

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

ROGÉRIO MARTINS FERREIRA

USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO NA ODONTOLOGIA

Duque de Caxias

2017

Rogério Martins Ferreira

USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO NA ODONTOLOGIA

Dissertação apresentada a Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO -- como parte dos requisitos parciais para obtenção grau de Mestre em Odontologia.

Área de concentração:
Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Granato

UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO

2017

F383u Ferreira, Rogério Martins.

Uso dos fatores de crescimento na odontologia / Rogério Martins
Ferreira. – 2016.
44 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Odontologia/Implantodontia) –
Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de
Ciências da Saúde, 2016.
“Orientador: Prof. Rodrigo Granato”.
Bibliografia: f. 42-44.

1. Odontologia. 2. Implantodontia. 3. Regeneração tecidual guiada periodontal. 4. Cicatrização. 5. Cirurgia ora. I. Granato, Rodrigo. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. III. Título.

CDD – 617.6

**Este trabalho reflete a opinião do autor, e não necessariamente a da
Associação Fluminense de Educação – AFE. Autorizo a difusão deste trabalho.**

Rogério Martins Ferreira

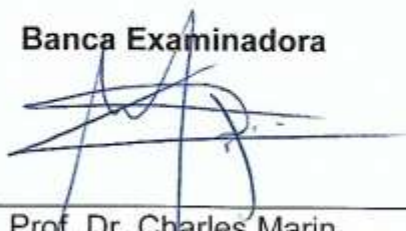
USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO NA ODONTOLOGIA: REVISÃO DE
LITERATURA

Dissertação apresentada à Universidade do
Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy"
UNIGRANRIO para obtenção do grau de Mestre
em Odontologia.

Área de Concentração:
Implantodontia

Aprovada em 11 de janeiro de 2017.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Charles Marin
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Profª. Dra. Esther Rieko Takamori
FMP – Faculdade de Medicina de Petrópolis



Prof. Dr. Plinio Mendes Senna
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio

AGRADECIMENTOS

- A Deus, por iluminar esta caminhada e tantas outras percorridas;
- A meu pequeno Michel que compartilhou deste momento de uma maneira única e incondicional;
- Aos meus pais pelo voto de confiança em meus atos que possibilitaram mais este momento de conquista;
- Aos meus irmãos pelo afeto e orgulho demonstrado que tanto contribuíram na minha formação;
- Ao meu orientador Professor Rodrigo Granato, o qual dedico o mais profundo respeito e admiração por ser sempre o mentor e encorajador de muitas etapas profissionais obtidas;
- Ao Professor Charles Marin pelos constantes questionamentos;
- Ao Professor Plínio Senna pelo entusiasmo diante de novos conhecimentos;
- Ao Professor Willian Chaia pela amizade, confiança e companheirismo;
- A todos os professores que auxiliaram no meu crescimento pessoal e profissional; pelo incondicional apoio a esta pesquisa tornando possível alcançar os objetivos propostos;
- Ao meu amigo Marcelo Bulamarqui pela; amizade e constante apoio.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal, e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer”.

Albert Einstein

RESUMO

Os procedimentos cirúrgicos são intervenções que visam reabilitar função e fisiologia de algum órgão ou tecido, lançando-se mão de técnicas que são, na maioria das vezes, muito invasivas e que geram uma situação de desconforto ao paciente. Em virtude disso, iniciou-se uma série de estudos sobre aditivos cirúrgicos que auxiliem no processo de cicatrização desses procedimentos, capazes de regular a inflamação e acelerar a cicatrização. Alguns fatores de crescimento foram isolados e testados quanto a sua capacidade de regeneração tecidual a partir da estimulação de células osteoprogenitoras. Estes fatores de crescimento são mediadores naturais, que regulam os eventos celulares para a reparação dos tecidos, desencadeando a proliferação celular e a síntese da matriz através de seus receptores específicos.

O objetivo principal do presente estudo é realizar uma revisão de literatura como ferramenta para análise dos Fatores de Crescimento, descrevendo sua evolução até um novo modelo de aditivo cirúrgico bioativo, que ajude na cicatrização de lesões cirúrgicas por suas características de regeneração tecidual e de regulação inflamatória.

Palavras-chave: Fatores de Crescimento, Regeneração Tecidual, Implantodontia, Aditivo Cirúrgico.

ABSTRACT

Surgical procedures are interventions aimed at rehabilitating function and physiology of a follow-up hand casting techniques are, most often, very invasive and create an uncomfortable situation for the patient. As a result, we initiated a series of studies on surgical additives that aid in the healing process these procedures, able to regulate inflammation and enhance the healing. Some growth factors were isolated and tested for tissue regeneration capacity from stimulating osteoprogenitor cells. These growth factors are natural mediators that regulate cellular events to repair the tissue, triggering cell proliferation and matrix synthesis through their specific receptors.

Some clinical applications of autologous biomaterial have been described in various areas of medicine and for specific procedures related to rehabilitation in implantology.

The main of this study objective is to conduct a literature review and analysis tool for the Growth Factors, describing its evolution to a new bioactive surgical additive model, which helps in the healing of surgical lesions for its tissue regeneration characteristics and inflammatory regulation.

Keywords:Growth Factors, Tissue Regeneration, Implant Dentistry, Surgical Additives.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fase proliferativa da cascata de coagulaçãoErro! Indicador não definido.

Figura 2: Composição do sangue..... Erro! Indicador não definido.

Figura 3: Plaquetas Erro! Indicador não definido.

Figura 4: Vias da Cascata de Coagulação Erro! Indicador não definido.

Figura 5: Cola de Fibrina Erro! Indicador não definido.

Figura 6: Coleta do Plasma Rico em Plaquetas Erro! Indicador não definido.

Figura 7: O Plasma Rico em Plaquetas pronto para o usoErro! Indicador não definido.

Figura 8: Trama de rede de Fibrina com as Plaquetas aderidas...Erro! Indicador não definido.

Figura 9: Coágulo da Fibrina Rica em Plaquetas após a Centrifugação Erro! Indicador não definido.

Figura 10: Transformação do Coágulo de PFR em Membrana de PRF Erro! Indicador não definido.

Figura 11: Flexibilidade e Resistência da membrana de PRF Erro! Indicador não definido.

Figura 12: Trama de rede de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos Erro! Indicador não definido.

Figura 13: Coágulo de L-PRF formado após a centrifugação Erro! Indicador não definido.

Figura 14: I-PRF após a Centrifugação Erro! Indicador não definido.

Figura 15: Coleta do I-PRF do tubo pronto para o uso.....Erro! Indicador não definido.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
4 PLAQUETAS	17
5 CASCATA DE COAGULAÇÃO	18
6 FATORES DE CRESCIMENTO	20
7 COLA DE FIBRINA	21
8 CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS	23
8.1 PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)	26
8.1.1 PROCESSO PARA OBTENÇÃO DO PRP	27
8.1.2 BENEFÍCIOS CLÍNICOS DO PRP	28
8.1.3 RISCOS CLÍNICOS QUANTO AO USO DO PRP	29
8.2 PRF (FIBRINA RICA EM PLAQUETAS)	29
8.3 L-PRF (FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS).....	33
8.3.1 USO DE L-PRF NA ODONTOLOGIA.....	35
8.3.2 PROCESSO PARA OBTENÇÃO DO L-PRF.....	36
8.4 I-PRF (Fibrina Rica Em Plaquetas Injetável)	37
9 DISCUSSÃO	39
10 CONCLUSÃO	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

A integridade dos tecidos e reparação de vasos sanguíneos são essenciais depois de um evento invasivo como cirurgia, trauma e durante doenças degenerativas. Inúmeros tipos de células estão envolvidos no reparo de feridas.

Nos últimos anos o conhecimento de cicatrização de feridas e regeneração óssea vem sendo aprofundada pela identificação, compreensão e pelos os meios tecnológicos para utilizar os fatores de crescimento. A estratégia é melhorar e acelerar esses fatores contidos nas paquetas, que são os iniciadores do processo de cicatrização. Isso pode ser feito hoje com o uso de concentrados plaquetários que não são tóxicos e imunoreativos.

No local ao qual o tecido foi lesionado, ocorre um estímulo para que se inicie a cascata de coagulação, promovendo a hemostasia. Quando esta cascata é iniciada, são liberadas das plaquetas fatores de crescimento, tais como Fator de Transformação (TGF- β), Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), Fator de Crescimento Derivado de Fibroblastos (FGF), Fator de Crescimento Epitelial (EGF), Prostaglandinas e Tromboxanos, que atraem os neutrófilos para a lesão. (Almeida ARH, *et al*; 2008)

O coágulo formado é composto por colágeno, plaquetas e trombina, que servem de reservatório proteico para síntese de citocinas e fatores de crescimento, aumentando seus efeitos. A resposta inflamatória se inicia com vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, promovendo a quimiotaxia.

