

**U. PORTO**



**FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**  
**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM MEDICINA DENTÁRIA**

Ana Rui da Silva Rocha Amorim

Dissertação de Investigação do Programa de Mestrado Integrado em Medicina Dentária  
apresentado à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

**Porto, 2017**



**FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA**  
UNIVERSIDADE DO PORTO

**ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**  
**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM MEDICINA DENTÁRIA**

Ana Rui da Silva Rocha Amorim

mimd12049@fmd.up.pt

Dissertação de Investigação do Programa de Mestrado Integrado em Medicina Dentária  
apresentado à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

**Orientador**

Inês Guerra Pereira

(Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do  
Porto)

**Coorientador**

Germano Neves Pinto da Rocha

(Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto)

**Porto, 2017**

## **Agradecimentos**

*À minha orientadora, Professora Inês Guerra Pereira, por toda a disponibilidade demonstrada ao longo do processo de concretização deste trabalho e ao longo de toda a licenciatura em Medicina Dentária pela Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto. Fico muito grata por ter tido oportunidade de contactar com tamanha sabedoria, profissionalismo e simpatia.*

*Ao meu coorientador, Prof. Dr. Germano Neves Pinto da Rocha, pela sua paciência, pela sua incansável ajuda e por ser sem dúvida um exemplo de profissional e, acima de tudo, um exemplo de pessoa por quem tanta gente tem um especial carinho. Foi um enorme prazer contactar com a enorme paixão que o Dr. Germano tem pelo tema deste trabalho.*

*Ao Dr. António Maia e filho Dr. José Maia, pela oportunidade que me deram de poder assistir a uma cirurgia que tanto contribuiu para a minha aprendizagem no tema deste trabalho.*

*À minha mãe, a pessoa que nunca desiste de me ajudar e que a toda a hora procura formas de me levar mais longe. É sem dúvida um exemplo que seguirei e a minha única melhor amiga.*

*Ao meu pai, que tanto orgulho tem em mim e que se torna incansável na forma como me motiva no dia-a-dia.*

*Ao meu irmão, que a qualquer momento sei que não me vai falhar e que tanto me deixa orgulhosa.*

*Ao meu namorado, pessoa que tanto me fez aprender em tão pouco tempo e que todos os dias me mostra que o que realmente nos eleva é o nosso fundo e os nossos valores. Obrigada por dizeres todos os dias que sou a melhor dentista do mundo, ainda nem tendo a licenciatura terminada.*

*Aos meus amigos, fundamentalmente os que todos os dias me fazem sorrir na faculdade. Amigos esses que são e serão sempre o meu novo lar. Um especial obrigada ao João Marques, o meu binómio. A ti que me ensinaste a dar os primeiros passos nesta área que nos apaixonou. A ti que és um exemplo a seguir e em quem vou depositar sempre a maior das confianças. Conta comigo toda a vida, não só como colega, mas como amiga do coração.*

*Os meus mais sinceros agradecimentos.*

## Índice

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Material e métodos.....	9
Desenvolvimento.....	10
1. Plaquetas e fatores de crescimento na regeneração tecidual.....	10
2. Plasma Rico em Plaquetas.....	11
2.1 Mecanismo de ação.....	12
2.2 Evolução histórica e classificação do PRP.....	12
2.3 Fatores importantes na formulação do PRP.....	14
3. PRGF <sup>®</sup> .....	16
3.1 Protocolo PRGF <sup>®</sup> ( <i>Biotechnology Institute BTI, Vitoria, Spain</i> ).....	16
3.2 Comparação PRGF <sup>®</sup> com PRF.....	23
3.3 Aplicações na Medicina Dentária.....	24
Conclusão.....	26
Referências Bibliográficas.....	27
Anexos.....	31

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Concentração celular e de citocinas no sangue periférico (whole blood WB), L-PRP e P-PRP. Zhengliang et al. (2017).....	15
<b>Figura 2</b> - Colheita de sangue .....	17
<b>Figura 3</b> - Quatro tubos BTI de colheita com sangue (acima) e dois tubos BTI de fracionamento (abaixo) .....	18
<b>Figura 4</b> - Centrifugadora BTI com quatro tubos de colheita com sangue do paciente dispostos de forma simétrica.....	19
<b>Figura 5</b> - Tubos de colheita após centrifugação com o sangue fracionado.....	19
<b>Figura 6</b> - Sangue fracionado. PRGF localizado acima da série branca (Buffy Coat): F1+F2. Base do tubo com série vermelha. Anitua et al. (2012) – adaptado.....	19
<b>Figura 7</b> - Recolha de F1 com PTD.....	20
<b>Figura 8</b> - Passagem do plasma F2 para godé.....	21
<b>Figura 9</b> - Seringa para colocar cloreto de cálcio no Plasma.....	21
<b>Figura 10</b> - Plasmaterm H com godé de F2+PRGF-Activator.....	22
<b>Figura 11</b> - PRGF® finalizado após ativação: coágulo + porção líquida.....	22
<b>Figura 12</b> - Colocação do coágulo PRGF® no alvéolo.....	23
<b>Figura 13</b> - Irrigação da ferida operatória com a fase líquida do PRG.....	23

## Resumo

**Objetivos:** Analisar e elaborar uma revisão da literatura sobre o tema Plasma Rico em Plaquetas, esclarecendo conceitos relativamente às suas várias composições, protocolos e formas de aplicar na área da Medicina Dentária.

**Material e Métodos:** A pesquisa recolheu artigos publicados a partir de 1995 até ao presente (2017), na base de dados PUBMED, que abordavam a temática da cirurgia regenerativa em Medicina Dentária através de concentrados plaquetários. Foram excluídos artigos com acesso limitado ao texto integral e artigos cujo título ou resumo não abordavam o tema pretendido.

**Desenvolvimento:** O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é uma fração de plasma obtida através da manipulação do sangue recolhido. Esta fração apresenta uma concentração plaquetária superior aos valores basais do sangue periférico. Ao longo dos últimos anos, diversos autores têm vindo a propor o plasma e as suas formulações ricas em plaquetas como importante fator na medicina regenerativa. Atualmente na literatura verifica-se uma grande quantidade de diferentes protocolos para obtenção de PRP. Assim, é possível verificar a referência a diferentes tipos de PRP, como é o caso do PRGF<sup>®</sup>, protocolo desenvolvido por Eduardo Anitua (1999), que é utilizado a nível regenerativo, particularmente na Medicina Dentária, apresentando um protocolo patenteado, bem definido e versátil.

**Conclusões:** Tem vindo a observar-se um crescimento da investigação nesta área, sendo que o PRP tem sido utilizado no tratamento de várias situações a nível da cavidade oral. A necessidade de criar um protocolo único bem definido foi superada aquando do desenvolvimento do PRGF<sup>®</sup>. Da literatura é possível retirar que este protocolo é usado de forma recorrente e menos sujeito a variações do operador por estar devidamente descrito e acreditado e conclui-se a sua grande efetividade clínica na Medicina Dentária.

**Palavras-chave:** PRP; PRGF; Platelet-Rich Plasma; Plasma Rich In Growth Factors; Platelets; Growth Factors; PRF; Regeneration.

## **Abstract**

**Material and Methods:** The research collected articles published from 1995 to the present (2017), in the database PUBMED, that addressed the subject of regenerative surgery in Dentistry through platelet concentrates. Articles with limited access to the full text and articles whose title or abstract did not address the intended theme were excluded.

**Development:** Platelet Rich Plasma (PRP) is a fraction of plasma obtained by manipulation of collected blood. This fraction has a platelet concentration higher than the basal values of the peripheral blood. Over the last few years, several authors have been proposing plasma and its platelet-rich formulations as an important factor in regenerative medicine. Currently in the literature there is a great amount of different protocols to obtain PRP. Thus, it is possible to verify the reference to different types of PRP, such as PRGF®, a protocol developed by Eduardo Anitua (1999), which is used at a regenerative level, particularly in Dentistry, presenting a well-defined, flexile and patented protocol.

