

Concentrados plaquetários autólogos e sua aplicabilidade na Odontologia

Autologous platelet concentrates and their applicability in Dentistry

Concentrados autólogos de plaquetas y su aplicabilidad en Odontología

Recebido: 21/10/2022 | Revisado: 08/11/2022 | Aceitado: 17/11/2022 | Publicado: 24/11/2022

Roberto Fernandes Pacheco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9140-1667>
Centro Universitário Ingá Uningá, Brasil
E-mail: drrobertopacheco@hotmail.com

Antônio Luis Neto Custódio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2211-9195>
Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil
E-mail: antonio.custodio@gmail.com

Daniela Martins de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4273-8479>
Sociedade Brasileira dos Cirurgiões-Dentistas, Brasil
E-mail: danimart.voy@gmail.com

Carolina Lúcia de Oliveira Pacheco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9587-2992>
Faculdades Unidas do Norte Minas, Brasil
E-mail: carolpacheco@hotmail.com

José Ricardo De Albergaria-Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5127-8318>
Universidade Estadual de Campinas, Brasil
E-mail: barbosa@fop.unicamp.br

Resumo

O desenvolvimento de tecnologias a base de concentrado de plaquetas obtidos por meio de centrifugação e métodos de manipulação a partir de uma amostra de sangue tem a finalidade de otimizar a cicatrização tecidual e promover a regeneração de tecidos. Objetivo: foi abordar considerações a respeito dos concentrados plaquetários autólogos e sua aplicabilidade na Odontologia. Metodologia: realizou-se análise retrospectiva da literatura do período de 2001 a 2022 focando a evolução e uso dos hemoconcentrados autólogos. Foram usados como termos de busca: plasma rico em plaquetas, plasma rico em fibrina, hemoconcentrados autólogos, regeneração e cicatrização tecidual. A busca na literatura se deu por meio de pesquisa nas bases de dados PubMed, Google Scholar, SciELO e banco de dados da BVS. Revisão Bibliográfica: o plasma rico em plaquetas (PRP) foi a primeira geração de derivados de amostras de sangue humano, utilizados com este propósito. Dependendo da técnica para a preparação dos concentrados plaquetários, eles são divididos em quatro categorias, de acordo com seu conteúdo de leucócitos e fibrina. Conclusão: Os agregados plaquetários podem induzir a ativação de fibroblastos e a formação de depósitos de colágeno, além de plaquetas e fatores de crescimento usados na reparação tecidual. Assim otimizam os resultados de tratamentos na odontologia, como preenchimento cutâneo, tratamento de cicatrizes de acne, implantes dentais e cirurgias dento alveolares.

Palavras-chave: Odontologia; Fibrina; Plasma rico em plaquetas; Sangue; Proliferação de células.

Abstract

The development of technologies based on platelet concentrate obtained through centrifugation and manipulation methods from a blood sample aims to optimize tissue healing and promote tissue regeneration. Objective: to address considerations about autologous platelet concentrates and their applicability in Dentistry. Methodology: a retrospective analysis of the literature from 2001 to 2022 was carried out, focusing on the evolution and use of autologous blood concentrates. The following search terms were used: platelet-rich plasma, fibrin-rich plasma, autologous hemoconcentrates, tissue regeneration and healing. The literature search was carried out through a search in PubMed, Google Scholar, SciELO and BVL databases. Bibliographic Review: Platelet-rich plasma (PRP) was the first generation of derivatives from human blood samples, used for this purpose. Depending on the technique for preparing platelet concentrates, they are divided into four categories according to their leukocyte and fibrin content. Conclusion: Platelet aggregates can induce the activation of fibroblasts and the formation of collagen deposits, in addition to platelets and growth factors used in tissue repair. Thus, they optimize the results of treatments in dentistry, such as skin filling, treatment of acne scars, dental implants and dentoalveolar surgeries.

Keywords: Dentistry; Fibrin; Platelet-rich plasma; Blood; Cell proliferation.

Resumen

El desarrollo de tecnologías basadas en concentrado de plaquetas obtenido mediante métodos de centrifugación y manipulación a partir de una muestra de sangre tiene como objetivo optimizar la cicatrización de los tejidos y favorecer la regeneración tisular. Objetivo: abordar las consideraciones sobre los concentrados plaquetarios autólogos y su aplicabilidad en Odontología. Metodología: se realizó un análisis retrospectivo de la literatura desde 2001 hasta 2022, centrándose en la evolución y uso de concentrados de sangre autóloga. Se utilizaron los siguientes términos de búsqueda: plasma rico en plaquetas, plasma rico en fibrina, hemoconcentrados autólogos, regeneración tisular y cicatrización. La búsqueda bibliográfica se realizó a través de una búsqueda en las bases de datos PubMed, Google Scholar, SciELO y BVS. Reseña bibliográfica: El plasma rico en plaquetas (PRP) fue la primera generación de derivados de muestras de sangre humana, utilizados para este fin. Según la técnica de preparación de los concentrados de plaquetas, se dividen en cuatro categorías según su contenido en leucocitos y fibrina. Conclusión: Los agregados plaquetarios pueden inducir la activación de fibroblastos y la formación de depósitos de colágeno, además de plaquetas y factores de crecimiento utilizados en la reparación tisular. Así, optimizan los resultados de tratamientos en odontología, como rellenos cutáneos, tratamiento de cicatrices de acné, implantes dentales y cirugías dentoalveolares.

