cerca de 5 a 9 dias de vida. As plaquetas estão sempre presentes no sangue, só sendo ativadas aquando a lesão nas paredes do sistema circulatório, sendo que cada individuo possui 200 mil a 300 mil / mm^3 de sangue. (R. Seeley et al. 2005)

11.2.1 Citoquinas plaquetárias

Citoquinas plaquetárias	Função
TGFβ-1 <i>Transforming growth factor β-1</i>	<p>TGFβ-1 é o principal isoformo produzido pelo TGF β. Sendo o melhor indutor de cicatrização fibrosa entre todas as citoquinas (D. M. Dohan et al. 2006b). Estimula a quimiotaxia de fibroblastos, assim como a produção de colagénio e de fibronectina, enquanto inibe a degradação de colagénio por diminuição das proteases e aumenta os inibidores das proteases, tudo isto favorecendo, assim, a fibrogénese (Carlson e Roach, 2002 cit in em Kumar & Shubhashini 2012). Aliás, TGF-β provoca quimiotaxia e mitogénese dos precursores dos osteoblastos, enquanto também estimula a deposição de osteoblastos. Igualmente, inibe a formação dos osteoclastos e reabsorção óssea, o que favorece a formação óssea sobre a reabsorção. (Marx et al. 1998)</p>
PDGFs <i>Platelet derived growth factor</i>	<p>Estimulador das células mesenquimatosas. PDGF parece ser o primeiro fator de crescimento presente numa ferida, iniciando a cicatrização do tecido conjuntivo, incluindo a regeneração e reparação do osso. (Marx et al. 1998) PDGFs são reguladores cruciais para a migração, proliferação e sobrevivência das células mesenquimatosas. (Dohan et al. 2006b). Atividades importantes do PDGF incluem mitogénese (aumento da população de células de cicatrização), a angiogénese (mitoses endoteliais em capilares funcionais) e ativação de macrófagos (desbridamento do local da ferida e uma segunda fase de pesquisa de fatores de crescimento para a reparação e regeneração</p>

do osso contínuo). (Marx et al. 1998)

IGF axis *Insuline like growth factor (I e II)* Regulador positivo da proliferação e diferenciação da maioria das células, incluindo as células tumorais. Eles formam o maior eixo da regulação da morte celular programada (apoptose), através da indução de sinais de sobrevivência que protege as células de vários estímulos apoptóticos matriciais (Dohan et al. 2006b).

Wound healing phase	Growth factor	Cell of origin	Functions
Inflammatory	PDGF	Platelets	Increases chemotaxis of neutrophils and monocytes
	TGF- β	Platelets, leukocytes, fibroblasts	Increases chemotaxis of neutrophils and monocytes Autocrine expression – generation of additional cytokines (TNF α , IL-1 β , PDGF, and chemokines)
	VEGF	Platelets, leukocytes, fibroblasts	Increases vascular permeability
Proliferative	EGF	Macrophages, mesenchymal cells, platelets	Stimulates epithelial proliferation and migration
	FGF-2	Macrophages, endothelial cells	Stimulates fibroblast proliferation and ECM synthesis Increases chemotaxis, proliferation, and differentiation of endothelial cells
	KGF (FGF-7)	Keratinocytes, fibroblasts	Stimulates epithelial proliferation and migration
	PDGF	Macrophages, endothelial cells	Stimulates fibroblast proliferation and ECM synthesis Increases chemotaxis, proliferation, and differentiation of endothelial cells
	TGF- β	Macrophages, leukocytes, fibroblast	Stimulates epithelial proliferation and migration Stimulates fibroblasts proliferation and ECM synthesis Inhibits proteases and enhances inhibitor production
	VEGF	Macrophages	Increases chemotaxis of endothelial progenitor cells Stimulates endothelial cell proliferation
Bone remodeling, matrix synthesis	BMPs 2–4	Osteoblasts	Stimulates mesenchymal progenitor cell migration
	BMP-7	Osteoblasts	Stimulates osteoblast and chondroblast differentiation
	FGF-2	Macrophages, endothelial cells	Stimulates mesenchymal progenitor cell migration
	IGF-II	Macrophages, fibroblasts	Stimulates osteoblast proliferation and bone matrix synthesis
	PDGF	Macrophages, osteoblasts	Stimulates differentiation of fibroblasts into myofibroblasts Stimulates proliferation of mesenchymal progenitor cells
	TGF- β	Fibroblasts, osteoblasts	Induces endothelial cell and fibroblast apoptosis Induces differentiation of fibroblasts into myofibroblasts Stimulates chemotaxis and survival of osteoblasts
	VEGF	Macrophages	Chemotaxis of mesenchymal stem cells, antiapoptotic effect on the bone forming cells, angiogenesis promotion

Figura 1 – Efeitos dos fatores de crescimento na regeneração óssea (V. Giannobile et al. 2008)

II.3 Hemóstase

A hemóstase é o processo de suspensão de uma hemorragia e ocorre em três etapas: vasoconstrição ou espasmo vascular, formação do rolhão plaquetário e por fim coagulação. (R. Seeley et al. 2005)

O espasmo vascular, a primeira etapa da hemóstase, é o fecho imediato e temporário de um vaso sanguíneo, que sofreu uma lesão, resultante da contração do músculo liso da parede do vaso. (R. Seeley et al. 2005)

A vasoconstrição é rapidamente seguida pela formação do rolhão plaquetário, a segunda etapa da hemóstase. Nesta etapa, dá-se uma acumulação de plaquetas que vedam pequenas roturas nos vasos sanguíneos. Inicialmente, as plaquetas ligam-se ao colagénio exposto (adesão plaquetária), sendo esta adesão maioritariamente mediada pelo fator von Willebrand (FvW), que é uma proteína produzida e segregada pelas células endoteliais dos vasos sanguíneos. O FvW cria uma ponte entre o colagénio e as plaquetas pela adesão dos recetores de superfície das plaquetas ao colagénio, enquanto outros recetores se ligam diretamente ao colagénio. Tornando-se ativas, as plaquetas libertam a adenosina difosfato (ADP), o tromboxano e outras substâncias químicas por exocitose (reação de libertação plaquetária). O ADP e o tromboxano fazem outras plaquetas ficarem ativas através da libertação de outros químicos, fazendo-as, assim, libertar recetores de superfície que se fixam ao fibrinogénio. O fibrinogénio forma uma ponte entre os recetores de superfície das diferentes plaquetas, formando um rolhão plaquetário frouxo (agregação plaquetária). (R. Seeley et al. 2005)

Por fim, na terceira etapa, o colagénio exposto e outros fatores presentes nos tecidos dão início à cascata da coagulação e as proteínas inativas do plasma são convertidas em enzimas ativas (fatores de coagulação). Terminando com a enzima trombina a converter o fibrinogénio em fibrina, reforçando o tampão plaquetário – coágulo. Após a reparação do vaso sanguíneo o coágulo retrai e é lentamente dissolvido pela enzima plasmina. (Silverthorn 2003)

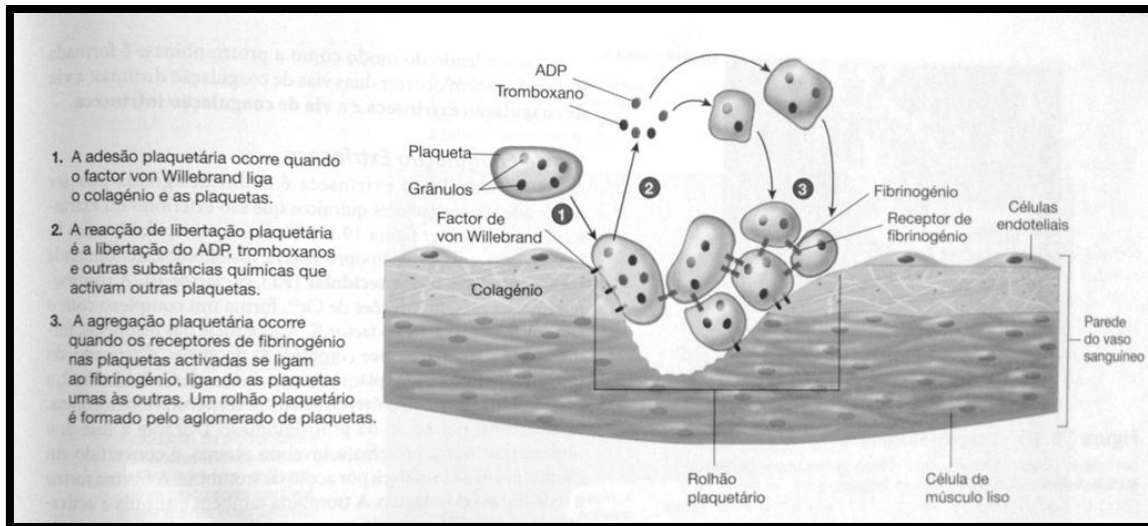


Figura 2 – Formação do rolhão plaquetário (R. Seeley et al. 2005)

II.4 Coagulação – Cascata da coagulação

A formação do coágulo de fibrina no local da lesão representa um processo penoso para a manutenção da integridade vascular. Sendo que, os mecanismos do sistema hemostático nele envolvidos devem ser regulados para conjuntamente evitarem a perda excessiva de sangue e contraporem a formação de trombos intravasculares, consequentes da formação excessiva de fibrina. As plaquetas, os vasos, as proteínas da coagulação do sangue, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise são os constituintes do sistema hemostático. (Franco 2001)

O papel principal da fibrina na reparação de feridas é a hemóstase, mas a fibrina também proporciona uma matriz para a migração de fibroblastos e de células endoteliais que estão envolvidos na angiogénese e responsável pela remodelação do tecido novo.

A ativação das proteínas da coagulação pode ser resumida em três fases. A fase 1 consta na formação de protrombinase, a fase 2 consiste na conversão da protrombina em trombina por ação da protrombinase, e por último, a fase 3 consiste na conversão do fibrinogénio solúvel em fibrina insolúvel, por ação da trombina. Dependendo da forma como a protrombinase é formada na fase 1, podem ocorrer duas vias de coagulação: a via de coagulação extrínseca (desencadeada por fatores químicos que são extrínsecos ao

sangue) e a via de coagulação intrínseca (desencadeada por substâncias químicas intrínsecas ao sangue). Fatores da via intrínseca e extrínseca interagem reciprocamente.

Formado o coágulo, começa a condensar-se numa estrutura mais densa e compacta. A consolidação do coágulo aproxima as extremidades do vaso danificado, o que ajuda na cessão da hemorragia, reduz a infecção e facilita a cicatrização. Os coágulos dissolvem-se poucos dias depois da sua formação, por um processo denominado fibrinólise, o qual envolve a ação da plasmina, uma enzima que hidrolisa a fibrina. (R. Seeley et al. 2005)