**Conclusions:** There has been an increase in research in this area, and PRP has been used in the treatment of various situations in the oral cavity. The need to create a well-defined single protocol was overcome when developing PRGF®. From the literature it is possible to infer that this protocol is used in a recurring way and less likely to variations of the operator because it is properly described and believed and concludes its great clinical effectiveness in Dentistry.

**Keywords:** PRP; PRGF; Platelet-Rich Plasma; Plasma Rich In Growth Factors; Platelets; Growth Factors; PRF; Regeneration.

## Introdução

Atualmente está descrito na literatura que as plaquetas, através de processos de coagulação e libertação de fatores de crescimento, têm significativa importância na cicatrização e na regeneração tecidual, uma vez que são responsáveis pelo seu início e orientação.<sup>(1, 2)</sup>

A utilização de concentrados de plaquetas pode ser feita em diversas áreas da Medicina Dentária, como na cirurgia oral e implantologia. No entanto, apesar da sua crescente aplicação, Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é ainda um conceito muito geral, dado que há diversos protocolos para a preparação deste plasma, todos eles distintos a nível de composição, concentração de plaquetas, presença de leucócitos e versatilidade.<sup>(3-5)</sup>

O PRP é conseguido através de uma ou duas centrifugações ao sangue do paciente. No entanto, é importante referir que este processamento do sangue para obtenção do concentrado plaquetário tem vindo a ser desenvolvido de acordo com diversos protocolos de diferentes grupos de investigadores e marcas.<sup>(1)</sup> Ainda assim, atualmente existe um protocolo que está patenteado na Europa, nos Estados Unidos e a nível mundial e que está acreditado pela Comunidade Europeia. O referido protocolo é o Plasma Rico em Fatores de Crescimento (PRGF<sup>®</sup>-Endoret<sup>®</sup>, Eduardo Anitua, *BTI, Vitoria, Spain*) e difere dos outros concentrados plaquetários uma vez que exige menor volume de sangue colhido do paciente, menos etapas de preparação, tem presença de um anticoagulante na sua elaboração e utiliza cloreto de cálcio como ativador, entre outras diferenças que serão abordadas neste trabalho.<sup>(6, 7)</sup>

Desta forma, a propósito da cirurgia regenerativa, têm sido descritas algumas técnicas para obtenção de PRP, como por exemplo o PRGF<sup>®</sup> (Endoret<sup>®</sup>) e o PRF.

## Material e Métodos

Para a realização desta revisão bibliográfica foram efetuadas pesquisas na base de dados PUBMED.

São considerados critérios de inclusão desta monografia:

- Documentos do tipo ensaio clínico e de revisão, referentes ao tema Plasma Rico em Plaquetas em Medicina Dentária, documentos de relevância para a prática clínica no âmbito da área da Medicina Dentária, publicados em revistas/jornais da área, desde 1995 até 13 de abril de 2017, disponíveis com o texto integral, de forma gratuita, em Inglês e on-line.

São considerados critérios de exclusão desta monografia:

- Documentos com resumo incompleto, documentos cujo texto integral estivesse indisponível de forma gratuita, artigos repetidos e artigos contendo a expressão “PRP” cujo termo de correspondência não fosse exatamente “Platelet-Rich Plasma”.

Depois de escalonados, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, selecionaram-se 59 artigos com interesse para o estudo do tema e elaboração deste trabalho.

Na base de dados PUBMED foram aplicados os seguintes critérios, de forma isolada ou em associação com o conector booleano “AND”:

- Palavras-chave: “PRP”; “PRGF”; “Platelet-Rich Plasma”; “Plasma Rich In Growth Factors”; “Platelets”; “Growth Factors”; “PRF”; “Regeneration”.

- Filtros: “Review”; “Clinical Trial”; “Free Full Text”. Na pesquisa não foi limitado o ano de publicação nem aplicado o filtro “Humans”, sendo que foram incluídos estudos em animais.

Foi utilizado o livro *“Alveolo Post-Extracción: Una Aproximación Biológica”* de Eduardo Anitua, edição 1 de 2015. Neste livro foi consultado o protocolo de preparação do PRGF<sup>®</sup>-Endoret<sup>®</sup> que é explicado neste trabalho, bem como outras informações de interesse para o tema.

As fotografias referentes ao protocolo de preparação do PRGF<sup>®</sup>-Endoret<sup>®</sup> foram obtidas na Clinica António Maia, em Braga, no dia 25 de Abril de 2017, propositadamente para esta monografia.

## Desenvolvimento

### 1. Plaquetas e fatores de crescimento na regeneração tecidual

Sendo o papel fisiológico principal das plaquetas a homeostasia, em caso de lesão estas são ativadas acumulando-se no local em questão. No entanto, perante uma situação de lesão, as plaquetas aderem e agregam-se de forma a prevenir não só excessiva hemorragia, mas também de forma a promover a regeneração das paredes vasculares lesadas e dos tecidos circundantes.<sup>(8-11)</sup>

A homeostasia, perante uma lesão, limita a perda de sangue, mantém a perfusão dos tecidos e estimula os processos locais de regeneração. Estes processos de regeneração são conseguidos através dos componentes proteicos que as plaquetas apresentam no seu interior denominados de fatores de crescimento (FC). Os fatores de crescimento são de natureza polipeptídica e são secretados de forma intensa aquando da ativação das plaquetas, continuando a ser sintetizados através do mRNA das mesmas durante 7 dias ou mais, regulando assim o crescimento, diferenciação e fenótipo de diferentes tipos celulares.<sup>(8)</sup>

Alguns dos FC libertados pelas plaquetas são: fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformante beta (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento *insuline-like* (IGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento epidérmico (EGF).<sup>(9-11)</sup>

Para restaurar a função tecidual após lesão, é importante que haja uma rápida revascularização. A neoangiogénese é conseguida também através da libertação de FC aquando da ativação das plaquetas, como é o caso do PDGF.<sup>(1, 12, 13)</sup>

## 2. Plasma Rico em Plaquetas

De uma forma geral, o plasma sanguíneo tem vindo a ser amplamente estudado e utilizado a nível da medicina regenerativa, uma vez que apresenta propriedades vantajosas na regeneração tecidual e óssea e na homeostasia.<sup>(2, 3, 14, 24)</sup>

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é uma fração de plasma obtida através da manipulação do sangue colhido<sup>(2-4)</sup>. Esta fração apresenta uma concentração plaquetária superior aos valores basais do sangue periférico<sup>(4-7)</sup> e dessa forma consegue aumentar significativamente o número de fatores de crescimento na zona em questão, sendo uma fonte autóloga de mediadores que vão de forma segura promover a reparação tecidual, modular a inflamação, permitir uma mais eficaz homeostasia e, desta forma, acelerar de forma benéfica todo o processo de regeneração dos tecidos moles e do osso.<sup>(3, 5, 6, 11, 18, 24, 25)</sup>

O PRP, amplamente utilizado em Ortopedia e cada vez mais em Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial, tem a capacidade de promover, no seu local de aplicação, um aumento significativo da quantidade de fatores de crescimento que atuam sinergicamente de forma a potenciar a proliferação celular, diferenciação celular e a angiogénese. Para além disto, a concentração de fatores de crescimento superior à do sangue periférico contribui significativamente para a síntese de matriz extracelular e como fator promotor de atividade antimicrobiana.<sup>(5, 24)</sup> As condições asseguradas pela presença de PRP contribuem para o processo de quimiotaxia, garantindo a migração celular necessária para a osteocondução e para a reepitelização.<sup>(5, 11)</sup> A literatura evidencia vantagem na utilização de PRP para correção de defeitos ósseos, apresentando melhores resultados na quantidade e qualidade óssea devido às suas propriedades osteoindutoras e osteocondutoras.<sup>(1, 11, 25, 26)</sup>

Para além de ser fácil obter e manipular, um dos pontos mais vantajosos relativamente à utilização do PRP para fins regenerativos é o facto de se tratar de um concentrado autólogo, sendo que desta forma é seguro para o paciente, eliminando a possibilidade de contaminação vírica ou reação alérgica.<sup>(3, 5, 11, 24)</sup>

