

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
CURSO DE ODONTOLOGIA

WESLLEN CARLOS JESUS DE ANDRADE

**OBTENÇÃO DE FIBRINA RICO EM PLAQUETAS E APLICAÇÕES
CLÍNICAS**

SÃO PAULO
2018

WESLLEN CARLOS JESUS DE ANDRADE

**OBTENÇÃO DE FIBRINA RICO EM PLAQUETAS E APLICAÇÕES
CLÍNICAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
para obtenção do título de Pós-Graduação
de periodontia e Implantodontia da
Universidade Santo Amaro.

Orientadora: Claudia Renata Torres

**SÃO PAULO
2018**

WESLLEN CARLOS JESUS DE ANDRADE

OBTENÇÃO DE FIBRINA RICO EM PLAQUETAS E APLICAÇÕES CLÍNICAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado para obtenção do título de Pós-Graduação de periodontia e Implantodontia da Universidade Santo Amaro.

Data de Aprovação ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

(Orientadora) Professora Claudia Renata Torres

Prof. Dr. Ricardo Schmituz Jahn

Prof. Daniel Jonas Lowczyk

CONCEITO FINAL: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra aos meus pais Joana de Jesus Andrade e Jose Carlos Ferreira de Andrade, minha esposa, Jessica Silvia Santos de Andrade e aos meus irmãos, Lucas Carlos Jesus de Andrade e Tulio Carlos Jesus de Andrade pelo apoio, carinho e incentivo na realização deste sonho alcançado.

AGRADECIMENTOS

Eu tenho muito que agradecer, a começar pelo fato de estar vivo, e de poder compartilhar este trabalho com outros seres, iguais a mim, que gostam de se apoderarem dos conhecimentos herdados de nossos antepassados.

Agradeço a **Deus**, por me dar saúde e sabedoria para realização deste sonho.

A minha orientadora, **Prof. Claudia Renata Torres** que tenho o maior respeito e admiração, a qual me espelho e observo atentamente buscando orientação aos meus objetivos profissionais.

Ao **Dr. Prof. Ricardo Schmitutz Jahn** que tenho a maior amizade respeito e admiração.

Ao **Prof. Daniel Jonas Lowczyk** que tenho a maior amizade respeito e admiração.

A minha mãe, **Joana de Jesus de Andrade**, pela minha formação, incentivo e apoio a realização deste sonho.

Ao meu pai, **Jose Carlos Ferreira de Andrade**, pela minha formação pessoal e profissional ao qual tenho o maior respeito carinho e admiração.

A minha prima, **Clelia Santana**, pelo apoio para a realização deste curso.

A minha esposa, **Jessica Silvia Santos de Andrade**, pelo carinho, apoio e principalmente por entender minhas ausências nesses últimos dois anos, para que conseguisse chegar aonde cheguei.

Minha amiga, **Jessica Katayama** que tenho grande admiração, pela nossa amizade e pelo apoio e confiança em todos esses anos.

Quero muito agradecer também a todos os colegas de turma, especialmente a, Erica Lima, Iza Carla, Bruna Salomão, Keila, Larissa Gimenes, Natalia Ramaldes e Thierry Jácomo. Foi bom conviver com vocês, muito obrigado!

RESUMO

O presente trabalho sob o tema: “Obtenção de Fibrina rico em plaquetas e aplicações clínicas”, abordou aspectos interessantes sobre o uso de fibrina em procedimentos cirúrgicos e sua capacidade de cicatrização, destacando uma importante propriedade, pois consegue reproduzir a fase final da coagulação. Percebe-se que no campo da odontologia, há vários domínios de aplicação, do PRF, como aumento de tecido ósseo para implantodontia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas entre outros. Conclui-se que o alcance das aplicações do PRF é bastante amplo, porém, o conhecimento sobre este biomaterial, ainda se encontra limitado.

Palavras-chave: Fibrina; Plaquetas; Aplicações clínicas.

ABSTRACT

The present work, entitled "Fibrin-rich platelet and clinical applications", has addressed interesting aspects about the use of fibrin in surgical procedures and its healing capacity, highlighting an important property, since it can reproduce the final phase of coagulation. It can be noticed that in the dentistry field, there are several domains of application of the FRP, such as bone tissue augmentation for implantology, maxillary sinus lift, alveolar graft, aesthetic periodontal surgeries, among others. It is concluded that the scope of PRF applications is quite broad, but knowledge about this biomaterial is still limited.

Keywords: Fibrin; Platelets; Clinical applications.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PRF – Plasma Rico em Fibrina

PDGF –Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta

IGF – Índice de Fator de Crescimento

VEGF – Promotor de Crescimento Chave da Angiogênese

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2. PPP (camada de plasma pobre em plaquetas).....	22
Figura 3. Amostras de sangue sem adição de coagulantes.....	24
Figura 4. Centrifugação do material coletado.....	24
Figura 5. Obtenção de três camadas do material coletado.....	25
Figura 6. Coleta da fração imediata.....	26
Figura 7. Obtenção do coágulo PRF.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. PROPOSIÇÃO	12
3. REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 CONCEITO DE FIBRINA	13
3.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	14
3.3 FIBRINA E ADITIVOS CIRÚRGICOS.....	17
4. PROTOCOLO	22
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO.....	31
7.REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

Dentre os muitos desafios enfrentados pela pesquisa clínica está o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos que controlam a inflamação e melhoram a cicatrização. Neste sentido, após cada intervenção, os cirurgiões devem remodelar o tecido, buscando efetivar a cura e a sobrevivência do mesmo.