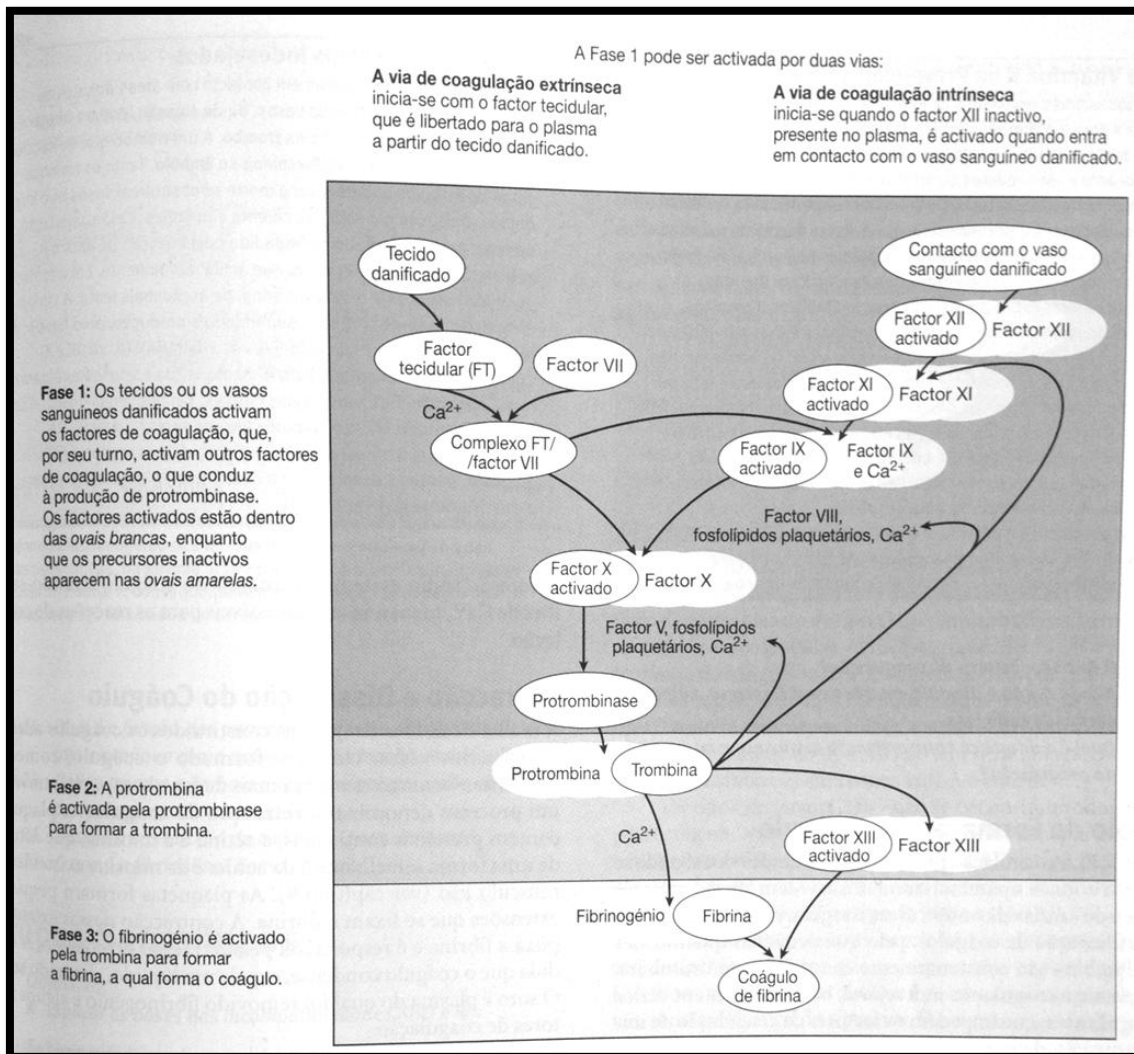


Figura 3 – Formação do coágulo (Silverthorn 2003)

III - Regeneração óssea

Osteoblastos são as principais células responsáveis pela formação de osso. Os osteoblastos são células totalmente diferenciadas, contudo, sem capacidade de migração e proliferação. Daí que, para que a formação de osso ocorra num determinado local, células mesenquimais indiferenciadas devem migrar para o local e proliferar para se tornarem osteoblastos. Os osteoblastos sintetizam os componentes orgânicos da matriz óssea e controlam a mineralização dessa matriz e uma vez nela aprisionados, os osteoblastos recebem o nome de osteócitos, continuando em contacto com outras células ósseas por pequenos processos celulares. Os osteócitos estão organizados como uma célula multinucleada que providencia uma grande área de contacto entre células (e seus processos) e a parte não celular do tecido ósseo. Esta organização permite aos osteócitos participar na regulação do cálcio na hemóstase, são sensíveis à carga mecânica e transmitem esta informação a outras células ósseas. A diferenciação e o desenvolvimento dos osteoblastos a partir de células mesenquimais é dependente da libertação de fatores de crescimento osteoindutores e osteocondutores (GFs – fatores de crescimento) tal como de proteínas morfogenéticas ósseas (BMP – bone morphogenetic proteins) e outros fatores de crescimento como fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF – insuline like growth factor), fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF – platelet-derived growth factor) e fatores de crescimento fibroblástico. (FGF – fibroblast growth factor). (V. Giannobile et al. 2008)

Os GFs são mediadores biológicos naturais que regulam processos celulares importantes envolvidos na reparação de tecidos através da ligação a recetores específicos da superfície celular. Os GFs melhoram a capacidade de regeneração do osso alveolar, melhorando a quimioatração celular, diferenciação, e proliferação. (V. Giannobile et al. 2008)

A regeneração óssea depende de dois princípios biológicos principais: vascularização e imobilidade. O tecido conector fibroso que inicialmente se forma necessita de um alto grau de vascularização (que acarrete sangue com quantidade normais de oxigénio) para eventual ossificação. Se a vascularização ou o suprimento de oxigénio estiver comprometido, forma-se cartilagem em vez de osso. Colocar o osso sob ciclos

contínuos ou repetidos de alguma tensão (sem que esta comprometa o princípio de imobilidade) estimula uma contínua formação óssea osteoblástica. O osso é formado perpendicularmente às linhas de tensão para ajudar a suportar as forças que lhe são exercidas. No entanto a excessiva tensão ou torque no local a regenerar produz mobilidade, que pode comprometer a vascularização e favorece a formação de cartilagem ou fibrose ao invés de osso. (R. Hupp 2003)

IV – Concentrados de plaquetas e adesivos de fibrina

Um dos grandes desafios que a pesquisa clínica enfrenta é o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos capazes de regular a inflamação e aumentar a cicatrização. Com efeito, após cada intervenção, os cirurgiões enfrentam fenômenos complexos de remodelação do tecido e as suas consequências na cicatrização e sobrevivência dos tecidos. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Na medicina transfusional, concentrados de plaquetas foram originalmente usados para tratamento e prevenção de hemorragias resultantes de trombopenias severas, que normalmente são causadas por aplasias medulares, leucemias agudas ou perda significativa de sangue aquando de longas cirurgias. O concentrado de plaquetas standard para transfusão foi denominado de plasma rico em plaquetas (PRP) e classicamente continha 0.5×10^{11} plaquetas por unidade. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

O uso de produtos hemoderivados para selar feridas e estimular a cicatrização começou com o uso de adesivos de fibrina, constituídos de fibrinogénio concentrado (polimerização induzida por trombina e cálcio). (Dohan Ehrenfest et al. 2009) Embora a utilização de adesivos de fibrina seja bem documentada em diversos campos nos últimos 30 anos, manteve-se a controvérsia devido à complexidade dos protocolos de produção (adesivos autólogos) e ao risco de infeção cruzada (adesivos comerciais) (D. M. Dohan et al. 2006a)

Consequentemente, os concentrados de plaquetas que induzem a cicatrização e substituem os adesivos de fibrina, têm sido explorados nestes últimos anos. Os concentrados de plaquetas de uso cirúrgico são uma categoria bastante recente de

biomateriais desenvolvidos na medicina regenerativa, podendo ser considerados como uma evolução das tecnologias de adesivos de fibrina utilizadas desde há muitos anos. O conceito original destas preparações autólogas foi concentrar as plaquetas e os fatores de crescimento numa solução de plasma, e torná-los num gel de fibrina a utilizar num local cirúrgico, a fim de melhorar a cicatrização local. A maior parte destas suspensões de plaquetas são denominadas de plasma rico em plaquetas (PRP), o mesmo nome que o concentrado de plaquetas para transfusão original, o que não permite uma distinção entre os diferentes sistemas e protocolos. (Bielecki & D. M. D. Ehrenfest 2012)

Infelizmente, os primeiros resultados envolvendo concentrados de plaquetas - PRP indicam que os seus efeitos clínicos estão muito próximos aos observados com adesivos de fibrina convencionais. De fato, o potencial efeito das citocinas plaquetárias, maciçamente libertado durante a ativação plaquetária e a coagulação de fibrina, parece ser extremamente limitado no tempo. Apesar do gel de fibrina ser um suporte perfeito para a ação das citocinas, estas pequenas membranas solúveis são libertadas muito rápido para serem cuidadosamente presas no interior da matriz de fibrina durante a polimerização. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Embora o uso de adesivos de fibrina e plasma rico em plaquetas (PRP) seja bem documentado, eles têm as suas próprias limitações. Daí que, os cirurgiões dentários estão à procura de um avanço no processo de cicatrização que maximize a previsibilidade assim como o volume do osso regenerado. Ultrapassando as restrições relacionadas com a reimplantação de produtos derivados de sangue, uma nova família de concentrado de plaquetas, que não é nem um adesivo de fibrina nem um concentrado de plaquetas clássico, foi desenvolvido em França. Este concentrado de plaquetas de segunda geração chamado fibrina rica em plaquetas (PRF), tem sido amplamente utilizado para acelerar a cicatrização de tecido mole e duro. (Kumar & Shubhashini 2012) A eficiência deste processo reside na entrega localizada e contínua de uma vasta gama de fatores de crescimento e proteínas, simulando as necessidades da cicatrização de feridas e processos fisiológicos de reparação de tecidos. (Anitua et al. 2006) As suas vantagens mais conhecidas sobre o PRP incluem a facilidade de preparação / aplicação, custo mínimo, e a ausência de modificação bioquímica (sem utilização de trombina bovina ou anticoagulante). (Kumar & Shubhashini 2012)

IV.1 Classificação dos diferentes concentrados de plaquetas

Várias técnicas de concentrados de plaquetas estão disponíveis, no entanto, as suas aplicações têm sido confusas pois cada método leva a um produto diferente com uma diferente biologia e usos potenciais.

Segundo Dohan Ehrenfest et al. 2009 a classificação dos diferentes concentrados de fibrina divide-se em quatro categorias, dependendo do seu conteúdo em leucócitos e fibrina: **puro plasma rico em plaquetas (P-PRP)**, como separador de células PRP, Vivostat PRF ou PRGF de Anitua; **plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP)**, como o Curasan, Regen, Plateltex, SmartPReP, PCCS, Magellan ou GPS PRP, **fibrina rica em plaquetas pura (P-PRF)**, como Fibrinet; e por fim **fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF)**.

Para uma classificação clara dos concentrados de plaquetas três grupos principais de parâmetros são necessários (Figura 4). O primeiro conjunto de parâmetros (A) refere-se à preparação dos kits e centrifugadoras usadas. O tamanho da centrifugadora (parâmetro A1), a duração do procedimento (A2 parâmetro) e o custo do dispositivo e kits (A3 parâmetro) são fatores importantes quando se considera a utilização repetida destas técnicas na prática cirúrgica diária. A ergonomia do kit e a complexidade do procedimento (parâmetro A4) também são parâmetros importantes, porque são procedimentos complexos em perigo de não poderem ser utilizados ou potencialmente mal utilizados, levando a resultados irreproduzíveis. Por estas razões, os sistemas automatizados têm sido desenvolvidos e estão disponíveis comercialmente. Estes parâmetros (A) definem as características práticas de cada técnica. O segundo tipo de parâmetros (B) refere-se ao teor do concentrado. O volume final do concentrado utilizável (B1 parâmetro) depende da colheita de sangue inicial e pode definir as potenciais aplicações clínicas de um protocolo de preparação. A eficiência na recolha de plaquetas (B2 parâmetro) e leucócitos (parâmetro B3) e da sua conservação durante todo o processo (parâmetro B4) define a básica relevância farmacológica do produto e indica as suas possíveis aplicações. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

Key parameters	Subparameters	Definition
A: Preparation kits and centrifuge (for processing of 50 mL of whole blood)	A1: Size and weight of the centrifuge type required for the method	<ul style="list-style-type: none"> • Heavy (and cumbersome) • Light (and compact) • Heavy but potentially light (i.e. a commercialized system is heavy, but technique could be performed with a smaller centrifuge)
	A2: Duration of procedure (from blood harvest to surgical application)	<ul style="list-style-type: none"> • Quick (less than 20 min) • Long (between 20 and 60 min) • Very long (more than 1 h)
	A3: Cost (initial cost of equipment and repeated costs for reagents and kits)	<ul style="list-style-type: none"> • Very inexpensive, less than 5 euros • Inexpensive, between 5 and 50 euros • Expensive, more than 50 euros
	A4: Ergonomy of the kit (including required manipulations) and complexity of procedure	<ul style="list-style-type: none"> • Very simple (+ +) • Simple (+) • Complex (-) • Very complex (- -)
B: Platelets and leucocytes	B1: Final volume of platelet gel material (relative to initial blood harvest)	<ul style="list-style-type: none"> • Large, more than 25% of the blood sample • Small, less than 25%, • Variable, if additional fibrin-rich PPP can be preserved to increase volume above 25%
	B2: Platelet collection efficiency	<ul style="list-style-type: none"> • Excellent, more than 80% • Good, between 40 and 80% • Low, less than 40% • Sometimes unknown • No leucocytes, when technique eliminates most leucocytes
	B3: Leucocyte collection efficiency	
	B4: Preservation of the platelets and leucocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Healthy • Damaged • Unknown • Activated, when coagulation is induced during the centrifugation process
C: Fibrin	C1: Fibrinogen concentration and fibrin density	<ul style="list-style-type: none"> • High density • Low density
	C2: Fibrin polymerization type	<ul style="list-style-type: none"> • Strong, mainly trimolecular or equilateral junctions • Weak, mainly tetramolecular or bilateral junctions