Palabras clave: Odontología; Fibrina; Plasma rico en plaquetas; Sangre; Proliferación celular.

1. Introdução

1.1 Concentrados plaquetários

Hematologistas, na década de 70, observaram que um produto do sangue processado possuía características especiais, devido à maior quantidade de plaquetas, e o chamaram PRP. Esse produto era resultado da separação de componentes do sangue, que produzia no plasma um agregado ou concentrado. Esse concentrado plaquetário era usado em tratamentos de pacientes com trombocitopenia nos processos de transfusão sanguínea (Kawase et al., 2020).

Em definição, o PRP é um biomaterial obtido a partir da centrifugação do sangue, que resulta em uma porção de plasma com quantidades maiores de plaquetas que o material inicial, antes da centrifugação. Como consequência da centrifugação, existe no PRP não somente plaquetas, mas também células, fatores de coagulação, fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas e outras proteínas plasmáticas (Nobrega et al., 2022; Campos & Souza, 2021; Ehrenfes et al., 2009).

O produto era usado em ferimentos e lesões, e possibilitava melhor cicatrização. O PRP era obtido a partir de sangue autólogo processado e possuía inúmeras qualidades, dentre elas o baixo risco de rejeição e a diminuição do tempo de recuperação (Amable et al., 2013). Isso permitiu que esse produto fosse usado em várias ocorrências médicas e, na década de 80, foi amplamente empregado na área da cirurgia maxilofacial. Nesse período observou-se que o PRP trazia vantagens em relação à ação anti-inflamatória e proliferação celular, o que resultava em melhor processo de cicatrização e regeneração (Bielecki & Ehrenfest, 2012).

Nos anos seguintes, o PRP foi muito aproveitado na área desportiva musculoesquelética, na recuperação de lesões de atletas profissionais. Essas lesões, muitas vezes, envolviam tendões, que particularmente possuem um maior grau de dificuldade de regeneração por ser um tecido pobre em células e irrigação vascular (Moraes et al., 2014).

Com o sucesso dos tratamentos, surgiu grande interesse comercial no potencial do PRP e, como consequência, este foi difundido para outras áreas da saúde como odontologia, ortopedia, cardiologia, pediatria, urologia, ginecologia e mais recentemente a dermatologia (Kawase et al., 2020; Moraes et al., 2014). Na odontologia seu uso proporcionou melhor e mais rápida cicatrização para tecidos moles e duros (Carvalho et al., 2021).

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão narrativa da literatura dos principais estudos sobre concentrados de plaquetas autólogos e fornecer ao clínico uma visão geral e atualizada no campo da odontologia.

2. Metodologia

Realizou-se uma revisão de literatura narrativa qualitativa nominal, por meio de pesquisa nas bases de dados PubMed, Google Scholar e SciELO, usando os unitermos: Fibrina; Plasma rico em plaquetas; Sangue e Proliferação de células. Foram

utilizados 35 artigos científicos nos idiomas inglês e português. (Estrela, 2018). Foram excluídos artigos repetidos ou duplicados em bases de dados diferentes, além da exclusão de resumos, resumos expandidos, resenhas, editoriais, notas prévias, protocolos e artigos incompletos.

3. Resultados e Discussão

3.1 Tipos de concentrados plaquetários

O desenvolvimento de tecnologias a base de concentrado de plaquetas tem sido aprimorado, afim de otimizar a cicatrização tecidual. O objetivo de todas estas tecnologias é extrair, por meio de centrifugação e métodos de manipulação, todos os elementos que poderiam ser usados para melhorar a cicatrização e promover a regeneração de tecidos a partir de amostra de sangue. O plasma rico em plaquetas (PRP) foi a primeira geração de derivados de amostras de sangue humano, utilizados com este propósito. Estudos comparativos mostraram que o PRP tem um efeito positivo no processo de cicatrização de feridas e na regeneração tecidual (Ehrenfes et al., 2009). No entanto, a adição de anticoagulantes e de trombina bovina limita a aplicação clínica do PRP e apela a estratégias alternativas, clinicamente viáveis.

O uso do PRP em intercorrências, lesões, cirurgias e áreas cirúrgicas em processo de recuperação, traz muitos benefícios ao paciente. Esses benefícios vão desde de melhor da hemostasia até do potencial regenerativo em cirurgias reconstrutivas. Todas essas qualidades advêm de mecanismos biológicos latentes nos componentes do PRP, que são concentrados e aplicados diretamente sobre o local desejado (Andia & Abate, 2013).

O sangue periférico autólogo é o material base para a obtenção do PRP e é adquirido por meio de venopunção durante o ato cirúrgico. O sangue é classificado como um tipo especial de tecido conjuntivo e possui componentes figurados (eritrócitos, leucócitos, plaquetas e outras moléculas) e o plasma, que confere as propriedades líquidas a este tecido (Bielecki & Ehrenfest, 2012; Ehrenfes et al., 2009). Apesar de parecer homogêneo e estável, o sangue pode ser facilmente estratificado e separado por diversos processos físicos e/ou químicos, e a centrifugação é o mais comumente utilizado.

