

Andrea Caruana

**PRGF & PRF: Luzes e sombras em dois protocolos similares, mas diferentes.**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2018



Andrea Caruana

**PRGF & PRF: Luzes e sombras em dois protocolos similares, mas diferentes.**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2018

Andrea Caruana

**PRGF & PRF: Luzes e sombras em dois protocolos similares, mas diferentes**

Trabalho apresentado à Universidade  
Fernando Pessoa como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

---

(Andrea Caruana)

## **RESUMO**

Este trabalho foi realizado com o propósito de descrever dois protocolos de concentrados plaquetários, que representam uma grande inovação na medicina dentária, principalmente na área da cirurgia.

O objetivo principal da cirurgia moderna, é o de conseguir ser a menos invasiva possível e de ter um grande sucesso ao nível de cura tecidual; nos últimos anos foram desenvolvidas novas tecnologias para chegar aos objetivos desejados, entre eles, o PRGF e o PRF são umas das mais utilizadas.

A utilização destes concentrados plaquetários, através das propriedades imunológicas e biológicas dos seus componentes, mostraram uma grande versatilidade e uma melhoria em termos temporais e qualitativos na formação de novos tecidos.

Neste trabalho, são descritos os protocolos e as aplicações clínicas destes concentrados plaquetários, e além disso, são descritas as vantagens, as desvantagens, as diferenças e as evoluções que ocorreram desde um protocolo até ao outro.

Palavras-Chave: concentrados plaquetários, medicina dentária, cirurgia, PRGF, PRF.

## **ABSTRACT**

This work was carried out with the purpose to describe two protocols of platelets concentrates, which represent a great innovation in dentistry, mostly in the area of surgery.

The main objective of modern surgery, is to be the less invasive as possible and to have great success at level of tissue healing; in the last years, new technologies have been developed to achieve those objectives, among them, PRGF and PRF are one of the most used.

The use of these platelets concentrates, with the immunological and biological properties of their components, showed great versatility and an improvement in temporal and qualitative terms in the formation of new tissues.

In this work, there are described protocols and clinical applications of these platelets concentrates. Furthermore, here are reported the benefit, the disadvantages, the differences and the evolutions that have occurred from one protocol to another.

Keywords: platelets concentrates, dentistry, surgery, PRGF, PRF.

## **DEDICATÓRIAS**

Dedico este meu longo percurso de estudos e a realização deste trabalho principalmente aos meus pais. Nunca vou acabar de agradecer-los pelos esforços que fizeram durante estes 5 anos, pela compreensão e pelas ajudas que me deram durante este fantástico, mas difícil percurso de estudos.

Agradeço e sempre agradecerei toda a minha família, para o apoio que sempre encontrei nela, pela força que eles me transmitiram e pelos sacrifícios que eles próprios também enfrentaram.

Enfim agradeço-lhes por ter acreditado em mim, desde sempre.

Ainda dedico este meu trabalho ao meu irmão e aos meus amigos de sempre, que quando era preciso, sempre estiveram ao meu lado.

Obrigado.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao excelentíssimo meu orientador Dr. José De Macedo, para os preciosos conselhos, para a sua disponibilidade, simpatia e grande confiança que me foi prestada no desenvolvimento do meu trabalho.

Á excelentíssima Dra. Ana Rita Nóbrega, pela sua grande ajuda, disponibilidade e ensinamentos que ela sem nenhum interesse partilhou comigo.

Á Prof. Sandra Soares pela imensa paciência e pela ajuda no desenvolvimento da parte imunológica deste trabalho.

A todos os meus amigos e colegas, que cada dia se tornaram uma parte cada vez mais integral da minha vida, representando a minha atual segunda família. Principalmente ao meu binómio, Daniele e as pessoas que moram comigo: o Andrea, o Salvatore, o Davide, o Shayan e o Pier, com quem foi partilhar a maioria dos momentos felizes desta aventura.

A todos os meus colegas da equipa de futsal da faculdade, que enriqueceram este último ano, com a vitória do campeonato académico.

Ao Hugo, meu grande amigo, que me ajudou na aprendizagem do Português e para as numerosas aventuras que partilhamos.

A todos os colegas da minha turma, pelos agradáveis momentos que proporcionaram ao longo destes anos.

A todos os professores que tive nestes 5 anos, que contribuíram para o enriquecimento da minha sabedoria.

E a todos que de uma forma direta ou indireta participaram neste meu percurso académico.

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| I. INTRODUÇÃO   | 1  |
| 1. MATERIAIS E MÉTODOS  | 1  |
| II. DESENVOLVIMENTO   | 2  |
| 1. PRGF   | 2  |
| 1.1. Protocolo de obtenção do PRGF  | 2  |
| 1.2. Formas de apresentação do PRGF   | 3  |
| 2. PRF  | 4  |
| 2.1. Protocolo para a preparação do L-PRF   | 5  |
| 3. FATORES DE CRESCIMENTO   | 6  |
| 3.1. Fatores de crescimento plaquetários  | 6  |
| 3.2. Fatores de crescimento leucocitários   | 8  |
| 4. APLICAÇÕES DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS EM CIRURGIA NA<br>MEDICINA DENTÁRIA                                       | 9  |
| 4.1 Membranas utilizadas nas recessões gengivais  | 9  |
| 4.2 Membranas utilizadas como único biomaterial para regenerar um defeito intra-ósseo<br>durante a raspagem radicular | 10 |
| 4.3 Membranas utilizadas no preenchimento do alvéolo dentário pós extração  | 10 |
| 4.4 Membranas utilizadas nas técnicas para o levantamento do seio maxilar   | 11 |
| III. DISCUSSÃO  | 12 |
| 1. DIFERENÇAS ENTRE PRGF & PRF  | 12 |
| IV. CONCLUSÃO   | 15 |
| V. BIBLIOGRAFIA   | 16 |

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Estratos que se formam após a centrifugação do PRGF | 3  |
| Figura 2 - Formas de apresentação do PRGF                      | 3  |
| Figura 3 - Produtos obtidos da centrifugação do PRF            | 6  |
| Figura 4 - Utilizações das membranas de fibrina na cirurgia    | 11 |

## **ÍNDICE DE TABELAS**

Tabela 1 - Principais diferenças entre PRF & PRGF

14

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

FC - Fatores de crescimento.

PRGF - Plasma rico em fatores de crescimento.

PRF - Fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

PDGF - Fator de crescimento derivado das plaquetas.

TGF- $\beta$  - Fator de crescimento transformado Beta

EGF - Fator de crescimento epidérmico.

VEGF - Fatores de crescimento vascular endotelial.

IGF-I - Fatores de crescimento insulínico.

HGF - Fator de crescimento epidérmico.

IL-1 $\beta$  - Interleucina 1 beta.