Figura 4 – Definição dos parâmetros-chave a serem avaliados em cada protocolo de concentrado de plaquetas. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

O terceiro conjunto de parâmetros (C) refere-se à rede de fibrina que suporta o concentrado de plaquetas e de leucócitos durante a sua aplicação. A densidade da rede de fibrina é determinada principalmente pela concentração do fibrinogénio (parâmetro C1), durante a preparação. (Dohan Ehrenfest et al. 2009) A maioria dos protocolos conduz a um gel de fibrina de baixa densidade, o que permite a aplicação cirúrgica conveniente, mas carece de uma matriz de fibrina de verdadeiro suporte. Em contra partida, uma alta densidade de rede de fibrina significa que o concentrado de plaquetas pode ser considerado como um biomaterial, e a matriz de fibrina em si pode ter efeitos terapêuticos potenciais. O processo de polimerização da fibrina (parâmetro C2) tem de ser avaliado, tendo em conta as razões entre as concentrações de fibrinogénio e trombina, bem como as propriedades biomecânicas da rede de fibrina final. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

O fibrinogénio é ativado pela trombina, a qual inicia a polimerização em fibrina. Durante a gelificação, a fibrilas de fibrina podem assentar entre elas em duas diferentes

arquitecturas bioquímicas: ou através de junções tetramoleculares condensadas ou bilaterais ou através de junções trimoleculares equilaterais. As junções bilaterais são provocadas por uma ativação e polimerização drástica, por exemplo, com elevadas concentrações de trombina, que permitem o espessamento dos polímeros de fibrina. Isto leva à constituição de uma rede rígida, não muito favorável ao enredamento de citoquinas e à migração celular. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Em contrapartida, uma polimerização de fibrina fisiológica lenta com baixas concentrações de trombina produz uma percentagem mais elevada de junções equilaterais, que permitem o estabelecimento de uma rede de fibrina fina e flexível que é capaz de suportar o enredamento de citoquinas e migração celular. Além disso, esta organização fornecerá também elasticidade para a matriz de fibrina comparável à de um biomaterial sólido. A eficiência da recolha do fibrinogénio e tipo de polimerização define as características do material do concentrado. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Todas as características que permitem comparar os principais protocolos de concentrados de plaquetas estão referidos na figura 5.

Table 2. Characteristics and classification of the main platelet concentrates protocols available

PC class	Main characteristics										C: Fibrin	
	A: Process			B: Content				C1: Density	C2: Polymerization			
Method (and relevant Refs)	A1: Centrifuge type	A2: Duration	A3: Cost	A4: Ergonomy	B1: Volume	B2: Platelet collection	B3: Leucocyte collection	B4: Preservation				
P-PRP	AP Cell separator PRP [8] Vivostat PRF [9]	Very long Long	Expensive Expensive	-- +	Small Small	Excellent Low	No leucocytes No leucocytes	Damaged Damaged	Low Low	Weak Weak		
MP	Anitua's PRGF [10-14] Nahita PRP [15]	Long	Inexpensive	-	Variable	Low	No leucocytes	Unknown	Low	Weak		
L-PRP	AP PCCS PRP [9,14] SmartPreP PRP [9,16,18] Magellan PRP [19] GPS PRP [20]	Long	Expensive	+	Variable	Good	Good	Unknown	Low	Weak		
MP	Friadent PRP [16] Curesan PRP [8] Regen PRP Plateltext PRP [17] Ace PRP [15]	Long	Expensive	-	Variable	Good	Good	Unknown	Low	Weak		
P-PRF	MP Fibrinet PRFM [9]	Long	Expensive	+	Large	Good	No leucocytes	Healthy, activated	High	Strong		
L-PRF	MP Choukroun's PRF [21-30]	Quick	Very inexpensive	++	Large	Excellent	Good	Healthy, activated	High	Strong		

Abbreviations: AP, automated protocols; MP, manual protocols; PC, platelet concentrate.

Figura 5 – Características e classificação dos principais protocolos de concentrados de plaquetas disponíveis (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

V. L-PRF

V.1 O que é o L-PRF?

Fibrina rica em plaquetas e leucócito (L-PRF) é um concentrado de plaquetas imune de segunda geração que contém numa única membrana de fibrina todos os constituintes de uma amostra de sangue favoráveis à cicatrização e imunidade. (Choukroun et al. 2006a) L-PRF foi desenvolvido em França por Choukroun et al, para uso específico na cirurgia oral e maxilofacial.

Esta técnica não requer o uso de anticoagulantes ou trombina bovina (nem outro agente gelificante). É simplesmente sangue centrifugado sem qualquer aditivo, o que tornou possível evitar todas as restrições francesas relacionadas com a reimplantação de produtos hemoderivados. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Esta técnica, que mimetiza o processo natural de coagulação, é a mais simples e com o protocolo mais económico desenvolvido até à data. (Dohan Ehrenfest et al. 2009)

V.2 Protocolo do L-PRF

A preparação do L-PRF requer uma centrifugadora adequada (PC-02, Process Ltd., Nice France) e um kit de colheita que inclui: uma seringa borboleta de calibre 24, e tubos de ensaio de 10 ml para colheita do sangue.



Figura 6 – PC-02, Process Ltd., Nice France (Michael Toffler et al. 2009)

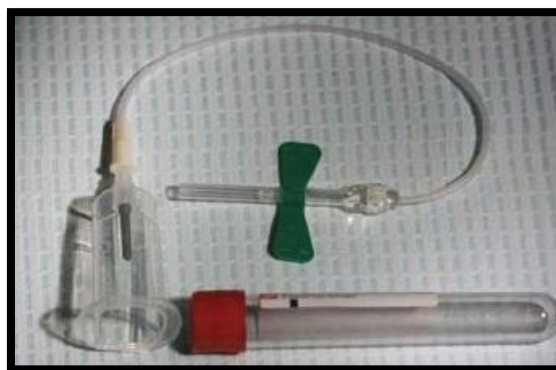


Figura 7 – Seringa borboleta de calibre 24, e tubos de ensaio de 10 ml para colheita do sangue. (Michael Toffler et al. 2009)

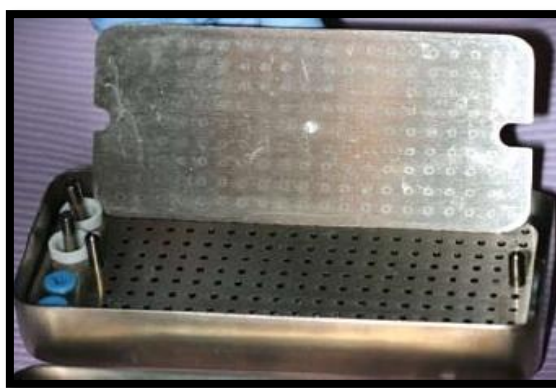


Figura 8 – Caixa de PRF completa (Michael Toffler et al. 2009)

O protocolo de preparação do L-PRF é muito simples: o sangue é colhido para os respectivos tubos de ensaio sem anticoagulante que são imediatamente centrifugados a 3000 rpm (aproximadamente 400g) por 10 minutos. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Em alguns minutos, a ausência de anticoagulante implica a ativação da maioria das plaquetas da amostra de sangue em contacto com as paredes do tubo que desencadeia a cascata da coagulação. Inicialmente o fibrinogénio é concentrado no topo do tubo, até que a trombina circulante o transforme numa rede de fibrina. O resultado é um coágulo de fibrina obtido no meio do tubo entre os glóbulos vermelhos (red corpuscles base – RCB) do fundo do tubo e o plasma acelular, resultante de uma polimerização natural e progressiva que ocorre durante a centrifugação (acelular plasma – platelet poor plasma, PPP) no topo. (D. M. Dohan et al. 2006a)

O L-PRF é então removido do tubo, e os glóbulos vermelhos raspados e descartados. Pode ser usado diretamente como um coágulo ou como uma membrana após comprimido. Esta compressão é realizada na caixa estéril do PRF, sendo este colocado na grelha da caixa e coberto com a capa e uma compressa por 1 minutos para que liberte lentamente o exsudato nele contido. (Michael Toffler et al. 2009)

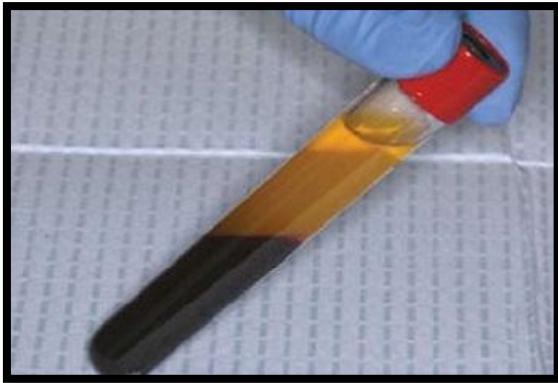


Figura 9 – Uma única centrifugação produz 3 camadas: a do topo contendo PPP, a do meio o PRF, e a do fundo do tubo glóbulos vermelhos. (Michael Toffler et al. 2009)

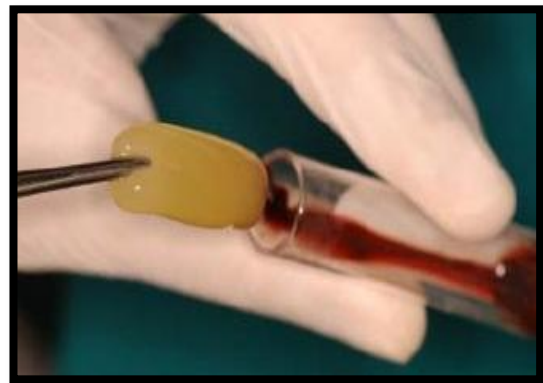


Figura 10 – Uma pinça é inserida dentro do tubo para gentilmente retirar o coágulo de fibrina com os glóbulos vermelhos presos. (Michael Toffler et al. 2009)



Figura 11 – O coágulo de fibrina é transferido para uma superfície de metal estéril e os glóbulos vermelhos são raspados e descartados. (Michael Toffler et al. 2009)

A caixa do PRF foi concebida para produzir membranas de grossura constante que permanecem hidratadas por muitas horas e para recuperar o exsudato espremido da matriz de fibrina que é rico em proteínas vitronectinas e fibronectinas. O exsudato recolhido no fundo da caixa pode ser usado para hidratar materiais de enxertos, lavar o local cirúrgico e armazenar enxertos autólogos. (Michael Toffler et al. 2009)



Figura 12 – Os coágulos PRF são colhidos e colocados na caixa de PRF. (M Del Corso et al. 2010)



Figura 13 – Depois da compressão na caixa de PRF são obtidas membranas de PRF uniformes (M Del Corso et al. 2010)

Segundo D. M. Dohan et al. 2006b a maioria das citoquinas não são encontradas nem no plasma acelular nem no exsudato, permanecendo presas na matriz de fibrina do PRF, mesmo após esta ser espremida, o que implica uma íntima incorporação destas moléculas na arquitetura molecular dos polímeros de fibrina, e excluindo a possibilidade destas se perderem juntamente com o exsudato.