Cada componente do sangue possui um gradiente de densidade, estrutura e volume diferentes, e isso é determinante no processo de precipitação. Esse fator é importante pois estabelece a concentração de cada componente após a centrifugação, bem como a sua biofuncionalidade (Fujioka-Kobayashi et al., 2017).

Outro fator importante na composição do PRP é o grau de preservação e ativação desses componentes, sendo células ou moléculas. Deste modo, o protocolo de centrifugação caracteriza o tipo de PRP obtido e os fins para os quais será destinado (Fujioka-Kobayashi et al., 2017).

Devido à enorme possibilidade de modificações na composição e qualidade do PRP, a partir de variações no protocolo de obtenção e centrifugação, muitos protocolos surgiram a fim de suprir as demandas emergentes, mas independentemente do protocolo, o padrão de obtenção se baseia na separação, ou estratificação, e posterior concentração dos componentes (Cao et al., 2021; Mijiritsky et al., 2021). Sendo esses obtidos por preparo manual livre de contaminação, com segurança e esterilização de forma a propiciar segurança e eficácia na sua aplicação posterior (Costa et al., 2022).

De maneira geral, primeiro obtém-se o sangue do paciente, que é coletado por um tubo contendo anticoagulantes, e este passa por uma centrifugação com o intuito de separar os componentes em estratos. Em seguida, formam-se três camadas: a mais profunda composta por hemácias; a mais superficial composta predominantemente por plasma, e proteínas de baixo peso molecular, pobre em plaquetas (PPP); e entre as duas, uma camada chamada de papa leucocitária ou “*buffy coat*” (BC), correspondente a camada rica em leucócitos e plaquetas. Posteriormente, deste tubo são recolhidas as camadas mais superficiais, PPP e BC, e transferidas a um novo tubo sem anticoagulantes. Nessa etapa, faz-se uma nova centrifugação e a concentração dos componentes (Dohan et al, 2006a).

Após esse processo, o concentrado de plaquetas pode ser diretamente aplicado no sítio operatório, ou ser ativado com

a adição de trombina ou cloridrato de cálcio. A adição desses reagentes estimula a degranulação plaquetária e a liberação de fatores de diferenciação e crescimento (Ghanaati et al., 2014). Essa liberação ocorre de forma gradual tendo, aproximadamente, 70% dos fatores de crescimento liberados em 10 minutos, e próximo de 100% desses, liberados após uma hora da ativação. A liberação de frações menores pode ser detectada em até 8-10 dias da ativação inicial (Schär et al., 2015).

No processo de obtenção de PRP são usados componentes extrínsecos como os anticoagulantes, na fase de coleta do sangue, e os coagulantes na fase posterior quando a maior ativação plaquetária é desejada. A adição desses compostos pode influenciar no potencial desses agregados plaquetários e alterar a biodisponibilidade das moléculas sinalizadoras no processo inflamatório. Esses procedimentos deixam o processo mais complexo e exigem maior capacidade técnica e maior tempo de trabalho (Davis et al., 2014).

Existem três principais parâmetros usados para classificar os tipos de concentrados plaquetários, bem como a sua aplicabilidade. Esses parâmetros se relacionam com os *kits* de preparação e tipo de centrífuga utilizados, com o conteúdo do concentrado e com a formação de rede de fibrina que suporta as plaquetas e os leucócitos. Com base nisso são classificados, atualmente, quatro grandes categorias: plasma rico em plaquetas puro (P-PRP); plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP); fibrina rica em plaquetas puro (P-PRF); e fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) (Ehrenfest et al., 2012).

As características de cada categoria podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características das quatro categorias de concentrados plaquetários. PPP, plasma pobre em plaquetas; BC, *buffy coat*; RBC, *red blood cells*.

Concentrado plaquetário	Definição	Varição do protocolo
P-PRP	Concentrado de plaquetas pobre em células e rede de fibrina.	Uso de anticoagulantes e coagulantes. Centrifugação curta e leve (1), centrifugação longa e pesada (2). No segundo passo são transferidos apenas o PPP e parte superficial do BC, e são recolhidas as porções finais do concentrado. A maior parte dos leucócitos não é recolhido.
L-PRP	Concentrado de plaquetas rico em leucócitos e pobre em rede de fibrina.	Uso de anticoagulantes e coagulantes. Centrifugação curta e leve (1), centrifugação longa e pesada (2). No segundo passo são transferidos o PPP, o BC e parte do RBC. São recolhidas as porções finais do concentrado com todo o BC.
P-PRF	Rede de fibrina rica em plaquetas e pobre em leucócitos.	Pode ou não ter o uso de anticoagulantes e coagulantes (não trombina bovina). Centrifugação curta (1) e longa (2) em alta velocidade. São coletas apenas PPP e BC.
L-PRF	Rede de fibrina rica em plaquetas e leucócitos.	Sem uso de anticoagulantes e coagulantes. Centrifugação única com ativação natural e imediata das plaquetas e da formação da rede de fibrina. É coletado apenas o coágulo formado no centro do tubo.