Entre 24 e 36h da lesão, as substâncias quimiotáticas liberadas pelas plaquetas atraem leucócitos e neutrófilos para o local. Essas células são as primeiras a chegar em maior concentração e produzir radicais livres que ajudam na eliminação de bactérias. Os neutrófilos penetram a ferida por diapedese. São responsáveis pela limpeza, remoção de corpos estranhos e bactérias e pelo desbridamento de tecidos lesados.

Os fibroblastos surgem, atraídos por quimiotaxia, através de mediadores inflamatórios liberados por plaquetas, leucócitos e macrófagos. Iniciam a síntese e a secreção de componentes da matriz extracelular e de fatores de crescimento que continuam a estimular a cicatrização.

Entre quarenta e oito até noventa e seis horas, os macrófagos migram para a ferida, desempenhando papel fundamental no final do debridamento iniciado pelos neutrófilos. A sua maior contribuição é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, além de desempenhar papel importante na angiogênese.

Já a fase proliferativa tem início quatro dias após a lesão e estende-se até o final da segunda semana. A fase proliferativa é dividida em quatro etapas: reepitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno.(Figura1)

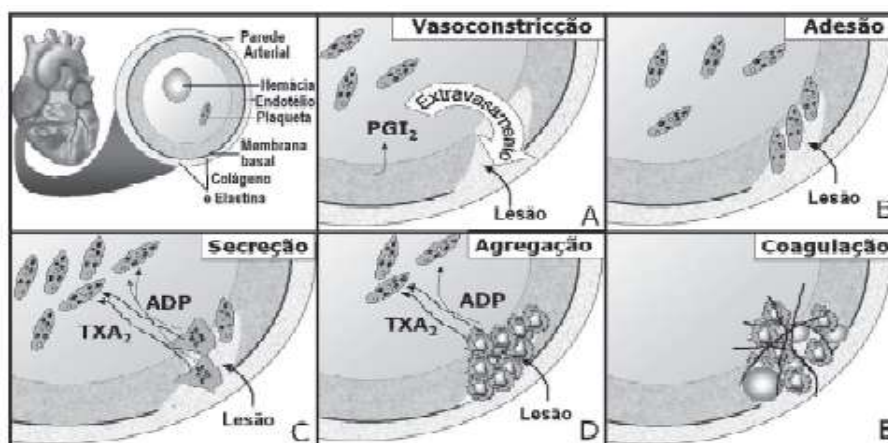


Figura 1: Fase proliferativa da cascata de coagulação
 Fonte: Platelets: still a therapeutical target J. Bras. Patol. Med.
 Lab. vol.42 no.5 Rio de Janeiro Oct. 2006

A reepitelização ocorre precocemente se a membrana basal estiver intacta. As células epiteliais migram em direção superior e as camadas da epiderme são restauradas em três dias. Se houver lesão na membrana basal, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar tentando restabelecer a barreira protetora.

O Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), sintetizado principalmente por macrófagos, estimula a angiogênese, caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, muito importantes para a cicatrização.

O tecido de granulação é a parte final da fase proliferativa, sendo as principais células da fase proliferativa os fibroblastos e as células endoteliais.

Estudos em animais vêm demonstrando que a aplicação de géis e curativos ricos em fatores de crescimento aplicados nas feridas promove significativa resposta, acelerando o reparo tecidual, porém os custos elevados do produto contendo tais fatores interferem na disponibilidade para a maioria da população, dificultando seu uso. (Melo CML, *et al* 2007)

Na implantodontia, a utilização deste biomaterial tem como principal objetivo o aumento do tecido gengival para a colocação de implantes, já que a falta de espessura adequada, dificulta a reabilitação estética, um dos problemas mais frequentes que os profissionais dessa área enfrentam. (Tunali M, *et al* 2013)

Pode ser usado também como uma membrana reabsorvível para regeneração óssea guiada, onde a arquitetura tridimensional forte e elástica atua como uma tela suturável que cobrirá e estabilizará o material enxertado, protegendo o material e a própria ferida em si, permitindo a aproximação dos bordos gengivais e, conseqüentemente, favorecendo a sua reepitelização. Sendo assim, a aceleração do processo de cura torna o sítio cirúrgico menos sensível às agressões, reduzindo a sensibilidade pós-operatória e atuando a favor da estética. (Del Corso M, Toffler M, Ehrenfest DMD; 2010)

Aqui, descrevemos as diferenças metodológicas relativa à variedade de Concentrados Plaquetários e suas principais aplicações clínicas com foco na Odontologia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O desenvolvimento de adjuvantes cirúrgicos para a estimulação local de cicatrização é um importante campo de investigação em ciências de biomateriais e farmacêuticas. O primeiro fase da cicatrização associa muitos fatores, tais como, plaquetas, leucócitos, matriz de fibrina e fatores de crescimento. Todos estes agentes trabalham em sinergia durante o processo de coagulação, e muitos produtos tentam mimetizar esses mecanismos naturais, a fim de melhorar a cicatrização de um local cirúrgico. De acordo com Agrawal, M. e Agrawal, V. (2014), o início deste processo em qualquer ferimento é realizado pela formação de coágulos e inflamação, seguido por uma fase proliferativa, que compreende de epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação, deposição de colágeno e, finalmente, maturação do colágeno e contração.

O uso de aditivos cirúrgicos, que promovem a aceleração da cicatrização de feridas, fundamenta-se em estudos que relatam a liberação de fatores de crescimento de vários tipos por grânulos secretórios de plaquetas especializados. Eles foram discernidos em pelo menos sete fatores de crescimento diferenciados, secretados ativamente pelas plaquetas, desempenhando um importante papel na fase inicial de cicatrização de feridas. São eles: três isômeros do fator de crescimento plaquetário, denominados, em inglês, por *platelet-derived growth factor* (PDGF), fator de crescimento derivado de plaquetas, e seus isômeros – PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\beta\beta$ e PDGF $\alpha\beta$. Dois fatores de crescimento transformadores, *transforming growth factor* (TGF) – TGF β 1 e TGF β 2. O fator de crescimento endotelial vascular, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e, por fim, o fator de crescimento epitelial, *epidermal growth factor* (EGF). Os TGFs ativam os fibroblastos para formação de pró-colágeno, que resulta na deposição de colágeno e cicatrização da ferida. Os PDGFs, associados ou não com os TGFs, aumentam a vascularização dos tecidos, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam produção de tecido de granulação e melhoram a osteogênese. O VEGF incita o início do processo de angiogênese, a mitogênese e a permeabilidade vascular e o EGF conduz o crescimento de tecido epitelial,

proporcionando também a angiogênese. Estas substâncias transformam a cicatrização um processo mais rápido e eficiente, beneficiando a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilagosos ou de células de gordura (Vendramini *et al.*, 2006).

Os fatores de crescimento são liberados quando ativados por um estímulo ou agregados por alguns ativadores, entre eles o TGF- β e o PDGF- $\alpha\beta$, que são os dois tipos em maiores quantidades. A promoção da cicatrização de tecidos moles e duros ocorre através da estimulação da produção de colágeno para melhorar a resistência da ferida e iniciar a formação do calo (Ling HE *et al.*, 2009). O potencial regenerativo das plaquetas foi introduzido em 1974, tendo sido Ross *et al.* (1974) os primeiros a descreverem os fatores de crescimento (FCs) contidos nas plaquetas, que, isoladas do sangue periférico, são uma fonte autóloga desses fatores. Eles são mitogênicos (proliferativos), quimiotáticos (estimulam a migração dirigida de células) e induzem a angiogênese (estimulação da formação de novos vasos sanguíneos) (Agrawal, M. e Agrawal, V., 2014). Atualmente, tem sido bem documentado que as plaquetas fornecem um rico conjunto de fatores de crescimento, no entanto, o conceito de um Concentrado Plaquetário, por vezes foi erroneamente resumido em um conceito mágico de fatores de crescimento. Este vício por fatores de crescimento pode influenciar e provocar o esquecimento dos papéis-chave de outros agentes presentes nestes produtos derivados do sangue. Entre a crença mística, os interesses comerciais e a verdade científica são necessários vários anos para aprovar o papel fundamental da fibrina e dos leucócitos nestes produtos. Considerando-se a complexidade da coagulação e reabilitação de tecidos, os fatores de crescimento não são os únicos atores no processo fundamental da cicatrização (Dohan *et al.*, 2012). Na realidade, as plaquetas são os principais elementos envolvidos nesse processo, através de sua coagulação, e pela libertação de FCs que iniciam e sustentam a cicatrização (Pinheiro, 2014).