O mecanismo de ação do PRP reside essencialmente na sua elevada concentração de plaquetas. Numa situação normal, um coágulo formado a nível de uma ferida operatória apresenta 94% de glóbulos vermelhos e 6% de plaquetas. Por outro lado, numa situação em que se aplica um coágulo derivado de PRP a qualidade da sua composição é praticamente invertida, sendo que este apresenta 94% de concentração em

plaquetas e apenas cerca de 5% de glóbulos vermelhos, o que beneficia significativamente os mecanismos de regeneração visto que há um aumento no número das células que efetivamente promovem essa regeneração.<sup>(8, 24)</sup>

## 2.1 Mecanismo de ação

O PRP pode ser aplicado segundo várias formulações, seja de forma tópica, infiltrativa ou sob forma de coágulo. Para todas estas vias, é necessário uma colheita de sangue prévia. Esta colheita de sangue é realizada com incorporação de anticoagulante e posteriormente centrifugada de forma a separar os componentes sanguíneos segundo o seu gradiente de peso molecular. O tempo de centrifugação, a velocidade e o número de centrifugações interferem na concentração final de plaquetas.<sup>(4, 14)</sup> Após uma ou duas centrifugações, e no momento de aplicar o PRP no local em causa, este deve ser ativado. Inicialmente no protocolo de Marx (1998), a trombina bovina era utilizada como ativador, entretanto proibida na Europa e substituída pelo cloreto de cálcio na ativação das plaquetas no plasma.<sup>(1, 15-20)</sup> Esta ativação induz a libertação, pelos grânulos  $\alpha$ , de fatores de crescimento como o PDGF, TGF, VEGF, IGF, FGF e EGF, que em contacto com o local operatório, em concentrações superiores às basais, permite a regeneração tecidual mais rápida e eficaz.<sup>(14, 21-23)</sup> Esta desgranulação é iniciada em cerca de dez minutos após ativação e, após uma hora, 90-95% dos FC foram libertados dos grânulos presentes nas plaquetas.<sup>(14, 22)</sup>

Para além do importante papel dos fatores de crescimento, após ativação das plaquetas e formação do coágulo de plasma forma-se uma matriz tridimensional de fibrina que servirá de matriz para a formação de novo tecido.<sup>(22, 24)</sup>

## 2.2 Evolução histórica e classificação do PRP

Ao longo dos últimos 20 anos, diversos autores têm vindo a propor o plasma e as suas formulações ricas em plaquetas e/ou fibrina como importante fator na medicina regenerativa.<sup>(5, 25)</sup> Whitman *et al.* (1997)<sup>(1, 4, 7)</sup> foi o primeiro autor a sugerir o uso do PRP. Marx *et al.* (1998) escreveu o primeiro artigo científico sobre a função e importância dos fatores de crescimento presentes no PRP e sugeriu a utilização de cloreto de cálcio a 10% associado a trombina bovina para a ativação das plaquetas, sendo que posteriormente diferentes concentrações de trombina bovina foram propostas.<sup>(4, 22, 25)</sup> Em 1999, Eduardo Anitua introduz pela primeira vez o conceito de Plasma Rico em Fatores de Crescimento (PRGF), formulação totalmente autóloga sem a utilização

de trombina bovina como ativador e cujo protocolo requer uma única centrifugação.<sup>(1, 7, 15, 26, 27)</sup> O Plasma Rico em Fibrina (PRF) descrito por Choukroun *et al.* surgiu posteriormente (2001) e é considerado um concentrado plaquetário de segunda geração, produzido sem qualquer uso de anticoagulante.<sup>(1, 7, 15, 28-31)</sup>

Atualmente na literatura verifica-se uma grande quantidade de diferentes protocolos para obtenção de PRP, sendo que existem diversas marcas com *kits* disponíveis para a preparação do plasma na prática clínica.<sup>(4, 5, 8, 18, 23, 32)</sup> A inexistência de um protocolo *standard*<sup>(33)</sup> dificulta a classificação das diferentes formulações de plasma. No entanto, analisando a literatura é possível encontrar alguma consistência no que diz respeito à classificação das formulações do plasma mais utilizadas em medicina e medicina dentária. Esta classificação é definida essencialmente pela distinção entre presença ou ausência de leucócitos e pela arquitetura de fibrina.<sup>(4)</sup> Sendo assim, é possível verificar na literatura a ampla utilização dos seguintes PRP: P-PRP (Plasma Rico em Plaquetas Puro), L-PRP (Plasma Rico em Plaquetas com Leucócitos), P-PRF (Plasma Rico em Fibrina Puro) e L-PRF (Plasma Rico em Fibrina com Leucócitos), sendo que o PRF é considerado um PRP de segunda geração, como foi referido anteriormente.

### 2.2.1 P-PRP

Preparações de plasma sem leucócitos e com baixa densidade de fibrina.<sup>(1, 4, 5, 18, 23, 34, 35)</sup> Esta formulação é conseguida após colheita de sangue com anticoagulante.<sup>(1)</sup> Pode ser utilizada sob a forma de solução líquida ou através de um coágulo após ativação plaquetária, sendo que pode ser usada de forma infiltrativa ou tópica.<sup>(4, 35)</sup> Um dos métodos mais utilizados na aplicação de P-PRP na medicina dentária é o PRGF<sup>®</sup> desenvolvido por Eduardo Anitua (*Plasma Rich in Growth Factor - Endoret<sup>®</sup> Endogenous Regeneration Technique, Biotechnology Institute BTI, Vitoria, Spain*).<sup>(1, 4, 7, 15, 36)</sup>

### 2.2.2 L-PRP

Formulação de plasma conseguida de forma semelhante ao P-PRP, com baixa densidade de fibrina, mas com presença de leucócitos.<sup>(4, 5, 18, 23, 34, 35)</sup> A sua forma de aplicação é semelhante ao P-PRP, em forma de solução líquida ou coágulo.<sup>(4, 35)</sup>

### 2.2.3 P-PRF

Preparações de plasma sem leucócitos e com alta densidade de fibrina.<sup>(1, 4, 21, 34)</sup> Formulação conseguida sem o uso de anticoagulante, o que permite a formação de um

coágulo de fibrina no tubo de colheita do sangue.<sup>(1, 21)</sup> Por este motivo, este tipo de formulação do plasma não é aplicado sob a forma líquida, mas sim sob a forma de um gel ou coágulo que não pode ser injetado<sup>(4, 34)</sup>, como o P-PRF que é comercializado atualmente, Fibrinet PRFM (*Platelet-Rich Fibrin Matrix, Cascade Medical, Wayne, NJ, USA*).<sup>(4, 34)</sup>

#### **2.2.4 L-PRF**

Preparação de plasma semelhante ao P-PRF, em que um coágulo de fibrina é formado de imediato devido à ausência de anticoagulante.<sup>(37)</sup> No entanto, nesta formulação de PRF são incluídos os leucócitos da colheita de sangue.<sup>(1, 4, 21, 37)</sup> Da mesma forma do P-PRF, esta formulação é utilizada e aplicada como um material semi-sólido devido à sua estrutura tridimensional de fibrina.<sup>(4, 34)</sup>

### **2.3 Fatores importantes na formulação do PRP**

Existem diversos fatores a considerar para a formulação de um protocolo *standard* para a preparação de PRP.<sup>(33)</sup>

Um dos fatores a considerar é a concentração plaquetária na preparação final do plasma.<sup>(22, 38, 39)</sup> Apesar de se poder pensar que uma maior concentração plaquetária será equivalente a um maior número de fatores de crescimento e, por isso, mais vantagens regenerativas, esta situação não se verifica. Pelo contrário, considera-se que existe uma concentração plaquetária ótima no PRP e que acima desses valores podemos deparar-nos com situações inversas, como por exemplo a inibição da proliferação e da migração celular.<sup>(8, 14, 20, 22, 40)</sup> São necessários mais estudos que permitam concluir qual a concentração plaquetária ideal nas formulações de PRP de forma a obter o maior número de benefícios possível a nível da regeneração tecidual.