Fonte: Autores.

Como pode ser notado, a presença de leucócitos e rede de fibrina são fundamentais para a classificação dos concentrados e, conseqüentemente, para a seleção do protocolo e finalidade do produto obtido. Os leucócitos apresentam função anti-infecciosa e de regulação imunoinflamatória, além de produzirem fatores estimulantes de angiogênese. Já a presença da rede de fibrina pode aprisionar mais leucócitos no concentrado, além de fornecer um arcabouço de matriz extracelular para participar do processo de reparação (Ehrenfest et al., 2009).

Tendo em vista esses benefícios, o a PRF tem sido o biomaterial de escolha em muitos processos de cicatrização e regeneração por apresentar maior potencial biológico de cicatrização.

3.2 Fibrina rica em plaquetas (PRF)

O uso de anticoagulantes, no ato da coleta do sangue periférico, resultava em efeitos negativos no processo de cicatrização do sítio operado. A presença desses anticoagulantes impedia, em parte, a formação do coágulo e a liberação de fatores plaquetários e celulares *in vivo*. Isso poderia prejudicar, ou ao menos atrasar, a recuperação da área cirúrgica (Peck et al., 2016; Wu et al., 2012). Além disso, restrições legais no manuseio do sangue levou à limitação do uso de reagentes extrínsecos e aplicação desses em pacientes. Com isso em mente, pesquisadores buscaram desenvolver uma segunda geração de concentrados plaquetários em que não se utilizasse anticoagulantes e gelificantes (Choukroun et al., 2006).

Choukroun et al (2001) desenvolveram um protocolo em que não se utilizava anticoagulantes no processo de coleta, o que resultava em geleificação natural do sangue, e o produto obtido foi nomeado de fibrina rica em plaquetas (PRF). Nesse novo protocolo, os processos celulares de cicatrização transcorrem de forma mais natural, sem interferência ou interrupções. Dohan et al., (2006a) descreveram a PRF, bem como a técnica de obtenção, e a caracterizaram como um biomaterial com características de matriz, ou *scaffold*. O biomaterial foi assim caracterizado por apresentar uma estrutura 3D, como um arcabouço de fibrina, onde células e citocinas recém liberadas poderiam ficar “aprisionadas”. Essas qualidades tornava a PRF o biomaterial da classe dos concentrados plaquetários que melhor mimetizava a composição, estrutura e função observadas em um processo cicatricial natural.

Nesse protocolo são coletados cerca de 9 ml de sangue periférico em tubo de plástico revestido de vidro estéril sem tratamento com anticoagulantes. O tubo é então centrifugado imediatamente a 3000 rpm, por 10 min. A ativação das plaquetas e da cascata de coagulação acontece de forma rápida, através do contato com as paredes de vidro com carga negativa. Durante o processo ocorre a ativação do fibrinogênio, concentrado na parte superior do tubo, pela trombina circulante, que se polimeriza em fibrina. A polimerização da fibrina ocorre em cadeia e um coágulo se forma no centro do tubo, entre as hemácias, ao fundo, e o plasma acelular no topo (Choukroun & Ghanaati, 2018; Dohan et al., 2006b). Após a centrifugação, retira-se o coágulo formado e separa-se a parte amarela da parte vermelha inferior com o auxílio de uma tesoura. Em uma superfície estéril, comprime-se o a PRF para remover os fluidos, e então obtém-se uma membrana de fibrina autóloga bem resistente e elástica, com cerca de 3 cm x 1.5 cm (Dohan et al., 2006b).

A rapidez com que se manuseia o sangue recém coletado, é fundamental para o sucesso da técnica. Deve-se centrifugar o material coletado imediatamente, caso contrário apenas um coágulo pequeno irá se formar devido a polimerização difusa da fibrina. O objetivo da técnica bem aplicada é concentrar a polimerização da rede de fibrina, iniciada naturalmente, e isso só é possível com o rápido manuseio. Apesar de exigir maior atenção quanto a velocidade do emprego da técnica, o protocolo de PRF é bem simples por não fazer uso de reagentes extrínsecos e necessitar somente de um passo de centrifugação. Com isso, resulta tanto na migração quanto na proliferação celulares de forma mais eficiente. Em particular, esse biomaterial é composto por plaquetas (ricas em fatores de crescimento), rede de fibrina (servindo como uma matriz de suporte) e, em alguns casos, rica em células (principalmente as várias populações de leucócitos) (Costa et al., 2021; Bielecki & Ehrenfest, 2012; Ehrenfest et al., 2010).

Alguns estudos demonstraram que o aumento no tempo de centrifugação somado à diminuição da velocidade produzia um produto PRF com características e propriedades um pouco diferentes. Essa técnica modificada permitia que mais leucócitos ficassem retidos no concentrado plaquetário, e esta foi nomeada de fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF) (Ghanaati et al., 2014). O A-PRF foi muito utilizado em áreas cirúrgicas de terceiros molares e demonstrou significativa redução de dor pós-operatória e redução de uso de analgésico (Ustaoglu et al., 2020). A ação dos leucócitos derivados do A-PRF em áreas pós-operatórias pode ajudar no processo de limpeza e proteção, evitando a infecção e contaminação do sítio operado. Além disso, podem agilizar o processo cicatricial inicial e melhorar as condições pós cirúrgicas (Zumstein et al., 2012).