O sucesso de um procedimento, muitas vezes está no controle do processo inflamatório e na boa cicatrização. Assim, muitos métodos são usados pelos profissionais na área da saúde, buscando obter tais resultados satisfatórios, que trarão bem-estar ao paciente.

De acordo com Tunali, et al (2013), a aplicação do PRF tem sido comum, tanto na odontologia, cirurgias plásticas ou otorrinolaringologia. Assim, nota-se que o alcance das aplicações do PRF é bastante amplo, porém, o conhecimento sobre este biomaterial, ainda se encontra limitado.

Dada a relevância do assunto para a comunidade científica, o presente trabalho também apresentará uma consideração sobre o PRF e suas aplicações clínicas, uma vez que, muitas outras disciplinas cirúrgicas já tentaram realizar a aplicação do mesmo em diversas áreas cirúrgicas na pesquisa de em animais antes de aplicação no corpo humano.

2. PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem como proposição apresenta a obtenção de plasma rico em fibrina (PRF) e suas aplicações clínicas, por meio de uma revisão de literatura. Onde se apresentará primeiro o conceito de fibrina, depois a relação entre o plasma e a fibrina e por fim se a fibrina e os aditivos cirúrgicos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CONCEITO DE FIBRINA

Segundo Prakash e Thakur (2011), a cola de fibrina foi o primeiro aditivo cirúrgico a ser usado comercialmente na Europa em 1970. A cola de fibrina é uma importante propriedade, pois consegue reproduzir a fase final da coagulação, por agir independentemente a partir de agentes internos de coagulação.

Para Roy, Gerald e Sydorak, (1994, apud Cardoso e Lopes, 2015), a cola de fibrina é interessante pois consegue alcançar a hemostasia da ferida, mesmo havendo dificuldades de coagulação, devido a variados fatores. Outros aspectos que fazem da cola de fibrina um produto único é que, além de biodegradável ela não possui agentes tóxicos, promovendo o crescimento e a reparação dos tecidos.

A fibrina é a forma ativada de uma molécula plasmática chamada fibrinogênio. Trata-se de uma molécula solúvel fibrilar, presente de forma maciça no plasma e nas plaquetas, desempenhando um papel determinante na agregação plaquetária durante a hemostasia. O grânulo é transformado em um tipo de cola biológica capaz de consolidar a aglomeração inicial das plaquetas, constituindo assim um muro protetor durante o processo de coagulação. Na verdade, fibrinogênio é o substrato final de todas as reações de coagulação. Sendo uma proteína solúvel, o fibrinogênio é transformado em uma fibrina insolúvel polimerizando a cicatriz do ferimento (DOHAN, et al, 2006).

Para Cardoso e Lopes, (2015, p. 16):

Um estudo de Roy (1994) relata que, nos Estados Unidos, por razões como risco de hepatite, falta de disponibilidade comercial e a, até então, não aprovação do órgão americano de controle de medicamentos e alimentos Food and Drugs Administration (FDA), que significa Administração de Comidas e Remédios (em português), a cola de fibrina estava sendo subutilizada. Não obstante, na mesma época na Europa, a comercialização da cola de fibrina era viável e existiam ainda estudos e documentações de seus benefícios e eficácia. Ainda assim, questionou-se que os riscos da cola de fibrina homóloga poderiam ser evitados pela elaboração de um produto autólogo, resultando em uma maior aceitação e, portanto, uso, desde que não fosse de produção complexa, demorada ou dispendiosa. Por conseguinte, surgiu o segundo tipo de cola de fibrina, um biomaterial autólogo, preparado inteiramente a partir do próprio plasma do paciente em razão dos riscos de infecção cruzada.

Prakash e Thakur, (2011), mencionam que, dentre as aplicações clínicas da cola de fibrina estão os tratamentos de defeitos intraósseos, tratamento de recessão, regeneração óssea por ocasião do uso de implantes dentários, aumento do rebordo alveolar, enxerto ósseo na região do seio da face e ao se tratar feridas de extração. Porém se comparadas com as colas comerciais homólogas, a cola de fibrina possui menor resistência e maior fraqueza.

Entretanto, segundo Cardoso e Lopes (2015, p. 16) apesar de possuírem menor resistência, os efeitos da cola de fibrina são “benéficos em tecidos moles são bem estudados, no entanto, a sua contribuição para cirurgia óssea, e cirurgia periodontal continua controversa e requer uma pré - doação ou processamento dispendioso de sangue autólogo”

De acordo com Vinazzer (1985, apud Dohan, et al, 2006), apesar dos avanços alcançados em obter anti-hemorrágicos em técnicas cirúrgicas de forma eficaz, encontrar agentes hemostáticos continua a ser um problema persistente. Há uma grande variedade de agentes hemostáticos, tais como esponjas de colágeno, oxidados celulose e adesivos de cianoacrilato sintético. Dentro do protocolo terapêutico disponível, os adesivos de fibrina são os mais bem estudados, pois atuam realizando a polimerização da fibrina durante a hemostasia, amplificando de forma artificial.

No entanto, para Dohan (2006), durante um longo período de tempo, adesivos de fibrina têm sido criticados devido ao fato de que eles são produtos derivados de sangue. Produzido por indústrias farmacêuticas constituíam um risco de contaminação viral infinitamente pequeno. Apesar disso, atualmente a cola de fibrina ainda está sendo comercializada nos Estados Unidos.