Os concentrados plaquetários foram produzidos com o desígnio de combinar as propriedades vedantes de fibrina com os fatores de crescimento das plaquetas, proporcionando, portanto, uma base ideal para a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. No decorrer dos anos, uma variedade de

concentrados plaquetários vem se desenvolvendo e evoluindo, seus resultados promissores foram comprovados em estudos de diversos autores. Particularmente são eles, a Cola de Fibrina, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e a Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) (Agrawal, M. e Agrawal, V., 2014).

3 SANGUE

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

O sangue humano de um indivíduo adulto normal contém, por mm, aproximadamente, de 4,1 a 5,1 milhões de eritrócitos, 4,4 a 11 ,3 mil leucócitos e de 172 a 450 mil plaquetas. Na fase líquida, denominada plasma, estão dissolvidas as proteínas circulantes, os lípidios, sais minerais, proteínas, nutrientes e produtos do metabolismo orgânico. (Figura 2)

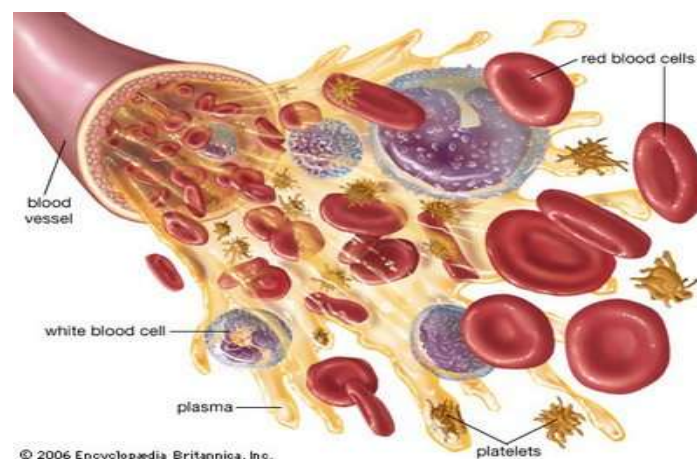


Figura 2: Composição do sangue

Fonte de Dezembro 2016: www.aulasdeanatomia.com

É composto por uma parte sólida e líquida. O componente sólido, que também pode ser entendido como elemento figurado ou formadores, representa cerca de 45% do volume total do sangue e são classificados em leucócitos, responsáveis pela defesa do organismo, os eritrócitos que são encarregados do transporte de oxigênio (O₂) e as plaquetas que também podem ser identificadas como fatores de coagulação sanguínea. Já a parte líquida, que perfaz 55% do volume total do sangue, é representada pelo plasma. (Hall J. E. ; Guyton A.C. , 1996)

O plasma que forma o compartimento líquido é composto de 90% de água, aproximadamente 2% de elementos inorgânicos, 7% compõe as proteínas plasmáticas, em especial a albumina, imunoglobulinas e fibrinogênio, e 1% de elementos orgânicos não protéicos, materiais resultantes do metabolismo celular e hormônios. Além disto, o sangue é rico em Oxigênio (O₂) e Gás Carbônico (CO₂) e possui uma coloração avermelhada característica. (Döri *et al* 2007)

4 PLAQUETAS

As plaquetas são fragmentos de células produzidas na medula óssea, compostas por uma pequena quantidade de citoplasma rodeados por uma membrana plasmática contendo grânulos que dividiram-se a partir de um megacariócito com sobrevivência de de 9,5 dias. Contêm glicoproteínas e proteínas na sua superfície que lhes permite fixarem-se a outras moléculas, como por exemplo, o colágeno do tecido conjuntivo. No seu citoplasma contêm muitos grânulos cujo conteúdo é secretado no momento da ativação. α -Grânulos contêm muitas proteínas, plaquetas específicas (como β -tromboglobulina) ou plaquetas não específicas (fibrinectina, trombospondina, fibrinogênio e outros fatores de coagulação, promotores de crescimento, inibidores de fibrinólise, imunoglobulinas, etc.) Os grânulos densos contêm serotonina, cálcio, etc. Além disso, a membrana de plaquetas é uma camada dupla de fosfolípidos em que os recetores para muitas moléculas são inseridos. (Dohan, D.M. *et al*, 2006)

Elas representam o componente mais importante na modulação cicatricial, devido a capacidade de liberar fatores de crescimento. Como elementos figurados do sangue, são produzidos por fragmentação do citoplasma megacariócito, que, por sua vez, origina-se na medula óssea.

Há uma concentração, em média, de 150.000 a 300.000 plaquetas por cm^3 de sangue. Quando esta concentração for superior a $350.000/\text{cm}^3$ ocorre uma alteração denominada trombocitose, podendo ter a incidência de trombos no exterior dos vasos. Por outro lado, quando o nível de concentração for inferior a $150.000/\text{cm}^3$ produzirá trombocitopenia, ocorrendo assim hemorragias. No que se refere as plaquetas envelhecidas, lesadas ou não-funcionantes é interessante observar que estas são removidas da circulação pelo baço, uma vez que perdem a função de ser os componentes básicos iniciais no processo de hemostasia, ou seja, a coagulação do sangue. (Figura 3)

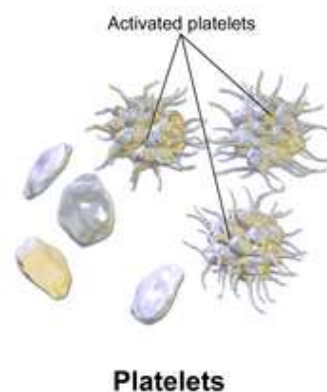


Figura 3: Plaquetas
Fonte de Dezembro 2016: <http://br.innatia.com>

5 CASCATA DE COAGULAÇÃO

A formação do coágulo de fibrina no local da lesão representa um processo penoso para a manutenção da integridade vascular e acredita-se que as reações responsáveis pela iniciação da coagulação ocorram constantemente fora do espaço vascular. Sendo que, os mecanismos do sistema hemostático nele envolvidos devem ser regulados para conjuntamente

evitem a perda excessiva de sangue e contrapõem a formação de trombos intravasculares, conseqüentes da formação excessiva de fibrina. As plaquetas, os vasos, as proteínas da coagulação do sangue, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise são os constituintes do sistema hemostático.

A clássica cascata da coagulação foi introduzida em 1964. Neste modelo a ativação de cada fator da coagulação leva a ativação de outro fator até a eventual formação da trombina. Esses fatores são numerados de I ao XIII, com seus respectivos sinônimos. O número correspondente para cada fator foi designado considerando a ordem de sua descoberta e não do ponto de interação com a cascata. (Macfarlane RG, 1964)

O modelo da cascata dividiu a seqüência da coagulação em duas vias: a via intrínseca na qual todos os componentes estão presentes no sangue e na via extrínseca na qual é necessária a presença da proteína da membrana celular subendotelial, o fator tecidual (TF)

A coagulação, pela via intrínseca, é desencadeada quando o fator XII é ativado pelo contato com alguma superfície carregada negativamente (por exemplo, colágeno ou endotoxina).

De modo mais simples, na via extrínseca, a coagulação é desencadeada quando os tecidos lesados liberam o fator tecidual (tromboplastina tecidual), que forma um complexo com o fator VII, mediado por íons cálcio. Este complexo age sobre o fator X estimulando sua conversão em Xa. A partir deste ponto, as duas vias encontram um caminho comum em que ocorre a conversão de protrombina em trombina que, por sua vez, estimula a transformação de fibrinogênio em fibrina. (Figura 4)

O papel principal da fibrina na reparação de feridas é a hemostasia, mas a fibrina também proporciona uma matriz para a migração de fibroblastos e de células endoteliais que estão envolvidos na angiogênese e responsáveis pela remodelação do tecido novo. (Franco RF, 2001)

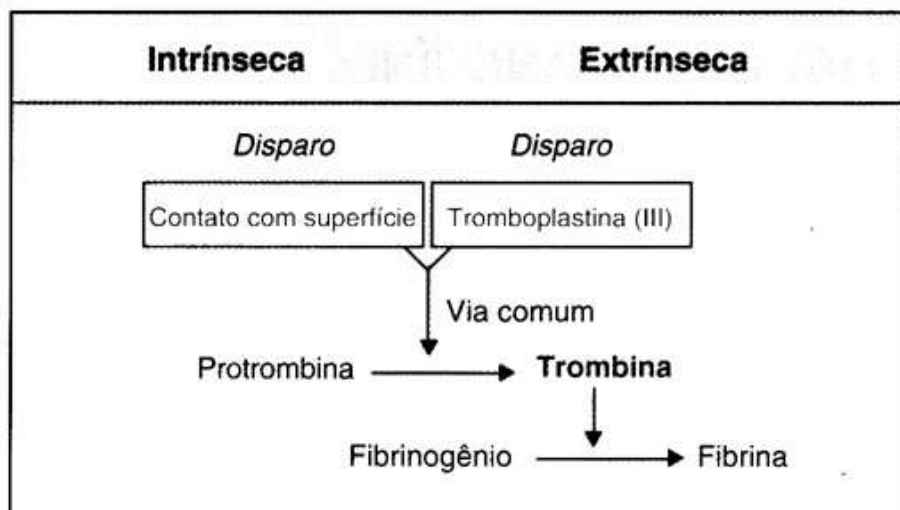


Figura 4: Vias da Cascata de Coagulação
 Fonte de Dezembro de 2016: <http://www.uff.br/fisio6/aulas>

6 FATORES DE CRESCIMENTO

Os fatores de crescimento são mediadores biológicos naturais que exercem vários efeitos sobre os processos de reparo e regeneração. Estes polipeptídeos são responsáveis por regular diversos eventos celulares como a síntese de DNA, a quimiotaxia, a citodiferenciação e a síntese de matriz.