Outro importante fator a considerar relativamente à preparação de PRP é o ativador utilizado. Sabe-se que a ativação plaquetária depende de glicoproteínas de membrana, das suas respetivas ligações e do influxo de cálcio citoplasmático<sup>(41)</sup>. A trombina bovina foi totalmente substituída por compostos de cálcio como ativadores, utilizando-se frequentemente o cloreto de cálcio.<sup>(1, 8, 9, 15-20)</sup>

Por fim, um fator que tem sido amplamente discutido na literatura é a presença de leucócitos na preparação final de PRP.<sup>(42)</sup> Por um lado, alguns autores defendem que uma maior concentração de leucócitos nas formulações de PRP promove um aumento de citocinas pro-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , que degradam a matriz extracelular.<sup>(5, 23, 42)</sup> Desta forma, defende-se que o aumento da concentração de leucócitos apresenta o potencial risco de aumentar o processo inflamatório no local de

aplicação do PRP.<sup>(3, 4, 32, 43)</sup> Por outro lado, coloca-se a hipótese da presença dos leucócitos no plasma trazer benefícios a nível de imunidade no local de aplicação do PRP, prevenindo a infeção.<sup>(32, 36)</sup> De referir no entanto que algumas das proteínas contidas nas plaquetas, as trombocidinas, têm também uma ação antimicrobiana.<sup>(3, 44, 45)</sup>

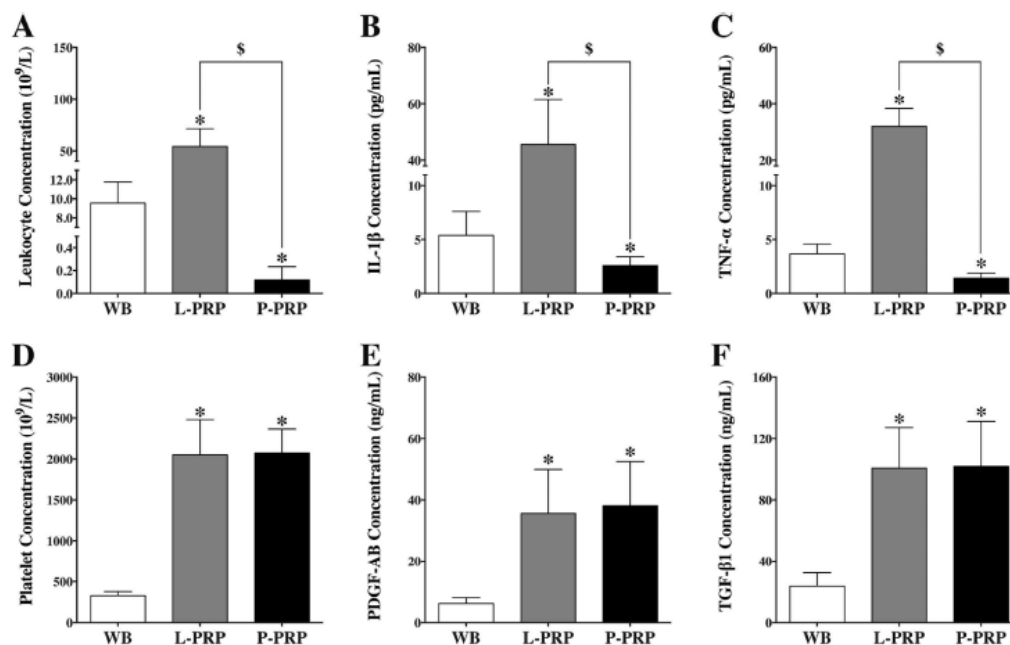


Figura 1 - Concentração celular e de citocinas no sangue periférico (whole blood WB), L-PRP e P-PRP. Zhengliang et al. (2017)<sup>(42)</sup>

Um estudo realizado em 2017 por Zhengliang *et al.* em coelhos<sup>(42)</sup> comparou a concentração de leucócitos, de plaquetas, de fatores de crescimento e de citocinas inflamatórias no sangue periférico (WB), em L-PRP e em P-PRP. A concentração leucocitária era significativamente mais elevada no L-PRP do que no sangue periférico e mais baixa no P-PRP do que no sangue periférico (A). Os níveis das citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  foram também mais elevados no L-PRP e mais baixos no P-PRP (B;C). L-PRP e P-PRP apresentaram concentrações semelhantes de plaquetas e de fatores de crescimento PDGF e TGF- $\beta$  (D;E;F).

Atualmente, e apesar dos vários estudos feitos ao longo dos últimos anos, continua a ser necessário descrever de forma mais precisa o papel benéfico ou não do aumento da concentração de leucócitos no PRP.<sup>(38)</sup>

### 3. PRGF®

Como já foi referido anteriormente, PRGF®, P-PRP desenvolvido por Eduardo Anitua (*Endoret®*, *BTI, Vitoria, Spain*)<sup>(1, 4, 7, 15, 36)</sup>, é utilizado amplamente a nível regenerativo, particularmente na Medicina Dentária. Trata-se de um concentrado plaquetário obtido através de colheita de sangue do paciente, de volume variável, dependente do tipo de procedimento cirúrgico a realizar. A tecnologia *Endoret®* permite obter diferentes formulações de plasma enriquecido em plaquetas, seja na forma líquida ou na forma de coágulo, dependendo do grau de ativação das amostras.<sup>(1, 3, 36)</sup> Este concentrado plaquetário vai permitir uma rápida libertação local de fatores de crescimento<sup>(6, 36)</sup> e a formação de uma membrana de fibrina uma vez que é ativado com cloreto de cálcio 10-15 minutos antes de ser aplicado no local de interesse.<sup>(1, 3, 7)</sup> Para além disso, é utilizado um anticoagulante no sangue colhido. Este anticoagulante é o citrato de sódio e vai impedir a alteração dos recetores de membrana das plaquetas.<sup>(1, 7, 21, 36)</sup>

O PRGF® diferencia-se dos restantes PRP por ser obtido através de um protocolo simplificado que utiliza apenas uma centrifugação. Também o facto de não se utilizar trombina bovina, mas sim cloreto de cálcio, torna-se uma vantagem significativa em relação a outros protocolos uma vez que impede reações de corpo estranho.<sup>(15, 25)</sup> Apesar da grande variabilidade de protocolos para obtenção de concentrados plaquetários descritos na literatura, o protocolo PRGF® (*Endoret®*) da BTI encontra-se atualmente patenteado na Europa, nos Estados Unidos e a nível mundial e está acreditado pela Comunidade Europeia, sendo um protocolo com biossegurança assegurada.

Sendo um P-PRP, o PRGF® não apresenta leucócitos na sua constituição celular<sup>(3, 4, 7, 36)</sup>, o que se torna benéfico a nível da modulação do processo inflamatório, como foi referido anteriormente. A concentração plaquetária do PRGF® é 2 a 3 vezes superior à concentração encontrada no sangue periférico, sendo também uma vantagem relativamente a outros PRP cuja concentração é de 7 a 8 vezes superior à do sangue periférico o que pode levar a situações de inibição da regeneração tecidual, como também foi referido acima (*Anitua, E. 2015. Alveolo Post-Extracción: Una Aproximación Biológica. Edición 1, Team Work Media España. Vitória, Spain*).

#### 3.1 Protocolo PRGF® (*Biotechnology Institute BTI, Vitoria, Spain*)

O protocolo para produção de PRGF® (*Endoret®*) da BTI está patenteado na Europa, nos Estados Unidos e a nível mundial e está acreditado pela Comunidade

Europeia. Para além disso, este protocolo é bastante simples e demora cerca de 20 minutos.