3.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS

O plasma rico em fibrina (PRF) foi desenvolvido por Choukroun para ser usado em cirurgia buco-maxilo-facial e, no campo da odontologia, tem vários domínios de aplicação, como aumento de tecido ósseo para implantodontia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas, entre outros (LOPES; CARDOSO, 2015).

Durante PRF de processamento por centrifugação, as plaquetas foram ativadas e sua degranulação maciça implicaram numa citocina muito significativa.

Concentrado de plaquetas plasma rico em plaquetas e citocinas já tem sido quantificada em muitas configurações tecnológicas. Para realizar um estudo comparativo, os autores, a quantificam o PDGF-BB, TGFb-1 e IGF- dentro PPP (pobre em plaquetas sobrenadante de plasma) e PRF coagular soro de exsudato. Essas análises iniciais revelaram que a fibrina é lenta polimerização durante PRF (DOHAN, et al, 2006).

De acordo com os autores acima, tal processamento leva à incorporação intrínseca das cadeias de citocinas plaquetária nas malhas da fibrina. Este resultado implicaria que PRF, ao contrário de outros concentrados de plaquetas, seria capaz de liberar progressivamente citocinas durante matriz de fibrina remodelação.

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos derivados de megacariócitos da medula óssea medindo de 2 a 3mm de diâmetro. Elas contêm muitos grânulos, poucas mitocôndrias e 2 estruturas de membranas proeminentes: o sistema canalicular e o sistema tubular denso (PRAKASH; THAKUR, 2011).

De acordo com os autores acima, pode-se conceituar um grânulo como estruturas esféricas ou ovais com diâmetros variando de 200 a 500 nm cada, delimitado por uma membrana de unidade. Eles formam um armazenamento intracelular de proteínas vitais para cicatrização dos ferimentos, incluindo derivado de plaquetas fator de crescimento (PDGF), transformando o fator de crescimento (TGFb), e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-eu). O grânulo se funde com a membrana da célula de plaquetas após a ativação (LOPES; CARDOSO, 2015).

Pelo menos algumas proteínas secretoras são transformadas para um estado de bioativos. As proteínas ativas então são secretadas, permitindo que haja ligação entre os receptores das células alvo. Uma vez ligado a proteínas são ativados, resultando na expressão de um gene que sequencia, direciona a proliferação celular, a síntese de colágeno e assim por diante (PRAKASH; THAKUR, 2011).

Fatores de crescimento de plaquetas são uma fonte conhecida de cura de citocinas, utilizáveis para aplicações clínicas. Inúmeras técnicas de concentrados de plaquetas autólogo têm sido desenvolvidos e aplicados em cirurgias buco-maxilo-facial. (BURNOUF, et al, 2013).

O sangue é coletado com anticoagulante e então centrifugado muitas vezes a fim de descartar os glóbulos vermelhos e uma parte do plasma acelular inútil, recolhendo assim principalmente uma base de plaquetas. O último é colocado

novamente na solução em um plasma (rico em fibrinogênio), e injetado na local cirúrgico, mais frequentemente na presença de cálcio e trombina bovina (provocando a polimerização do fibrinogênio para ativação de fibrina e plaquetas) (LOPES; CARDOSO, 2015).

Atualmente, fatores de crescimento do próprio paciente do plasma rico em plaquetas e fibrina rico em plaquetas foram usados clinicamente para reparação e regeneração de tecidos defeituosos. O plasma rico em plaquetas e fibrina rico em plaquetas, ou seja, o gel de fibrina é formado a partir de sangue fibrinogênio e executa funções como um portador de fatores de crescimento (PRAKASH; THAKUR, 2011).

Segundo Burnouf, et al, (2013), a arquitetura de fibrina 3-dimensional é profundamente dependente do processo clínico polimerização tais como adição de trombina bovina maciça. Atualmente, parece a polimerização lenta durante a preparação da PRF gere uma rede de fibrina, muito semelhante ao natural. Essa rede leva a uma migração celular mais eficiente e proliferação e, portanto, a cicatrização.

Durante o processamento da PRF, leucócitos podem também secretarem citocinas em reação aos fenômenos de hemostático e inflamatórias induzida artificialmente no tubo centrifugado. Por meio do estudo realizado, se comprometeram em quantificar 5 mediadores celulares significativas dentro plasma pobre de plaquetas sobrenadante e soro de exsudato de coágulo PRF: 3 proinflammatory citocinas (IL-1b, IL-6 e TNF-a), um anti-inflamatório citocinas (IL-4) e um promotor de crescimento chave da angiogênese (VEGF). Os dados desse trabalho estão correlacionados com o plasma obtido no sangue e no soro (sangue registrado) (DOHAN, et al, 2006).

De acordo com Burnouf, et al, 2013, o interesse clínico em biomateriais rico em fator de crescimento de plaquetas (muitas vezes conhecido como gel de plaquetas ou plasma-plaquetas-rico) surgiu mais recentemente. Géis de plaquetas são utilizados em situações clínicas, cura de ferimentos e reparação tecidos de moles e de difícil acesso. As aplicações incluem a cura de úlceras persistentes e queimaduras e estimulação da regeneração de tecido ósseo em Odontologia, Implantologia e maxilo-facial e cirurgia plástica.

Há eficácia clínica e radiográfica de autóloga rico em plaquetas fibrina (PRF) e autólogo plasma (PRP) no tratamento de lesões de furca mandibular grau II de

indivíduos com periodontite crônica. A identificação dos influentes clínicos e as medições para os resultados do tratamento são fundamentais para otimizar os resultados da terapia de cirurgias periodontais (BAJAJ, et al, 2013).