IL-4 - Interleucina 4.

IL-6 - Interleucina 6.

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa.

Rpm - Rotações por minuto.

$\mu$ l - Microlitro.

## **I. INTRODUÇÃO**

Os concentrados plaquetários são produtos autólogos obtidos mediante a centrifugação de uma amostra sanguínea que consegue reunir plaquetas, fibrina e leucócitos e convertê-los numa forma clinicamente utilizável.

Hoje as plaquetas, além de serem um dos principais mediadores da homeostase e de intervirem na formação dos coágulos de fibrina, são consideradas de grande importância na regeneração tecidual. Tal é devido ao seu rico contributo em fatores de crescimento (FC), que promovem a reparação tecidual e influenciam a atividade das células hemáticas e vasculares durante a angiogénese e o processo inflamatório. (Langer e Gawaz, 2008; Stellos *et alii*, 2010).

Com o aumento do conhecimento das propriedades biológicas destes concentrados plaquetários, os protocolos iniciais evoluíram desde os concentrados de primeira geração, que incluem principalmente o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) (Marx *et alii.*,1998) e o Plasma Rico em Fatores de Crescimento (PRGF) (Anitua, 1999), até aos concentrados de segunda geração, que incluem o plasma rico em plaquetas e leucócitos (PRF) nos seus vários protocolos. Como referem Dohan *et alii.*, (2006a) a evolução substancial que há entre os concentrados de primeira e os de segunda geração, é que nos de segunda geração não há nenhuma manipulação do sangue do paciente com aditivos, anticoagulantes ou ativadores de coagulação, mas apenas o sangue do paciente centrifugado.

Com esta revisão bibliográfica, pretende-se clarificar as diferenças entre o concentrado plaquetário descoberto pelo Dr. Eduardo Anitua, o PRGF, e o concentrado plaquetário descoberto pelo Dr. Joseph Choukroun, o PRF, descrevendo o uso destes produtos na área cirúrgica da medicina dentária.

### **1. MATERIAIS E MÉTODOS**

Para o desenvolvimento deste trabalho foi feita uma pesquisa com as seguintes palavras chave: “PRGF”, “PRF”, “Growth factors”, “Surgery” “Sinus lift”, “Endoret”, “Alveolar socket preservation”, “Bone regeneration”, com o intervalo temporal compreendido entre 2000 e 2017 onde se aceitaram revisões bibliográficas, estudos randomizados e meta-análises. A presença de artigos menos recentes é devido à intenção de ter as definições originais dos autores que descobriram algumas técnicas específicas.

## II. DESENVOLVIMENTO

### 1. PRGF

Com recurso aos vários estudos realizados pelo Dr. Eduardo Anitua foi possível desenvolver um protocolo de obtenção de agregados plaquetários ricos em FC conhecido como tecnologia *endoret*. Este concentrado plaquetário é considerado de primeira geração uma vez que o seu protocolo compreende a utilização de um anticoagulante e de um ativador da coagulação, agentes que atuam sobre a colheita de sangue feita ao paciente, para chegar ao resultado final que irá atuar através um vasto número de FC causando efeitos como: diferenciação tecidual, angiogénese, ação anti-inflamatória local e anti-edemica local. Este concentrado plaquetário tenta mimetizar o processo natural de saúde tecidual, acelerando-o através da utilização de moléculas bioativas autólogas, que se agrupam nas plaquetas, as quais são utilizadas como reservatório e veículo de um grande reportório de proteínas e FC (Albanese *et alii*, 2013).

Para Anitua *et alii.*, (2012) o PRGF é uma tecnologia inovadora que permite formular a partir do plasma do paciente, um derivado rico em fatores de crescimento que irão melhorar as etapas de cicatrização tecidual.

#### 1.1. Protocolo de obtenção do PRGF

Segundo Anitua *et alii.*, (2012) para obter o PRGF foi desenvolvido um protocolo dinâmico e versátil que permite obter formulações de grande potencial terapêutico. Para realizar este protocolo, é preciso retirar o sangue ao paciente, encher 4 tubos, cada um de 9ml que contém no seu interior Citrato de Sódio 3,8% que funciona como anticoagulante, para preservar as plaquetas. Os 4 tubos são centrifugados numa centrifugadora específica (PRGF System IV, BTI-Biotechnology Institute, Vitoria, Spain), segundo parâmetros específicos para a preservação das plaquetas e a eliminação dos leucócitos, ou seja, 8 minutos com uma velocidade de 580G ou 1850rpm. Após a centrifugação, nos tubos formam-se 3 estratos: uma camada superior amarelada, o plasma, que contém as plaquetas, que têm uma maior concentração na zona próxima ao “*buffy coat*”; a camada onde ficam presos os leucócitos, chama-se “*buffy coat*” e por fim uma camada avermelha que contém os glóbulos vermelhos do sangue. A camada amarelada que contém as plaquetas, pode ser dividida em dois dependendo da concentração respetiva que estas células têm; a fração superior é “pobre” em

plaquetas, a fração inferior é a camada “rica” em plaquetas, que conterà 2 a 3 vezes a concentração de plaquetas em comparação com as do sangue (Fig.1) (Anitua *et alii*, 2015).

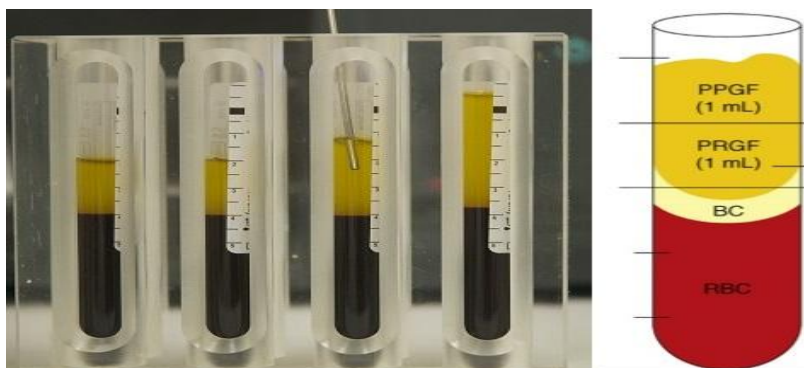


Figura 1: Estratos que se formam após a centrifugação do PRGF (adaptado de Anitua *et alii*. 2006).

