



Autor: Denis Paolozzi

Título do trabalho: Utilização de PRP em Odontologia

Dissertação apresentada no Instituto Universitário de Ciências
da Saúde

2017

Orientador: Professor Doutor Marco André Martins

Declaração de integridade


Denis Paolozzi, estudante do Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Unversitário de Ciências da Saúde, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste Relatório de Estágio.

Confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma defalsificação de resultados ou à pratica de plágio (ato pelo qual um individuo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele).

Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Gandra, "19/10/2017"

Denis Paolozzi



A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'D' followed by a horizontal line and a vertical stroke, positioned above a dashed horizontal line.

Aceitação do orientador

Eu, "Marco André Martins", com a categoria profissional de Professor Auxiliar do Instituto Universitário de Ciências da Saúde, tendo assumido o papel de Orientador do Relatório Final de Estágio intitulado "Utilização de PRP em Odontologia", do Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, Denis Paolozzi, declaro que sou de parecer favorável para que o Relatório Final de Estágio possa ser presente ao Júri para Admissão a provas do Mestrado Integrado em Medicina Dentária conducentes à obtenção do Grau de Mestre em Medicina Dentária.

Gandra, 18/10/2017

O Orientador



Agradecimentos

Meus agradecimentos:

A Dios, à minha família, à Universidade CESPU, a todos os professores por ter me conduzido com paciência e profissionalismo na prática diária, ao meu Orientador Marco e a Doutora Cristina por ter me conduzido a este Relatório Final com muita muita paciência, aos meus amigos e colegas que me ajudaram muito, especialmente ao meu binómio Ezio e ao Armando por preparar Camomila à noite e finalmente ao meu amigo Luigi.

INDICE GERAL

CAPÍTULO I

1. RESUMO.....	VI
2. ABSTRACT.....	VII
3. INTRODUÇÃO.....	1
4. OBJETIVOS	3
5. MATERIAIS E MÉTODOS	3
6. RESULTADOS	4
7. DISCUSSÃO	6
8. CONCLUSÃO	23
9. BIBLIOGRAFIA	25
10. ANEXOS.....	28

CAPÍTULO II

1- RELATÓRIO DAS ATIVIDADES PRÁTICAS DAS DISCIPLINAS DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO	42
1.1 ESTÁGIO EM CLÍNICA GERAL DENTÁRIA	42
1.2 ESTÁGIO EM CLÍNICA HOSPITALAR	42
1.3 ESTÁGIO EM SAÚDE ORAL E COMUNITARIA	42
2.1 TABELAS Atos clínicos	43

RESUMO

A medicina Regenerativa é considerada nos dias de hoje uma solução terapêutica inovadora do século XXI, sendo uma área interdisciplinar de pesquisas e aplicações clínicas focadas especialmente na reparação, substituição e ou regeneração de células, tecidos e órgãos, a fim de restaurar algumas funções anatómicas e bioquímicas deterioradas por diversas razões.

As análises da biologia dos processos regeneradores, dos papéis dos fatores de crescimento, das plaquetas, de outras células inflamatórias e das principais citocinas, explicam o recurso dos concentrados plaquetários (CP) como coadjuvante dos processos reparadores das lesões espontâneas ou provocadas cirurgicamente.

Palavras-chave: medicina regenerativa, reparação tecidual, remodelação óssea, fator de crescimento, plaquetas, PRP, PRF.

ABSTRACT

Regenerative medicine is considered today an innovative therapeutic solution of the XXI century, being an interdisciplinary area of research and clinical applications focused especially on the repair, replacement and or regeneration of cells, tissues and organs, in order to restore some anatomical and biochemical functions deteriorated for various reasons.

The analysis of the biology of the regenerative processes, of the roles of growth factors, of platelets, of other inflammatory cells and of the main cytokines, explain the use of platelet concentrates (PC) as a coadjuvant of repairing processes of spontaneous or surgically induced lesions.

Key words: regenerative medicine, tissue repair, bone tissue turnover, growth factors, platelets, PRP, PRF.