3.3 FIBRINA E ADITIVOS CIRÚRGICOS

As plaquetas são cruciais para a reparação tecidual, remodelação vascular e regeneração de órgão. As plaquetas proteômicas são extremamente complexas, ativando a liberação de plaquetas, expondo suas moléculas biologicamente ativas na superfície causando assim o crescimento e morfogênese de células (BURNOUF, et al, 2013).

In vivo, estas moléculas são liberadas para o ambiente através da formação de vesículas secretoras, que se fundem com membranas por difusão ou com micropartículas de pró-coagulante. Tais micropartículas interagem com o ECM do coágulo de fibrina e causa uma exposição prolongada da atividade quimiotáctica necessária para proliferação e recrutamento de células. Substâncias bioativas de plaquetas são presas dentro de α -grânulos, grânulos densos, ou grânulos lisossômicos ou estão presentes no citoplasma. Tais fatores de crescimento, na sua maioria estão contidos dentro de α -grânulos são, na verdade, fatores-chave que comandam a regeneração de tecidos (NURDEN, et al, 2008).

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) é composto por um grupo de Homo (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC e PDGF-DD) e heterodimérica Dímeros de polipeptídeo (PDGF-AB) ligados por pontes de dissulfeto, que estão presente em grandes quantidades em plaquetas α -grânulos. O PDGF é importante para a cicatrização dos tecidos duros e moles e pelo desenvolvimento de sistema nervoso. É um mitógeno, ou seja, uma substância que estimula a proliferação celular, sendo importante para os osteoblastos e células osteoprogenitoras indiferenciadas, fibroblastos, músculo liso e células gliais. Entende-se que o PDGF estimula a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos na ferida e participa em reepitelização de tecido e em alguns tecidos com fatores de crescimento da angiogênese (GRAHAM, et al, 2009).

A família do fator de crescimento (VEGF) de endotélio vascular está relacionada a PDGF e inclui VEGF-A, -B, -C, -D e E. Estes fatores de crescimento

são glicosilados, ligados por pontes de dissulfeto. VEGF-A promove vasculogênese e angiogênese, estimulando migração de células endoteliais e de proliferação. O VEGF exerce um efeito quimiotático sobre os macrófagos e granulócitos e é importante para a estimulação da neurogênese e para proteção neural em adultos (BURNOUF, et al, 2013).

O VEGF pode ser de interesse para a reparação nervosa e tratamento de quadros neurodegenerativas e condições neuropáticas através do crescimento de vasos sanguíneos e de simultaneamente reforçando a neurogênese e a proteção neural. O fator de crescimento de transformação (TGF)- β família inclui três isoformas de 25 kDa, com funções biológicas multifuncionais dependendo células e tecidos (GRAHAM, et al, 2009).

O fragmento de heparina pescavore PK 10169 foi comparado com heparina convencional de sódio da mucosa. Reação de plaquetas foi aumentada por heparina, mas não foi influenciada por PK 10169. In vitro o tempo de análise da globulina (ELT) foi encurtado após adição de heparina para plasma, mas não depois da adição do PK 10169. Após a injeção, no entanto, houve um encurtamento igual do ELT por ambas as substâncias. Vantagens do PK 10169 sobre heparina são, portanto, um efeito anticoagulante mais fraco e notou-se falta de influência sobre as funções das plaquetas (VINAZZER; WOLER, 1985).

As proteínas morfogênicas ósseas (BMPs) integram a subfamília do TGF. As plaquetas são uma importante fonte de TGF- β 1. TGF- β 2. O isoforma predominante, é importante na cicatrização de feridas, atuando na inflamação, angiogênese, reepitelização e tecido de regeneração conjuntiva. O TGF- β é um potente regulador da síntese de ECM, aumentando a ação do gene da fibronectina e colágeno, inibindo a degradação de colágeno, reforçando a produção de ECM (BARRIENTOS, et al, 2008).

Segundo Choukroun, et al (2006), muitos estudos recentes demonstraram o interesse e o potencial de células brancas na cascata inflamatória, como corolário, uma proeminente ação nos primeiros dias de estimulação de células ósseo progenitoras. Portanto era natural tentar capturar a quantidade inteira de monócitos na PRF, para torná-la mais ativa na estimulação de enxertos ósseos, mas também recorrer a uma mais rápida transformação de monócitos em macrófagos para aumentar o efeito da estimulação óssea.

Este fator de crescimento é crucial na formação óssea e funções de quimiotaxia e mitogênese curativos, reforçando os osteoblastos precursores e estimulantes deposição osteoblástica na matriz do colágeno do osso. OTGF- β pode regular o crescimento do VEGF, favorecendo, assim, a angiogênese e o recrutamento de células com processo inflamatório. A família de EGF é importante para a cicatrização de feridas, agindo como um potente estimulado da mitose de queratinócitos e acelerando a sua migração em feridas agudas, na reepitelização (BURNOUF, et al, 2013).

EGF é um regulamentador após uma lesão aguda, que aumenta significativamente a resistência à tração do ferimento. De acordo com estudos clínicos, EGF tópico reduz o tempo de cicatrização no caso de enxerto de pele, úlceras venosas, ferimentos em diabético. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), é uma neuroproteína sintetizada a partir de um precursor de pro-BDNF clivado pela plasmina, que é uma enzima, ou metaloprotease. Suas principais atividades funcionais são mediadas por ligação de alta afinidade por receptores de quinase B presentes em células da SNC (KIM, et al, 2013).