Eles foram classificados em pelo menos sete fatores de crescimento, secretados ativamente pelas plaquetas, desempenhando um importante papel na fase inicial de cicatrização de feridas. São eles: três isômeros do fator de crescimento plaquetário, denominados por *platelet-derived growth factor* (PDGF), fator de crescimento derivado de plaquetas, e seus isômeros – PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\beta\beta$ e PDGF $\alpha\beta$. Dois fatores de crescimento transformadores, *transforming growth factor* (TGF) – TGF β 1 e TGF β 2. O fator de crescimento endotelial vascular, *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e, por fim, o fator de crescimento epitelial, *epidermal growth factor* (EGF). Os TGFs ativam os fibroblastos para formação de pro-colágeno, que resulta na deposição de colágeno e cicatrização da ferida. Os PDGFs, associados ou não com os TGFs, aumentam a vascularização dos tecidos, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam produção de

tecido de granulação e melhoram a osteogênese. O VEGF incita o início do processo de angiogênese, a mitogênese e a permeabilidade vascular e o EGF conduz o crescimento de tecido epitelial, proporcionando também a angiogênese. Estas substâncias transformam a cicatrização um processo mais rápido e eficiente, beneficiando a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilagosos ou de células de gordura. (Vendramini FS *et al*, 2006)

Os concentrados de plaquetas foram produzidos com o desígnio de combinar as propriedades vedantes de fibrina com os fatores de crescimento das plaquetas, proporcionando, portanto, uma base ideal para a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. No decorrer dos anos, uma variedade de concentrados plaquetários vem se desenvolvendo e evoluindo, seus resultados promissores foram comprovados em estudos de diversos autores. Particularmente são eles, a Cola de Fibrina, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), a Fibrina Rica em Plasma (PRF), a Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF). (Agrawal, M. e Agrawal, V., 2014)

7 COLA DE FIBRINA

A cola de fibrina foi o primeiro aditivo cirúrgico a ser utilizado, disponível comercialmente na Europa ao final de 1970 por Matras. Uma importante propriedade da cola de fibrina é que esta reproduz a fase final da cascata de coagulação, agindo de forma independente a partir dos mecanismos internos de coagulação. Portanto, ela vai conseguir a hemostasia da ferida independentemente de defeitos de coagulação. A cola de fibrina não é tóxica, é biodegradável, promove o crescimento local e reparação de tecidos. Os riscos são pequenos para os grandes benefícios. São utilizadas para hemostasia tópica e vedação de tecidos lesionados. Para os adesivos comerciais homólogos existe risco de infecção cruzada, o que provocou o desenvolvimento de uma cola de fibrina autóloga, do plasma do próprio paciente, mas com propriedades físicas menos satisfatórias. (Roy L.T.J.; Gerald R.S.; Thomas B.D., 1994)

O primeiro tipo de cola de fibrina pesquisada são as colas homólogas, comerciais e disponíveis com dois componentes de preparações. Um concentrado de fibrinogênio/fibronectina/fator XIII dissolvido em uma solução antifibrótica (geralmente de aprotinina) e um concentrado de trombina dissolvido em cloreto de cálcio. A mistura dos dois componentes imita o último estágio da cascata de coagulação, resultando num coágulo de fibrina.(Figura 5)



Figura 5: Cola de Fibrina
Fonte de Dezembro 2016: www.hemobras.gov.br

Um estudo 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), a cola de fibrina não estava sendo mais utilizada. 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. (Roy L.T.J.; Gerald R.S.; Thomas B.D., 1994)

Surgiu-se na década de 90 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. Entre suas aplicações clínicas destacam-se o tratamento de recessão, regeneração tecidual

envolvendo implantes dentários, aumento do assoalho do seio e tratamento de feridas de extração. Possui como limitações, uma menor resistência a estresses físicos do que as colas comerciais homólogas. Seus efeitos benéficos em tecidos moles são bem documentados, no entanto, a sua contribuição para cirurgia tecidual, e cirurgia periodontal continua controversa e requer uma pré-doação de sangue autógeno. (Prakash S.; Thakur, 2011)

8 CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

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

O uso de produtos hemoderivados para selar feridas e estimular a cicatrização começou com o uso de adesivos de fibrina, constituídos de fibrinogénio concentrado (polimerização induzida por trombina e cálcio). Embora a utilização de adesivos de fibrina seja bem documentada em diversos campos nos últimos 40 anos, manteve-se a controvérsia devido à complexidade dos protocolos de produção (adesivos autólogos) e ao risco de infeção cruzada (adesivos comerciais). (Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T., 2009)

Na medicina transfusional, concentrados de plaquetas foram originalmente usados para tratamento e prevenção de hemorragias resultantes de trombopenias severas, que normalmente são causadas por aplasias medulares, leucemias agudas ou perda significativa de sangue em longas cirurgias. O concentrado de plaquetas standard para transfusão foi denominado

de plasma rico em plaquetas (PRP) e classicamente continha 1.000.000 de plaquetas/ μ L em um volume de 5 mL de plasma.

O PRP é definido como sendo um líquido formado por água e proteínas, tais como: albumina, globulina, fibrinogênio e protrombina. As duas últimas, juntamente com as plaquetas, são importantes na coagulação. É um produto derivado do processamento laboratorial do sangue autólogo, coletado no período pré-operatório e rico em Fatores de Crescimento originários dos grânulos μ -plaquetários.

Quanto às vantagens de utilização dos Concentrados Plaquetários, podemos citar:

- a) acelera o crescimento e a maturação óssea;
- b) aumenta a estabilização do enxerto-barreira mecânica;
- c) promove a adesão tecidual na ferida;
- d) promove a cicatrização tecidual da ferida;
- e) potencializa a hemostasia;
- f) facilidade de obtenção e fabricação, pois não necessita de banco de sangue;
- g) baixo custo e seguro;
- h) baixo grau de desconforto para o paciente;
- i) quimiotaxia;
- j) estimulação da mitogênese;
- k) diferenciação celular.
- l) modelagem do enxerto;
- m) presença de Fatores de Crescimento.

A respeito das suas indicações na odontologia, elas abrangem várias áreas, como: implantes dentais, defeitos periodontais, enxertos ósseos em bloco particulados, selamento de perfuração da membrana do seio, levantamento do seio maxilar, laterização do nervo alveolar inferior,

comunicação buco-nasal, hemostasia de sítios de doadores de enxertos, substituto de enxertos ósseos, regeneração de alvéolos após extração, regeneração após apicetomia e regeneração ao redor de implantes.

A concentração de plaquetas pode chegar até 338 % que a encontrada no sangue total. Este material processado e rico em proteínas, pode ser combinado com um material de enxerto ósseo apropriado e, assim, possibilita uma formação óssea no sítio enxertado. (Andriolo A.R.A., 2002)

Os fatores de crescimento promovem um aumento de número de células indiferenciadas no sítio cicatricial durante o tempo de reparo ou regeneração, pois a proporção de células mesenquimais para células estruturais da medula é de aproximadamente:

1: 100.000 no adolescente;

1: 250.000 na idade de 35 anos;

1: 400.000 na idade de 80 anos.

De acordo com MARX (2004) o ideal é a obtenção de pelo menos 4 vezes a concentração basal de plaquetas, ou seja, em torno de 1.000.000 de plaquetas.