INTRODUÇÃO

A medicina regenerativa é considerada hoje uma solução terapêutica inovadora para o século XXI, a fim de curar e não apenas de tratar as doenças, especialmente as crónicas.

O nascimento internacional do termo "medicina regenerativa", começa a ser utilizado quando o governo federal dos EUA aprovou por meio da Resolução 71 de 2 de Novembro de 2004, o financiamento do CIRM (California Institute of Regenerative Medicine), destinando fundos estatais de US\$ 3 bilhões em 10 anos, praticamente a mesma quantidade de dinheiro que foi utilizado para o Projeto Genoma Humano. Desde então, inicia-se um debate sobre o que era necessário entender sobre o termo: Regenerative Medicine ou Medicina Regenerativa. Desde o início, parecia claro que este termo significava o próximo passo na evolução da medicina de transplantes de órgãos. Eram de facto as necessidades dos transplantes de órgãos e terapêuticas de reposição, por meio de órgãos artificiais, que nortearam a pesquisa e se dirigiram além das abordagens tradicionais.¹

O objectivo da medicina regenerativa é a possibilidade de fornecer os elementos necessários para uma reparação *in vivo*, além de criar substitutos com o objectivo de unir-se ao corpo humano e de estimulá-lo e sustentá-lo na própria capacidade intrínseca de regenerar-se e curar-se sozinho.²

Atualmente, a Medicina e Cirurgia Regenerativa tornaram-se um campo interdisciplinar de pesquisas e aplicações clínicas focadas principalmente na perspectiva de reparar, substituir e/ou regenerar células, tecidos e/ou órgãos. A característica mais importante para a definição das prerrogativas da medicina regenerativa e Cirurgia não consiste no uso de uma tecnologia específica, mas sim a ideia de usar uma combinação de várias abordagens tecnológicas, o que coloca a Medicina e a Cirurgia Regenerativa um passo mais à frente dos tradicionais transplantes de órgãos ou das terapias tradicionais mediante os órgãos artificiais.

Um dos grandes desafios da prática clínica moderna, em medicina dentária, prende-se com o desenvolvimento de aditivos capazes de regular a infecção e potenciar,

concomitantemente, a cicatrização natural. Assim foram criados e desenvolvidos os concentrados plaquetários. O PRP, plasma rico em plaquetas (platelet-rich plasma), é um concentrado plaquetário utilizado na actualidade como técnica regenerativa dos tecidos em várias áreas cirúrgicas, incluindo a cirurgia da cabeça e pescoço, otorrinolaringologia, cirurgia estética cirurgia oral e maxilofacial e até mesmo cirurgia cardiovascular.

Sendo o PRP um concentrado de plaquetas, considera-se que é também uma concentração dos seus produtos e constituintes nomeadamente factores de crescimento (FC) e outras moléculas responsáveis pelo início do processo cicatricial.³ É claro que a medicina regenerativa, podendo curar ou prevenir doenças crónicas, fornecerá, num futuro próximo, o equilíbrio que irá permitir que os países possam suportar os custos sociais e de saúde ligados ao aumento inexorável na esperança média de vida da população.

OBJETIVOS

A partir desta monografia de revisão bibliográfica, pretendo clarificar o seguinte:

- 1 - Analisar o uso de PRP em Odontologia;
- 2 - Comparar os vários compostos derivados dos PRP utilizados;

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa de referências foi efectuada para estudos publicados entre 1973 e 2017.

As palavras chave incluíram: Medicina Regenerativa, reparação tecidual, remodelação óssea, fator de crescimento, plaquetas, PRP, PRF.

As bases de dados utilizadas foram: Ebscohost, Pubmed, Medline, The Lancet.

Os seguintes critérios foram incluídos: artigos escritos em inglês e francês, disponíveis em texto completo; tendo sido excluídos artigos de experimentação animal.

RESULTADOS

Para abordar a evolução dos biomateriais utilizados em Medicina Dentária, urge a compreensão da evolução da aplicação dos materiais autólogos derivados do sangue, desde as colas de fibrina até aos concentrados plaquetários. Embora o uso de adesivos de fibrina esteja bem documentado, nos últimos trinta anos, a sua utilização mantém-se controversa.⁴ Isto deve-se à complexidade dos protocolos para a sua produção, no caso de adesivos autólogos e ao risco de infeção cruzada, nos adesivos comercializados, de origem alogénica.