3.3 L-PRF: fatores de crescimento.

Nas fases iniciais do processo de cicatrização, as plaquetas interagem com o fibrinogênio circulante para polimerizar redes de fibrina, e juntos formarem um tampão hemostático. Essa conjunção resulta em um arcabouço temporário que consegue capturar citocinas e servir de suporte celular, além de estimular a migração e proliferação celular. Esse ambiente biológico ajuda a tornar mais propícia a restauração da homeostase tecidual, com o fornecimento de fatores de crescimento e citocinas que promovem a regulação da inflamação, angiogênese, síntese e remodelação de um novo tecido (Terra et al., 2022; Costa et al., 2021b; Pallua et al., 2010).

Esse é o mesmo cenário biológico que o uso de PRF objetiva mimetizar e potencializar, para melhorar e agilizar o processo de cura. Cada componente da PRF (plaquetas, leucócitos e fibrina) possui um papel no processo de cicatrização e regeneração e, as alterações na liberação e concentração dos mediadores inflamatórios devem ser observadas nos diferentes protocolos de aquisição do material (Davis et al., 2014; Costa et al., 2021b).

As plaquetas são componentes do sangue, derivados de megacariócitos, que possuem função importante na obliteração vascular e facilitação da formação do coágulo de fibrina. Elas são capazes de estimular a proliferação e ativação de células envolvidas em cicatrização de feridas, incluindo fibroblastos, neutrófilos, macrófagos e células-tronco mesenquimais através da liberação e ativação de biomoléculas importantes (Le et al., 2019). Já os leucócitos caracterizam grupo grande de células sanguíneas que desempenham diversas funções importantes na ação antimicrobiana e inflamatória. Os tipos mais comuns encontrados na rede de fibrina do PRF são os neutrófilos, macrófagos e em sua maioria linfócitos. Esses tipos celulares são capazes de manter a liberação de biomoléculas por maior período de tempo, quando estimulados (Zumstein et al., 2012).

A trama tridimensional de fibrina, por sua vez, confere um suporte que consegue capturar as moléculas produzidas, concentrando-as no local e impedindo sua rápida degradação. A fibrina, fibronectina e fatores de crescimento são essenciais para modular expressão de integrina, proliferação de fibroblastos e sua migração dentro da ferida (Ehrenfest et al., 2010). A confluência da ação desses componentes desempenha um papel crucial no benefício molecular mais característico da L-PRF: a rápida e prolongada liberação de fatores de crescimento (Schär et al., 2015).

Fatores de crescimento são as moléculas que promovem a comunicação celular e influenciam a inflamação, angiogênese, migração de células-tronco e proliferação. As biomoléculas fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de transformação de crescimento beta 1 (TGF- β 1), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-1) são encontradas na PRF e têm sido alvo de estudos de liberação e atividade molecular dos concentrados plaquetários (Masuki et al., 2016).

O TGF- β 1 é um polipeptídeo da família dos fatores de transformação *beta* (β) produzido por plaquetas e leucócitos. Possui ação anti-proliferativa, portanto regulatória, dependendo do tipo celular, sendo a molécula mais comum na regulação da atividade intercelular. Ele ainda pode ter função na diferenciação, senescência e apoptose celular. Já os seus efeitos nas moléculas de matriz o tornam a citocina com o maior poder de fibrose, quando produzido por osteoblastos e fibroblastos. A grande atividade de TGF- β 1 pode favorecer uma cicatrização fibrótica (Fujioka-Kobayashi et al., 2017; Qiao et al., 2017).

VEGF é uma proteína, secretada por células e plaquetas, que serve como sinalizadora para a angiogênese. É um homodímero ligado por dissulfeto que compartilha estrutura homóloga ao PDGF, e é um fator mitogênico específico de células endoteliais. Ele regula positivamente a proliferação, diferenciação e sobrevivência das células endoteliais e também age como um quimiotático para monócitos e mastócitos. Citocinas como o EGF, TGF- β e IL-6 aumentam a expressão de VEGF, e este possui característica de aumentar a permeabilidade vascular até mais que a histamina (Qiao et al. 2017).

EGF é um peptídeo liberado por plaquetas e macrófagos e possui função principal de estimular a proliferação de células epiteliais. Outras funções desempenhadas pelo EGF são o aumento da síntese proteica, estímulo para a síntese de DNA, crescimento e maturação celular e quimiotaxia (Kobayashi et al., 2016).

Finalmente, o IGF-1 é uma proteína com estrutura molecular similar a insulina que é produzida em maior parte pelo fígado. Os leucócitos também são capazes de produzi-lo e no ambiente inflamatório tem o papel de participar da ativação de células T e promover a sobrevivência de células T e fibroblastos. Possui um papel muito importante nas fases mais avançadas da cicatrização pelas propriedades anti-apoptóticas e anabólicas, através do estímulo para a produção de matriz extracelular. A produção local de IGF-1 e TGF- β 1 são responsáveis pela manutenção e síntese de fibras colágeno na neoformação tecidual (Dohan et al., 2006b; Schär et al., 2015).