No entanto, uma outra alternativa para a obtenção de uma membrana PRF é pressionar o coágulo entre duas gazes espremendo assim os fluidos do coágulo de fibrina (Raja e Naidu 2008 cit. in Kumar & Shubhashini 2012)

O coágulo PRF pode também ser colocado no interior do cilindro da caixa de PRF e lentamente comprimido com o pistão que resulta em pequenos e grossos discos de PRF que medem 1 cm de diâmetro. Estes são úteis para a proteção de alvéolos pós-extração. (Toffler et al. 2009 cit. in Kumar & Shubhashini 2012)



Figura 14 – PRF é colocado dentro dos cilindros da caixa de PRF. (Michael Toffler et al. 2009)



Figura 15 – Pistões são usados para gentilmente comprimir o PRF. (Michael Toffler et al. 2009)



Figura 16 – A compressão resulta na formação de um tampão de PRF. (Michael Toffler et al. 2009)

O sucesso desta técnica depende da rapidez da colheita do sangue e transferência deste para a centrifugadora. Sem anticoagulante a amostra de sangue começa a coagular logo imediatamente após o contacto com o vidro do tubo, e são precisos poucos minutos de centrifugação para concentrar o fibrinogénio no meio e no topo do tubo. A rapidez do processo é o único meio de obter um PRF utilizável, dado que se se demorar muito

tempo erros ocorrerão, e a fibrina irá polimerizar em direções difusas no tubo e só um pequeno coágulo sem consistência será obtido. (D. M. Dohan et al. 2006a)

V.3 L-PRF e citocinas plaquetárias

O protocolo do L-PRF tende a acumular plaquetas e as respectivas citocinas plaquetárias, $TGF\beta-1$, PDGFs, IGF axis, no coágulo de fibrina. Portanto, a quantificação das citocinas plaquetárias no PRF constitui um importante passo na compreensão deste biomaterial, pois estas moléculas solúveis são mediadores-chave da inflamação e cicatrização. (D. M. Dohan et al. 2006b)

A polimerização lenta e progressiva do L-PRF leva ao aumento da incorporação das citocinas plaquetárias circulantes nas malhas de fibrina. Esta configuração implica um aumento no tempo de vida destas citocinas, pois elas vão ser libertadas e usadas somente no momento da remodelação da matriz inicial cicatricial (efeito a longo prazo). As citocinas são assim mantidas disponíveis in situ por um período conveniente até que as células comecem a remodelação da matriz cicatricial, ou seja, quando têm de ser estimuladas para iniciar a reconstrução do local lesado. (D. M. Dohan et al. 2006b)

Segundo D. M. Dohan et al. 2006b a distribuição das plaquetas concentra-se na base do coágulo de fibrina, entre a fração dos glóbulos vermelhos e o próprio coágulo de L-PRF, não permanecendo na fração do plasma acelular nem na fração dos glóbulos vermelhos. Esta observação descarta a possibilidade da extremidade vermelha do L-PRF ser de interesse para uso clínico o ainda mais eficaz que a parte superior do coágulo de fibrina.

Por último, é de grande interesse assinalar que a matriz do L-PRF enreda glicosaminoglicanos (heparina, ácido hialurónico) a partir do sangue e das plaquetas. Os glicosaminoglicanos estão incorporados nos polímeros de fibrina e têm uma forte afinidade com os pequenos péptidos circulantes (tais como as citocinas plaquetárias) e uma grande capacidade para suportar a migração de células e os processos de cicatrização. (D. M. Dohan et al. 2006b)

V.4 L-PRF e citocinas leucocitárias

Embora as plaquetas desempenhem obviamente um papel importante, muitos outros elementos do sangue são capazes de libertar citocinas específicas, com propriedades que podem intervir na regulação de reações inflamatórias. É, portanto, relevante identificar no coágulo de L-PRF todas as poderosas moléculas de regulação hemostáticas capazes de controlar a inflamação pós-operatória. (D. M. Dohan et al. 2006c)

Como os processos inflamatórios são inerentes ao ato cirúrgico em si, o uso de L-PRF pode diminuir muitos efeitos nocivos, principalmente corrigindo certos excessos nocivos e destrutivos durante o processo de cicatrização de tecidos lesados. (D. M. Dohan et al. 2006c)

Segundo D. M. Dohan et al. 2006c no L-PRF destaca-se um aumento das secreções de todas as citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e IL-4, TNF- α) e citocinas cicatriciais (IL-4 e VEGF) testadas, sendo a sua origem leucocitária. Isto denota que o processo de ativação lenta de sangue do PRF pode induzir e aumentar a desgranulação leucocitária. Desta forma, tal como as citocinas plaquetárias, as citocinas leucocitárias são certamente aprisionadas na matriz de fibrina e lentamente libertadas.

A angiogénese consiste na formação de novos vasos sanguíneos no interior da ferida e requer uma matriz extracelular que permita a migração, divisão e mudança do fenótipo de células endoteliais. Foi claramente demonstrado que a matriz de fibrina leva diretamente à angiogénese.

A propriedade angiogénica da matriz de fibrina é estabelecida pela estrutura 3D do gel de fibrina e pela ação simultânea de citocinas presas nas malhas. Além disso, os principais fatores solúveis da angiogénese, tais como o fator de crescimento de fibroblastos-básico (FCFb), o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), angiopoietina e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) são incluídos no gel de fibrina. (Choukroun et al. 2006a)

Com este conteúdo em citocinas-chave imunitárias (pro-inflamatórias ou anti-inflamatórias) e angiogênese, o coágulo de PRF pode ser considerado como uma matriz imune organizada. Sendo que, bem como pelas propriedades quimiotáticas, como pelas suas capacidades para facilitar o acesso ao local lesado (neovascularização) destas citocinas, a capacidade de defesa de L-PRF contra as infecções são bastante significativas. (D. M. Dohan et al. 2006c)

A incorporação intrínseca das citocinas dentro das malhas de fibrina permite a sua libertação progressiva ao longo do tempo (7-11 dias), tal como a rede de fibrina se desintegra. (Michael Toffler et al. 2009)

Embora as plaquetas e as citocinas leucocitárias tenham um papel importante na biologia deste biomaterial, a matriz de fibrina suportando-as constitui o elemento determinante responsável pelo verdadeiro poder terapêutico do L-PRF. Citocinas são rapidamente usadas e destruídas num local em cicatrização. A sinergia entre as citocinas e a matriz de fibrina que a suporta tem mais importância do que qualquer outro parâmetro. Uma matriz de fibrina fisiológica (como o L-PRF) vai ter efeitos diferentes de um adesivo de fibrina enriquecido com citocinas (como o PRP) que terá um efeito incontrolável de curto tempo. (Michael Toffler et al. 2009)

V.5 L-PRF e tecido ósseo

Choukroun et al. (2006a) afirmaram que as interações diretas entre a fibrina e células ósseas durante a cicatrização são insuficientemente documentadas. Mas que por outro lado, vários estudos em animais lidam com o efeito da fibrina sobre a cicatrização óssea. Os resultados foram contraditórios; ora a cicatrização óssea é melhorada ora permanece inalterada. Essas divergências podem ser causadas por diferenças entre os modelos utilizados: tipo de animal, defeito ósseo, e gel de fibrina. (Choukroun et al. 2006a)

No entanto, a fibrina é uma matriz de suporte reconhecida para transplantes com a proteína morfogenética óssea (BMP). A matriz de fibrina associada com BMPs tem propriedades angiogênicas, hemostáticas, e osteocondutoras. BMPs enredados na matriz

de fibrina são progressivamente libertados, e quando transplantados por via intramuscular eles são capazes de induzir formação de osso. (Choukroun et al. 2006a)

Contudo, estudos recentes têm reconhecido a importância do L-PRF na regeneração óssea. Tsai et al. (2009) (cit. in Kumar & Shubhashini 2012) investigaram os efeitos biológicos do PRF em fibroblastos gengivais humanos, nas células do ligamento periodontal, nas células epiteliais orais e nos osteoblastos. Uma cultura revelou que o L-PRF estimulou a proliferação celular de osteoblastos, das células do ligamento periodontal e dos fibroblastos gengivais sugerindo que pode ser benéfico para a regeneração periodontal. Wu et al. (2012) (cit. in Kumar & Shubhashini 2012) conduziram um estudo para determinar os efeitos do L-PRF na adesão celular, proliferação, proteína quinase B (PKB), proteína de choque térmico 47 e expressão lisil oxidase em osteoblastos humanos. Concluindo que o L-PRF é capaz de aumentar a fixação dos osteoblastos, a proliferação e, simultaneamente, regular a produção de proteína relacionada com o colagénio os quais promovem efetivamente a regeneração óssea.

V.6 Análise citotóxica do L-PRF

Dohan, D., Del Corso, M. et Charrier (2007) estudaram a citotoxicidade das membranas de L-PRF avaliando culturas de células na sua presença.

O protocolo standard de Choukroun requer o uso de tubos de ensaio de vidro ou revestidos de vidro. Com tubos de ensaio de plástico a membrana de L-PRF não pode ser obtida, pois o contacto com a sílica é necessário para dar início ao processo de polimerização. Assim surgiu a controvérsia de a quantidade de sílica em contacto com o paciente poder ser tóxica. O pó de sílica (silicato de alumínio) é um reconhecido agente tóxico mas apenas quando usado em altas concentrações ou inalado. Todavia, em medicina dentária, materiais derivados de sílicas são de uso corrente, pois pertencem aos biomateriais dentários que oferecem a melhor tolerância no que diz respeito aos tecidos vivos, especificamente o osso. Recordando que a maioria dos biomateriais dentários são auto-alergénicos e tóxicos (resinas compostas, cimentos, etc.). Teoricamente, pacientes tratados com L-PRF podem ser colocados em contacto com as

partículas de sílica. Mas essa possível contaminação por algumas micropartículas de sílica em pó não fornece qualquer perigo para a saúde.

Para este estudo foram recolhidas amostras de células de fibroblastos, osteoblastos, pré-adipócitos e queratinócitos de experimentadores voluntários com idades compreendidas entre os 25 e 60 anos, permitindo assim confirmar a total ausência de citotoxicidade do L-PRF e podendo considerar que, pelo menos, dois tipos de células, os queratinócitos e os pré-adipócitos, colocados em contato com o L-PRF, "respiram" melhor do que as células do grupo controle. (Dohan, D., Del Corso, M. et Charrier, J. 2007)

V.7 Aplicações clínicas do L-PRF

Algumas aplicações clínicas deste biomaterial autólogo foram descritas na medicina desportiva (tendinopatia), na ortopedia, na otorrinolaringologia, na neurocirurgia, na oftalmologia, na urologia, na cirurgia plástica (preenchimento de cavidades, ou misturado com enxertos adiposos durante lipoescultura), na medicina cardiotorácica (bypass cardiopulmonar), na cirurgia oral e maxilofacial, na cicatrização de tecidos (tratamento de úlceras cutâneas e úlceras de pé diabético) e na medicina dentária. (Harmon et al. 2011)

Relativamente a procedimentos específicos relacionados com a medicina dentária, L-PRF tem várias aplicações.

As membranas de L-PRF podem ser utilizadas em combinação com materiais de enxerto ósseo para acelerar a cicatrização no levantamento lateral do seio maxilar. Choukroun et al. (2006) avaliaram o potencial de L-PRF em combinação com enxerto ósseo liofilizado (Freeze-dried bone allograft – FDBA) para aumentar a regeneração óssea no levantamento lateral do seio maxilar. A utilização de L-PRF em combinação com FDBA para realizar o aumento do seio maxilar pareceu acelerar a regeneração óssea. (Choukroun et al. 2006b)

Ao realizar o aumento do rebordo alveolar, membranas de L-PRF são utilizadas para proteger e estabilizar os materiais de enxerto. As membranas agem como ligaduras de

fibrina, acelerando a cicatrização dos tecidos moles, auxiliando no fecho rápido da incisão, apesar de adicionar um volume substancial de osso. (Michael Toffler et al. 2009)

Uma nova técnica de reconstrução maxilar utilizando FDBA, membranas de L-PRF e 0,5% de solução de metronidazol mostrou um alto grau de maturação gengival após a cicatrização com um espessamento do tecido gengival queratinizado que melhorou a integração estética e o resultado final das reabilitações protéticas. (Michael Toffler et al. 2009)

Além disso, a utilização de PRF reduz o edema e a dor pós-operatória, e diminui igualmente a presença de pequenos fenômenos infecciosos. (Michael Toffler et al. 2009)

Como uma membrana para regeneração óssea guiada (Guided bone regeneration-GBR), a arquitetura da matriz densa de L-PRF, protege e estabiliza o material de enxerto ósseo e o local da cirurgia em geral. A elasticidade e resistência da membrana fibrina de L-PRF facilitam a sutura. (Del Corso et al. 2010 cit. in Kumar & Shubhashini 2012).

Zhao et al. 2012 demonstraram que a combinação de L-PRF e membrana de vidro bioativo é uma modalidade eficaz de tratamento regenerativo de quistos radiculares.