Com o objetivo de juntar as mesmas frações presentes nos 4 tubos, foi desenvolvido um dispositivo para a transferência do plasma, chamado “*Plasma transfer device*” (PTD). Este é um dispositivo de aspiração estéril, mais rápido e certo do que uma pipeta tradicional. Com o dispositivo PTD, extrai-se primeiro a parte do plasma “pobre” em plaquetas de cada tubo, e junta-se tudo num novo frasco. É importante deixar sempre 2ml de plasma acima do “*buffy coat*”, pois estes dois mililitros representam o plasma “rico” em plaquetas. Uma vez que todo o plasma “pobre” em plaquetas é colhido e junto num novo frasco, adiciona-se um ativador, cloreto de cálcio (20µl de Cloreto de cálcio por cada 1ml de plasma pobre em plaquetas), que além de formar uma membrana a uma velocidade que permite controlar o processo, evita o uso de trombina exógena, que poderia ser uma fonte de reação imunológica. O cloreto de cálcio ativa a coagulação e depois de 15/20 min forma-se uma membrana que pode ser utilizada nos procedimentos cirúrgicos regenerativos. O tempo de formação da membrana pode ser diminuído se o derivado for colocado numa estufa a 37°C (Anitua *et alii*, 2012).

## 1.2. Formas de apresentação do PRGF

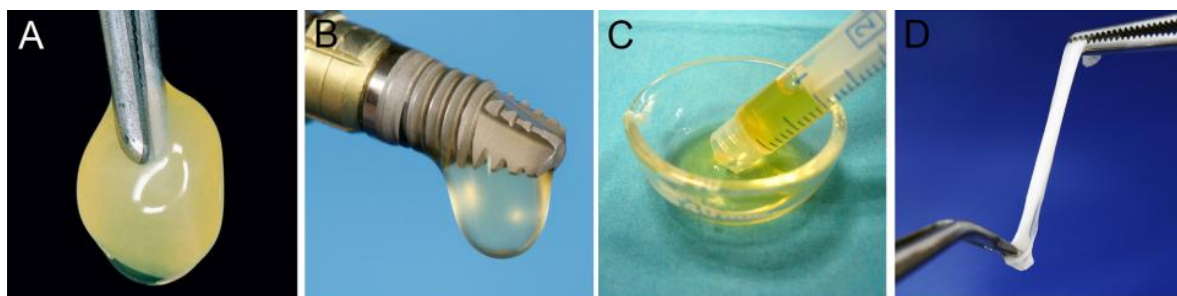


Figura 2: Formas de apresentação do PRGF. A) Coagulo – B) Líquido ativado – C) Sobrenadante – D) Membrana de fibrina (Adaptado de Anitua *et alii*., 2015).

-*Coágulo PRGF*: quando o líquido PRGF é ativado, em aproximadamente 3-5 minutos, forma-se uma matriz tridimensional que inclui FC, proteínas plasmáticas e plaquetas. Pode ser usado em várias aplicações, como o tratamento das úlceras, fecho de feridas, modelação de tecidos, além disso, esta formulação pode ser combinada com outros materiais, como o osso autólogo e osso bovino liofilizado (Fig 2, A) (Anitua *et alii*, 2006a; 2008).

-*Líquido PRGF ativado*: é o líquido formado pela parte rica em plaquetas, que só é ativado quando deve ser utilizado. A sua ativação através do Cloreto de cálcio, permite-lhe que os conteúdos proteicos e os FC sejam libertados. Quando se trabalha com implantes dentários, é importante embeber o implante neste líquido, sendo que este líquido produz a bio ativação da superfície implantar (Fig 2, B) (Anitua *et alii*, 2006b).

-*Sobrenadante PRGF*: é o líquido que sobra da formação da membrana obtida através da ativação da parte “pobre” em plaquetas do sangue. Este líquido contém varias proteínas plasmáticas e plaquetas. É um excelente meio de cultivo para manter as células primárias e o osso agregado (Fig 2, C) (Anitua *et alii*, 2009).

-*Membrana de fibrina autóloga*: Membrana formada pela retração do coágulo obtido através da colheita das partes “pobres” em plaquetas, forma-se depois de 15-20 minutos após ter sido ativada com o Cloreto de cálcio. Esta preparação permite obter uma membrana de fibrina densa, elástica e totalmente biocompatível que pode ter varias aplicações na medicina dentária (Fig 2, D) (Anitua *et alii*, 2012).

## **2. PRF**

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos desenvolvida por Choukroun e colaboradores é um biomaterial autólogo, que pode ser chamado também L-PRF, para evidenciar a presença dos leucócitos (Dohan *et alii*, 2006a; 2009).

A 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 alii*, 2006).

O L-PRF é um agregado plaquetário tridimensional formado por espessas fibras de fibrina, onde ficam retidos componentes celulares e proteicos do sangue. Rico em fibrina, plaquetas, leucócitos e citoquinas, o L-PRF age como um regulador imunitário com capacidade de controlo do processo inflamatório e ainda liberta os FC retidos na sua malha de fibrina de

forma lenta e contínua por cerca 7-11 dias (Dohan *et alii*, 2009).

O PRF classifica-se como um concentrado plaquetário de segunda geração, por não ter no seu protocolo algum tipo de manipulação do sangue do paciente, não requer anticoagulantes ou qualquer outro agente gelificante, sendo tudo um processo fisiológico (Dohan *et alii*, 2006b).

Por Inchingolo *et alii.*, (2012) a falta de anticoagulante permite a ativação das plaquetas em contato com o tubo, desencadeando o processo de coagulação. O fibrinogénio é inicialmente concentrado na parte superior do tubo, mas quando entra em contacto com a trombina, normalmente presente no sangue, é convertido em fibrina. Esta malha de fibrina depois vai reter as plaquetas. É importante para obter um produto clinicamente válido que haja pouco tempo entre a colheita do sangue até à sua centrifugação, caso contrário, o fibrinogénio será convertido em fibrina em todo o tubo, e tal vai resultar numa quantidade mínima de PRF, com pouca resistência, sendo assim, inutilizável (Dohan *et alii*, 2006a; Giannini *et alii*, 2015).

Segundo Marrelli *et alii.*, (2013) o PRF mostrou-se capaz de estimular a osteogénese em adição à angiogénese. Além disso, fornece uma malha de fibrina que permite a migração celular e estes são os aspetos fundamentais para o processo de regeneração tecidual. Todas as aplicações clínicas do PRF evidenciam uma cicatrização acelerada dos tecidos, através do desenvolvimento de uma eficaz neovascularização, tendo assim uma rápida remodelação dos tecidos, com a quase total ausência de infeções (Kumar e Shubhashini, 2012).

## **2.1 Protocolo para a preparação do L-PRF**

A preparação do L-PRF requer uma máquina centrifugadora adequada e um kit para a colheita do sangue. É preciso tirar sangue do paciente para encher 4 tubos (*Intra-spin 9ml glass-coated plastic tubes, intra-lock*) de 9ml. Os tubos não contêm anti-coagulante, por isso a colheita deve ser rápida e os tubos devem ser imediatamente centrifugados. A centrifugação dos tubos com o sangue é programada para ser a 2700rpm durante 12 minutos em pacientes saudáveis e desde 15 até 18 minutos em pacientes que tomam anti-coagulantes (Dohan *et alii*, 2006a).