A importância dos fatores de crescimento no potencial biológico dos concentrados plaquetários têm sido avaliadas em vários trabalhos e tem se mostrado como uma das peças-chaves no benefício do uso de PRF. As variações entre as técnicas e também entre os indivíduos podem contribuir na variação das quantidades de fatores de crescimento encontradas. Os parâmetros de velocidade, período de tempo e concentração de liberação desses componentes são comumente usados nos trabalhos para a avaliação desse processo biológico.

Schär et al., (2015) avaliaram a concentração e cinética dos fatores de crescimento liberados derivados do da L-PRF, L-PRP e coágulo sanguíneo natural em uma cultura *in vitro*, em um período de 28 dias. Foi visto que maiores quantidades de TGF- β 1 foram liberadas na L-PRF, enquanto mais VEGF foi liberado em coágulo natural. Além disso, foi visto que a liberação de IGF-1 durou até o primeiro dia, no L-PRP e coágulo natural, mas permaneceu até o terceiro dia na L-PRF. Nesse trabalho também foi observado que as células mesenquimais e endoteliais demonstraram maior migração celular em resposta a cultura de L-PRF e coágulo natural, em comparação ao à L-PRP.

Kobayashi et al., (2016) apresentaram um trabalho no qual compararam a liberação de fatores de crescimento ao longo do tempo em três tipos de concentrados: PRP, PRF e A-PRF. Foram avaliadas a liberação desses fatores nos tempos 15 min, 60 min, 8 h, 1 dia, 3 dias, e 10 dias. Foi visto que o PRP liberou as maiores quantidades de fatores nos primeiros 15-60 min. Essa marca foi ultrapassada em todos os outros tempos avaliados e se manteve assim até o décimo dia pelo A-PRF. O A-PRF manteve uma liberação de fatores contínua e superior ao à PRP.

Outros trabalhos foram publicados e confirmaram a superioridade na liberação de fatores de crescimento pela categoria das PRFs. Mas existem ainda na literatura lacunas sobre a influência do protocolo e equipamentos utilizados na aquisição dos concentrados. Uma dessas lacunas é referente a influência da força centrífuga na concentração, preservação e liberação desses fatores biológicos ao longo do tempo.

3.4 Protocolos e centrifugação: relação da cinética e a liberação de mediadores inflamatórios

A ideia inicial do protocolo de Choukroun, ocorreu em 2001 para a obtenção de PRF, como um método simples e de fácil reprodutibilidade. Nesse método era especificado o uso de uma centrífuga do modelo PC-02 e o uso de um kit de coleta da Process® (49 Rue Gioffredo, Nice, França).

O sangue era centrifugado a 3000 rpm, o que resultaria em um RCF de 400g (Kobayashi et al., 2016). Os trabalhos que se seguiram com a avaliação da PRF variavam o protocolo original pela não utilização do mesmo modelo de centrífuga e kit de coleta. Nesses trabalhos eram utilizadas as mesmas velocidades, de 3000 rpm, mas não eram informados o RCF. Além disso, outros modelos de centrífuga poderiam estar sendo usados na prática clínica e poderiam não reproduzir os benefícios relatados nos trabalhos (Peck et al., 2016).

Normalmente, o uso de centrífugas e dos protocolos de obtenção de concentrados plaquetários se atém a descrição e aplicação dos valores de rpm, que nos informa somente a velocidade da centrifugação. A melhor expressão das forças geradas pela centrífuga, ou força G, é a RCF que é calculada considerando a velocidade de rotação, ou rpm, e o raio, ou r , do centro da centrífuga. O resultado é expresso em número de vezes de gravidade, ou g .

O funcionamento das centrífugas baseia-se em colocar amostras em rotação em torno de um eixo fixo. A essas

amostras é aplicada uma força de aceleração perpendicular ao eixo. As unidades para indicar os parâmetros de uma centrifugação são rpm e RCF:

- Rpm é a velocidade de rotação. Ex.: Se a rotação de uma centrífuga é de 200 rpm, significa que o objeto está fazendo 200 rotações por minuto em torno de um eixo fixo.

- RCF ou força G é a força exercida durante a centrifugação. Ex.: Se a RCF é de 500 x g, significa que a força centrífuga que está sendo aplicada é 500 vezes maior que a força gravitacional da Terra. A relação entre essas unidades é determinada pela seguinte equação: $RCF \text{ ou força } G = 1,12 \times R \times (\text{rpm}/1000)^2$, onde, R é o raio do rotor em milímetros.

Obs.: O valor do raio (R) pode ser medido de três formas: até a tampa do tubo (Rmin), até o meio do tubo (Rav) ou até o fundo do tubo (Rmax). Assim, para centrífugas diferentes, o protocolo deverá ser adaptado ao tamanho de raio específico da mesma. Pode-se usar ferramenta que possibilite conversão rápida das rotações por minuto (rpm) para força G ou vice-versa.