Outra vantagem do uso do PRP se deve ao fato de sua preparação autógena, quer dizer, realizada em momentos antes do procedimento cirúrgico. Além disso, seu uso reduz o risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas (HIV, hepatite, etc) se comparado a outros produtos tais como a Cola de Fibrina . (Anitua E. *et al*, 1999)

A classificação dos diferentes concentrados de fibrina divide-se em quatro categorias, dependendo do seu conteúdo em leucócitos e fibrina: plasma puro rico em plaquetas (P-PRP), como separador de células PRP, PRF ou PRGF de Anitua; plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP), fibrina rica em plaquetas pura (P-PRF), e por fim fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF). (Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T., 2009)

8.1 PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)

O termo "plasma rico em plaquetas (PRP)" foi usado pela primeira vez em 1954 por Kingsley, para designar um concentrado de trombócitos durante as experiências de coagulação do sangue. O conceito de concentrado de plaquetas para uso tópico foi, de fato, muito mais antigo que o artigo de Marx et al. (1998). Poucos anos depois das primeiras publicações acerca de colas de fibrina, preparações autólogas foram testadas em oftalmologia, cirurgia geral e neurocirurgia. Estes produtos ricos em plaquetas foram usados apenas como adesivos de tecido de fibrina, e não como estimuladores de cicatrização: as plaquetas devem suportar uma forte polimerização da fibrina. Não foram considerados fatores de crescimento e propriedades curativas. (Dohan *et al*, 2010)

Os PRPs são produtos mais complexos e seus efeitos clínicos são dependentes das características versáteis e adaptáveis intrínsecas do sangue do paciente e em numerosos agentes contidos nestes produtos. Concentrados de plaquetas são, na verdade, concentrados de sangue, e sua biologia é tão complexa como o sangue em si. O concentrado de plasma rico em plaquetas (cPRP), fundamenta-se cientificamente no fato de os fatores de crescimento, em inglês Growth Factors (GFs), serem conhecidos por desempenharem um papel fundamental em mecanismos de reparação do tecido duro e mole, que exibem propriedades que promovem e modulam funções celulares envolvidas na cicatrização de tecidos, regeneração e proliferação de células. (Prakash S., Thakur, 2011)

O plasma Rico em Plaquetas é obtido de sangue autógeno, por meio de um processo que utiliza o princípio da separação celular por centrifugação diferencial, no qual colhe-se o sangue do doador, separa-se as substâncias desejadas (plaquetas) do restante dos elementos sanguíneos através de centrifugação. Este procedimento pode ser realizado em consultório odontológico ou em banco de sangue. Independente do local a ser realizado é importante para o sucesso deste procedimento que as plaquetas apresentem qualidade e quantidade favoráveis para obtenção do PRP.

Sugere-se que em pacientes que serão submetidos a este procedimento o profissional realize uma anamnese rigorosa e solicite exames laboratoriais tais como:

- hemograma completo; TAP, PT; Contagens de plaquetas;

A seqüência do processo é basicamente a seguinte: punção venosa, retirada do sangue e separação celular através de centrifugação. (Marx R.E., 2004)

Diversos protocolos para preparação do gel plaquetário contendo PRP tem sido proposto com o objetivo de obter um maior número de plaquetas viáveis em um volume mínimo de plasma.

A coleta do sangue deve ser realizada, utilizando seringas plásticas e tubos plásticos ou siliconizados, de modo a prevenir a ativação das plaquetas. A centrifugação excessiva do sangue pode resultar em fragmentação das plaquetas e comprometer a eficiência do gel. O manuseio inadequado do sangue pode resultar na ativação das plaquetas e na exocitose granular com consequente liberação dos fatores de crescimento antes da sua aplicação na ferida cirúrgica.

8.1.1 PROCESSO PARA OBTENÇÃO DO PRP

Com o auxílio de um separador celular por gradiente de densidade, é colhido de 400 a 450 ml de sangue. Este é, em seguida, centrifugado a uma velocidade de 5.600 rpm (50 ml/min) por 10 minutos, conforme nos explica MARX et ai. (1998). A centrífuga separa cada camada de sangue, numa proporção da menos densa para a mais densa, isto é, a camada de plasma pobre em plaquetas (PPP) que é a primeira (topo) camada (aproximadamente 200ml); a outra camada, localizada na porção central (cerca de 70 ml), é composta de plasma rico em plaquetas (PRP); a última camada contém eritrócitos no nível mais inferior (cerca de 180 ml). (Figura 6)



Figura 6: Coleta do Plasma Rico em Plaquetas após a primeira centrifugação

O PRP é coletado e centrifugado a uma velocidade mais baixa (2.400 rpm por 10 minutos) para que haja uma separação mais exata do PRP e dos eritrócitos. Quanto às plaquetas mais jovens, que são as de maior atividade e maiores, elas se encontram misturadas ao primeiro milímetro da camada superior dos eritrócitos. Por essa razão, elas podem ser incluídas no PRP. Enfim, os pesquisadores realizaram a contagem de plaquetas e constaram que no plasma original a média foi de 232 mil por mm^3 e, no PRP, de 785 mil por mm^3 . Isso confirma a concentração média que é por volta de 338%. (Figura 7) (Marx R.E *et al*, 1998)



Figura 7: O Plasma Rico em Plaquetas pronto para o uso

8.1.2 BENEFÍCIOS CLÍNICOS DO PRP

O processo do PRP permite a concentração de grande número de plaquetas com seus fatores de crescimento, em mínimos volumes de plasma. Essa acentuada concentração plaquetária seja capaz de ampliar a ação dos fatores de crescimento liberados dos grânulos alfa plaquetários no momento

da fragmentação dessas células e, conseqüentemente, iniciar a atividade das células ósseas indiferenciadas de forma mais completa do que normalmente ocorreria, no enxerto e na área de coagulação.

O uso do PRP reduz o risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas, quando comparado a outros produtos, como as Colas de Fibrinas por exemplo.

Aplicação do PRP, em conjunto com procedimentos de enxertos ósseos, tem sido ampliada e discutida, com aparente sucesso. Nos enxertos de seio maxilar, com ou sem instalação imediata de implantes.

8.1.3 RISCOS CLÍNICOS QUANTO AO USO DO PRP

O uso do gel de plaquetas (PRP) em procedimentos oral e maxilofacial tem sido aumentado constantemente. A preparação do PRP envolve a separação do plasma rico em plaquetas para depois transformar em gel usando cloreto de cálcio e trombina bovina tópica. Isso tem merecido nossa atenção devido ao uso de trombina bovina associado com o desenvolvimento dos fatores de crescimento V e XI, resultando trombina com o risco de desencadear coagulopatias.

Porém, não é necessário para obtenção do coágulo a utilização trombina bovina, somente cloreto de cálcio a 10%.

8.2 PRF (FIBRINA RICA EM PLAQUETAS)

Descrita por Choukroun et al. em 2001, a PRF não é, como muitos acreditam, uma “cola de fibrina”, nem tão pouco um concentrado plaquetário clássico. A Fibrina Rica em Plaquetas é uma matriz cicatricial autóloga, definida como um concentrado de plaquetas sobre uma membrana de fibrina com alto potencial regenerativo (figura 8). (Choukroun J. *et al* 2001)

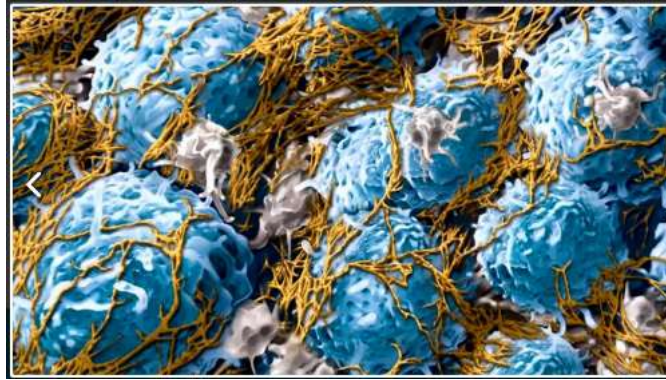


Figura 8: Trama de rede de Fibrina com as Plaquetas aderidas
Fonte de Dezembro/2016: <http://botiss-dental.com/products/l-prf>

O'Connel et al.(2008) sugeriram que a PRF promove um liberação gradativa das citocinas ao longo de 14 dias, diferente do PRP, que age apenas precocemente, ao longo de 7 dias. As citocinas “presas” na PRF e liberadas gradualmente são capazes de acelerar a reparação tecidual por um período de tempo mais prolongado, no entanto, o elemento chave desse processo cicatricial é a própria estrutura da rede de fibrina. (O'Connel S.M., 2008)

A PRF é obtida de modo semelhante ao PRP, por meio da centrifugação de uma amostra de sangue, a 3.000 rpm (velocidade de cerca de 400 G) por 10 minutos. Contudo, não há nessa técnica, a adição de anticoagulante, trombina bovina ou cloreto de cálcio, sendo essa a grande diferença entre a PRF, o PRP e os adesivos de fibrina. (Raja V.S.; Naidu E.M., 2008)

Uma vez centrifugado, o coágulo de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) é obtido no meio do tubo, entre os corpúsculos vermelhos ao fundo e o plasma pobre em plaquetas (PPP) no topo (sobrenadante) (Figura 9).