O resultado da centrifugação é um coágulo de fibrina obtida no meio do frasco, entre os glóbulos vermelhos que ficam no fundo do tubo e o plasma acelular no topo do tubo (Fig. 3, A). Daí, a membrana de fibrina vai ser removida com uma pinça. Quando a membrana é retirada da parte central do tubo, ficam retidos na membrana alguns restos de glóbulos vermelhos que devem ser retirados com uma espátula, com cuidado para não danificar a “cabeça” do PRF que é a parte mais rica em leucócitos (Fig. 3, B). Uma vez que a membrana

foi separada dos restos de glóbulos vermelhos, esta vai ser colocada no PRF box (Fig. 3, D) vai ser coberta e ligeiramente pressionada por 1 minuto para libertar o exsudado que contem no seu interior. Este exsudado pode ser depois utilizado para hidratar materiais de enxertos, membranas próprias do PRF ou armazenar enxertos autólogos (Dohan *et alii*, 2006a).

Uma vez retirado o exsudado, a membrana está pronta para ser utilizada na cirurgia. Um outro tipo de preparação das membranas, é através da utilização dos cilindros presentes no Box L-PRF. Ou seja, uma vez que a membrana é preparada, esta vai ser colocada nos cilindros presentes na box e vai ser comprimida através de um pistão, assim vão se formar discos de L-PRF de 1cm de diâmetro, que podem ser utilizados principalmente para o preenchimento do alvéolo pós-extração (Fig. 3, C) (Toffler *et alii*, 2009; Kumar e Shubhashini, 2012).

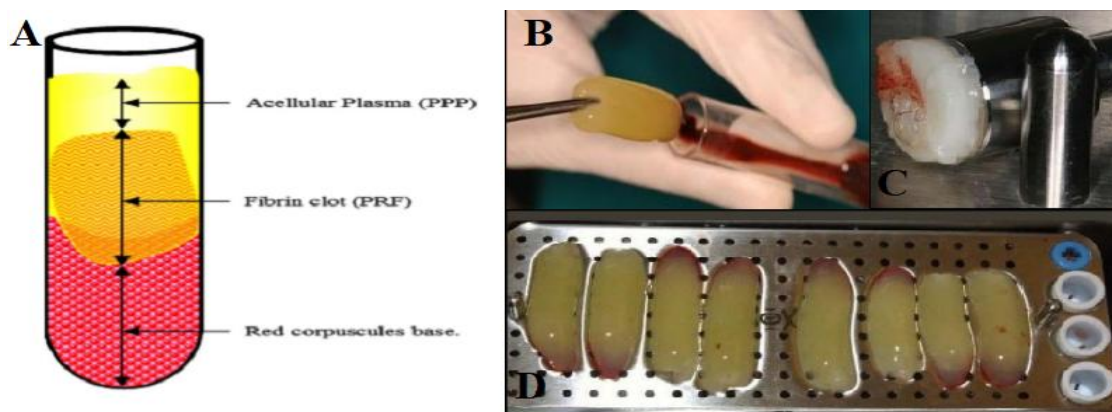


Figura 3: A) Produtos obtidos da centrifugação do PRF. B) Extração da membrana PRF. C) Plugs PRF. D) Box PRF (Adaptada de Toffler *et alii*, 2009, Del Corso *et alii*, 2010).

### 3. FATORES DE CRESCIMENTO

Como refere Kaigler (2006) os FC são mediadores biológicos naturais que regulam importantes eventos celulares envolvidos na reparação tecidual. Produzidos por células do próprio tecido, estão presentes em maior concentração quando há necessidade de remodelação ou reparação, desempenhando papéis importantes nos processos de proliferação celular, diferenciação, quimiotaxia, formação de matriz, angiogénese, mitogénese, através da ligação com recetores específicos da superfície celular.

#### 3.1. Fatores de crescimento plaquetários

As propriedades biológicas dos concentrados plaquetários exploram o potencial de vários FC derivados das plaquetas, tais como PDGF, TGF- $\beta$ , EGF, VEGF, IGF-I, HGF, obtidos através de centrifugação, para induzir várias funções como por exemplo a quimiotaxia, angiogénese,

proliferação e diferenciação representando assim uma mais valia terapêutica para uma mais rápida e efetiva regeneração dos tecidos duros e moles (Anitua *et alii*, 2004; 2006c).

VEGF: (FC vascular endotelial): Este FC, foi referenciado por Ferrara (2001) como uma proteína sinalizadora que estimula o crescimento angiogénico com grande especificidade para as células do endotélio vascular. Esta especificidade, permite uma resposta angiogénica pronunciada, estimulando a quimiotaxia e a proliferação das células endoteliais. Nor (2001) demonstrou que este FC funciona como regulador da permeabilidade vascular, processo fundamental para o início da angiogénese, além de ter um papel importante na regeneração do tecido ósseo. Assim sendo, como referem Di Alberti e colegas (2013), este FC terá um papel importante no suprimento sanguíneo para a regeneração tecidual, na aplicação de implantes.

PDGF: (FC derivado das plaquetas): Este FC é uma proteína existente maioritariamente nos grânulos  $\alpha$ -plaquetários, que é libertada durante a cascata de coagulação. A atuação e o efeito do PDGF são dependentes da presença ou não de outros FC, tendo propriedades quimiotáticas para fibroblastos, macrófagos e leucócitos (Schmidt, Chen e Lynch, 2009).

Segundo Caplan e Correa (2009) o alvo do PDGF é principalmente o osso, dado que este FC influencia o seu metabolismo de reparação, estabilizando novos vasos sanguíneos e ativando a quimiotaxia dos osteoblastos, favorecendo assim a reparação das fraturas. É o primeiro FC presente numa ferida e responsável pela cicatrização do tecido conjuntivo através da síntese de proteínas e de colagénio.

TGF-B: (FC de transformação  $\beta$ ): como refere Miyazono (2000) o TGF- $\beta$  é uma citocina que tem um papel regulador no crescimento, proliferação, adesão e apoptose de vários tipos celulares sendo fundamental no processo de imunidade. O TGF-  $\beta$  tem poder de quimiotaxia e é mitogénico, atraindo células indiferenciadas para o local do defeito a reparar, induzindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e condroblastos. O lançamento e a bio ativação deste FC contribui para as primeiras respostas reparadoras celulares induzindo a síntese de proteínas da matriz extracelular e da cicatrização (Zhao *et alii*, 2010).