### 3.1.1 Colheita de sangue

- Colocar um compressor elástico a cerca de 8-10 centímetros acima da zona de punção venosa;
- Desinfetar a zona de punção;
- Introduzir a agulha na fossa cubital (veia cubital mediana ou cefálica) com o bisel voltado para cima, formando um ângulo de 15° com o braço;
- Sem retirar o compressor elástico, colocar o tubo de colheita no adaptador e fazer a colheita do sangue. Colocar seguidamente um novo tubo, se assim for necessário (neste procedimento em concreto foram recolhidos 4 tubos de sangue do paciente);
- Fazer o mínimo de dano possível a nível tecidual com a colocação e posição da agulha de forma a que a tromboplastina tecidual não contamine a amostra de sangue e não ative a coagulação.



Figura 2 - Colheita de sangue

### Tubos de colheita

- Função: colher o sangue do paciente;
- Capacidade de 9 mililitros cada;
- Tubos estéreis com 0,4 mililitros de citrato de sódio a 3,8% (anticoagulante).

### **Tubos de fracionamento**

- Função: colher a fração 1 (F1) num tubo e a fração 2 (F2) de PRGF<sup>®</sup> no outro tubo;
- 2 tubos;
- Capacidade de 9 mililitros cada;
- Tubos estéreis com vácuo.

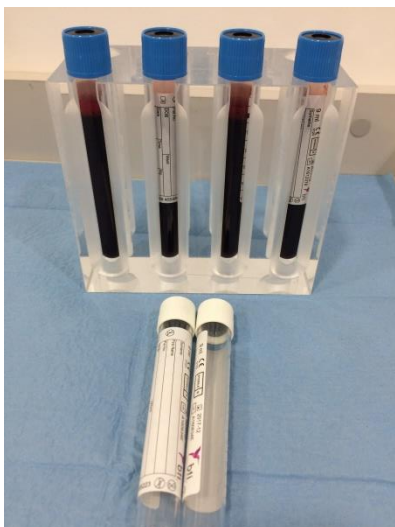


Figura 3 - Quatro tubos BTI de colheita com sangue (acima) e dois tubos BTI de fracionamento (abaixo)

#### **3.1.2 Centrifugação do sangue**

A centrifugação deve ser realizada imediatamente após a colheita. Os tubos devem ser colocados na centrifugadora com disposição equilibrada e simétrica, como representado na Figura 4. Se por algum motivo se obtiver número ímpar de tubos de sangue, deve colocar-se na centrifugadora um tubo com o mesmo volume de água como substituto, de forma a conseguir um correto equilíbrio rotacional na centrifugação.

A tampa da centrifugadora é fechada e seleciona-se a opção de centrifugação (580 gramas durante 8 minutos).

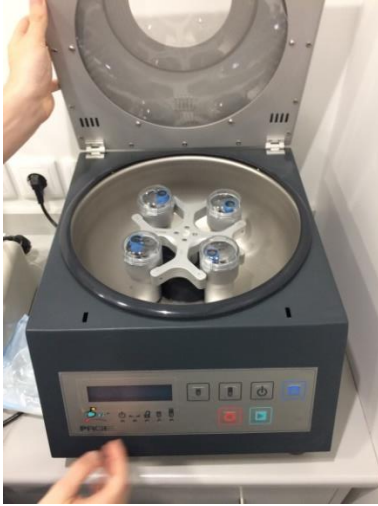


Figura 4 - Centrifugadora BTI com quatro tubos de colheita com sangue do paciente dispostos de forma simétrica

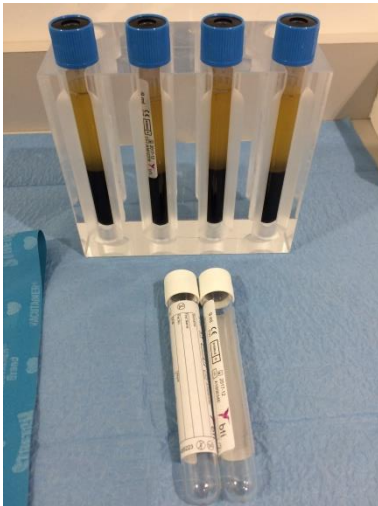


Figura 5 - Tubos de colheita após centrifugação com o sangue fracionado

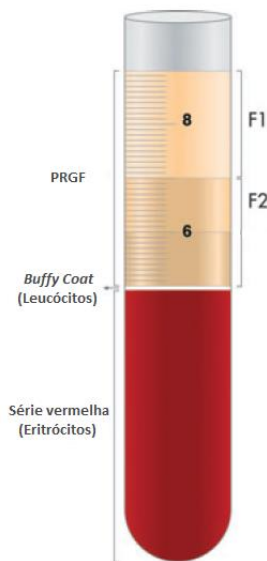


Figura 6 - Sangue fracionado. PRGF localizado acima da série branca (Buffy Coat): F1+F2. Base do tubo com série vermelha. Antua et al. (2012)<sup>(3)</sup> – adaptado

Após centrifugação, consegue-se uma fração 2 do PRGF<sup>®</sup> (F2) que consiste nos 2 mililitros acima da camada de leucócitos (*Buffy Coat*). Esta fração é a fração mais rica em plaquetas<sup>(3)</sup> e não inclui leucócitos.

Sobre a F2 encontra-se a fração 1 do PRGF<sup>®</sup> (F1) que apresenta uma concentração plaquetária similar ou ligeiramente superior à concentração existente no sangue periférico.<sup>(3)</sup>

### 3.1.3 Preparação dos tubos de fracionamento

Utilizando o BTI *Plasma Transfer Device* (PTD), primeiro aspira-se a F1. Monta-se o tubo de fracionamento destinado a F1 na parte superior do PTD. Posiciona-se a cânula do PTD na parte mais superior da F1 do primeiro tubo de colheita e, à medida que se vai aspirando esta fração, acompanha-se com um movimento descendente de forma que a cânula se mantenha sempre na zona mais superficial da fração desejada. Aspirar cerca de 2 mililitros. Este processo repete-se, sempre com o mesmo tubo de fracionamento, para os restantes tubos de colheita de forma a obter um tubo unicamente com a fração F1.

Para recolher a F2 dos tubos de colheita de sangue, o processo repete-se colocando um novo tubo de fracionamento montado no PTD. Deve impedir-se sempre que a ponta da cânula contacte com a *Buffy Coat*.

No fim deste processo, obtém-se um tubo de fracionamento com todas as F1 e outro tubo de fracionamento com todas as F2, em que F1 constitui a porção do plasma com menos concentração plaquetária e F2 a porção com maior concentração plaquetária (porção rica).



Figura 7 - Recolha de F1 com PTD

### 3.1.4 Ativação do PRGF®

Imediatamente antes de utilizar o PRGF® no paciente, este deve ser ativado. Esta ativação permite iniciar o processo de coagulação e competente libertação dos fatores de crescimento. Coloca-se o plasma num godé e é adicionado cloreto de cálcio (*PRGF-Activator*) numa dose de 0,02 mililitros por cada mililitro de plasma. Para obter um coágulo de F2 (frequentemente utilizado para preenchimento do alvéolo pós-extração, uma vez que é a fração com maior concentração de plaquetas e fatores de crescimento (46-48)) deve esperar-se aproximadamente 10 minutos após aplicação do ativador.



Figura 8 - Passagem do plasma F2 para godé

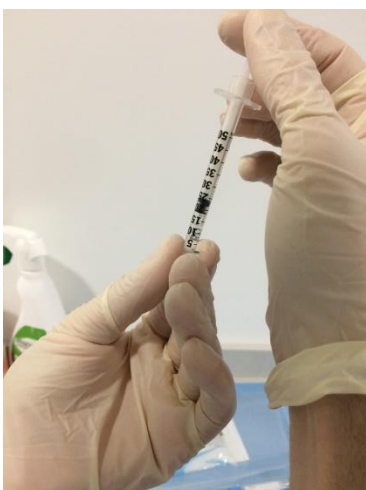


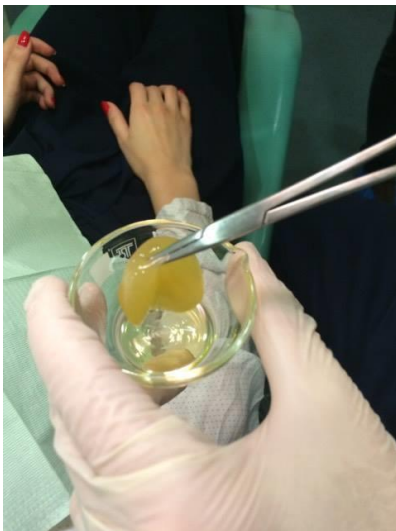
Figura 9 - Seringa para colocar cloreto de cálcio no plasma

Uma vez que a 37°C (temperatura corporal) o processo de coagulação é acelerado, colocando o F2+*PRGF-Activator* no forno Plasmaterm H da BTI este processo de ativação pode suceder-se em 6-7 minutos.