Simon et al. (2011) quantificaram alterações do rebordo alveolar associadas com a cicatrização de alvéolos pós-extração utilizando matriz de L-PRF sozinha como um enxerto. Os locais enxertados exibiram cicatrização clínica rápida, mínima reabertura do retalho e densidade óssea excelente. Os autores concluíram que em comparação com os procedimentos de regeneração óssea guiada, o L-PRF pode ter vantagens como por exemplo, menor tempo cirúrgico, eliminação das técnicas e de dificuldades de cicatrização associadas a membranas e menos reabsorção durante a cicatrização. (Simon et al. 2011 cit. in Kumar & Shubhashini 2012)

Outro estudo avaliou os parâmetros clínicos e histológicos num alvéolo preenchido com L-PRF antes da colocação do implante. No momento da colocação, não houve sintomas

clínicos indesejáveis e o exame histológico revelou a formação de novo osso. Assim, os autores propuseram L-PRF como uma alternativa terapêutica viável para a preparação do local a implantar. (Zhao et al. 2011) Pequenos discos de L-PRF são facilmente inseridos em defeitos residuais para acelerar a cicatrização do tecido mole, permitindo a colocação protética ideal do implante. Discos de L-PRF também podem ser colocados no local preparado para colocação do implante para facilitar a levantamento do seio usando a técnica de Summers de levantamento do seio maxilar com osteótomos (osteotome-mediated sinus floor elevation – OMSFE). (Michael Toffler et al. 2009)

Mazor, Z. et al. (2009) verificaram que a utilização de PRF como o único material de enchimento durante um levantamento do seio simultâneo à colocação de implante estabiliza um grande volume de osso regenerado natural na cavidade subseio até a ponta dos implantes após 6 meses após a cirurgia. Inferiram que o L-PRF Choukroun é um biomaterial simples e barato, e a sua utilização sistemática no levantamento do seio parece ser uma opção relevante. (Mazor, Z. et al. 2009 cit. in Kumar & Shubhashini 2012)

Não só pode o L-PRF ser utilizado para enxertos particulados para previsivelmente elevar o seio maxilar utilizando uma abordagem crestal, a membrana de L-PRF pode também proporcionar uma proteção para a membrana do seio (membrana de Schneider) durante a utilização de um osteótomo, e no caso de perfuração, a matriz de fibrina pode auxiliar na cicatrização/fecho da ferida. Membranas de L-PRF podem ser utilizadas na técnica de levantamento de seio de janela lateral, para alinhar a membrana antes do transplante (como uma proteção para a membrana) possivelmente selando uma perfuração não detetada, o que pode levar a sequelas pós-operatórias sérias. (Michael Toffler et al. 2009)

Outro estudo avaliou a osteointegração do implante, assim como o curso da regeneração óssea e os processos de cicatrização usando L-PRF como um material de enchimento, em associação com Bio-Oss (componente mineral de ossos bovinos) em casos de levantamento do seio maxilar. Os autores observaram uma reabilitação implante-prótese bem-sucedida em todos os casos (Inchingolo et al. 2010 cit. in Kumar & Shubhashini 2012).

Membranas de L-PRF têm sido utilizadas em conjunto com técnicas diferentes de recobrimento de raiz para o tratamento de recessão gengival. A utilização de membrana de PRF juntamente com a técnica de retalho deslocado lateralmente para o tratamento de um defeito de recessão isolado relata a cobertura total da raiz com o estado do tecido gengival excelente após 6 meses. (Anilkumar et al. (2009) cit. in Kumar & Shubhashini 2012)

Por outro lado, outro estudo relatou que a adição de uma membrana L-PRF posicionada sob o retalho avançado posicionado coronalmente (MCAF- modified coronally advanced flap), providencia um recobrimento da raiz inferior mas um ganho adicional de espessura de gengiva / mucosa em 6 meses quando comparado com MCAF sozinho. (Aroca et al. (2009) cit. in Kumar & Shubhashini 2012),

Outros estudos têm também tentado utilizar L-PRF como material regenerativo para o tratamento de defeitos periodontais. Chang et al. (2011) no seu estudo clinico avaliou as alterações clínicas e radiográficas em defeitos infra-ósseos periodontais tratados com L-PRF. Concluindo que L-PRF é uma modalidade de tratamento eficaz, dado que os resultados mostraram que a sua aplicação exibiu uma redução de bolsa e ganho de inserção clínica, juntamente com o aumento da densidade radiográfica pós-operatória nos defeitos tratados. Pradeep e Sharma (2011b) encontraram maior redução na profundidade de sondagem, maior ganho no nível de inserção periodontal e maior preenchimento ósseo em 3 paredes com defeitos infra-ósseos tratados com L- PRF e retalho de espessura total (open flap debridement - OFD), quando comparado ao OFD sozinho. Pradeep e Sharma (2011a), um outro estudo sobre o tratamento de lesões de furca mandibulares de grau II, mostrou uma melhoria estatisticamente significativa nos locais tratados com L- PRF e OFD, em comparação com aqueles tratados com apenas OFD. (Chang et al. (2011), Pradeep e Sharma (2011a, 2011b) cit. in Kumar & Shubhashini 2012)

VI. PRF na reabilitação em implantologia:

Como foi referido anteriormente o L-PRF tem várias aplicações clinicas a nível da medicina dentária, sendo agora abordado mais aprofundadamente as suas aplicações na

reabilitação em implantologia, incluindo cirurgias pré-implantares como o levantamento de seio e aumento do rebordo alveolar - o seu uso em combinação com materiais de enxertos, a sua aplicação em alvéolos após extração, e em cirurgias aquando a colocação de implantes – regeneração óssea e processos de cicatrização, proteção da membrana de Schneider, redução do edema e dor pós-operatória.

VI.1 Uso de L-PRF em técnicas de levantamento do seio

O levantamento do seio para a colocação do implante é uma cirurgia muito previsível e reproduzível. (Simonpieri et al. 2011)

A escolha da técnica, quer lateral usando uma osteotomia Caldwell-Luc ou axial com a osteotomia de Summers depende essencialmente da altura do osso residual dos rebordos alveolares e, ambas as técnicas apresentam resultados semelhantes. (Simonpieri et al. 2011)

Utilizando a técnica de Caldwell-Luc, a colocação do implante pode ser realizada num ou dois procedimentos cirúrgicos, dependendo da altura do osso alveolar residual. Um mínimo de 4 a 5 mm foi recomendado para um procedimento cirúrgico de uma fase (colocação do implante simultâneo), mas os dados publicados desde 1998 mostraram que o uso de um implante com um design apropriado (cónico ou micro-rosqueado) e / ou uma técnica cirúrgica ideal de levantamento de seio maxilar com simultânea colocação do implante podem ser realizados em casos de 1 a 2 mm de altura do osso alveolar residual com resultados previsíveis durante um acompanhamento > 10 anos. (Mazor et al. 2009)

A abordagem axial usando a osteotomia de Summers foi desenvolvida para simplificar o procedimento de levantamento de seio, com levantamento do seio maxilar em simultâneo com a colocação do implante sem a abertura cirúrgica da cavidade sinusal. O objetivo desta abordagem é a de utilizar as propriedades osteogénicas naturais da membrana de Schneider para ganhar uns milímetros de osso em torno da ponta dos implantes. Esta técnica é menos invasiva, numa tentativa de reduzir o volume de

enxerto mínimo e criar apenas o volume de osso desejado necessário para a integração óssea adequada e ancoragem dos implantes.(Mazor et al. 2009)

A escolha da técnica é essencialmente dependente da altura do osso residual dos rebordos alveolares. Atualmente, os casos mais simples, podem ser tratados com a técnica de osteotomia Summers, o que implica menos dor e sem tempo de espera entre o enxerto e colocação do implante. No entanto, a abordagem lateral oferece um melhor controlo do local cirúrgico, em particular numa maxila severamente reabsorvida ou quando é necessária a colocação de grandes implantes. (Mazor et al. 2009)

Recentemente, uma terceira abordagem foi desenvolvida com base no conceito de regeneração óssea guiada (Mazor, Z. et al 2009), todavia uma questão fundamental que permanece é definir o melhor material de enchimento para a cavidade do seio depois de levantar a membrana sinusal. A abordagem consensual é a de considerar que a maioria dos materiais são eficientes para esta cirurgia, considerando o alto potencial osteogénico da membrana de Schneider e o seu bom comportamento a favor do perióstio. (Simonpieri et al. 2011)

No entanto, a escolha do material ou da associação de materiais irão influenciar o tempo de espera antes da cicatrização e remodelação adequada do material enxertado, a colocação do implante, e carga funcional. (Simonpieri et al. 2011)

Muitos materiais são potencialmente utilizáveis nesta situação clínica: enxerto ósseo autógeno (parietal, ilíaca, mento, retromolar, etc), xenoenxerto (bovina, suína, etc), e enxerto ou sintética (fosfato tricálcico., Hidroxiapatite, etc). (Simonpieri et al. 2011)

VI.1.i Uso de L-PRF sozinho em técnicas de levantamento do seio

Mazor et al., (2009) estudou uma série de casos que consistiu em 25 elevações do seio, com a colocação de uma ou duas membranas L-PRF sob a membrana de Schneider, realizados em 20 pacientes que foram tratados com 41 implantes. Este estudo foi realizado sem um grupo de controle e a interpretação foi baseada apenas em

observações de uma série de casos relevantes. Este estudo foi desenhado para a validação de L-PRF como material de enchimento.

Após a cirurgia, a cicatrização foi normal para todos os pacientes. Seis meses após a cirurgia, todos os implantes estavam clinicamente estáveis durante o aperto do pilar protético. Todos os implantes foram colocados em altura de osso residual entre 1,5 e 6 mm.

As radiografias pós-operatórias iniciais panorâmicas (8 a 10 dias após a cirurgia) mostraram implantes inseridos na cavidade do seio sem tecido denso em torno deles, sendo que o enchimento de L-PRF é radiotransparente. No entanto, 6 meses após a elevação do seio, em torno da cavidade do seio, os implantes estavam rodeados de um tecido semelhante a osso denso. A análise radiográfica mostrou que o ganho ósseo final foi sempre muito significativo (ganho ósseo: entre 7 e 13 mm). Nesta série, nenhum implante foi perdido, resultando numa taxa de sucesso de 100%, após 6 meses. Com efeito, após análises radiológicas, a posição do seio maxilar final era para todos os casos, a continuação da extremidade do implante (Figura 17).

Todas as biópsias apresentaram osso vital bem organizado (figura 18), muitas vezes com > 30% da matriz óssea. Não foram usados substitutos ósseos nestes casos e as biópsias foram feitas no centro da janela regenerada da elevação do seio. Por conseguinte, todo o osso observado foi considerado um novo osso construído a partir da matriz de fibrina L-PRF. Numa pequena ampliação, a arquitetura geral do osso parecia natural, com trabéculas estruturadas e uma matriz de colagénio densa. Numa grande ampliação, osteoblastos foram facilmente identificados, e os osteócitos nas lacunas demonstraram a vitalidade desta amostra de osso.

Neste estudo, foi levantado o problema do conceito de levantamento de seio simultâneo à colocação do implante, sem material de osso enxertado para aumentar a previsibilidade e segurança deste procedimento sem desnaturar o conceito subjacente de regeneração do osso natural. Utilizando como material de enchimento apenas o L-PRF parecia a solução. L-PRF é um coágulo sanguíneo natural e otimizado e é utilizado durante o levantamento do seio para proteção da membrana do seio ou melhoramento da maturação do enxerto ósseo.

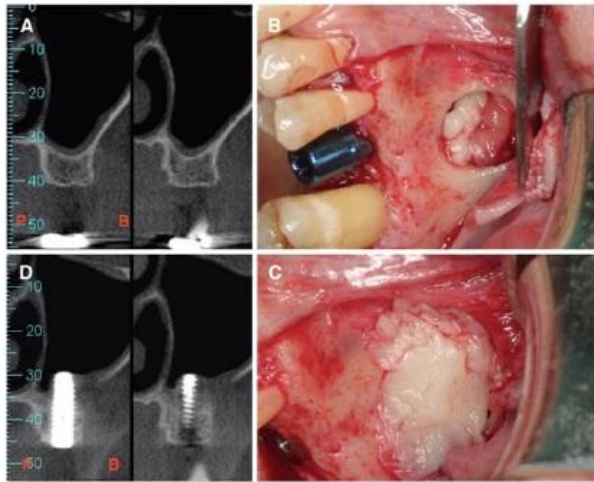


Figura 17 – A) análise da CT-3D antes da cirurgia apresentou uma altura de 6 mm de osso residual na primeira região molar. P = palatino, B = vestibular. B) Um seio foi elevado e preenchido com coágulos de PRF. Um implante longo de 15 mm cônico e micro-rosqueado foi facilmente colocado na altura do osso residual e manteve a membrana de PRF a remendar o seio numa posição elevada. C) Duas membranas PRF foram utilizadas para cobrir a janela lateral. D) Seis meses após a cirurgia, a análise da CT- 3D mostrou o implante cercado de tecido ósseo de aparência densa. (Mazor et al. 2009)

é que a cavidade do seio deve ser protegida com uma barreira como uma área de regeneração óssea guiada. Nesta série de casos, as membranas L-PRF foram usadas como a membrana de proteção exclusiva para os seios da face, com uma camada de L-PRF cobrindo cada janela do seio. A análise de raios-x desta série de casos não mostrou invaginação. Nos casos em que nove biópsias ósseas foram colhidas na zona da janela, a invaginação do tecido conjuntivo não foi observada, e amostras de osso foram todos muito densas. Este resultado parece indicar que as membranas L-PRF foram capazes de proteger a área enxertada.