EGF: (FC endotelial): Este FC promove a quimiotaxia e a mitogénese em células epiteliais, mesenquimais e fibroblastos, atuando sobre a regeneração de vários tecidos. O EGF das próprias células epiteliais estimula a proliferação epitelial peri implantar e inicia a formação do epitélio juncional peri-implantar. O EGF da saliva participa neste processo, pois os seus níveis aumentam muito quando ocorrem cirurgias orais (Alberto *et alii*, 2010).

IGF-I: (FC insulínico): como referem Kurten e colegas (2005) o fator de crescimento insulínico é sintetizado por quase todos os tecidos, encontrando-se em grandes quantidades no osso, sendo um importante mediador do crescimento, diferenciação e transformação celular, tendo o papel de estimulação dos osteoblastos. Além disso, este FC está envolvido na migração dos queratinócitos e cicatrização das feridas (Govoni, 2011).

HGF: (FC epidérmico): Este FC regula o crescimento, a migração e a morfogénese celular e tem um papel importante na cicatrização das feridas através da interacção com o epitélio mesenquimal (Anitua *et alii*, 2012).

### 3.2. Fatores de crescimento leucocitários

Como referem Dohan *et alii* (2006c) no PRF, em oposição ao PRGF, foi identificada a presença de leucócitos, isso pode explicar a redução dos processos infecciosos pós-operatórios quando o PRF é utilizado como aditivo cirúrgico. Na aplicação do PRF, os leucócitos que ficam no seu interior difundem numerosas citocinas em reação aos fenómenos hemostáticos e inflamatórios. É possível individualizar 5 mediadores celulares no interior do PRF, que, assim como as plaquetas, ficam presos nas malhas de fibrina e lentamente são libertados. Pelo seu conteúdo o coágulo de PRF pode ser considerado como uma matriz imune organizada, sendo que, pelas propriedades quimiotáticas e pela sua capacidade de facilitar o acesso ao local lesado (neovascularização) destas citocinas, a capacidade de defesa do L-PRF contra as infeções é bastante significativa. As citocinas leucocitárias presentes no L-PRF são:

-Citocinas Pro-inflamatórias:

-IL-1 $\beta$  (Interleucina 1- $\beta$ ): Mediador chave do controlo da inflamação. A sua principal atividade é a estimulação dos linfócitos T-helper. Em combinação com o TNF- $\alpha$ , poderá estar implicado na osteólise, onde ativa osteoclastos e inibe a formação óssea. O IGF-I e IL-1 $\beta$  regulam a angiogénese através da sobre regulação da expressão do VEGF (Dohan *et alii*, 2006c).

-TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral  $\alpha$ ): 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 atividade dos neutrófilos, mediando a adesão, quimiotaxia e desgranulação celular; interage com as células endoteliais induzindo o número de moléculas de adesão (Arosa, Cardoso e Pacheco, 2012) (Dohan *et alii*, 2006c).

-Citoquinas Anti-inflamatórias:

-IL-4 (Interleucina 4): IL-4 induz a diferenciação de células T-helper em células Th2. Esta citocina suporta a proliferação e diferenciação das células B ativas. Durante a inflamação, esta citocina ajuda a cicatrização regulando negativamente a citotoxicidade celular e inibindo a IL-1 e a TNF- $\alpha$  e induzindo a IL-10. IL-4 é um potente indutor do recetor antagonista da IL-1 (IL-Ra), que contribui para ações anti-inflamatórias neutralizando os efeitos da IL-1, controlando assim, a dor pós-cirúrgica (Dohan *et alii*, 2006c).

-IL-6 (Interleucina 6): Segundo Kumar e Shubhashini (2012) a IL-6 é uma citocina multifuncional, produzida por fibroblastos, células endoteliais, monócitos e macrófagos e foi originalmente identificada como um fator de diferenciação de células B, induzindo a maturação final destas em células produtoras de anticorpos. Está envolvida na resposta de fase aguda da inflamação, partilhando algumas ações com a IL-1. Além disso, a IL-6 é um fator acessório essencial para a ativação e proliferação das células T. Estimula a síntese de IL1 Ra induzindo um *feed-back* negativo na cascata inflamatória da IL-1 e TNF (Arosa, Cardoso e Pacheco, 2012) (Dohan *et alii*, 2006c).

## **4. APLICAÇÕES DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS EM CIRURGIA NA MEDICINA DENTÁRIA**

### **4.1. Membranas utilizadas nas recessões gengivais**

Múltiplas ou únicas a membrana pode ser utilizada como uma matriz tecidual, que uma vez colocada no lugar da recessão garante a angiogénese e, por isso, a saúde e continuidade do novo tecido. Podem ser utilizadas duas técnicas cirúrgicas, com diferentes objetivos: a utilização de membrana de fibrina juntamente com a técnica de retalho deslocado lateralmente para o tratamento de um defeito de recessão isolado que relata a cobertura total da raiz com um estado do tecido gengival excelente após 6 meses ou por outro lado, há estudos que relatam que a adição de uma membrana de fibrina posicionada sob o retalho avançado posicionado coronalmente (MCAF- *modified coronally advanced flap*), evidencia um recobrimento da raiz inferior mas um ganho adicional de espessura de gengiva quando comparado com MCAF sozinho (Kumar e Shubhashini, 2012).

-A membrana pode ser colocada em baixo do retalho quando as condições são favoráveis, mas quando há situações com biótipos gengivais desfavoráveis não há problemas em deixar a

membrana exposta ao meio oral, porque sendo um produto natural e autólogo do paciente, vai rapidamente (1 dia após já se nota) formar novos vasos sanguíneos ao longo da fibrina da membrana e por isso vai formar-se novo tecido saudável (Fig 4, A) (Jankovic *et alii*, 2012).

#### **4.2- Membranas utilizadas como único biomaterial para regenerar um defeito intra-ósseo durante a raspagem radicular**

Quando estamos em presença de um defeito ósseo angular junto à raiz, as membranas podem funcionar como uma barreira física e biológica que favorece a chegada à zona do defeito dos osteoblastos, inibindo os fibroblastos. Por isso enche-se o defeito ósseo com as membranas e depois isola-se a zona, suturando em cima do defeito uma outra membrana, criando na zona do defeito um ambiente favorável ao crescimento ósseo (Fig. 4, B) (Fuerst, 2004; Sharma e Pradeep, 2011).

#### **4.3- Membranas utilizadas no preenchimento do alvéolo dentário pós extração**

Segundo Tan e colegas (2012) quando se faz uma exodontia, o osso alveolar sofre um processo fisiológico chamado de atrofia. Para uma posterior reabilitação com os implantes, é fundamental que haja uma boa preservação da crista alveolar. Os concentrados plaquetários ajudam neste objetivo, uma vez que o dente é extraído, o alvéolo vai ser preenchido com a membrana (no caso do PRF usam-se os Plugs PRF), recoberto por uma outra membrana no topo da crista, fechando a ferida com uma sutura. Os estudos que experimentaram o uso de concentrados plaquetários na preservação alveolar, referem resultados ótimos, com valores de atrofia alveolar diminuídos para metade quando comparados com extrações sem o uso dos concentrados plaquetários (Choukroun *et alii*, 2006; Tan *et alii*, 2012).