O BDNF influencia a atividade neuronal, função e sobrevivência ao longo da vida. Alterar sua expressão ou funcionamento está associado a vários distúrbios neurológicos, incluindo a doença de Alzheimer, doença de Huntington, Doenças de Parkinson, esclerose múltipla e envelhecimento. Curiosamente, extratos de plaquetas contêm a atividade biológica da BDNF 50 – 100 vezes mais do que o extrato cerebral, onde a plaquetas são pensadas para internalizar BDNF da circulação sanguínea. O BDNF mediante ativação plaquetária contribui para a regeneração de neurônios sensoriais periféricos no local do nervo lesionado (BURNOUF, et al, 2013).

De acordo com estudo de Anitua et al (2015), onde avaliaram se a adição de leucócitos modifica a morfologia, propriedades biomecânicas e biológicas do PRP sob condições normais e inflamatórias. Notou-se que, uma das principais diferenças entre os produtos de plasma rico em plaquetas (PRP) é a inclusão de leucócitos que podem afetar a eficácia biológica dessas preparações autólogas. Além disso, a liberação de citocinas em fatores de crescimento (PRGF) e leucócitos-plaquetas rico em plasma (L-PRP) foi determinada por meio de ensaio (ELISA) onde aumentou significativamente sua condição inflamatória quando leucócitos foram incluídos o PRP. Fibroblastos e osteoblastos tratados com L-PRP, sob uma situação

inflamatória, passou por uma maior ativação da via de NFκB, de proliferado significativamente menos e secretado uma maior concentração de citocinas. Estes eventos celulares foram avaliados através de Western e Métodos de ELISA, respectivamente. Portanto, a inclusão de leucócitos induziu significativamente a condições inflamatórias.

A maxila posterior atrófica é um local desafiador para a reabilitação oral com implantes dentários devido ao volume ósseo insuficiente para acomodar implantes dentários. Assim, Sohn et al (2011), realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a previsibilidade da nova formação de osso no seio maxilar usando um bloco autólogo rico em fibrina concentrado com fatores de crescimento (CGFs) como uma alternativa para o material do enxerto. Um total de sessenta e um enxertos foram realizadas consecutivamente usando a abordagem de janela lateral. Depois de fazer janela óssea substituível, a membrana sinusal foi elevada para fazer um novo compartimento. Depois de 113 implantes (média 13 mm de altura) com 11 diferentes sistemas foram colocados simultaneamente, os blocos de fibrina-ricos coletados com CGFs foram inseridos no seio. Para selar a janela lateral, a janela óssea foi reposicionada. Exames radiográficos, clínicos e histológicos foram realizados para uma avaliação buscando verificar o aumento do seio. Como resultados puderam observar que nenhuma complicação pós-operatória significativa foi desenvolvida. Foi observada uma nova consolidação óssea em todos os seios maxilares ao longo dos implantes nas radiografias simples e em tomografias computadorizadas. A taxa de sucesso do implante foi 98,2% após uma média de 10 meses. Os pesquisadores concluíram que a fibrina CGFs age como uma alternativa ao enxerto ósseo e pode ser um procedimento previsível para aumento de seio.

De acordo com Tajima et al (2013), a densidade do osso recém-formado e a altura do osso do assoalho do seio para a crista alveolar onde os implantes foram inseridos (em unidades de Hounsfield [HU]) foram medidos utilizando software (Simplant, se concretizem Dental) de planejamento de implante. Foram realizados nove aumentos do assoalho sinusal, e 17 implantes foram colocados em seis pacientes. A altura de osso residual média entre o assoalho do seio e a crista alveolar foi $4,28 \pm 1,00$ mm (gama, 1.9 de 6,1 mm antes da cirurgia) e $11,8 \pm 1,67$ mm (gama, 9.1 de 14,1 mm) após a cirurgia. A crista óssea alveolar era larga o suficiente para colocação do implante em todos os casos. A densidade média do osso ao redor dos implantes recém-adquirido foi 323 ± 156.2 HU (gama, 185 para

713 HU). Todos os implantes estavam clinicamente estáveis no momento da inserção do pilar, 6 meses após o aumento do seio. Concluiu-se que a elevação do seio com a colocação do implante simultâneo usando PRF como o único material de enchimento que pode promover a regeneração óssea natural.

Os autores Dinca et al (2014), relatam sua experiência usando a terapia de fibrina rico em plaquetas (PRF) para o tratamento de dez pacientes que apresentam bisfosfonatos-relacionados com osteonecrose da mandíbula (BRONJ). O objetivo do seu estudo foi avaliar o efeito desta terapia em BRONJ recorrente e para descrevem os clínicos e histopatológicos/imuno-histoquímica coloração características de tratamento PRF. De acordo com os autores, os resultados obtidos apresentam segurança e a eficácia da PRF no tratamento de BRONJ.

Fibrina rica (P-prf), Leucócitos e fibrina rica em plaquetas (L-prf), tais como intra-Gire L-PRF são as principais famílias de produtos presentes com diferentes assinaturas e mecanismos biológicos, além de diferenças óbvias para aplicações clínicas. Esta classificação serve de base para outras investigações sobre os efeitos destes produtos. Tais produtos são usados ou testados como adjuvante cirúrgico ou biomaterial regenerativo no campo da medicina, particularmente em medicina esportiva e cirurgia ortopédica. Mesmo que estes produtos ofereçam uma interessante perspectiva terapêutica a sua relevância clínica é amplamente discutida, como a literatura sobre o tema é muitas vezes confusa e contraditória. Ao longo da história estes produtos foram sempre associados a discussões, principalmente relacionadas à falta de terminologia consensual, caracterização e classificação de muitos produtos testados no último 40 anos. Perspectivas das evoluções desta classificação e terminologia também são discutidas, particularmente sobre o impacto do conteúdo da célula, preservação e ativação desses produtos em medicina esportiva e ortopedia. Porém, a necessidade de clarificação, terminologia, categorização ou classificação foi destacado há vários anos, este esforço ainda está no seu início (DOHAN, et al, 2014).