**Figura 10 - Plasmaterm H com godé de F2+PRGF-Activator**

Após ativação da F2, obtém-se um coágulo e uma porção líquida no godé.



**Figura 11 - PRGF® finalizado após ativação: coágulo + porção líquida**

O coágulo pode ser utilizado, por exemplo, para preenchimento do alvéolo após uma extração dentária, como já foi dito anteriormente, e a porção líquida pode ser utilizada para irrigação da ferida operatória.

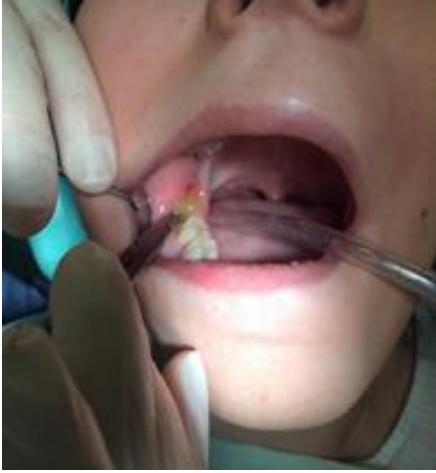


Figura 12 - Colocação do coágulo PRGF® no alvéolo

A F1, por outro lado, após ativação é frequentemente utilizada para produzir membranas, devido à sua composição mais elevada em fibrina.<sup>(46)</sup>



Figura 13 - Irrigação da ferida operatória com a fase líquida do PRGF®

### 3.2 Comparação PRGF® com PRF

Apesar do PRF ser considerado um PRP de segunda geração, o PRGF® tem vindo a ser amplamente utilizado na Medicina Dentária, tal como vai ser explorado mais à frente neste trabalho. No entanto, alguns artigos recentes partilham a ideia de que o

facto de o PRF não ser manipulado com nenhum ativador (como o cloreto de cálcio no caso do PRGF<sup>®</sup>) tem vantagens a nível da rede de fibrina formada. Assim, os autores concordam que a força tênsil, rigidez e dureza das membranas formadas com PRF são superiores às das membranas formadas com PRGF<sup>®</sup>, uma vez que a última fase de coagulação do PRGF<sup>®</sup> é acelerada com um ativador, o que faz com que a matriz de fibrina seja imatura e contenha fibrilas finas. Por outro lado, uma vez que o PRF sofre um processo de coagulação ao ritmo fisiológico, permite uma polimerização da fibrina mais eficaz.<sup>(21, 36)</sup>

No entanto, como já foi também referido, são várias as vantagens do PRGF<sup>®</sup>, mas tem vindo a observar-se resultados contraditórios na literatura. Para além de serem precisos mais estudos comparativos, sabe-se que o grande leque de resultados deve-se às variações fisiológicas que existem de paciente para paciente.<sup>(7)</sup>

### 3.3 Aplicações na Medicina Dentária

Na Medicina Dentária, a aplicação de PRGF<sup>®</sup> tem vários benefícios a nível clínico que têm sido demonstrados em estudos ao longo dos anos.<sup>(6, 7)</sup>

É sem dúvida a nível da cirurgia oral, e mais especificamente a nível dos alvéolos pós-extração dentária, que o PRGF<sup>®</sup> tem vindo a ser mais aplicado, com benefícios inquestionáveis a nível de regeneração tecidual. A aplicação clínica normalmente consiste na colocação do PRGF<sup>®</sup> em forma de coágulo ou gel obtidos pela F2 no alvéolo pós-extração, de forma a preencher todo o espaço disponível.<sup>(46, 47, 49-51)</sup> De forma adicional pode também produzir-se uma membrana de fibrina PRGF<sup>®</sup> através de F1 e aplicar por cima do coágulo antes de suturar a gengiva da ferida operatória.<sup>(46)</sup> Estudos comparativos entre a utilização de coágulos PRGF<sup>®</sup> e coágulos de sangue total demonstram que os pacientes sentem menos dor pós-extração e tendem a tomar menos medicação analgésica quando o PRGF<sup>®</sup> é utilizado.<sup>(50)</sup> De referir ainda que a regeneração óssea e dos tecidos moles é acelerada, verificando-se clinicamente uma cicatrização mais rápida da ferida operatória.<sup>(46, 50)</sup> Para além disso, previne-se a osteíte alveolar<sup>(47)</sup>, a hemorragia pós-extração, até em pacientes hipocoagulados<sup>(49)</sup>, e previne-se a exposição óssea pós-extração em pacientes com história de radioterapia da cabeça e do pescoço<sup>(51)</sup>.

A nível da implantologia tem-se verificado vantagens na utilização do PRGF<sup>®</sup>. Humedecendo toda a superfície hidrofílica do implante neste plasma na sua forma

líquida, é possível modificar aquela superfície aumentando as suas propriedades osteoindutoras e osteocondutoras, facilitando a osteointegração do implante.<sup>(52, 53)</sup>

O PRGF<sup>®</sup> pode ser usado como tratamento adjuvante em pacientes com BRONJ (*Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw*), aplicando-se o plasma nos locais de defeito ósseo após cirurgia de remoção do osso necrótico. Esta aplicação tem efeitos importantes, quer por promover a angiogénese, quer pelos efeitos antimicrobianos de alguns dos fatores de crescimento libertados, promovendo e acelerando o processo de regeneração óssea.<sup>(54, 55)</sup>

Uma outra aplicação prática é a preparação de enxertos, em que o PRGF<sup>®</sup> pode ser aglutinado com biomaterial, tornando a sua manipulação mais fácil e aumentando as propriedades biológicas e osteocondutoras do enxerto ósseo.<sup>(56, 57)</sup>

Em relação ao tratamento de maxilares atróficos, o PRGF<sup>®</sup>, misturado ou não com biomateriais, pode ser utilizado na expansão e *split* de crista nas atrofias horizontais, assim como na elevação de seios maxilares, nos casos de atrofias verticais, promovendo significativamente a formação de osso e a sobrevivência das células ósseas.<sup>(56)</sup> A nível de casos de perfuração da membrana de Schneider, a aplicação de membranas de PRGF<sup>®</sup> no local para a sua regeneração é também efetiva.<sup>(57)</sup>

Em 2015 surgiram na literatura artigos referentes a aplicações do PRGF<sup>®</sup> noutras áreas da Medicina Dentária, nomeadamente em relação à articulação temporomandibular (ATM). Giacomello *et al.* realizou um estudo em que aplicava injeções articulares de PRGF<sup>®</sup> a pacientes com osteoartrite da ATM e limitação da abertura da boca no qual verificou diminuição significativa da dor articular e diminuição na limitação de abertura.<sup>(58)</sup> Também Mozzati *et al.* realizou um estudo em que aplicava PRGF<sup>®</sup> em gel nas feridas de hiperplasia fibrosa provocada por prótese dentária e concluiu que esta aplicação clínica melhorava significativamente a hemóstase e a epitelização do local das feridas.<sup>(59)</sup>

## **Conclusão**

Os benefícios a nível da regeneração tecidual do Plasma Rico em Plaquetas são de conhecimento geral na Medicina e na Medicina Dentária, sendo que não foram reportadas situações em que a sua aplicação causasse qualquer tipo de dano ao paciente.