De um ponto de vista prático, a utilização de uma membrana de L-PRF sobre uma membrana de Schneider é uma proteção mecânica e biológica muito simples que pode ser usado na prática diária. Poderia até ser um elemento chave para o sucesso quando perfurações imprevisíveis da membrana ocorressem, podendo ser

facilmente corrigidas com membranas L-PRF. A janela lateral, de um seio deve ser protegida com uma membrana para evitar a invaginação dos tecidos muco-gengivais.

A explicação geral sobre este fenómeno

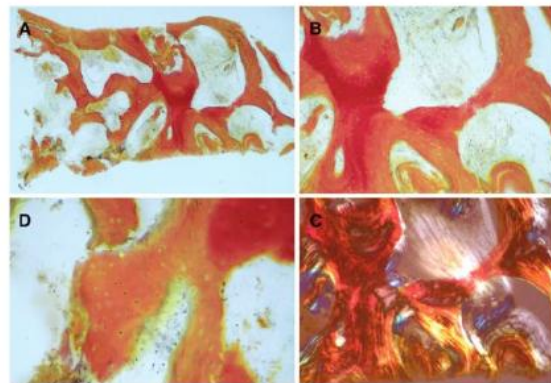


Figura 18 – Avaliação histológica de amostras de osso recolhidas 6 meses após a cirurgia da parede vestibular do seio elevado ao nível da janela lateral do seio. A) O núcleo mostra 33% de osso vital. Como não foi utilizado nenhum material de enxerto ósseo, a amostra de osso foi completamente regenerada a partir dos coágulos de PRF e membranas utilizadas para encher a cavidade do seio. B) Com uma ampliação maior, a arquitetura óssea já parecia bem estruturada e bastante madura, com boa conectividade do trabeculado ósseo, cercado por áreas de remodelação. C) Este achado foi confirmado pelo exame sob luz polarizada, onde a rede de colágeno apareceu muito claramente. D) Com uma maior ampliação, a remodelação osteoblástica parecia ainda mais ativa, com osteócitos claramente embutidos nas suas lacunas (pontos azul-escuro) e uma borda osteóide muito ativa (amarelado). (Coloração de Van Gieson, ampliação original: A, $\times 40$, B e C, $\times 100$, D, $\times 200$). (Mazor et al. 2009)

VI.1.ii Uso de L-PRF em associação com FDBA em técnicas de levantamento do seio

Choukroun et al. 2006b avaliaram o potencial de L-PRF em combinação com enxerto ósseo liofilizado (FDBA) para melhorar a regeneração óssea no levantamento lateral do seio. Nove levantamentos do seio maxilar foram realizados com seis seios recebendo L-PRF + partículas FDBA (grupo teste) e três seios recebendo FDBA sem L-PRF (grupo controle). Quatro meses após o implante (grupo teste), e 8 meses mais tarde (grupo controle), foram colhidas amostras de osso com um trépano de 3 milímetros de diâmetro durante a inserção do implante. Resultados histológicos revelaram a presença de partículas de osso residual rodeado por osso recém-formado e de tecido conjuntivo. Ao fim de 4 meses, a maturação histológica do grupo de teste apareceu idêntica ao do grupo de controle após um período de 8 meses, com as quantidades de osso recentemente formado equivalentes entre os dois protocolos. Concluindo que a utilização de PRF em combinação com FDBA para levantamento do seio pareceu acelerar a regeneração óssea.

VI.1.iii Uso de L-PRF em associação com Bio-Oss em técnicas de levantamento do seio

Osso bovino desproteinizado (Bio-Oss) é frequentemente utilizado na prática clínica de levantamento do seio, sendo ele capaz de induzir uma remodelação óssea fisiológica, com disposição e ganho ósseo significativo, graças às suas propriedades físico-químicas que são muito semelhantes às do osso humano (a percentagem de osso recentemente formado é de cerca de 39%). Além das suas propriedades osteoindutivas e

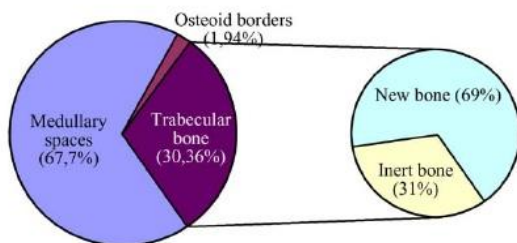


Figura 19 - Média da análise histomorfométrica de amostras de osso a partir de três aumentos do assoalho do seio após um período de cicatrização de 8 meses (grupo controle: FDBA sozinho). (Choukroun et al. 2006b)

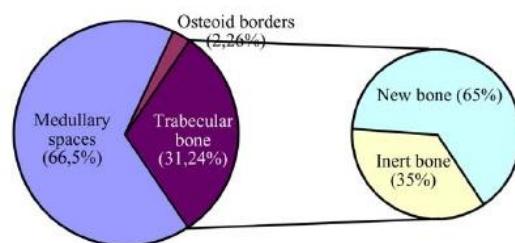


Figura 20 - Média da análise histomorfométrica de amostras de osso a partir de 6 levantamentos de seio maxilar após um período de cicatrização de 4 meses (grupo de teste: FDBA+PRF). (Choukroun et al. 2006b)

osteocondutoras e pobre reabsorção, o osso bovino mineral não corre riscos de intolerância ou infecção. A biocompatibilidade do material é devida à sua preparação, com o objetivo de eliminar a proteína e os componentes lipídicos a partir do material inicial, tornando-se inorgânico antes de ser esterilizado por calor e irradiação. (F Inchingolo et al. 2010)

Marco Tatullo et al. 2012 estudaram 60 pacientes com grandes atrofia da maxila superior necessitando de cirurgia reconstrutiva pré-implante de elevação do seio. 72 levantamentos do seio foram realizados, com colocações de implantes posteriores (240 foi o número de implantes colocados). Ao grupo teste foi efetuado levantamento de seio com o uso de Bio-Oss e L-PRF, ao grupo controle foi efetuado levantamento de seio com o uso apenas de Bio-Oss. Durante a elevação do seio, nenhuma perfuração da membrana do seio foi notada. Em todos os casos tratados, a cirurgia reconstrutiva pré-implante e a posterior reabilitação por implantes foram bem sucedidas.

Os resultados histológicos foram os seguintes nos demais protocolos:

1) Protocolo inicial:

Neste protocolo, obtiveram-se os resultados mais interessantes sobre a eficácia do L-PRF usado como material de enxerto. Os resultados histológicos mostraram que as amostras coletadas a partir do grupo teste após 106 dias, com a adição de L-PRF "foram constituídas por tecido ósseo lamelar com lacunas de osteócitos acelulares e matriz óssea intensamente eosinofílica misturada com fragmentos de tecido ósseo lamelar sem lacunas de osteócitos e uma matriz óssea ligeiramente eosinofílica (provavelmente a ser atribuída ao tecido ósseo recém-formado). Nesses fragmentos, os osteócitos são às vezes dispostos horizontalmente na fronteira com o trabeculado ósseo. O estroma interposto é descontraído e ricamente vascularizado.

Em vez disso, as amostras coletadas a partir do grupo controle, revelou que os fragmentos foram constituídos por trabéculas de tecido ósseo lamelar ausente de osteócitos, imersos num estroma fibroso denso e pobremente celular, no qual estão incluídos fragmentos de osso lamelar sem lacunas de osteócitos e com uma matriz óssea

intensamente eosinofílica. Também descobriram lacunas globulares, óticamente vazias, provavelmente como resultado dos grânulos de Bio-Oss ainda não integrados na matriz óssea.

2) Protocolo intermédio:

O estudo histológico das amostras coletadas a partir do grupo teste após 120 dias mostrou uma histologia muito encorajadora, confirmando a capacidade osteocondutora do L-PRF usado como material de osteorregeneração. A histologia provou que os fragmentos eram constituídos por tecido ósseo lamelar sem lacunas de osteócitos, delimitado por osteoblastos. O estroma interposto era descontraído e ricamente vascularizado por vasos capilares. Nenhuma célula inflamatória foi revelada.

3) Protocolo tardio:

Neste protocolo, pôde-se observar no grupo teste a presença de trabéculas de osso lamelar maduro num estroma descontraído e ricamente vascularizado. No entanto, a investigação histomorfométrica e análise histológica revelou que a boa capacidade osteocondutora do L-PRF, levou à produção de um novo osso, já 106 dias depois da cirurgia reconstrutiva. A análise histológica revelou também que a utilização de L-PRF produziu, já no protocolo inicial, uma notável neoangiogénese agindo como um bom suporte trófico para o tecido ósseo recém-formado. Isto reduziu as áreas de osso não vital em relação ao grupo controlo.

Os casos clínicos relatados no presente estudo atingiram uma taxa de 100% de sucesso clínico no levantamento do seio, usando o L-PRF obtido segundo o protocolo do Choukroun. Além disso, os autores concluíram que, com a ajuda do L-PRF, o tempo de cicatrização é significativamente reduzido, em comparação com os 120-150 dias descritos na literatura, favorecendo uma ótima regeneração óssea. Desta forma, aos 106 dias, já é possível conseguir uma boa estabilidade primária dos implantes endósseos, embora carentes de carga funcional.

VI.2 Uso do L-PRF em associação com metronidazol e aloenxerto em técnicas de aumento do rebordo alveolar

Um enxerto ósseo extenso continua a ser um procedimento delicado, devido à integração lenta e difícil do material enxertado na arquitetura fisiológica. O uso recente de concentrados de plaquetas visa melhorar este processo de integração, acelerando a cicatrização óssea e da mucosa. Quer seja utilizado como uma membrana, ou como fragmentos, L-PRF permite uma proteção significativa no pós-operatório do local cirúrgico e parece acelerar a integração e remodelação do biomaterial enxertado. Estas propriedades são particularmente úteis para o enxerto ósseo vestibular nos rebordos alveolares. Além disso, proporciona uma maior qualidade de maturação gengival. Uma pequena quantidade de uma solução de metronidazol a 0,5% (10 mg), também pode ser utilizada para proporcionar uma proteção eficaz do enxerto contra a contaminação inevitável por bactérias anaeróbicas. (Simonpieri et al. 2009a)

Simonpieri et al. (2009a) descreveram uma nova técnica de enxerto ósseo total maxilar pré-implante utilizando aloenxerto, membranas de L-PRF de Choukroun e metronidazol. Focaram-se então no uso de grânulos ósseos alogénicos para reconstrução pré-implante e no uso de membranas L-PRF para protegerem o local cirúrgico e promover a cicatrização dos tecidos moles, melhorando a maturação do enxerto ósseo e o resultado estético final do tecido mole peri-implante.

Simonpieri et al. (2009b) trataram vinte pacientes com esta nova técnica e com um follow-up de 2,1 anos (1-5 anos). Finalmente, 184 implantes foram colocados, incluindo 54 implantes enroscados clássicos e 130 implantes micro-rosqueados. Nenhum implante ou enxerto foi perdido nesta série de casos, confirmando a validade deste protocolo reconstrutivo. No entanto, o número de implantes utilizados por reabilitação maxilar foi sempre superior com implantes com rosca simples do que com implantes micro-enroscados, este último apresentando uma estabilidade inicial mais forte. Durante reabilitações complexas de implantes, as membranas L-PRF são particularmente úteis para a cicatrização e maturação do periósteo. A espessura da gengiva peri-implante está relacionada com as várias fases de cicatrização de uma camada de membrana de L-PRF e pode explicar a baixa perda óssea marginal observada nesta série. A cicatrização

múltipla de membranas de L-PRF parece uma nova oportunidade para melhorar o resultado estético final.