Para Del Corso *et alii* (2010) nesta situação, as membranas de fibrina irão agir como um coágulo sanguíneo estável. A utilização da membrana de fibrina, influencia a qualidade óssea que após 4 meses apresentam os alvéolos tratados com os concentrados plaquetários, que irão ter uma histologia semelhante ao osso nativo. Este protocolo irá proporcionar um mais rápido e eficaz fecho da ferida conjuntamente com menor dor e inflamação local pós-extração, como referido pelos pacientes (Fig.4, C) (Mozzati *et alii*, 2014; Yelamali *et alii*, 2015).

#### 4.4- Membranas utilizadas nas técnicas para o levantamento do seio maxilar

Segundo Pjetursson & Lang (2014) o tipo de abordagem para a elevação do seio maxilar vai variar com a preferência do cirurgião, mas geralmente preconiza-se que se existir pelo menos 5 mm de altura óssea maxilar, esta já é suficiente para ancorar e estabilizar um implante, fazendo-se assim elevação atraumática (técnica de Summers) com simultânea instalação do implante. No caso de o osso ter uma altura menor que 5 mm geralmente adota-se a técnica da janela lateral (Caldwell-luc) (Temmerman *et alii*, 2017).

Dependendo das técnicas escolhidas, as membranas podem ser utilizadas em diferentes maneiras: no caso de se conseguir colocar o implante simultaneamente à elevação do seio, basta colocar as membranas compactando-as na região apical do implante através do leito ósseo ou da janela lateral, isto porque o próprio implante vai exercer um efeito de tenda. O implante não vai deixar que a movimentação da membrana de Schneider durante a respiração exerça pressão sobre o enxerto, o que poderia causar a sua reabsorção. O objetivo desta abordagem é usar as propriedades osteogênicas naturais da membrana de Schneider para ganhar os milímetros em falta de osso à volta dos implantes (Fig 4, D, E) (Mazor *et alii*, 2009; Taschieri *et alii*, 2011).

No caso de não se conseguir instalar o implante e se se ter de regenerar o seio através da janela lateral para só no futuro instalar o implante, aí deve-se misturar as membranas com algum material de enxerto particulado, pois esse enxerto é mais rígido e de lenta reabsorção, funcionando como um arcabouço e vai impedir a reabsorção causada pela pressão da respiração, reabsorção essa que podia acontecer se preenchesse todo o seio só com as membranas sem materiais de enxerto (Ali, Bakry e Elhakam, 2015).

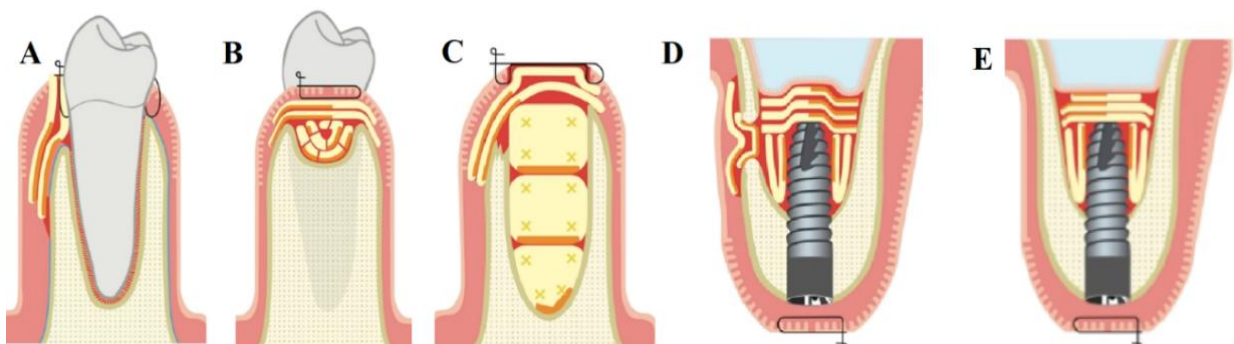


Figura 4: Utilizações das membranas de fibrina na cirurgia (Adaptado de Pinto, 2016).

### **III. DISCUSSÃO.**

#### **1. DIFERENÇAS ENTRE PRGF e PRF**

O objetivo da cirurgia moderna é o de conseguir ser o menos invasivo possível e atingir resultados clínicos excelentes em termos de tempo e qualidade dos novos tecidos. Nos últimos anos, foram desenvolvidas várias tecnologias, umas delas são o PRGF e o PRF (Tabela 1). As duas tecnologias, são classificadas como concentrados plaquetários, e como normal que seja, têm propriedades comuns, mas também diferentes. O PRGF, é classificado como um concentrado plaquetário de primeira geração, isso porque na sua preparação, é compreendida a utilização de um anticoagulante e de um agente gelificante. Estes produtos influenciam a velocidade e o modo de gelificação do PRGF, resultando como indispensáveis na sua preparação, fazendo com que haja uma estrutura tetra-molecular condensada das malhas de fibrina (Dohan *et alii*, 2012).

O PRF, é um concentrado plaquetário considerado de segunda geração, porque não há nenhuma manipulação do sangue do paciente, nem com anticoagulantes nem com qualquer agente gelificante, a formação da matriz de fibrina é feita de maneira fisiológica, assim que se obtém uma estrutura tridimensional da malha de fibrina (Dohan *et alii*, 2006a; 2009).

As junções bilaterais das membranas são formadas com altas concentrações de trombina, que permitem o espessamento dos polímeros de fibrina. No PRGF, onde as quantidades de trombina são modificadas pelo uso do ativador da coagulação, este processo de espessamento dos polímeros de fibrina, resulta na formação de uma rede rígida que vai prejudicar o aprisionamento das citocinas e a migração celular, mas esta rigidez vai favorecer a selagem dos tecidos biológicos (Giannini *et alii*, 2015).

No PRF as quantidades de trombina não são modificadas, sendo que o sangue do paciente não é tratado, isso leva a quantidades inferiores de trombina, que determinam a formação de uma rede flexível de fibrina capaz de favorecer o aprisionamento e a migração celular. São estas células aprisionadas na fibrina que vão ser indispensáveis na eliminação de patógenos, evitando assim contaminações. Assim sendo esta conformação de fibrina é rapidamente invadida por leucócitos, que são as primeiras células a começar a neo-angiogênese e o VEGF contido no seu interior age como um potente FC vascular. A conformação espacial da fibrina obtida no PRF, vai funcionar como um suporte para as plaquetas e como um sinal quimiotático para as células estaminais que vão ser concentradas na zona cirúrgica (Marrelli, Paduano e Tatullo, 2015).