Figura 9: Coágulo da Fibrina Rica em Plaquetas após a Centrifugação

É na rapidez da coleta do sangue e da sua transferência para a centrífuga que reside o êxito dessa técnica, caso contrário, somente um pequeno coágulo de sangue, sem consistência, será formado. A membrana de PRF é forte, elástica e flexível, além de possuir uma arquitetura favorável para apoiar todo o processo cicatricial (Figuras 10 e 11).

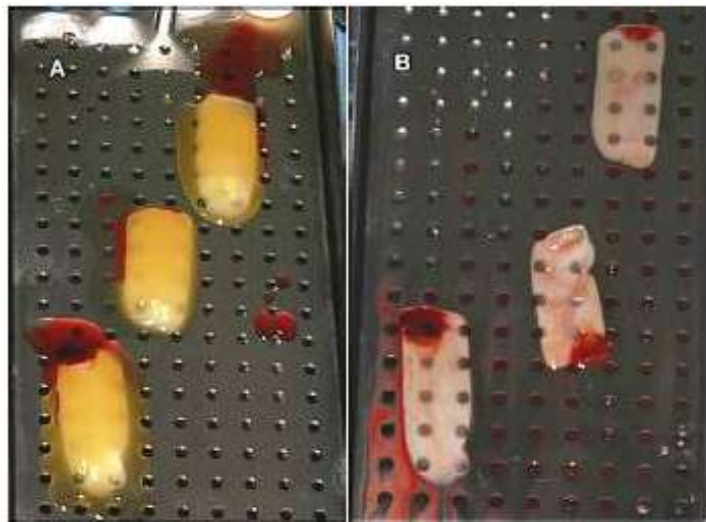


Figura 10: Transformação do Coágulo de PFR em Membrana de PRF



Figura 11: Flexibilidade e Resistência da membrana de PRF

Um dos limitantes do uso da PRF é que apenas um pequeno volume pode ser usado, uma vez que provém do sangue do paciente, e a quantidade produzida é pequena. Além disso, por possuir células imunes e moléculas

plasmáticas antigênicas, a PRF de cada paciente só pode ser usada por ele mesmo. (Choukroun J., 2006)

As aplicações clínicas da PRF se baseiam na aceleração cicatricial dos tecidos, devido ao desenvolvimento de uma neovascularização efetiva, fechamento acelerado da ferida, rápida remodelação do tecido cicatricial e total ausência de eventos infecciosos. Suas aplicações clínicas são, basicamente, as mesmas do PRP. (Clark R.A., 2001)

Seguindo os debates sobre o conteúdo e o papel dos vários componentes destas preparações, uma primeira classificação foi proposta em 2009, e agora é amplamente citada como um marco no processo de classificação da terminologia. Esta classificação é realmente muito simples, e separado dos produtos seguintes, pelo menos, 2 parâmetros fundamentais: a presença de um conteúdo de células (principalmente leucócitos) e a arquitetura de fibrina. Esta separação permitiu definir 4 famílias principais de reagrupar os produtos: (Yan T. *et al* 2012)

1 - Pure Platelet Rich Plasma (P-PRP) – Plasma Puro Rico em Plaquetas;

2- Leukocyte and Platelet Rich Plasma (L-PRP) – Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos;

3- Pure Platelet Rich Fibrin (P-PRF) – Fibrina Rica em Plaquetas Pura

4 - Leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L-PRF) – Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos

Dentre todas estes subprodutos, o mais utilizado na Odontologia é a L-PRF, pois técnica desenvolvida é avaliada como uma técnica de acesso livre, com base no conceito de um único passo de centrifugação do sangue sem anticoagulante e sem ativador de sangue. A preparação é completamente natural, e esta pode ser uma diferença fundamental com todas as outras famílias de produtos. A técnica é muito simples, rápida, barata e permite a produção de grandes quantidades de coágulos de fibrina e membranas em um tempo muito curto. Esta é atualmente a principal técnica em cirurgia oral e maxilo-facial, especialmente porque as membranas e coágulos L-PRF são

muito fáceis de combinar com técnicas cirúrgicas atuais, mas esses concentrados permanecem ainda em fase experimental como eles exigem para encontrar uma maneira de usar os coágulos em cada procedimento cirúrgico específico (como manter as membranas / coágulos no posição adequada), enquanto as famílias PRP são muitas vezes simplesmente injetados. (Choukroun J. *et al* 2006)

8.3 L-PRF (FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS)

A Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) pertence a uma nova geração de concentrado imunológico e plaquetário, com processamento simplificado e sem manipulação bioquímica do sangue, o que, segundo Dohan *et al.* (2010), é crucial para determinar a organização tridimensional da rede de fibrina. O protocolo para a confecção deste biomaterial é muito simples e barato: o sangue é recolhido em tubos secos de vidro ou de plástico revestidos de vidro e imediatamente centrifugado. O coágulo de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) é formado por um processo de polimerização natural durante a centrifugação, e a sua arquitetura tridimensional de fibrina é responsável pela libertação lenta de fatores de crescimento e glicoproteínas da matriz por um período de, aproximadamente, 7 dias. (Dohan *et al.*, 2010)

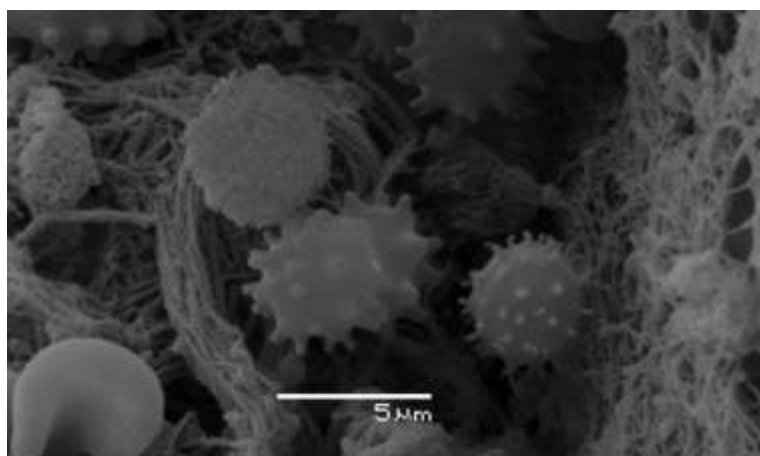


Figura 12: Trama de rede de Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos
Fonte de Dezembro 2016: <http://www.poseido.info/publication/volume-2-2014/poseido-201422141-54-pinto.pdf>

Após a centrifugação, três camadas são formadas: uma base de glóbulos vermelhos, red blood cells (RBC) na parte inferior, o plasma acelular, plasma pobre em plaquetas, platelet poor plasma (PPP), na forma de um sobrenadante, e um coágulo de L-PRF no meio. Este coágulo dispõe de muitos promotores de aceleração cicatricial e de imunidade presentes na coleta de sangue inicial. Plaqueta rica em fibrina pode ser utilizada diretamente, como um coágulo ou, após compressão, como uma forte membrana. Embora fatores de crescimento e plaquetas desempenhem um papel importante na biologia da PRF, a arquitetura tridimensional da fibrina e o seu conteúdo de leucócitos são dois parâmetros chave, raramente avaliados. A maioria dos estudos só destacam as concentrações de plaquetas e fatores de crescimento. Contudo, a arquitetura de fibrina influencia diretamente a arquitetura de todos os biomateriais à base de fibrina. (Gupta V. *et al*, 2011)

Todas as aplicações clínicas conhecidas da L-PRF são estruturadas em quatro eventos fundamentais da cicatrização, sendo eles a angiogênese, controle imunológico, aproveitamento de células circulantes e recobrimento de ferida por epitélio. Esses eventos desempenham uma cicatrização de tecidos acelerada devido ao desenvolvimento eficaz da neovascularização, acelerado fechamento da ferida com rápida remodelação do tecido cicatricial e ausência quase total de eventos infecciosos. Apesar de plaquetas e citocinas leucocitárias desempenharem um papel importante na biologia do biomaterial, o suporte da matriz de fibrina certamente constitui o elemento determinante responsável para o potencial terapêutico da L-PRF. Além disso, os principais fatores de crescimento da angiogênese são incluídos no gel de fibrina, quando liberados após a ativação das plaquetas aprisionadas dentro da matriz de fibrina, estimulam uma resposta mitogênica também em perióstio de osso para sua reparação durante a cicatrização de feridas. (Choukroun J. *et al*, 2006)