4. PROTOCOLO

Tajima et al, (2013) relataram em seus estudos que o uso tópico de concentrados plaquetários é recente e a sua eficiência é ainda controversa, apesar da obtenção de efeitos benéficos em muitos estudos.

Estão disponíveis várias técnicas para a preparação dos concentrados plaquetários; todavia, o seu modo de aplicação continua a ser um pouco confuso, uma vez que cada método origina diferentes produtos, biologicamente diferentes e com aplicações diversificadas.

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

PRP: Plasma rico em plaquetas puro;

L-PRP: Plasma rico em plaquetas e leucócitos;

PRF: Fibrina rica em plaquetas puro;

L-PRF: Fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

A Fibrina rica em Plaquetas ou Fibrina Rica em Plaquetas e Pobre em Leucócitos. Este compreende dois tubos, um para colheita do sangue e outro para a coagulação do PRF, unidos por um dispositivo de transferência.

Figura 1. PPP (camada de plasma pobre em plaquetas).



Fonte: Tajima et al (2013).

1. Recolhem-se 9mL de sangue para um tubo coletor que é centrifugado, a alta velocidade, por 6 minutos;
2. Obtém-se três camadas:
Eritrócitos,
Bufy Coat (BC)
PPP – na qual, a maioria das plaquetas está concentrada
3. A BC e a PPP são facilmente transferidos para o segundo tubo, com o auxílio de um sistema de tubos de condução.
4. Centrifuga-se, imediatamente, o tubo, durante quinze minutos;
5. Posteriormente recolhe-se o coágulo estável de PRF.

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

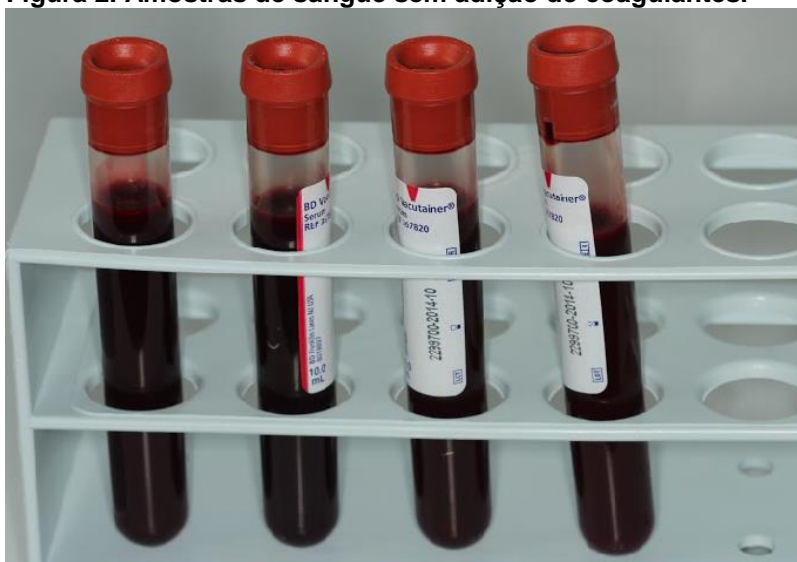
Este protocolo é similar ao do L-PRP, como o método de Curasan. A principal diferença é que somente quantidades muito baixas de leucócitos são recolhidas, devido à utilização do gel separador específico usado neste método.

Protocolo do L-PRF (manual)

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

1. Colhe-se uma amostra de sangue de paciente sem qualquer adição de anticoagulantes, e coloca-se em tubos de 10 ml;

Figura 2. Amostras de sangue sem adição de coagulantes.



Fonte: Autor (2018).

2. Imediatamente após o primeiro passo faz-se a centrifugação, a 3.000 rpm, cerca de 800g, durante 10 minutos;

Figura 3. Centrifugação do material coletado

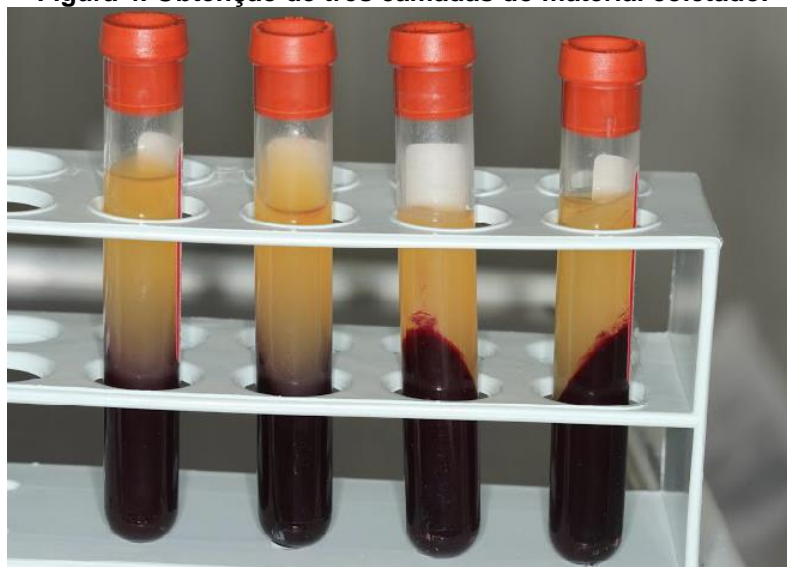


Fonte: Autor (2018).