Como referem Dohan e colegas (2012) os dois protocolos diferenciam-se pela presença de leucócitos no PRF, que estão completamente ausentes no PRGF. Estes leucócitos presentes no PRF, são principalmente da fase crónica da inflamação e por isso aceleram a fase de reparação tecidual. Os linfócitos que caracterizam a fase proliferativa da reparação tecidual, libertam citocinas anti-inflamatórias como a IL-4 que vão diminuir a dor pós-operatória (Dohan *et alii*, 2006b).

Outra diferença entre os dois protocolos é a complexidade de obtenção dos produtos clinicamente utilizáveis, enquanto que no PRGF, há uma manipulação do sangue que deve ser bem doseada para obter um bom produto, no PRF a única coisa que requer mais atenção é o *timing* que deve haver desde a recolha do sangue até a centrifugação do mesmo. Além disso, mudam também os custos dos dois protocolos, sendo que o PRF é mais barato, pois não se utilizam produtos adicionais, mas só o sangue do paciente (Dohan *et alii*, 2009).

Também o tempo de obtenção dos dois protocolos é diferente, sendo que no PRF a membrana é o resultado da centrifugação, ou seja, em 12 minutos a fibrina já é utilizável, diferentemente do PRGF, onde é preciso ativar as plaquetas e além dos 8 minutos da centrifugação, deve-se esperar mais 15/20 minutos para a formação da membrana de fibrina (Giannini *et alii*, 2015).

Portanto como referem Tatullo e colegas (2012) no protocolo PRF, não há alguma manipulação do sangue, em oposição ao PRGF, respeitando assim totalmente a diretiva europeia 2004/03/CE. Além disso, a simplicidade do protocolo de obtenção do PRF, reduz a percentagem de erros possíveis na sua preparação e utiliza uma maior parte da amostra sanguínea do paciente enquanto que no PRGF a parte utilizada é só de 20%. De acordo com os autores dos vários artigos referenciados neste trabalho, a principal evolução dos concentrados plaquetários, reside na obtenção de um produto completamente autólogo, sendo assim, menor o risco de rejeição por parte do paciente e maior a sua biocompatibilidade uma vez que, o produto utilizado, é obtido através de processos fisiológicos do mesmo paciente. Também a incorporação dos leucócitos é uma importante evolução dos concentrados plaquetários, sendo que, quando o concentrado é obtido sem a adição de anti-coagulante, as concentrações do VEGF e das citocinas pro-angiogénicas, libertadas pelos leucócitos, facilitam a angiogénese e conseqüentemente a saúde tecidual. Além de conseguir controlar a fase inflamatória, principalmente através da libertação da IL-4, por esta razão podemos concluir que o PRF é um concentrado plaquetário mais eficaz do que o PRGF.

Com certeza, os concentrados plaquetários representam uma grande inovação para a área cirúrgica da medicina, mas para esclarecer alguns tópicos mais específicos, são necessários mais estudos objetivos, com follow-up maiores.

A dificuldade principal deste trabalho, foi a de comparar de maneira certa e objetiva os vários artigos analisados, sendo que a maioria dos artigos, são desenvolvidos pelos criadores das técnicas ou por laboratórios que tentam publicitar materiais e protocolos específicos.

Tabela 1 - Principais diferenças entre PRF & PRGF- (Adaptada de Giannini *et alii.*, 2015).

| <b>CONCENTRADO PLAQUETÁRIO</b>                             | <b>PRF</b>  | <b>PRGF</b>     |
|--|---|-----------------|
| <b>Protocolo</b>   | Simples   | Complexo        |
| <b>Uso de anticoagulantes</b>                              | Não   | Sim             |
| <b>Velocidade de obtenção</b>                              | Rápida  | Lenta           |
| <b>Possibilidade de erros no protocolo</b>                 | Muito baixa   | Possível        |
| <b>Custo do protocolo</b>                                  | Baixo   | Alto            |
| <b>Quantidade de fibrina obtida</b>                        | Alta  | Baixa           |
| <b>Velocidade de formação da fibrina</b>                   | Fisiológica   | Modificada      |
| <b>Morfologia da fibrina</b>                               | Tridimensional  | Tetra-molecular |
| <b>Quantidade de leucócitos presentes</b>                  | 65%   | 0%              |
| <b>Propriedade imunológicas</b>                            | Sim   | Não             |
| <b>Potencial neo angiogênico</b>                           | +++++   | ++              |
| <b>Potencial Osteocondutor</b>                             | +++   | ++              |
| <b>Propriedades mecânicas da membrana de fibrina</b>       | Boas  | Pobres          |
| <b>Utilização em recessão gengival</b>                     | As membranas de ambos os concentrados plaquetários têm as mesmas utilizações. |                 |
| <b>Utilização em defeitos intra-ósseos</b>                 |   |                 |
| <b>Utilização para Preenchimento alveolar pós extração</b> |   |                 |
| <b>Utilização para levantamento do seio maxilar</b>        |   |                 |

## IV. CONCLUSÃO

Podemos concluir, após uma atenta revisão bibliográfica dos artigos referenciados, que os concentrados plaquetários representam uma tecnologia inovadora em varias áreas da medicina, especialmente quando há um comprometimento da saúde tecidual. As formulações dos concentrados plaquetários ricos em fatores de crescimento, além dos resultados clínicos melhoram a qualidade de vida dos pacientes após intervenções cirúrgicas.

Claramente, as inovações, desde a primeira até aos de segunda geração, mudaram e melhoraram as qualidades dos produtos obtidos através da centrifugação, mas como foi referido durante a discussão, são necessários mais estudos para clarificar alguns tópicos específicos destes produtos como por exemplo a contagem certa das plaquetas e dos fatores de crescimentos libertados, assim como dos leucócitos. Ainda em relação aos mesmos, seria indispensável aumentar o acompanhamento, e padronizá-los de maneria a poder assim obter informações específicas sobre os vários concentrados plaquetários presentes hoje em dia na medicina dentária.

Alguns estudos apontam que estes concentrados plaquetários utilizados como únicos materiais de regeneração, não são eficazes em casos pontuais, como por exemplo no tratamento da peri-implantite.

Com certeza ouve uma grande evolução devida a ausência de manipulação sanguínea, com a obtenção de um produto completamente autólogo, com melhores propriedades ao nível biológico e imunológico, mesmo por esta razão podemos concluir que entre os dois protocolos analisados, o melhor é o PRF, em termos de facilidade de obtenção, tempo, custo e algumas propriedades biológicas e imunológicas.