A heterogeneidade entre o âmbito e os métodos de preparação e da aplicação do produto, enriqueceram a literatura com numerosas publicações, todas caracterizadas por resultados promissores, e ao mesmo tempo, com falta de um padrão congruente e definido.

Numerosos dispositivos comerciais têm sido propostos para simplificar a obtenção do gel plaquetário; no entanto, dada a origem humana e as implicações inerentes ao controle de produção, conservação, segurança e qualidade, o produto é constituído por compreendido entre os componentes do sangue está sujeito às regras que regem a atividade transfusão.

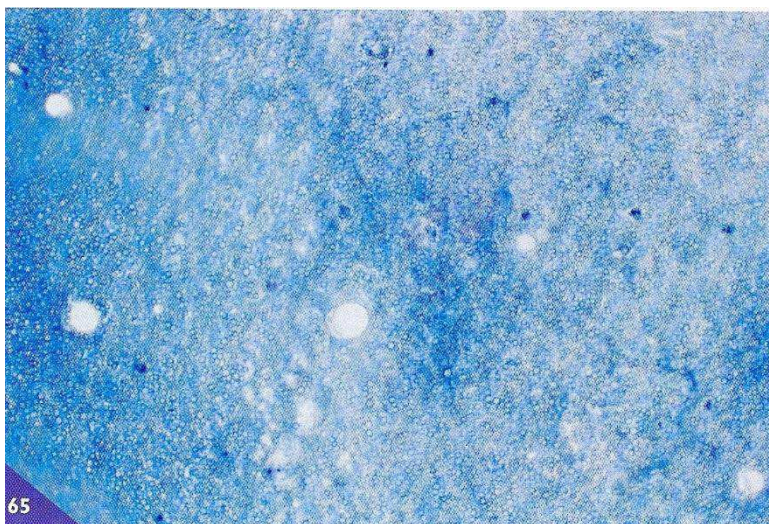
A ideia de usar as substâncias coagulantes para o tratamento das lesões surgiu na altura da primeira guerra mundial; contudo, a qualidade do material ao nível da adesão não suficiente e a percentagem de insucesso era elevada, levando ao abandono do método. Todavia, nos anos setenta, foram feitas tentativas de aumentar as propriedades adesivas e melhorar a cicatrização das feridas aumentando a concentração de fibrinogênio⁵. A cola de fibrina - Inventada por Helene Matras no início dos anos 70 mas proposta pela comunidade científica pela primeira vez pela autora em 1982⁶.

A patofisiologia da reparação dos tecidos abre novas perspectivas no campo da medicina regenerativa, procurando sinergia entre fatores de crescimento de plaquetas, células do sangue e do tecido. Apesar da ampla difusão dos fatores de

crescimento, e do seu mecanismo biológico estar de certa forma bem documentado, a carência de linhas guia precisas e a dificuldade que muitas vezes encontramos na avaliação dos resultados, ainda levam a um árduo trabalho de padronização deste assunto.

DISCUSSÃO

As lesões ósseas mais frequentes são produzidas por dano mecânico ou acidental e aquelas provocadas pelas intervenções cirúrgicas: em ambos os casos o osso sofre um dano primário inevitável, por outro lado, há um estímulo para a implementação de fenômenos proliferativos e diferenciativos tendendo a reparar a lesão. O desempenho destes processos biológicos é absolutamente independente da agente responsável pela lesão ou do tipo de segmento ósseo em causa; isso acontece até que o osso recentemente formado não adquira uma conformação e uma resistência mecânica adequada para a carga funcional, continuamente dirigida e controlada por fatores neuro-humorais e mecânicos, em parte locais em parte gerais. O agente causador, além de originar uma perda de estrutura e / ou uma fratura do osso, pode provocar lesões mais ou menos importantes nas estruturas vasculares, com consequente extravasamento hemorrágico. A coleta mecânica da hemorragia, e os processos hemostáticos, através da formação de trombo, oblitera os vasos presentes no centro das lesões, com consequente bloqueio local da circulação. (Fig.1)