Ao contrário, estudos realizados por Dohan et al, 2012, relatam que o A-PRF obtida ao se reduzir a velocidade de centrifugação, teve um desempenho inferior à L-PRF convencional, no que tange à liberação de citocinas, sendo também completamente dissolvida no terceiro dia de cultura.

A liberação do fator de crescimento e o número total de leucócitos e plaquetas foram analisados em relação à variação sistemática da exposição à RCF ou força G, que é a força exercida durante a centrifugação, estudo publicado por Choukroun & Ghanaati (2018). Os resultados demonstraram que a redução do RCF de um intervalo elevado para um espectro baixo dentro de matrizes autólogas com PRF conduz a um aumento significativo do número de leucócitos e plaquetas, bem como à concentração do fator de crescimento (VEGF e TGF- β 1), no período testado de 1 e 24 horas. Com base em seus resultados, os autores postularam o conceito de centrifugação à baixa velocidade, ou *low speed centrifugation concept* (LSCC), que aumenta o potencial de regeneração de matrizes de fluidos PRF. Consequentemente, a redução de RCF por aplicação de LSCC abre novas vias para matrizes de PRF avançadas, nas quais a comunicação célula-célula entre plaquetas e leucócitos e a destas células dentro do tecido receptor pode resultar melhorar a em regeneração tecidual melhorada.

Entretanto, mediante a literatura pesquisada, não se encontrou uma correlação adequada entre a velocidade e força centrífuga na cinética de liberação de citocinas e fatores de crescimento pela PRF humana; considerando ainda neste aspecto, a variação da exposição à RCF ou força G, a concentração dos fatores de crescimento liberados de leucócitos e plaquetas (L-PRF) durante a cultura in vitro em diferentes tempos.

4. Conclusão

Administração isolada intradérmica e subcutânea de matriz da PRF, inclusa no acrônimo PRP, pode induzir a ativação de fibroblastos e a formação de depósitos de colágeno. Plaquetas e fatores de crescimento usados na reparação tecidual, tem bons resultados em diferentes áreas, como regeneração, hemostasia acelerando a recuperação de lesões. Usa-se os concentrados plaquetários autólogos no preenchimento cutâneo, tratamento de cicatrizes de acne, nos implantes ósseos e especialmente na remodelação da região do sulco nasolabial.

Cientistas e clínicos estão ativamente em busca de novas e mais eficazes modalidades de tratamento empregando o PRF em muitos campos da área médica e odontológica. Sugere-se a realização de futuros trabalhos demonstrando sua aplicação e a efetividade dos resultados obtidos na odontológica cirúrgica e orofacial.

Referências

A. Zumstein, M., Berger, S., Schober, M., Boileau, P., W. Nyffeler, R., Horn, M., & A. Dahinden, C. (2012). Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) for Long-Term Delivery of Growth Factor in Rotator Cuff Repair: Review, Preliminary Results and Future Directions. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1196–1206. <https://doi.org/10.2174/138920112800624337>

- Amable, P. R., Carias, R. B. V., Teixeira, M. V. T., Da Cruz Pacheco, Í., Corrêa Do Amaral, R. J. F., Granjeiro, J. M., & Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: Optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research and Therapy*, 4(3). <https://doi.org/10.1186/scrt218>
- Andia, I., & Abate, M. (2013). Platelet-rich plasma: Underlying biology and clinical correlates. *Regenerative Medicine*, 8(5), 645–658. <https://doi.org/10.2217/RME.13.59/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE2.JPEG>
- Bielecki, T., & M. Dohan Ehrenfest, D. (2012). 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*, 13(7), 1121–1130. <https://doi.org/10.2174/138920112800624292>
- Campos, J. H., & Souza, D. M. de. (2021). Plasma Rico em Plaquetas Otimizando o Rejuvenescimento Dérmico nos Procedimentos Estéticos. *Aesthetic Orofacial Science*, 2(2). <https://doi.org/10.51670/aos.v2i2.47>
- Cao, Y., Zhu, X., Zhou, R., He, Y., Wu, Z., & Chen, Y. (2021). A narrative review of the research progress and clinical application of platelet-rich plasma. *Annals of Palliative Medicine*, 10(4), 4823–4829. <https://doi.org/10.21037/apm-20-2223>
- Carvalho, N. A. de, Morais, C. E. C., Nascimento, F., Dietrich, L., & Costa, M. D. M. de A. (2021). Applicability of PRF- platelet-rich fibrin in Dentistry and it's benefits. *Research, Society and Development*, 10(13), e466101321570. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21570>
- Castro, R. L. B. de., Antonio, B. P., & Manoel, F. G. de O. M. (2022). Is the manual preparation of platelet rich plasma safe? *Research, Society and Development*, 11(10), e19111032270. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.32270>
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.011>
- Choukroun, J., & Ghanaati, S. (2018). Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 44(1), 87–95. <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0767-9>
- Costa, D. G., Silva, T. C. B., Costa, M. D. M. de A., Martins, V. da M. and Dietrich, L. (2021a) "Fibrine rich in platelets", *Research, Society and Development*, 10(6), p. e11510615520. doi: 10.33448/rsd-v10i6.1520.
- Costa, K. L., Santos, M. de V., & Santos, M. D. da S. (2021b). Fibrin rich in platelets and leukocytes-L-PRF- in Dentistry: literature review. *Research, Society and Development*, 10(11), e332101119473. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19473>.
- Davis, V. L., Abukabda, A. B., Radio, N. M., Witt-Enderby, P. A., Clafshenkel, W. P., Cairone, J. V., & Rutkowski, J. L. (2014). Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: Platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. In *Journal of Oral Implantology* (Vol. 40, Issue 4, pp. 511–521). Allen Press. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-12-00106>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 101(3), e45–e50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J.-B. (2010). Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *Journal of Periodontology*, 81(4), 546–555. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090531>
- Dohan Ehrenfest, D., Bielecki, T., Mishra, A., Borzini, P., Inchingolo, F., Sammartino, G., Rasmusson, L., & A. Evert, P. (2012). In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1131–1137. <https://doi.org/10.2174/138920112800624328>
- 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). In *Trends in Biotechnology* (Vol. 27, Issue 3, pp. 158–167). Trends Biotechnol. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Estela, C. (2018). Metodologia Científica: Ciência, Ensino, Pesquisa. Editora Artes Médicas.
- Fujioka-Kobayashi, M., Miron, R. J., Hernandez, M., Kandalam, U., Zhang, Y., & Choukroun, J. (2017). Optimized Platelet-Rich Fibrin With the Low-Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility, and Cellular Response. *Journal of periodontology*, 88(1), 112–121. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.160443>
- Ghanaati, S., Booms, P., Orłowska, A., Kubesch, A., Lorenz, J., Rutkowski, J., Landes, C., Sader, R., Kirkpatrick, C., & Choukroun, J. (2014). Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *The Journal of oral implantology*, 40(6), 679–689. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-14-00138>
- Kawase, T., Mubarak, S., & Mourão, C. F. (2020). The platelet concentrates therapy: From the biased past to the anticipated future. In *Bioengineering* (Vol. 7, Issue 3, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7030082>
- Kobayashi, E., Flückiger, L., Fujioka-Kobayashi, M., Sawada, K., Sculean, A., Schaller, B., & Miron, R. J. (2016). Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical Oral Investigations*, 20(9), 2353–2360. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1719-1>