Vários autores têm demonstrado que a matriz de fibrina é um ótimo suporte para células-tronco mesenquimais transplantadas com o objetivo de regeneração de defeitos ósseos, já que as células-tronco mesenquimais da medula óssea contribuem para a regeneração de todos os tipos de células ósseas e muitos outros tipos de tecidos. Tal cicatrização exige acúmulo dessas células e sua conversão para o fenótipo dos osteoblastos. Experiência clínica

confirma que a L-PRF pode ser considerado um biomaterial de aceleração cicatricial, possuindo todos os parâmetros necessários para permitir o processo fisiológico. (Agrawal, M. e Agrawal, V., 2014)

8.3.1 USO DE L-PRF NA ODONTOLOGIA

Os clínicos desejam materiais que oferecem simplicidade e previsibilidade para uma ampla variedade de defeitos, minimizando o potencial de risco de complicações. Para esta infinidade de opções de tratamento, produtos biológicos foram introduzidos como materiais aditivos. Atualmente, os estudos estão focados na utilização clínica do L-PRF, um material rico em plaquetas autólogas e fatores de crescimento, que proporciona um arcabouço osteocondutor e estimulam células do próprio paciente no sentido de uma resposta regenerativa. É uma matriz de fibrina, onde as citocinas de plaquetas, fatores de crescimento e células são presas, podendo ser liberadas depois de um determinado período de tempo, servindo como uma membrana reabsorvível. L-PRF é basicamente um concentrado de fatores de crescimento e outros agentes que promovem a cicatrização de feridas e regeneração tecidual. É usado em várias áreas da odontologia para reparar diversos tipos de lesões e regenerar tecidos dentários e orais. Podemos citar como tais finalidades: (Del Corso M.; Toffler M.; Dohan M. D. E., 2010)

- (a) elevação de seio maxilar em combinação com enxertos ósseos, a fim de acelerar a cicatrização;
- (b) proteção e estabilização de materiais de enxerto em procedimentos de aumento de crista;
- (c) preservação do alvéolo após extração ou avulsão;
- (d) cobertura de raízes de um ou mais dentes com recessão;
- (e) tratamento de defeito ósseo de 3 paredes;
- (f) tratamento de lesão endodôntica periodontal combinada;
- (g) tratamento de defeitos de furca;

(h) aprimoramento da cicatrização de feridas palatais após enxerto gengival livre;

(i) preenchimento de cavidade cística.

8.3.2 PROCESSO PARA OBTENÇÃO DO L-PRF

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 e, posteriormente centrifugado, sendo, para esse efeito, requeridos o Kit de coleta, a centrífuga específica e a caixa box a fim de preparar membranas standarizadas e para recolha do exsudado de L-PRF, em ambiente estéril. Não são adicionados nem anticoagulantes, nem trombina de bovino ou cloreto de cálcio. (Naik B. *et al*, 2013)

Colhe-se uma amostra de sangue de paciente sem qualquer adição de anticoagulantes, e coloca-se em tubos de 10 mL. Imediatamente após o primeiro passo faz-se a centrifugação, a 3.000 rpm, cerca de 800g, durante 10 minutos; obtendo-se três camadas: Eritrócitos; Coágulo de L-PRF – onde estão contidos a maioria das plaquetas e leucócitos e o PPP . A camada superior do tubo – Soro – é removida e coleta-se e fração intermédia, 2 milímetros abaixo da divisão entre esta camada e os eritrócitos; e obtém-se, assim, o coágulo de L-PRF.

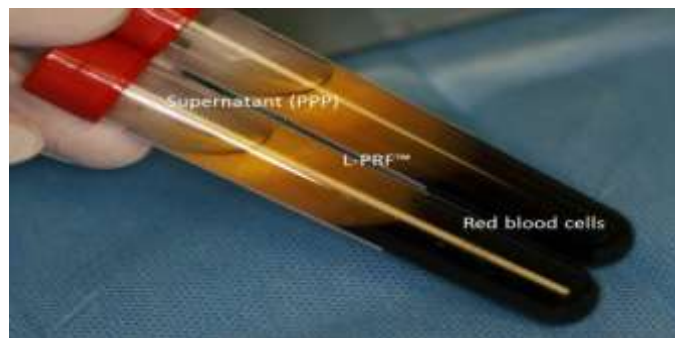


Figura 13: Coágulo de L-PRF formado após a centrifugação

Fonte: 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. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2013, 77-83.

O sucesso desta técnica depende do período de tempo entre a coleta do sangue e a sua transferência para a centrífuga, que deve ser feita no melhor intervalo possível, no máximo em 3 minutos pois após este tempo o sangue em contato com as paredes dos tubos, inicia-se o processo de coagulação. 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. (Agrawal, M. e Agrawal, V., 2014)

8.4 I-PRF (Fibrina Rica Em Plaquetas Injetável)

A utilização destes agregados plaquetários de forma injetável é bastante difundida, principalmente, na Ortopedia e na Cirurgia Plástica, porém estes concentrados utilizam tubos para coleta de sangue venoso com a presença de anticoagulante ou gel separador. No entanto, os tubos utilizados na técnica não apresentam aditivos que interfiram na sua obtenção. Sendo assim, é uma alternativa de produção de fibrina rica em plaquetas para utilização na sua forma líquida (injetável) ou polimerizada (coágulo).

Para obtenção do i-PRF, é realizada coleta de sangue utilizando tubos de 9ml, sem adição de qualquer aditivo. Após coleta, estes tubos são posicionados para centrifugação durante dois minutos, com velocidade de 3300rpm. Com o término deste processo, é possível observar uma área de cor alaranjada no tubo (i-PRF) e o restante do material sanguíneo logo abaixo. (Figura 14)

Em seguida, os tubos são abertos de forma cuidadosa, para não acontecer a homogeneização do material. Utilizando uma seringa com uma agulha hipodérmica de 18G é coletado o i-PRF dos tubos (Figura 9), sendo obtido 5ml. (Figura 15) (Mourão C.F.A.B. *et al*, 2014)



Figura 14: I-PRF após a Centrifugação

Fonte de Dez/2016: <http://revistadocbc.org.br/detalhes/92/obtencao-da-fibrina-rica-em-plaquetas-injetavel>

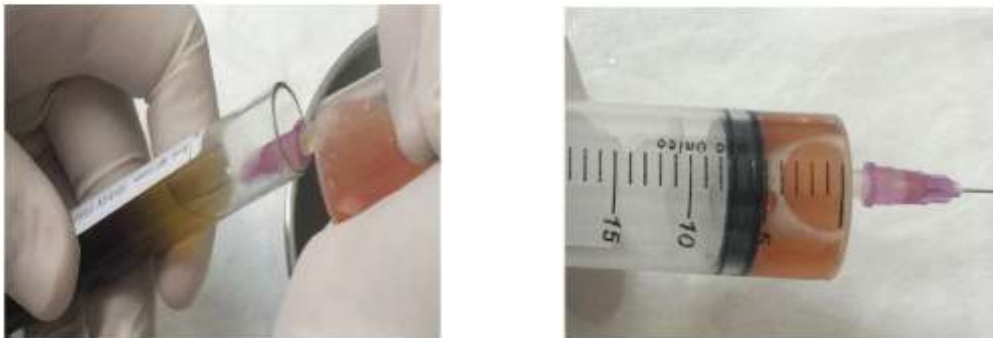


Figura 15: Coleta do I-PRF do tubo com seringa hipodérmica

Fonte de Dez/2016: <http://revistadocbc.org.br/detalhes/92/obtencao-da-fibrina-rica-em-plaquetas-injetavel>

O i-PRF é uma nova alternativa como agregado plaquetário para diferentes áreas da Medicina e Odontologia, possibilitando aos especialistas novas pesquisas envolvendo este produto. Por ser autógeno, diminui as chances de reações adversas ao material implantado, principalmente as imunomediadas, como ocorre com outros tipos de enxertia, o que o credencia como opção viável nos procedimentos regenerativos. A possibilidade da aglutinação do i-PRF com biomateriais para enxertia óssea cria uma alternativa ao PRP como agregado plaquetário para regeneração óssea. O PRP é utilizado em procedimentos regenerativos devido a possibilidade de otimizar a neoformação óssea. (Chen T.L. *et al*, 2014)

9 DISCUSSÃO

Em nossa clínica diariamente nos deparamos com pacientes que necessitam de uma reabilitação oral através de próteses, e que o tratamento por eleição é através de próteses implanto-suportadas. Porém o caso não permite pela atrofia dos rebordos devido a perda óssea ou as condições anatômicas não permitem pela deficiência óssea bucal.

Por este motivo sentimos a necessidade de desenvolver técnicas não só para tratamentos com implantes, mas também em tratamentos periodontais ou como procedimento preventivo para reabilitação posterior.

É importante ressaltar que os materiais osteogênicos são os que contêm fatores de indução e estes, por sua vez, são os que possuem substâncias morfogênicas que estimulam as células indiferenciadas. Tais materiais devem ser biocompatíveis, absorvíveis e substituídos por osso em um prazo razoável de tempo, de modo a não inibir a formação óssea, nem induzir um processo inflamatório crônico.