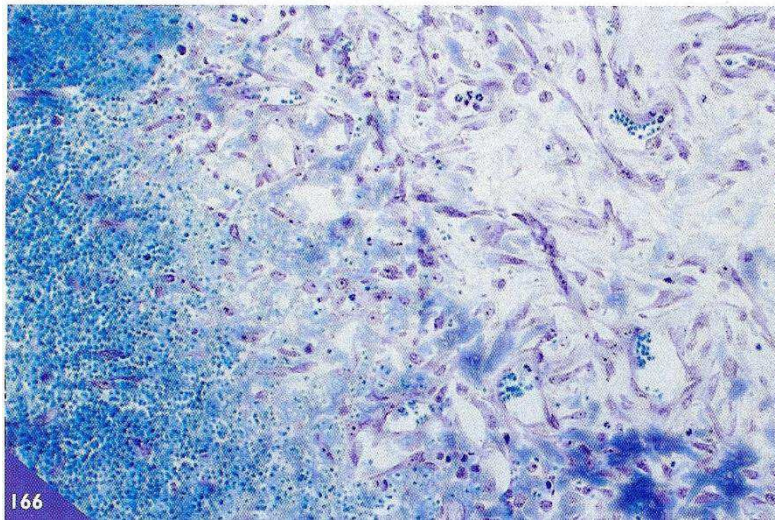


1- Porção central do hematoma numa fratura experimental. Colorado com azul de tolúina.

Localmente, estabelece-se uma condição de anóxia caracterizada pela diminuição da pressão parcial de oxigênio, o aumento da pressão parcial de dióxido de carbono e acidose: o dano anóxico causa ainda mais dano tecidual onde a entidade depende da estrutura do osso envolvido e do seu grau de vascularização. No osso compacto, caracterizado por um baixo valor da razão entre os vasos e massa óssea, o crescimento do tecido é garantido da mesma rede lacuno-canalicular estendida; a desativação desse sistema envolve extensos danos anóxicos que se propagam até mesmo a uma distância considerável do centro da lesão. No osso esponjoso, no entanto, em que a relação entre os vasos e massa óssea é substancialmente aumentada devido ao maior número de vasos, anastomosados uns com os outros e que rodeiam as pequenas porções de osso, o suporte vascular é impressionante e o dano anóxico será significativamente mais concentrado.

A partir da ação inicial da causa prejudicial há um desencadeamento de uma reação inflamatória, iniciando-se, posteriormente a reparação tecidual. A vaso-dilatação que se segue, na periferia da lesão, permite a entrada nos mesmos elementos celulares maduros e precursores de diferentes derivações. Estes últimos, sob a ação de estímulos mecânicos e humorais, diferenciam-se em populações de diversos significados funcionais, responsáveis pelas subseqüentes fases de reparação.

A reação inflamatória conduz, por consequência, a invasão celular do hematoma e dos tecidos circundantes. Elementos da série leucocitária e pluripotentes mesenquimais implementam a resposta invasiva, cuja força diminui em função da distância a partir do foco da lesão; serão liberadas numerosas substâncias de ação reguladora e morfogenética, que alimentam a reação inflamatória e desempenham ação indutora contra vários tipos de células. (Fig.2)



2-*Porção periférica do hematoma numa lesão óssea experimental de causa mecânica. Coloração com azul de tolúina.*