3. Obtém-se três camadas:

- Eritrócitos
- Coágulo de PRF – onde estão contidos a maioria das plaquetas e leucócitos
- PPP;

Figura 4. Obtenção de três camadas do material coletado.



Fonte: Autor (2018).

4. A camada superior do tubo –PPP é removida e coleta-se a fração intermédia, 2 milímetros abaixo da divisão entre esta camada e os eritrócitos;

Figura 5. Coleta da fração imediata.



Fonte: Autor (2018).

5. Obtém-se, assim, o coágulo de PRF.

Figura 6. Obtenção do coágulo PRF.



Fonte: Autor (2018).

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

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

Membrana para a regeneração óssea guiada: neste caso, ter-se-á uma preocupação acrescida com a textura e mecânica inerentes não necessita de grande quantidade de FC; Fonte de FC, em forma de gel, para regeneração de tecidos, fomentando a indução óssea;

5. DISCUSSÃO

De acordo com Prakash e Thakur (2011), a cola de fibrina foi o primeiro aditivo cirúrgico a ser usado comercialmente na Europa em 1970, possuindo uma importante propriedade, pois consegue reproduzir a fase final da coagulação, por agir independentemente a partir de agentes internos de coagulação.

Neste contexto, Lopes e Cardoso, (2015), descreveram que a cola de fibrina é interessante pois consegue alcançar a hemostasia da ferida, mesmo havendo dificuldades de coagulação, devido a variados fatores.

Segundo Dohan, et al, (2006), a fibrina é a forma ativada de uma molécula plasmática chamado fibrinogênio. Trata-se de uma molécula solúvel fibrilar, presente de forma maciça no plasma e nas plaquetas, desempenhando um papel determinante na agregação plaquetária durante a hemostasia.

Corroborando com tal informação, Prakash e Thakur, (2011), mencionam que, dentre as aplicações clínicas da cola de fibrina estão os tratamentos de defeitos intraósseo, tratamento de recessão, regeneração óssea por ocasião do uso de implantes dentários, reconstrução do osso alveolar, enxerto ósseo no assoalho do seio da face e ao se tratar feridas de extração.

No entanto, Cardoso e Lopes (2015, p. 16) menciona que, apesar de possuírem menor resistência, os efeitos da cola de fibrina são “benéficos em tecidos moles são bem documentados, a sua contribuição para cirurgia óssea, e cirurgia periodontal continua controversa e requer uma pré-doação e o processamento dispendioso de sangue autólogo”.

Neste contexto, Dohan et al, (2006), menciona que apesar dos avanços alcançados em obter anti-hemorrágicos em técnicas cirúrgicas de forma eficaz, encontrar agentes hemostáticos continua a ser um problema persistente.

No que se refere ao plasma rico em fibrina (PRF), segundo Lopes e Cardoso (2015) foi desenvolvido por Choukroun para ser usado em cirurgia buco-maxilo-facial e, no campo da odontologia, tem vários domínios de aplicação, como aumento de tecido ósseo para implantodontia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas.

Estudos de Dohan et al (2006), comprovaram que, durante PRF de processamento por centrifugação, as plaquetas foram ativadas e sua degranulação maciça implicaram numa citocina muito significativa. Concentrado de plaquetas plasma rico em plaquetas citocinas já tem sido quantificada em muitas configurações tecnológicas.

Para Prakash; Thakur, (2011), as plaquetas são fragmentos citoplasmáticos derivados de megacariócitos da medula óssea medindo de 2 a 3mm de diâmetro, contendo muitos grânulos, poucas mitocôndrias e 2 estruturas de membranas proeminentes.

No tocante a fatores de crescimento de plaquetas, Burnouf et al (2013), explicam que são uma fonte conhecida de cura de citocinas, utilizáveis para aplicações clínicas. Inúmeras técnicas de concentrados de plaquetas autólogo têm sido desenvolvidos e aplicados em cirurgias buco-maxilo-facial.

Para Dohan et al (2006), durante o processamento da PRF, leucócitos podem também secretarem citocinas em reação aos fenômenos hemostáticos e inflamatórias induzida artificialmente no tubo centrifugado.

Ao discorrerem sobre a fibrina e aditivos cirúrgicos, Burnouf et al (2013), mencionam que, as plaquetas são cruciais para a reparação tecidual, remodelação vascular e regeneração de órgão, sendo extremamente complexas, ativando a liberação de plaquetas, expondo suas moléculas biologicamente ativas na superfície causando assim o crescimento e morfogênese de células.

Nurden et al (2008), complementam por mencionarem que *in vivo*, estas moléculas são liberadas para o ambiente através da formação de vesículas secretoras, que se fundem com membranas por difusão ou com micropartículas de pró-coagulante. Tais micropartículas interagem com o ECM do coágulo de fibrina e causa uma exposição prolongada da atividade quimiotáctica necessária para proliferação e recrutamento de células.

Grahan et al, (2009), ao abordar o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), menciona que este é um fator é importante para a cicatrização dos tecidos duros e moles e pelo desenvolvimento de sistema nervoso, sendo um mitógeno, ou seja, uma substancia que estimula a proliferação celular, sendo importante para os osteoblastos e células osteoprogenitoras indiferenciadas, fibroblastos, músculo liso e células gliais.