A necessidade de criar um protocolo único bem definido a ser utilizado sempre de igual forma por médicos dentistas foi superada por Eduardo Anitua quando desenvolveu o protocolo PRGF<sup>®</sup>. Este protocolo tem vindo a acabar com a discrepância de resultados encontrados nos estudos até então. A realização de uma ou duas centrifugações na preparação do plasma, a importância ou não da exclusão dos leucócitos e as vantagens ou desvantagens do uso de ativador são as principais questões respondidas aquando da aplicação do PRGF<sup>®</sup> em diversas áreas da Medicina Dentária.

Da literatura é possível retirar que este protocolo é usado de forma recorrente e menos sujeito a variações do operador por estar devidamente protocolado e acreditado. Conclui-se a sua grande efetividade clínica e pode dizer-se que constitui a base pela qual os médicos dentistas devem guiar-se para obter e aplicar plasma rico em plaquetas clinicamente, uma vez que a centrifugação única, a exclusão de leucócitos na sua composição e a utilização de cloreto de cálcio como ativador mostram ser fatores diferenciadores e vantajosos na preparação e aplicação versátil de concentrados plaquetários.

## Referências Bibliográficas

1. Fioravanti C, Frustaci I, Armellin E, Condo R, Arcuri C, Cerroni L. Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors. *ORAL & implantology*. 2015;8(4):96-113. Epub 2017/01/04.
2. Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Australian dental journal*. 2012;57(2):207-12. Epub 2012/05/26.
3. Anitua E, Alonso R, Girbau C, Aguirre JJ, Muruzabal F, Orive G. Antibacterial effect of plasma rich in growth factors (PRGF(R)-Endoret(R)) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains. *Clinical and experimental dermatology*. 2012;37(6):652-7. Epub 2012/02/15.
4. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, 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. Epub 2014/06/17.
5. Mariani E, Canella V, Berlingeri A, Bielli A, Cattini L, Landini MP, et al. Leukocyte presence does not increase microbicidal activity of Platelet-rich Plasma in vitro. *BMC microbiology*. 2015;15:149. Epub 2015/08/01.
6. Anitua E, Pascual C, Perez-Gonzalez R, Antequera D, Padilla S, Orive G, et al. Intranasal delivery of plasma and platelet growth factors using PRGF-Endoret system enhances neurogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS one*. 2013;8(9):e73118. Epub 2013/09/27.
7. Vahabi S, Vaziri S, Torshabi M, Rezaei Esfahrood Z. Effects of Plasma Rich in Growth Factors and Platelet-Rich Fibrin on Proliferation and Viability of Human Gingival Fibroblasts. *J Dent (Tehran)*. 2015;12(7):504-12. Epub 2016/02/16.
8. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Correa do Amaral RJ, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem cell research & therapy*. 2013;4(3):67. Epub 2013/06/14.
9. Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas AI, Orive G, et al. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2008;84(2):415-21. Epub 2007/06/28.
10. You HJ, Han SK. Cell therapy for wound healing. *Journal of Korean medical science*. 2014;29(3):311-9. Epub 2014/03/13.
11. Murata S, Maruyama T, Nowatari T, Takahashi K, Ohkohchi N. Signal transduction of platelet-induced liver regeneration and decrease of liver fibrosis. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(4):5412-25. Epub 2014/04/02.
12. Cimpean AM, Cobec IM, Ceausu RA, Popescu R, Tudor A, Raica M. Platelet Derived Growth Factor BB: A "Must-have" Therapeutic Target "Redivivus" in Ovarian Cancer. *Cancer genomics & proteomics*. 2016;13(6):511-7. Epub 2016/11/04.
13. Mustonen T, Alitalo K. Endothelial receptor tyrosine kinases involved in angiogenesis. *The Journal of cell biology*. 1995;129(4):895-8. Epub 1995/05/01.
14. Giusti I, D'Ascenzo S, Manco A, Di Stefano G, Di Francesco M, Rughetti A, et al. Platelet concentration in platelet-rich plasma affects tenocyte behavior in vitro. *BioMed research international*. 2014;2014:630870. Epub 2014/08/26.
15. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International journal of implant dentistry*. 2016;2(1):19. Epub 2016/10/18.

16. Martin JI, Merino J, Atilano L, Areizaga LM, Gomez-Fernandez MC, Burgos-Alonso N, et al. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2013;14:410. Epub 2013/12/03.
17. Ahmed M, Reffat SA, Hassan A, Eskander F. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Clean Diabetic Foot Ulcers. *Annals of vascular surgery*. 2017;38:206-11. Epub 2016/08/16.
18. Kazemi D, Fakhrjou A. Leukocyte and Platelet Rich Plasma (L-PRP) Versus Leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L-PRF) For Articular Cartilage Repair of the Knee: A Comparative Evaluation in an Animal Model. *Iranian Red Crescent medical journal*. 2015;17(10):e19594. Epub 2015/11/17.
19. Li H, Li B. PRP as a new approach to prevent infection: preparation and in vitro antimicrobial properties of PRP. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2013(74). Epub 2013/04/24.
20. Xian LJ, Chowdhury SR, Bin Saim A, Idrus RB. Concentration-dependent effect of platelet-rich plasma on keratinocyte and fibroblast wound healing. *Cytotherapy*. 2015;17(3):293-300. Epub 2014/12/03.
21. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, et al. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2015;19(6):927-30. Epub 2015/04/10.
22. Teodoreanu RN, Popescu SA, Lascar I, Vulturescu V, Grigore A. Therapeutic protocol using growth factors in electrocution wounds--case reports and review of the literature. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*. 2014;55(2):473-82. Epub 2014/06/28.
23. Yin WJ, Xu HT, Sheng JG, An ZQ, Guo SC, Xie XT, et al. Advantages of Pure Platelet-Rich Plasma Compared with Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma in Treating Rabbit Knee Osteoarthritis. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:1280-90. Epub 2016/04/18.
24. 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*. 2015;10(3):e0121713. Epub 2015/03/31.
25. Franco D, Franco T, Schettino AM, Filho JM, Vendramin FS. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use. *Aesthetic plastic surgery*. 2012;36(5):1254-9. Epub 2012/09/01.
26. Anitua E, Troya M, Zalduendo MM, Orive G. The effect of different drugs on the preparation and biological outcomes of plasma rich in growth factors. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*. 2014;196(6):423-9. Epub 2014/07/24.
27. Anitua E, Troya M, Zalduendo M, Orive G. Effects of anti-aggregant, anti-inflammatory and anti-coagulant drug consumption on the preparation and therapeutic potential of plasma rich in growth factors (PRGF). *Growth Factors*. 2015;33(1):57-64. Epub 2014/11/05.
28. Faot F, Deprez S, Vandamme K, Camargos GV, Pinto N, Wouters J, et al. The effect of L-PRF membranes on bone healing in rabbit tibiae bone defects: micro-CT and biomarker results. *Scientific reports*. 2017;7:46452. Epub 2017/04/13.
29. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clinical oral investigations*. 2017. Epub 2017/02/06.
30. Kim TH, Kim SH, Sandor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology*. 2014;59(5):550-8. Epub 2014/03/29.
31. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. 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. 2006;101(3):e56-60. Epub 2006/03/01.
32. Fitzpatrick J, Bulsara MK, McCrory PR, Richardson MD, Zheng MH. Analysis of Platelet-Rich Plasma Extraction: Variations in Platelet and Blood Components Between 4 Common Commercial Kits. *Orthopaedic journal of sports medicine*. 2017;5(1):2325967116675272. Epub 2017/02/18.
33. Anitua E, Prado R, Orive G. Closing regulatory gaps: new ground rules for platelet-rich plasma. *Trends in biotechnology*. 2015;33(9):492-5. Epub 2015/09/01.
34. Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(7):1121-30. Epub 2011/07/12.
35. Chevrier A, Darras V, Picard G, Nelea M, Veilleux D, Lavertu M, et al. Injectable chitosan-platelet-rich plasma (PRP) implants to promote tissue regeneration: In vitro properties, in vivo residence, degradation, cell recruitment and vascularization. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2017. Epub 2017/01/14.
36. Khorshidi H, Raofi S, Bagheri R, Banihashemi H. Comparison of the Mechanical Properties of Early Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin versus PRGF/Endoret Membranes. *International journal of dentistry*. 2016;2016:1849207. Epub 2016/02/18.
37. Munoz F, Jimenez C, Espinoza D, Vervelle A, Beugnet J, Haidar Z. Use of leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) in periodontally accelerated osteogenic orthodontics (PAOO): Clinical effects on edema and pain. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2016;8(2):e119-24. Epub 2016/04/02.
38. Cole BJ, Karas V, Fortier LA. Need for Proper Classification of PRP: Response. *The American journal of sports medicine*. 2017;45(6):NP24-NP5. Epub 2017/05/02.
39. Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. Delivering growth factors for therapeutics. *Trends in pharmacological sciences*. 2008;29(1):37-41. Epub 2007/11/27.
40. Fleming BC, Proffen BL, Vavken P, Shalvoy MR, Machan JT, Murray MM. Increased platelet concentration does not improve functional graft healing in bio-enhanced ACL reconstruction. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*. 2015;23(4):1161-70. Epub 2014/03/19.
41. Hamilton B, Tol JL, Knez W, Chalabi H. Exercise and the platelet activator calcium chloride both influence the growth factor content of platelet-rich plasma (PRP): overlooked biochemical factors that could influence PRP treatment. *British journal of sports medicine*. 2015;49(14):957-60. Epub 2013/06/19.
42. Xu Z, Yin W, Zhang Y, Qi X, Chen Y, Xie X, et al. Comparative evaluation of leukocyte- and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Scientific reports*. 2017;7:43301. Epub 2017/03/08.
43. Anitua E, Prado R, Orive G. Platelet-rich plasma and myofibroblasts: is the composition the key to success? *Advances in skin & wound care*. 2015;28(5):198-9. Epub 2015/04/18.
44. Krijgsveld J, Zaat SA, Meeldijk J, van Veelen PA, Fang G, Poolman B, et al. Thrombocidins, microbicidal proteins from human blood platelets, are C-terminal deletion products of CXC chemokines. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(27):20374-81. Epub 2000/07/06.
45. Tang YQ, Yeaman MR, Selsted ME. Antimicrobial peptides from human platelets. *Infection and immunity*. 2002;70(12):6524-33. Epub 2002/11/20.
46. Mozzati M, Gallesio G, di Romana S, Bergamasco L, Pol R. Efficacy of plasma-rich growth factor in the healing of postextraction sockets in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2014;72(3):456-62. Epub 2013/12/18.