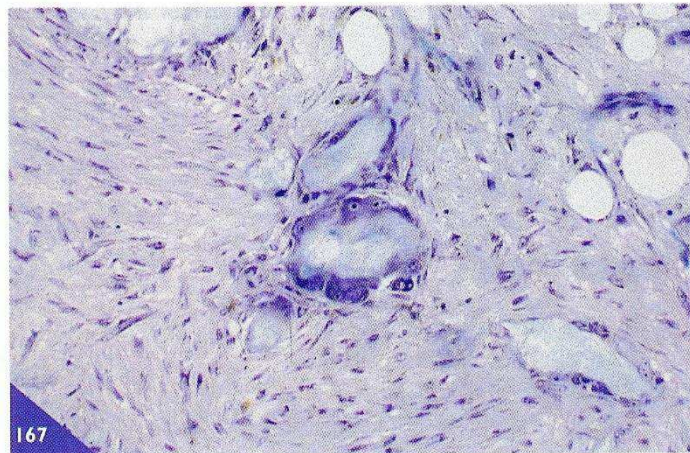
Entre estas substâncias com efeitos biológicos significativos incluem:

- proteínas vasoativas, tais como a calicreína tecidual liberada pelo osso necrótico e pelo endotélio vascular danificado, o que tem levado os efeitos vasodilatador e quimiotático para o centro das lesões: prostaglandinas das classes A, E e F, e as interleucinas (IL- 1, IL-2), que ativam o sistema de macrófagos e osteoclástico.⁷
- Fatores de crescimento de macrófagos (MDGF), plaquetas (PDGF) e proliferação de indução de mitoses dos elementos do tecido conjuntivo.

Quando o sangramento termina, o coágulo estabilizado é progressivamente dissolvido graças à ação da plasmina fibrinolítica, uma enzima presente no sangue numa forma inativa - plasminogénio; a transformação deste em plasmina é catalizada pelo fator de Hageman (factor XIIa) e pelas substâncias enzimáticas produzidas pelas células endoteliais dos capilares.

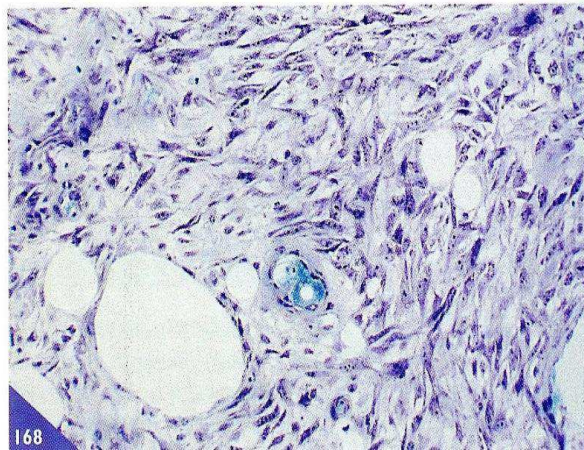
A fibrinólise é também acompanhada pela degradação de tecido necrosado, com a mobilização de numerosos leucócitos. Em particular, os linfócitos têm um papel chave em orquestrar a actividade de outras células hematopoiéticas que povoam região do hematoma.

Granulócitos com atividade de macrófagos, sob o estímulo de linfocinas e interleucinas, governam a remoção dos detritos celulares do coágulo; linfocinas específicas tais como o factor de fusão de macrófagos (FF) e a ativação de osteoclastos (OAF)⁸, divulgado pelo fenótipo T, induzem precursores de osteoclastos de modo a formar agregados sinciciais, que, atuando sobre os fragmentos danificados, produzem a reabsorção das porções ósseas necróticas. O grau de vascularização do segmento do osso afetado é também determinante nesta etapa. A formação de novos vasos restabelece a circulação sanguínea na zona lesionada e, assim, restaura os valores normais de pO₂ e pCO₂ que constituem a base para o início dos processos reparadores: em torno das alças capilares recém-formadas, são desenvolvidas um tipo de população de fibroblastos a partir de elementos mesenquimais (Fig.3).