Há muitos métodos que induzem a reparação óssea, tais como: os materiais aloplásticos, osso autógeno e, atualmente, os fatores de crescimento autógenos derivados das plaquetas e de outras células sanguíneas.

Desde a descoberta dos fatores de crescimento envolvidos no processo de cicatrização tecidual contidos nas plaquetas do sangue humano, permitiu-se a utilização dos fatores de crescimento, através de um gel plaquetário.

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

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

recente de biomateriais desenvolvidos na medicina regenerativa, podendo ser considerados como uma evolução das tecnologias de adesivos de fibrina utilizadas desde há muitos anos. O conceito original destas preparações autólogas foi concentrar as plaquetas e os fatores de crescimento numa solução de plasma, e torná-los num gel de fibrina a utilizar num local cirúrgico, a fim de melhorar a cicatrização local. A maior parte destas suspensões de plaquetas são denominadas de plasma rico em plaquetas (PRP). Embora o uso de adesivos de fibrina e plasma rico em plaquetas (PRP) seja bem documentado, eles têm as suas próprias limitações.

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

Utilizada como uma membrana de recobrimento, L-PRF acelera a cicatrização e fecho das margens da ferida, estabiliza materiais de enxerto e protege o local cirúrgico de agressões externas. Geralmente, proporciona uma redução perceptível no tempo de cicatrização do tecido superficial, e os pacientes muitas vezes declaram reduzida dor pós-operatória. Apesar de este material ser apenas um coágulo de sangue otimizado e utilizável as suas potenciais aplicações são numerosas, mas um conhecimento preciso do biomaterial, da sua biologia, da eficiência e limitações são necessárias para otimizar o seu uso na prática diária. (Kumar R.; Shubhashini N., 2012)

Porém o cirurgião dentista não possuía a autorização para a coleta desse sangue, o que dificultava e honerava muito os procedimentos cirurgicos. Todo o procedimento deveria ser realizado dentro de um ambiente hospitalar e sob a supervisão de um Médico ou Enfermeiro de acordo com a PORTARIA Nº 2.712, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2013, o que ainda honerava os custos cirúrgicos ao paciente.

Em Junho de 2015 com a aprovação da RESOLUÇÃO Nº 158, DE 8 DE JUNHO DE 2015, ficou autorizado a realização de venopunção para obtenção de Agregados Plaquetários Autólogos para uso exclusivo em Odontologia pelo cirurgião-dentista, devidamente habilitado ou de profissional de saúde devidamente habilitado em conjunto e corresponsabilidade com o cirurgião-dentista, desde que comprovada sua qualificação e capacitação através de diplomas, declarações, certificados e congêneres para o processamento do sangue humano para obtenção do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e a manipulação do sangue para a obtenção da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) e/ou Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) podem ser realizados em centro cirúrgico ou consultório odontológico.

10 CONCLUSÃO

Assim, pode-se afirmar que, de acordo com a literatura, os resultados sobre a efetividade dos Concentrados Plaquetários são promissores, desde que sejam respeitadas suas técnicas de obtenção e manipulação durante o procedimento cirúrgico.

Os Concentrados Plaquetários tem como finalidade a Angiogênese tecidual, ou seja, a reparação tecidual e aumento da velocidade de cicatrização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrawal, M.; Agrawal, V. Platelet rich fibrin and its applications in dentistry: a review article. *National Journal of Medical and Dental Research, India*: v. 2, n. 3, p. 51-58, jun./2014.

Almeida A.R.H, Menezes JA, Araújo GKM, Mafra AVC. Utilização de plasma rico em plaquetas, plasma pobre em plaquetas e enxerto de gordura em ritidoplastias: análise de casos clínicos. *Rev. Bras. Cir. Plást.* 2008; 23(2): 82-8.

Andriolo, A. R. A participação dos mediadores biológicos presentes no plasma rico em plaquetas (PRP) na reparação óssea. (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, 2002

Anitua, E. et al. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the

Bielecki, T. & Ehrenfest, D.M.D., 2012. Editorial Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma (L-PRP)/ Fibrin (L-PRF) in Medicine - Past , Present , Future. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(7).

Chen T.L., Lu H.J., Liu G.Q., Tang D.H., Zhang X.H., Pan Z.L., et al. Effect of autologous platelet-rich plasma in combination with bovine porous bone mineral and bio-guide membrane on bone regeneration in mandible bicortical bony defects. *J Craniofac Surg.* 2014;25(1):215-23.

Choukroun, J. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 101, n. 3, p. 56-60, Mar 2006. ISSN 1528- 395X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16504852> >.

Choukroun, J. et al. Une opportunité en parodontologie: Le PRF. *Implantodontie*, v. 42, p. 55-62, 2001.

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): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v.101, p.56-60, 2006

Clark R.A. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:355-367.

Del Corso, M., Toffler M., Ehrenfest D.M.D. Use of Autologous Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry*, v.1, n. 9, p. 27-35, 2010

Dohan Ehrenfest, D.M., Rasmusson, L., Albrektsson, T., 2009. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology*, 27(3), pp.158–67.

Dohan, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 101, n. 3, p. 37-44, Mar 2006. ISSN 1528-395X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16504849> >

Dohan, D.M. et al., 2006a. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3), pp.e37–44.

Döri, F.; Huszár, T.; Nikolidakis, D.; Arweiler, N. B.; Gera, I.; Sculean, A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane. 25 jan. 2007. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal / 118533289/abstract? CRETRY=1&SRETRY=0>>. Acesso em: 02 mar. 2010.

Ehrenfest, D. M. D.; Del Corso, M.; Diss, A.; Mouhyi, J.; Charrier, J-B. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane, *Jornal Periodontol*, v. 81, n. 4, p. 546 – 555, Abri./2010.

Franco, R.F., 2001. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. *Medicina, ribeirão preto*, 34, pp.229–237.

Gandhi A, Dumas C, O'Connor JP, Parsons JR, Lin SS. The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing. *Bone*. 2006;38:540-546.

Gupta, V.; Bains, V. K.; Singh, G. P.; Mathur, A.; Bains, R..Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin in Dentistry: Literature Review, *Asian Journal of Oral Health & Allied Sciences*. v.1, n. 1, Jan./2011.

Hall, J. E.; Guyton, A. C. *Tratado de fisiologia médica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

Kumar, R.; Shubhashini, N., 2012. Platelet rich fibrin : a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell tissue bank*.

Macfarlane R.G, An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and its Function as a Biological Amplifier. *Nature*, 1964. 202: p. 498 – 499.

Marx R.E. Platelet-Rich Plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*, 62:489-496, 2004.

Marx, R. E. et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. In: *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 85. n' 6, p. 638-646, 1998.

Melo C.M.L., Correia M.T.S. Avaliação da atividade cicatrizante da Lectina de *Cratylia mollis* em camundongos normais e imunodeprimidos experimentalmente. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Recife. Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

Mourão C.F.A.B.; Valiense H.; Melo E.R.; Mourão N.B.M.F.; Maia M.D.C. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note.2015, Rev. Col. Bras. Cir. 2015; 42(6): 421-423

Naik B., Karunakar P., Jayadev M., Marshal V.R. Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. Journal of Conservative Dentistry. 2013, Vol.16, Issue 4: 284- 293.preparation of future sites for implants. In: J. Oral maxillofacImplants, 14 (4):

O'Connell, S. M. et al. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. Wound Repair Regen, v. 16, n. 6, p. 749-56, 2008 Nov-Dec 2008. ISSN 1524-475X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19128245> >.

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

R. Seeley, R., P. Stephens, T. & Tate, P., 2005. Regulação e Manutenção. In Anatomia & Fisiologia. pp. 651–678.

Raja, V. S.; Naidu, E. M. Platelet-rich fibrin: evolution of a second generation platelet concentrate. Indian J Dent Res, v. 19, p. 42-46, 2008.

Roy L. T. J.; Gerald R. S; Thomas B. D. Autologous Fibrin Glue: The Last Step in Operative Hemostasis. Burlingame, California: v. 168, Ago./1994.

Tunali, M.; Özdemir, H.; Küçükodaci, 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.

Vendramin, F. S.; Franco, D.; Nogueira, C. M.; Pereira, M. S.; Franco, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica, Rev. Col. Bras. Cir., v. 33, n. 1, p. 24-28, Jan./Fev 2006.

Yuan T., Guo S.C., Han P., Zhang C.Q., Zeng B.F. Applications of leukocyte- and platelet- rich plasma (L-PRP) in trauma surgery. Curr Pharm Biotechnol. 2012;13:1173-1184.;529-535, 1999.