Ao realizar um aumento do rebordo alveolar, as membranas de L-PRF são usadas para proteger e estabilizar os materiais de enxerto. As membranas atuam como ligaduras de fibrina, acelerando a cicatrização dos tecidos moles, facilitando o fecho rápido da incisão apesar do volume substancial de osso adicionado. (Michael Toffler et al. 2009)

VI.3 Uso do L-PRF em alvéolos após extração

A preparação dos alvéolos após extração é uma questão diária desde que a reabsorção óssea após a avulsão dos dentes pode comprometer tanto a colocação de implantes como os resultados estéticos. Por esta razão, recomenda-se frequentemente inserir um material de enchimento no interior do alvéolo para manter o volume ósseo adequado. Muitos substitutos ósseos funcionam principalmente como mantenedores de espaço. No entanto, estes materiais são muitas vezes bastante lentos para reabsorver e remodelar, e seu uso muitas vezes atrasa a vascularização e regeneração óssea no alvéolo. Além disso, a administração do tecido mole sobre o enxerto requer a execução de retalho, dissecação extensa, e incisões verticais, a fim de cobrir o volume enxertado, reduzindo a microvascularização nas margens. Indicado para esta situação, as membranas de L-PRF atuam nas seguintes formas como um coágulo de sangue otimizado para melhorar o processo de cicatrização natural. (Del Corso, M et al. 2010)

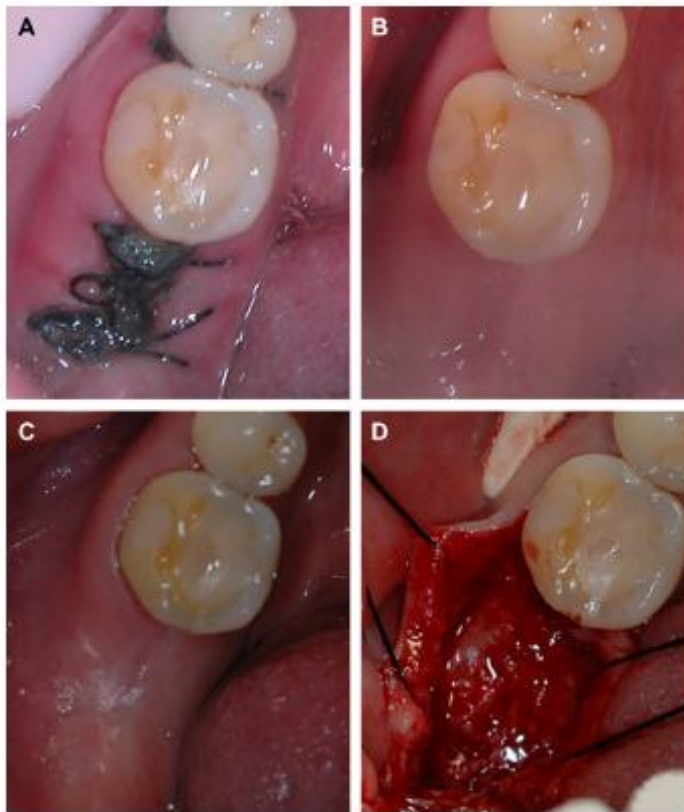


Figura 21 – (A) Fotografia clínica do alvéolo pós-extração do dente 47 após 7 dias antes da remoção da sutura. (B) fotografia clínica do alvéolo pós-extração do dente 47 após 21 dias. Fecho epitelial completo do L-PRF foi alcançado. (C) Fotografia clínica do alvéolo pós-extração do dente 47, após 3 meses. (D) No momento da inserção do implante, o alvéolo estava completamente preenchido com um material duro, que à sondagem exibiu a consistência de osso. (Zhao et al. 2011)

Como material de enchimento em alvéolos após extração, L-PRF vai agir como um coágulo de sangue estável para neovascularização e vai acelerar a reconstrução de tecidos, especialmente em locais infectados ou em pacientes com condições médicas que podem atrasar a cicatrização (por exemplo, diabetes, imunossupressão). L-PRF estimula tanto a coagulação como o fecho da ferida, tornando-se um adjuvante útil em pacientes sob terapia anticoagulante. (Del Corso, M et al. 2010)

(Zhao et al. 2011) estudaram

um caso de um paciente de 47 anos de idade do sexo masculino, com indicação do segundo molar mandibular direito para extração, com posterior preenchimento do alvéolo com membrana de L-PRF para preparação do local para colocação do implante após a cicatrização. As suturas foram removidas ao fim de 7 dias. O processo de cicatrização foi monitorado durante 7 dias após a cirurgia

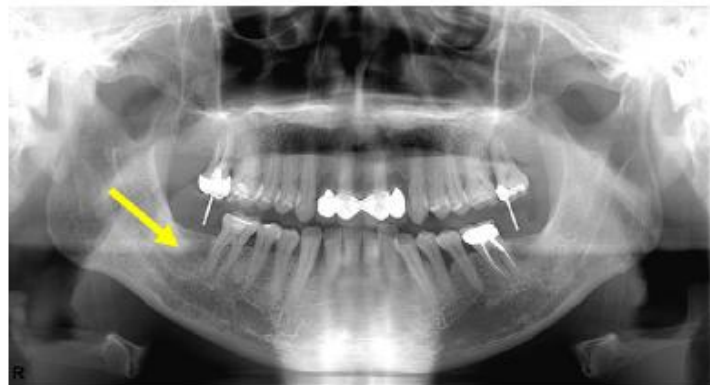


Figura 22 - A seta indica densidade óssea no alvéolo pós-extração do dente 47 antes da colocação do implante na radiografia panorâmica. (Zhao et al. 2011)

(Fig. 21A), em seguida, em 21 dias, e, por conseguinte, a cada mês até a colocação do implante. Durante a cicatrização clínica, nem episódios de infecção nem sintomas

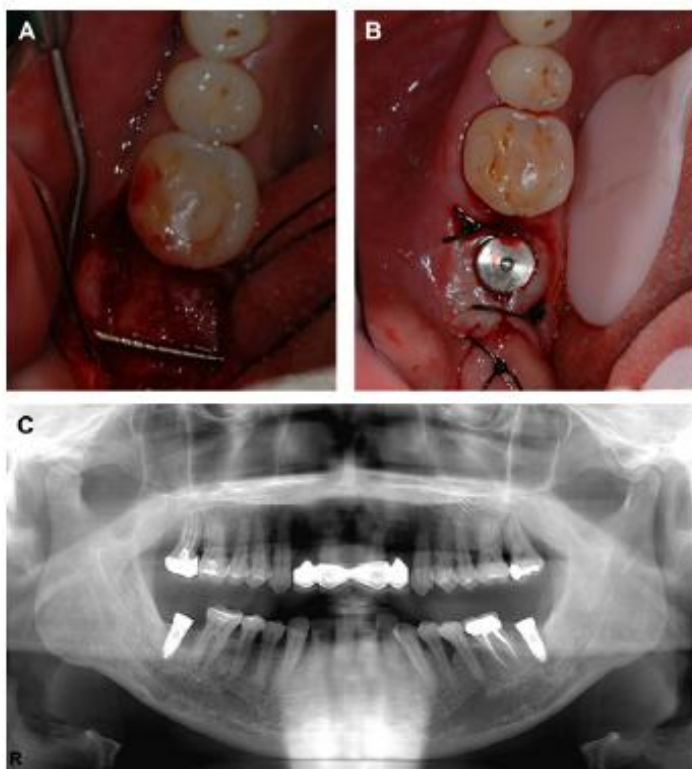


Figura 23 - (A) Fotografia clínica do alvéolo pós-extração cicatrizado do dente 47 antes da colocação do implante. Observou-se um volume alveolar quase completamente preservado. (B) Fotografia clínica dentária após a colocação do implante. (C) Imagem panorâmica após a colocação do implante. (Zhao et al. 2011)

clínicos adversos foram anotados. O encerramento epitelial completo da membrana de L-PRF foi conseguido após 21 dias (Fig. 21B).

Depois de 3 meses, o local de extração foi cirurgicamente preparado para a colocação do implante (Figura 21C). No momento da inserção do implante, o alvéolo estava completamente preenchido por um material duro, que

exibiu à sondagem consistência óssea (Fig. 21D). Uma imagem com a densidade óssea semelhante foi encontrada no

alvéolo por meio da radiografia panorâmica (Figura 22). Um volume alveolar quase completamente preservado foi medido com uma sonda periodontal (Fig. 6A). Uma osteotomia para a inserção do implante foi realizada numa direção axial apicocoronal usando uma broca trefina. Uma amostra cilíndrica do núcleo de tecido recém-formado foi coletado do alvéolo. Um exame histológico do núcleo retirado revelou a formação de novo osso. Também não houve evidência de infiltrados inflamatórios. Os achados clínicos e histológicos sugeriram que o preenchimento do alvéolo após extração com membrana de L-PRF fornece uma alternativa terapêutica viável para a preparação do local para colocação implante.

Este caso demonstrou que o L-PRF reduziu a reabsorção do rebordo alveolar após a extração dentária e que influenciou positivamente a cicatrização durante um período de 3 meses.

VI.6 Uso do L-PRF para prevenção de complicações hemorrágicas após exodontias em pacientes sob terapia anticoagulante

Exodontias em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca para colocação de válvulas cardíacas artificiais, sob terapia anticoagulante oral (varfarina), podem ser complicadas, uma vez que estes doentes apresentam um risco significativo para complicações hemorrágicas no pós-operatório. (Sammartino et al. 2011)

Atualmente, muitos autores não recomendam a suspensão da terapia anticoagulante mas sim substituí-la com heparina antes de uma pequena cirurgia para evitar sérias complicações tromboembólicas. (Sammartino et al. 2011)

Para controlar o risco hemorrágico em pacientes sob terapia anticoagulante, vários protocolos têm sido propostos na literatura. Alguns autores recomendam uma combinação de terapia antifibrinolítica local com agentes hemostáticos para a prevenção de hemorragias pós-operatórias decorrentes da cirurgia oral. (Sammartino et al. 2011)

Outros autores sugeriram que muitos pacientes podem sofrer com segurança os procedimentos cirúrgicos orais em regime ambulatorio, sem alterações no seu regular regime terapêutico anticoagulante e sem intervenções médicas adicionais, ou usando o ácido tranexâmico como um agente local antifibrinolítico durante 2 dias após a cirurgia.

Outros protocolos têm recomendado proteger os alvéolos pós-extração com óxido de celulose e adesivos de fibrina, em associação com lavagens de ácido tranexâmico após a cirurgia. (Sammartino et al. 2011)

Outros autores propuseram o uso exclusivo de adesivo de fibrina para evitar as complicações hemorrágicas, mas estes produtos de fibrina são caros e levantam a questão do seu potencial para contaminações infecciosas. (Sammartino et al. 2011)

Recentemente, o uso de gel plasma rico em plaquetas (PRP) em alvéolos pós-extração, sem modificação significativa de terapia anticoagulante oral, mostraram bons resultados

para a prevenção de hemorragias pós-operatórias em pacientes que tomam anticoagulantes. (Sammartino et al. 2011)

Sammartino et al. 2011 estudaram este tópico com o objetivo de avaliar o uso da membrana de L-PRF como um material de enchimento fácil e seguro e como biomaterial hemostático na prevenção de complicações hemorrágicas após extrações dentárias (ou avulsão) em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca sem modificação da terapia anticoagulante oral.

Cinquenta pacientes anteriormente submetidos a cirurgia cardíaca em uso de anticoagulante oral que necessitavam de extrações dentárias foram selecionados para o estudo. Os pacientes foram tratados com coágulos L-PRF colocados em 168 alvéolos após extração, sem modificação da terapia anticoagulante (valor médio de INR = $3,16 \pm 0,39$). Apenas 2 pacientes relataram complicações hemorrágicas (4%), e foram resolvidos algumas horas após a cirurgia por compressão e agentes tópicos hemostáticos. Dez pacientes (20%) apresentaram hemorragia leve, estancada espontaneamente ou resolvida por uma pequena compressão inferior a 2 horas após a cirurgia. Nenhum caso de hemorragia tardia foi relatado. Os restantes 38 pacientes (76%) apresentaram uma hemóstase adequada após as extrações dentárias. Em nenhum dos casos, ocorreram casos de alveolite ou eventos dolorosos foram notificados, a cicatrização dos tecidos moles foi rápida e o fecho da ferida sempre esteve sempre completo no momento da remoção da sutura, uma semana após a cirurgia.

Em comparação a outros estudos, a taxa de complicações hemorrágicas 4% (n = 2) e 20% (n = 10) taxa de sangramento leve podem ser consideradas uma alta prevalência de episódios hemorrágicos. No entanto, estes resultados estão também relacionados com o meio do acompanhamento utilizado neste estudo, os pacientes foram mantidos em vigilância médica durante várias horas após a cirurgia. É provável que os primeiros 20% de sangramentos leves tivessem parado sozinhos, sem intervenção. Em relação às complicações hemorrágicas de 4%, os dois pacientes (com INR de 3,7), na verdade mostraram uma hemorragia pós-operatório imediata relacionada com a colocação inadequada da membrana de L-PRF, provavelmente devido ao osso alveolar residual mínimo e não oferecendo assim uma boa retenção para o coágulo L-PRF. Estes eventos

foram, assim, provavelmente, independentes do valor de INR. Ainda assim, nesses pacientes, as complicações hemorrágicas foram resolvidas em poucas horas por métodos simples, isto é, compressão com gazes estéreis e aplicação local de ácido tranexâmico.