Burnouf et al (2013), corroboram com tal informação por mencionar que este fator de crescimento é crucial na formação óssea e funções de quimiotaxia e mitogênese curativos, reforçando os osteoblastos precursores e estimulantes deposição osteoblástica na matriz do colágeno do osso. De acordo com os pesquisadores Sohn et al (2011), a fibrina CGFs age como uma alternativa ao enxerto ósseo e pode ser um procedimento previsível para aumento de seio maxilar.

Entretanto, para Dohan et al (2014), embora estes produtos ofereçam uma interessante perspectiva terapêutica a sua relevância clínica é amplamente discutida, como a literatura sobre o tema é muitas vezes contraditória. Porém, este esforço ainda está no seu início.

6. CONCLUSÃO

Na odontologia, há vários domínios de aplicação clínica, do PRF, como aumento de tecido ósseo para implantodontia, levantamento do seio maxilar, enxerto de alvéolos, cirurgias periodontais estéticas.

O PRF possui uma propriedade clínica importante que é a reprodução da fase final da coagulação.

Os alcances das aplicações clínicas do PRF é bastante amplo, porém, limitado, mais estudos vem trazer novas perspectivas futuras.

7. REFERÊNCIAS

ANITUA, E.; ZALDUENDO, M.; TROYA, M.; PADILLA, S.; ORIVE, G. Leukocyte Inclusion within a Platelet Rich Plasma-Derived Fibrin Scaffold Stimulates a More Pro-Inflammatory Environment and Alters Fibrin Properties. **PLOS ONE** | DOI:10.1371/journal.pone.0121713 March 30, 2015.

BAJAJ, P.; PRADEEP, A. R.; AGARWAL, E.; RAO, N. S.; NAIK, S. B.; PRIYANKA, N.; KALRA, N. J. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. **Periodont Res** 2013; 48: 573–581.

BARRIENTOS, S.; STOJADINOVIC, O.; GOLINKO, M.S.; BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair Regen** 2008; 16:585–601.

BURNOUF, T.; GOUBRAN, H. A.; CHEN, T. M.; OU, K. L.; EL-EKIABY, M. RADOSEVIC, M. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. **Blood Reviews** 27 (2013) 77–89.

CARDOSO, M. L.; LOPES, S. M. fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF): diminuindo a morbidade em procedimentos de reconstruções teciduais orais. **Monografia**. Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense/Campus Universitário de Nova Friburgo, Curso de graduação em Odontologia, 2015.

CHOUKROUN, J.; DISS, A.; SIMONPIERI, A.; GIRARD, M-O.; SCHOEFFLER, C.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A.; MOUHYI, J.; DOHAN, D. M. Platelet-rich fibrin (PRF): Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.101, p.56-60, 2006.

DINCĂ, O.; ZURAC, S.; STĂNICEANU, F.; BUCUR, M. B.; BODNAR, D. C.; VLĂDAN, C.; BUCUR, A. Clinical and histopathological studies using fibrin-rich plasma in the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Rom J Morphol Embryol** 2014, 55(3):961–964.

DOHAN, D. M.; CHOUKROUN J.; DISS A.; DOHAN SL.; DOHAN AJ.; MOUHYI J.; GOGLY B. Plateletrich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: technological concepts and evolution. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 101, p. 37-44, 2006.

DOHAN. D. M.; ANDIA, I.; ZUMSTEIN, M. A.; ZHANG, C. Q.; PINTO, N. R.; BIELECKI, T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal** 2014; 4 (1): 3-9.

GRAHAM, S.; LEONIDOU, A.; LESTER, M.; HELIOTIS, M.; MANTALARIS, A. TSIRIDIS, E. Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing. **Expert Opin Investig Drugs**, 2009;18:1633–1654.

KIM, I.; MOGFORD, J. E.; CHAO, J. D.; MUSTOE, T. A. Clinical Application of Platelet-Rich Fibrin by the Application of the Double J Technique During Implant Placement in Alveolar Bone Defect Areas. **Wound Repair Regen** 2013; 9:386–390.

NURDEN, A. T.; NURDEN, P.; SANCHEZ, M.; ANDIA, I.; ANITUA, E.; Platelets and wound healing. *Front Biosci* 2008;13:3532–3548.

PRAKASH, S.; THAKUR, A. Platelet concentrates: past, present and future. **Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, India: v. 10, n. 1, p. 45-49, jan-mar./2011.

SOHN, D. S.; HEO, J. U.; KWAK, D. H.; KIM, D. E.; KIM, J.; MOON, J. W.; LEE, J. H. PARK, I. S. Bone Regeneration in the Maxillary Sinus Using an Autologous Fibrin-Rich Block With Concentrated Growth Factors Alone. **Implant Dentistry** Volume 20, Number 5 2011.

TAJIMA, N.; OHBA, S.; SAWASE, T.; ASAHINA, I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. **Int J Oral Maxillofac Implants**. 2013 Jan-Feb;28(1):77-83. doi: 10.11607/jomi.2613.

TUNALI, M.; ÖZDEMİR, H.; KÜCÜKODACI, Z.; AKMAN, S.; FIRATLI, E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrina (T-PRF): a new platelet concentrate. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 51, p. 438–443, 2013.

VINAZZER, H.; WOLER, M. A new low molecular weight heparin fragment (PK 10169): In vitro and in vivo studies. **Thrombosis Research**. Volume 40, Issue 2, 15 October 1985, Pages 135-146.