- Le, A. D. K., Enweze, L., DeBaun, M. R., & Drago, J. L. (2019). Platelet-Rich Plasma. In *Clinics in Sports Medicine* (Vol. 38, Issue 1, pp. 17–44). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.csm.2018.08.001>
- Masaki, H., Okudera, T., Watanabe, T., Suzuki, M., Nishiyama, K., Okudera, H., Nakata, K., Uematsu, K., Su, C.-Y., & Kawase, T. (2016). 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*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s40729-016-0052-4>
- Mijiritsky, E., Assaf, H. D., Peleg, O., Shacham, M., Cerroni, L., & Mangani, L. (2021). Use of PRP, PRF and CGF in periodontal regeneration and facial rejuvenation-a narrative review. *Biology*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/biology10040317>
- Moraes, V. Y., Lenza, M., Tamaoki, M. J., Faloppa, F., & Belloti, J. C. (2014). Platelet-rich therapies for musculoskeletal soft tissue injuries. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2014, Issue 4). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010071.pub3>
- Nobrega, R. M. V. da., Castro, I., & Bastos, B. (2022). Eficácia clínica do Concentrado- Plasma Rico em Fibrina (C-PRF) associado à vitamina C como bioestimulador. *Aesthetic Orofacial Science*, 3(1), 49-57. <https://doi.org/10.51670/aos.v3i1.79>
- Pallua, N., Wolter, T., & Markowicz, M. (2010). Platelet-rich plasma in burns. In *Burns* (Vol. 36, Issue 1, pp. 4–8). <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.05.002>
- Peck, M., Hiss, D., & Stephen, L. (2016). Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet- rich fibrin (L-PRF). *SADJ: Journal of the South African Dental Association = Tydskrif van Die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging*, 71, 298–302.
- Qiao, J., An, N., & Ouyang, X. (2017). Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets*, 28(8), 774–778. <https://doi.org/10.1080/09537104.2016.1267338>
- Schär, M. O., Diaz-Romero, J., Kohl, S., Zumstein, M. A., & Nestic, D. (2015). Platelet-rich Concentrates Differentially Release Growth Factors and Induce Cell Migration In Vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 473(5), 1635–1643. <https://doi.org/10.1007/s11999-015-4192-2>
- Terra, M. P., Silva, K. N. G., Martins, A. L. da S., Vilela, L. de F., & Fulco, T. de O. (2022). The use of platelet-rich plasma (PRP) in facial rejuvenation. *Research, Society and Development*, 11(12), e190111231626. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.31626>
- Ustaoğlu, G., Göller Bulut, D., & Gümüş, K. (2020). Evaluation of different platelet-rich concentrates effects on early soft tissue healing and socket preservation after tooth extraction. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, 121(5), 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2019.09.005>
- Wu, C. L., Lee, S. S., Tsai, C. H., Lu, K. H., Zhao, J. H., & Chang, Y. C. (2012). Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Australian Dental Journal*, 57(2), 207–212. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2012.01686.x>