Os resultados com uma malha de celulose oxidada absorvível e ácido tranexâmico em gaze após as suturas são muito eficazes em termos de controlo hemorrágico: menos de 5% dos pacientes apresentam sangramento leve pós-operatório, o que foi resolvido usando compressão com gaze e agentes tópicos hemostáticos. Estes resultados são muito semelhantes aos dados publicados e ao consenso atual. No entanto, a dor pós-operatória ou desconforto são frequentemente relatados pelos pacientes, e também estão relacionados alguns casos de alveolite. Materiais estranhos inseridos dentro de alvéolos pós-extração sempre perturbam o processo de cicatrização, enquanto que o L-PRF, sendo um coágulo sanguíneo otimizado, é totalmente tolerado.

A conclusão dos autores foi que a compressão com uma gaze com ácido tranexâmico pode ser o complemento ideal para o uso de L-PRF como biomaterial de enchimento contra as hemorragias pós-operatórias, mesmo que muitas vezes não seja necessário.

Dado que, muitos outros produtos de baixo custo podem levar a resultados semelhantes, a principal vantagem do L-PRF é que este é também um biomaterial autólogo de cicatrização, um coágulo de sangue natural, otimizado.

É importante notar que a formação de coágulos normais de L-PRF foi produzida nestes pacientes sob terapia anticoagulante. Assim, estes medicamentos não parecem interferir de forma significativa com a polimerização natural do L-PRF no tubo de ensaio. Este resultado parece confirmar que o processo de produção L-PRF é induzido mecanicamente e não só bioquimicamente conduzido, mesmo o sangue parcialmente anti coagulado pode ser transformado em L-PRF. Os autores, no entanto, recomendaram o aumento do tempo de centrifugação em pacientes sob terapia anticoagulante (18 minutos) para garantir a recolha de coágulos L-PRF fortes e reprodutíveis. Finalmente, estes resultados podem abrir novas oportunidades de tratamento para a colocação do implante após a extração em pacientes com patologias gerais associadas ao atraso na

cicatrização ou coagulação. Com efeito, a utilização de L-PRF para a proteção de locais cirúrgicos de pacientes com estas doenças complexas combina efeitos anti-hemorrágicos com uma estimulação significativa de cicatrização dos tecidos, e ambos os efeitos são necessários para o sucesso do tratamento, bem como o estado de saúde a longo prazo dos tecidos de suporte à volta dos implantes.

Os autores concluíram que o protocolo proposto é uma opção terapêutica fiável para evitar hemorragia significativa após exodontias, sem a suspensão da terapia anticoagulante oral em pacientes submetidos a cirurgias cardíacas. (Sammartino et al. 2011)

VII. Conclusão

Apesar de todos os avanços alcançados em técnicas anti-hemorrágicas efetivas, um dos maiores desafios da pesquisa clínica tem sido o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos capazes de regular a inflamação e aumentar a cicatrização.

O uso de produtos derivados de sangue para selar feridas e estimular a cicatrização começou com o uso de adesivos de fibrina, constituídos de fibrinogênio concentrado (polimerização induzida por trombina e cálcio). (Dohan Ehrenfest et al. 2009) Embora a utilização de adesivos de fibrina seja bem documentada em diversos campos nos últimos 30 anos, manteve-se controversa devido à complexidade dos protocolos de produção (adesivos autólogos) e ao risco de infecção cruzada (adesivos comerciais) (D. M. Dohan et al. 2006a)

Consequentemente, os concentrados de plaquetas que induzem a cicatrização e substituem os adesivos de fibrina, têm sido explorados nestes últimos anos. Os concentrados de plaquetas de uso cirúrgico são uma categoria bastante recente de biomateriais desenvolvidos na medicina regenerativa, podendo ser considerados como uma evolução das tecnologias de adesivos de fibrina utilizadas desde há muitos anos. O conceito original destas preparações autólogas foi concentrar as plaquetas e os fatores de crescimento numa solução de plasma, e torná-los num gel de fibrina a utilizar num local cirúrgico, a fim de melhorar a cicatrização local. A maior parte destas suspensões de plaquetas são denominadas de plasma rico em plaquetas (PRP). (Bielecki & D. M. D. Ehrenfest 2012)

Infelizmente, os primeiros resultados envolvendo PRP indicam que os seus efeitos clínicos estão muito próximos aos observados com adesivos de fibrina convencionais. De fato, o potencial efeito das citocinas plaquetárias, maciçamente libertado durante a ativação plaquetária e a coagulação de fibrina, parece ser extremamente limitado no tempo. Apesar do gel de fibrina ser um suporte perfeito para a ação das citocinas, estas pequenas membranas solúveis são libertadas muito rápido para serem cuidadosamente presas no interior da matriz de fibrina durante a polimerização. (D. M. Dohan et al. 2006a)

Embora o uso de adesivos de fibrina e plasma rico em plaquetas (PRP) seja bem documentado, eles têm as suas próprias limitações, daí que os cirurgiões dentários continuam a procura de uma nova técnica que ultrapasse estas restrições.

L-PRF, foi desenvolvido em França, por Choukroun, sendo uma nova família de concentrado de plaquetas, de segunda geração, que não é nem um adesivo de fibrina nem um concentrado de plaquetas clássico, denominado de fibrina rica em plaquetas e leucócitos. A eficiência deste processo reside na entrega localizada e contínua de uma vasta gama de fatores de crescimento e proteínas, simulando as necessidades da cicatrização de feridas e processos fisiológicos de reparação de tecidos

Ultrapassando as restrições relacionadas com a reimplantação de produtos hemoderivados, as suas vantagens mais conhecidas sobre o PRP incluem a facilidade de preparação / aplicação, custo mínimo, e a ausência de modificação bioquímica (sem utilização de trombina bovina ou anticoagulante). (Kumar & Shubhashini 2012)

L-PRF tem a característica de polimerizar naturalmente e lentamente durante a centrifugação, e as concentrações de trombina que atuam no fibrinogénio autólogo são quase fisiológicas devido à não adição de trombina bovina. Este aspeto é essencial para determinar a organização 3D da rede de fibrina, pois concentrações baixas de trombina implicam uma alta percentagem de junções equilaterais responsáveis pela formação de uma rede de fibrina fina e flexível capaz de suportar o enredamento de citocinas e migração celular. (D. M. Dohan et al. 2006a) L-PRF é não só um concentrado de plaquetas mas também um nódulo imune capaz de estimular mecanismos de defesa. É ainda bastante provável que a regulação da inflamação alcançada nos alvéolos pós-extração tratados com PRF derive dos efeitos das citocinas presas na rede de fibrina e libertadas durante a remodelação desta matriz inicial. (D. M. Dohan et al. 2006c)

Embora as plaquetas e as citocinas leucocitárias tenham um papel importante na biologia deste biomaterial, a matriz de fibrina suportando-as constitui o elemento determinante responsável pelo verdadeiro poder terapêutico do L-PRF. Citocinas são rapidamente usadas e destruídas num local em cicatrização. A sinergia entre as citocinas e a matriz de fibrina que a suporta tem mais importância do que qualquer

outro parâmetro. Uma matriz de fibrina fisiológica (como o L-PRF) vai ter efeitos diferentes de um adesivo de fibrina enriquecido com citoquinas (como o PRP) que terá um efeito incontrollável de curto tempo. (Michael Toffler et al. 2009)

Relativamente à regeneração óssea, Choukroun et al., (2006) afirmou que ainda é difícil reconhecer se o L-PRF permite ou não uma melhoria na deposição de novo osso, no entanto estudos mais recentes revelam que o L-PRF estimula a proliferação celular de osteoblastos e promove efetivamente a regeneração óssea. (Kumar & Shubhashini 2012)

Os benefícios clínicos para o uso sistemático do L-PRF na prática diária são muitos. Barato e de preparação/ aplicação simples, esta técnica leva à produção de uma grande quantidade de membranas autólogas bioativas com um poderoso potencial de cicatrização sobre os tecidos moles e duros. A sua gama de aplicações clínicas em implantologia oral é larga, como um material de enchimento ou uma membrana de proteção, e, muitas vezes, como ambos. Utilizada como uma membrana de recobrimento, L-PRF acelera a cicatrização e fecho das margens da ferida, estabiliza materiais de enxerto e protege o local cirúrgico de agressões externas. Geralmente, proporciona uma redução perceptível no tempo de cicatrização do tecido superficial, e os pacientes muitas vezes declaram reduzida dor pós-operatória. Em combinação com material de enxerto, L-PRF serve como cimento biológico entre as partículas e aumenta a neoangiogénese e regeneração óssea, particularmente para estimular a proliferação e diferenciação dos osteoblastos. Apesar de este material ser apenas um coágulo de sangue otimizado e utilizável as suas potenciais aplicações são numerosas, mas um conhecimento preciso do biomaterial, da sua biologia, da eficiência e limitações são necessárias para otimizar o seu uso na prática diária.

VIII. Referências bibliográficas

- Anitua, E. et al., 2006. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends in biotechnology*, 24(5), pp.227–34.
- Bielecki, T. & Ehrenfest, D.M.D., 2012. Editorial Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma (L-PRP)/ Fibrin (L-PRF) in Medicine - Past , Present , Future. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7).
- Choukroun, J. et al., 2006a. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.e56–60.
- Choukroun, J. et al., 2006b. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.299–303.
- Del Corso, Marco, Toffler, Michael & Ehrenfest, D.M.D., 2010. Use of an 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*, 1, pp.27–35.
- Dohan, D.M. et al., 2006a. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.e37–44.
- Dohan, D.M. et al., 2006b. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.e45–50.

- Dohan, D.M. et al., 2006c. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.e51–5.
- Dohan Ehrenfest, D.M., Rasmusson, L. & Albrektsson, T., 2009. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology*, 27(3), pp.158–67.
- Dohan, D., Del Corso, M. et Charrier, J., 2007. Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 103(5), pp.587–93.
- Franco, R.F., 2001. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. *Medicina, ribeirão preto*, 34, pp.229–237.
- V. Giannobile, W., F. Rios, H. & P. Lang, N., 2008. Bone as a tissue. In J. Lindhe, N. P. Lang, & T. Karring, eds. *Clinical periodontology and implant dentistry*. Blackwell Munksgaard, pp. 86–98.
- Harmon, K. et al., 2011. Section VIII Platelet Rich Plasma (PRP) Guidelines. *The internacional cellular medical society*.
- Inchingolo, F et al., 2010. Trial with Platelet-Rich Fibrin and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillar bone atrophy: clinical and radiological evaluations. *European review for medical and pharmacological sciences*, 14(12), pp.1075–84.
- Kumar, R. & Shubhashini, N., 2012. Platelet rich fibrin : a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell tissue bank*.

- Marx, R.E. et al., 1998. Platelet-rich plasma. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 85(6).
- Mazor, Z. et al., 2009. 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 periodontology*, 80(12), pp.2056–64.
- R. Hupp, J., 2003. Reparação das feridas. In L. J. Peterson et al., eds. *Cirurgia Oral e Maxilofacial: contemporânea*. Elsevier Ltd, pp. 53–67.
- R. Seeley, R., P. Stephens, T. & Tate, P., 2005. Regulação e Manutenção. In *Anatomia & Fisiologia*. pp. 651–678.
- Sammartino, G. et al., 2011. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *The journal of oral implantology*, 37(6), pp.681–90.
- Silverthorn, D.U., 2003. Sangue. In *Fisiologia Humana : uma abordagem integrada*. pp. 474–495.
- Simonpieri, A. et al., 2011. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant dentistry*, 20(1), pp.2–12.
- Simonpieri, A. et al., 2009a. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant dentistry*, 18 (2), pp.102–111.
- Simonpieri, A. et al., 2009b. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part

II: Implant surgery, prosthodontics, and survival. *Implant dentistry*, 18 (3), pp.220–229.

Tatullo, Marco et al., 2012. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *International journal of medical sciences*, 9(10), pp.872–80.

Toffler, Michael et al., 2009. JIACD Continuing Education Introducing Choukroun's Platelet Rich Fibrin (PRF) to the Reconstructive Surgery Milieu. , pp.21–33.

Zhao, J.-H., Tsai, C.-H. & Chang, Y.-C., 2011. Clinical and histologic evaluations of healing in an extraction socket filled with platelet-rich fibrin. *Journal of dental sciences*, 6(2), pp.116–122.

Zhao, J.-H., Tsai, C.-H. & Chang, Y.-C., 2012. Management of radicular cysts using platelet-rich fibrin and bioactive glass: A report of two cases. *Journal of the formosan medical association*, pp.1–7.