47. Haraji A, Lassemi E, Motamedi MH, Alavi M, Adibnejad S. Effect of plasma rich in growth factors on alveolar osteitis. *National journal of maxillofacial surgery*. 2012;3(1):38-41. Epub 2012/12/20.
48. Gallesio G, Del Fabbro M, Pol R, Mortellaro C, Mozzati M. Conservative treatment with plasma rich in growth factors-Endoret for osteoradionecrosis. *The Journal of craniofacial surgery*. 2015;26(3):731-6. Epub 2015/05/15.
49. Cocero N, Pucci F, Messina M, Pollio B, Mozzati M, Bergamasco L. Autologous plasma rich in growth factors in the prevention of severe bleeding after teeth extractions in patients with bleeding disorders: a controlled comparison with fibrin glue. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2015;13(2):287-94. Epub 2014/11/05.
50. Anitua E, Murias-Freijo A, Alkhraisat MH, Orive G. Clinical, radiographical, and histological outcomes of plasma rich in growth factors in extraction socket: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*. 2015;19(3):589-600. Epub 2014/07/08.
51. Mozzati M, Gallesio G, Gassino G, Palomba A, Bergamasco L. Can plasma rich in growth factors improve healing in patients who underwent radiotherapy for head and neck cancer? A split-mouth study. *The Journal of craniofacial surgery*. 2014;25(3):938-43. Epub 2014/05/03.
52. Anitua E, Orive G, Aguirre JJ, Ardanza B, Andia I. 5-year clinical experience with BTI dental implants: risk factors for implant failure. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35(8):724-32. Epub 2008/07/12.
53. Anitua E, Pinas L, Begona L, Orive G. Long-term retrospective evaluation of short implants in the posterior areas: clinical results after 10-12 years. *Journal of clinical periodontology*. 2014;41(4):404-11. Epub 2013/12/21.
54. Mozzati M, Gallesio G, Arata V, Pol R, Scoletta M. Platelet-rich therapies in the treatment of intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a report of 32 cases. *Oral oncology*. 2012;48(5):469-74. Epub 2012/01/24.
55. Anitua E, Begona L, Orive G. Treatment of hemimandibular paresthesia in a patient with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) by combining surgical resection and PRGF-Endoret. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2013;51(8):e272-4. Epub 2012/12/04.
56. Anitua E, Prado R, Orive G. Bilateral sinus elevation evaluating plasma rich in growth factors technology: a report of five cases. *Clinical implant dentistry and related research*. 2012;14(1):51-60. Epub 2010/07/16.
57. Taschieri S, Corbella S, Del Fabbro M. Use of plasma rich in growth factor for schneiderian membrane management during maxillary sinus augmentation procedure. *The Journal of oral implantology*. 2012;38(5):621-7. Epub 2012/10/18.
58. Giacomello M, Giacomello A, Mortellaro C, Gallesio G, Mozzati M. Temporomandibular joint disorders treated with articular injection: the effectiveness of plasma rich in growth factors-Endoret. *The Journal of craniofacial surgery*. 2015;26(3):709-13. Epub 2015/05/15.
59. Mozzati M, Mortellaro C, Gallesio G, Ruggiero T, Pol R. Surgical treatment of denture-induced fibrous hyperplasia with plasma rich in growth factors. *The Journal of craniofacial surgery*. 2015;26(3):772-5. Epub 2015/04/29.

# **ANEXOS**



FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Exmo. Senhor  
Diretor Curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária da  
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto  
Prof. Doutor César Fernando Coelho Leal da Silva

**PARECER SOBRE A MONOGRAFIA DE REVISÃO DO Mestrado Integrado em Medicina Dentária  
DA ESTUDANTE ANA RUI DA SILVA ROCHA AMORIM INTITULADA “PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM  
MEDICINA DENTÁRIA”**

A monografia apresentada pela estudante Ana Rui da Silva Rocha Amorim, intitulada “Plasma Rico em Plaquetas em Medicina Dentária” aborda um tema emergente e cada vez mais relevante na prática clínica médico-dentária.

Estudos recentes evidenciam a velocidade e a qualidade da nova vascularização como o principal fator para a cicatrização dos tecidos moles e duros. Na verdade, têm sido muitas as investigações no sentido de desenvolver fatores capazes de estimular a angiogénese. Neste sentido surgiu a aplicação do plasma rico em plaquetas, de forma a promover a reparação tecidual, modulação da inflamação e acelerar de forma benéfica todo o processo de regeneração, determinante para o sucesso de diversas técnicas na área da cirurgia e implantologia oral.

A monografia cumpriu os objetivos propostos, apresentando uma revisão da literatura sobre o plasma rico em plaquetas, a sua composição e aplicabilidade em medicina dentária. Além disso apresentou um protocolo bem definido e ilustrado sobre a técnica de obtenção e aplicação do plasma rico em fatores de crescimento.

O trabalho apresentado está corretamente estruturado e organizado, com materiais e métodos claros e bibliografia atual.

Pelos pressupostos acima mencionados, sou de opinião que a monografia apresentada reúne as condições legais para ser apresentada em provas públicas.

Porto, 20 de Maio de 2017

Inês Guerra Pereira

(Orientadora)

Rua Dr. Manuel Pereira da Silva, 4200-329 Porto – Portugal  
Telefone: 220901100 – Fax: 22 090 11 01  
www.fmd.up.pt

**U. PORTO**



FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

**DECLARAÇÃO**

**Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica**

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 20 de Maio de 2017

---

Ana Rui Amorim