## BIBLIOGRAFIA:

- Albanese, A. *et alii.* (2013). Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing*, 23(10), pp.2-10.
- Alberto, C. *et alii.* (2010). Saucerização de implantes osseointegrados e o planejamento de casos clínicos ortodônticos simultâneos. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 5(3), pp. 19-30.
- Ali, S., Bakry S. e Elhakam H. (2015). Platelet-rich fibrin in maxillary sinus augmentation: a systematic review. *Journal of Oral Implantology*, 41(6), pp. 746–53.
- Anitua, E, *et alii.* (2006a). Autologous fibrin matrices: A potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *Journal of Biomedical Material Research Applied*, 77A (2), pp. 285-283.
- Anitua, E. *et alii.* (2004). Autologous platelets as a source for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis*, 91(1), pp. 4-15.
- Anitua, E. *et alii.* (2006b). Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. *Journal of Oral Implantology*, 32(2), pp. 72-76.
- Anitua, E. *et alii.* (2006c). New insights into and novel applications for platelets-rich fibrin therapies. *Trends in Biotechnology*, 24(5), pp.227- 234.
- Anitua, E. *et alii.* (2008). Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *Journal of Biomedical Material Research Applied Biomaterials*, 84B (2), pp. 415-421.
- Anitua, E. *et alii.* (2009). Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Proliferation*, 42(1), pp. 162-170.
- Anitua, E. *et alii.* (2012). Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 22(1), pp. 25-32.
- Anitua, E. *et alii.* (2015). High-throughput proteomic characterization of plasma rich in growth factors (PRGF–Endoret)-derived fibrin clot interactome. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9(11), pp. E1- E12.
- Arosa, F., Cardoso, E. e Pacheco, F. (2012). *Fundamentos de Imunologia*. 2ed. Lisboa, Lidel Edições Técnicas Lda, pp. 303-315.
- Caplan, A. e Correa, D. (2011). PDGF in bone formation and regeneration: New insights into a novel mechanism involving MSCs. *Journal of Orthopaedic Research*, 29(12), pp. 1795-1803.
- Choukroun, J. *et alii.*, (2006). 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. 56–60.

Del Corso M, *et alii.* (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(9), pp. 27–35.

Di Alberti, L. *et alii.* (2013). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) mRNA in healthy bone tissue around implants and in peri-implantitis. *Minerva Stomatol*, 67(3), pp. 100-107.

Dohan, D.M. *et alii.* (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 Endodontology*. 101(3), pp. 37-44.

Dohan, D. M. *et alii.* (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 alii.* (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, E. *et alii.* (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, E. *et alii.* (2009). Slow release growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, 27(1), pp.63-9

Dohan, E. *et alii.* (2012). Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), pp.1145-1152.

Ferrara, N. e Gerber, H. (2001). The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol*, 106(4), pp. 148-156.

Fuerst, G. *et alii.* (2004). Effects of platelet-released growth factors and collagen type I on osseous regeneration of mandibular defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(9), pp.784-790.

Giannini, S. *et alii.* (2015). Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 19(6), pp. 927-930.

Govoni, K. (2011). Insulin-like growth factor-I molecular pathways in osteoblast: Potential targets for pharmacological manipulation. *Current Molecular Pharmacology*, 5(2), pp.143-52.

Inchingolo, F. et alii. (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.

Jankovic, S. et alii. (2012). Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 32(2), pp. 41-50.

Kaigler, D., Cirelli, J. e Giannobile, W. (2006). Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 3(5), pp. 647-662.

Kumar, R. e Shubhashini, N. (2012). Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell and Tissue Banking*, 14(3), pp. 453-463.

Kurten, R. et alii (2005). Coordinating epidermal growth factor-induced motility promotes efficient wound closure. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 288(1), pp. 109-21.

Lalani, Z. et alii. (2003): Spatial and Temporal Localization of transforming Growth Factor- $\beta$ 1, Bone Morphogenetic Protein-2, and Platelet-Derived Growth factor-A in Healing Tooth Extraction Sockets in a Rabbit Model. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 61(9), pp.1061-1072.

Langer, H., Gawaz, M. (2008). Platelets in regenerative medicine. *Basic Research in Cardiology*, 103(4), pp. 299-307.

Marelli, M., Paduano, F. e Tatullo, M. (2015). Human Periapical Cyst-Mesenchymal Stem Cells Differentiate Into Neuronal Cells. *Journal of Dental Research*, 94(6), pp. 843-52.

Marrelli, M. e Tatullo, M. (2013). Influence of PRF in the healing of bone and gingival tissues. Clinical and histological evaluations. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17(14), pp. 1958-1962.

Mazor, Z. et alii. (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. 2056-2062.

Miyazono, K. (2000). Positive and negative regulation of TGF- $\beta$  signaling. *Journal Cell Science*, 113, pp.1101-1109.

Mozzati, M. et alii. (2014). Efficacy of plasma-rich growth factor in the healing of post extraction sockets in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 72(3), pp. 456-462.

Nor, J. E. et alii. (2001). Up-regulation of Bcl-2 in microvascular endothelial cells enhances intra-tumoral angiogenesis and accelerates tumor growth. *Cancer Research*, 61(5), pp. 2183-2188.

Pjetursson, B.E. e Lang, N.P. (2014). Sinus floor elevation utilizing the transalveolar approach. *Periodontology 2000*, 66(1), pp. 59-71.

Schmidt, M. B., Chen, E. H. e Lynch, S. E. (2006). A review of the effect of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis and Cartilage*, 14(15), pp. 403-412.

Sharma, A. e Pradeep, A.R. (2011) Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*. 82(10), pp. 1396-403.

Stellos, K. *et alii*. (2010). Platelets in regeneration. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 36(2), pp. 175-84.

Tan, W. L. *et alii*. (2012). A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research*, 23(5), pp. 1-21.

Taschieri, S. *et alii*. (2011). Postextraction osteotome sinus floor elevation technique using plasma-rich growth factors. *Implant Dentistry*, 20(6), pp. 418–424.

Temmerman, A., *et alii*. (2017). Volumetric changes of grafted volumes and the Schneiderian membrane after transcrestal and lateral sinus floor elevation procedures: A clinical, pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(6), pp. 1-12.

Toffler, M. *et alii*. (2009). Continuing Education Introducing Choukroun's Platelet Rich Fibrin (PRF) to the Reconstructive Surgery Milieu. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry*, 1(6), pp.21–31.

Yelamali, T. e Saikrishna, D. (2015). Role of Platelet Rich Fibrin and Platelet Rich Plasma in Wound Healing of Extracted Third Molar Sockets: A Comparative Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 14(2), pp. 410–416.

Zhao, L., Jiang, S. e Hantash, B. M. (2010). Transforming growth factor beta1 induces osteogenic differentiations of murine bone marrow stromal cells. *Tissue Engineering. Part A*, 16(2), pp.725-33.