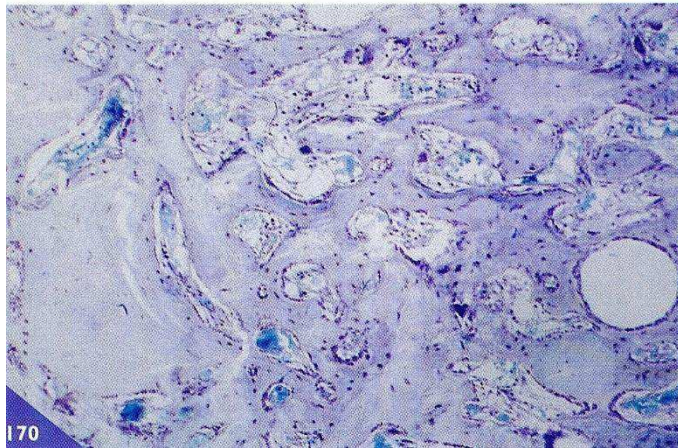
3-Lesão óssea experimental, ao microscópio ótico- osteoclastos plurinucleados reabsorvem e envolvem os fragmentos de osso produzido pelo fator que causa o dano; há ainda, desenvolvimento de uma nova rede vascular.

Estas células aparecem rodeadas por uma matriz em que as fibras de colagénio estão presentes, e formam uma textura delicada de sustentação; rapidamente organiza-se um tecido conjuntivo frouxo que é comumente referido como blastema fibrocelular . (Fig.4)



4-Os fibroblastos sao reproduzidos formando um tecido conjuntivo frouxo, rico em células e vasos.

A regeneração óssea no local da lesão requer uma orientação diferenciada precisa de elementos mesenquimais equipados como se sabe, de múltiplas potencialidade evolutivas: este resultado é produzido por factores de crescimento e diferenciação, tais como, em particular, FCDM (macrófagos GF), o PDGF (factor de crescimento derivado de plaquetas) e proteínas morfogenéticas do osso (BMP), produzido por osteoblastos, armazenados na matriz e liberados durante a reabsorção óssea.⁹ O tecido em reparação também sofre as influências induzidas pelas solicitações mecânicas externas: as deformações incapazes de superar a resistência dos tecidos em formação, e representam factores positivos de estímulo eutrófico na génese ossea. Da atividade osteogénica, origina-se uma tecido primário, de modelamento, principalmente as fibras cruzadas: a arquitectura principal, que é realizada no local da lesão, é do tipo esponjoso, representada por trabéculas ósseas dispostas de forma irregular em torno das alças vasculares recentemente formados. (Fig. 5)



5-Tecido ósseo recém-formado como resultado da lesão experimental

A conclusão da fase de regeneração corresponde à consolidação do segmento danificado com um tecido capaz de realizar, pelo menos provisoriamente, as funções mecânicas impostas ao próprio segmento esquelético.

Para que todo o metabolismo ósseo se processe, convenientemente, há a salientar o papel dos fatores de crescimento, que são libertados a partir de tecidos ativos na osteogênese, tornando-se peças chave na regeneração e remodelação.

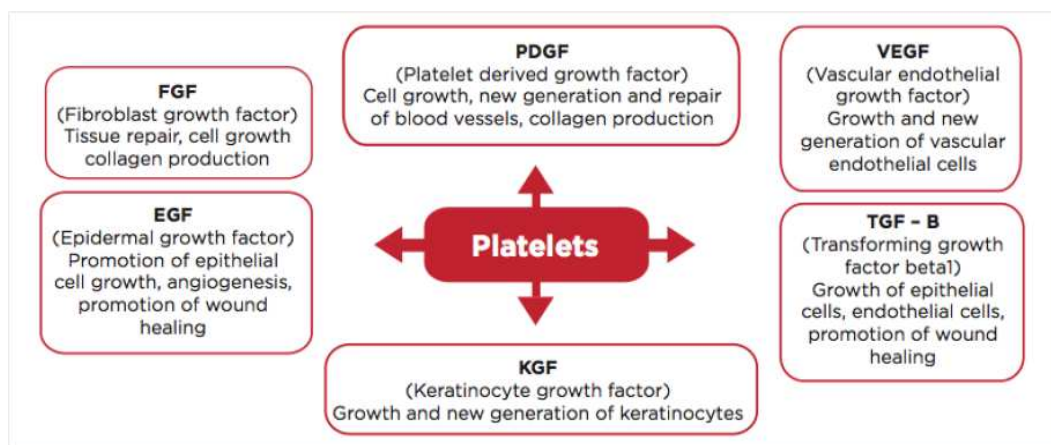
Assim sendo, desenvolveu-se um novo conceito - o uso de concentrados plaquetários, baseados no recurso a FC presentes nestas células. Os FC obtidos das plaquetas, para além da sua ação nos tecidos, interagem com outros FC, resultando na ativação da expressão genética e na produção de proteínas, que parece favorecer a atividade celular, sendo que os FC chave liberados a partir de tecidos ativos na osteogênese, isolados até o momento, são os seguintes:

- Fatores de crescimento derivado de plaquetas (Factor de Crescimento Derivado de Plaquetas PDGF)
- Fatores de crescimento transformante β (β Factor de crescimento transformante, o TGF- β)
- Fatores de crescimento semelhante à insulina (factor de crescimento semelhante a insulina, IGF) também chamado somatomedina C,

- Fatores de crescimento vascular endotelial (factor de crescimento endotelial, VEGF)

- (factor de crescimento epidérmico, o EGF) de factor de crescimento epidérmico.

Em particular, os primeiros três estão diretamente envolvidos no metabolismo das células ósseas e na regeneração e remodelação de tecidos criados por elas. A desgranulação de plaquetas, o que ocorre nas fases iniciais de reparação óssea, para além da hemostasia propriamente dita, provoca a liberação dos factores de crescimento acima mencionados no ambiente extracelular, modulando os vários processos de proliferação e diferenciação celular necessários para reparar o dano imediato nos tecidos. Por conseguinte, parece evidente que a possibilidade de obter a liberação de elevadas concentrações destes factores de modo controlado possa resultar numa melhoria significativa da das fases de reparação, desenvolvimento e regeneração. (Fig. 6)



6-Fatores de crescimento

Fator de crescimento derivado de plaquetas: PDGF é uma glicoproteína com PM 30 KD.^{10,11} Esta é sintetizada em megacariócitos, precursores de plaquetas, e posteriormente armazenado no último. A presença desta molécula foi também encontrada em outros tipos de células tais como macrófagos, células endoteliais e

fibroblastos. Localmente, o PDGF é uma molécula que pode promover vários processos metabólicos celulares, particularmente a angiogénese; desta forma, tornam-se evidentes os efeitos positivos do PDGF na cicatrização de feridas uma vez que atua em dois recetores ao nível da membrana celular da célula alvo - α e β respectivamente - que, por sua vez, estão ligados a um sistema de quinásico que tem a função de fosforilar um segundo mensageiro intracelular. O sinal intracelular tem a tarefa de ativar, ao nível nuclear, a expressão genética de sequências de codificação de proteínas envolvidas na regulação de processos celulares, tais como a mitose, a angiogénese e a ativação de macrófagos. Quanto aos α , estes têm capacidade de estimular a atividade mitótica, enquanto o receptor β estimula a quimiotaxia, especialmente dos precursoras das células osteoblásticas; também é estimulada a mitogénese e diferenciação de fibroblastos ao nível do tecido mole. Contudo, com uma exposição contínua de PDGF pode levar a uma redução significativa de IGF e níveis de (Bone Morphogenetic Proteins, BMPs), que pode ser responsável pela diminuição da função osteoblástica e do processo de formação óssea.¹² Em qualquer caso, é evidente a função de PDGF na cura de processos das lesões ósseas.¹³ A partir destas considerações, destaca-se que o PDGF é um mitogénio potente, mas não protege funções morfogenéticas ou diferenciativas em relação ao tecido ósseo. Para executar esta última função, é requerido outros tipos de FC como as BMPs.

Quanto ao Fator de crescimento transformante β , o TGF- β , é a molécula parental da superfamília de FC TGF. Dentro deste grupo foram identificadas diferentes subfamílias de factores de crescimento, onde se incluem BMP, ativinas, inibinas, substância inibidora Mülleriana, factores de crescimento de diferenciação (GDFS). Estes subgrupos diferem ligeiramente entre si pela sequência de aminoácidos e funções: quatro isoformas distintas de TGF- β 1 foram identificados, - β 2, - β 3 e - β 5. As isoformas de TGF- β são segregadas numa forma biologicamente inativa (LTGF- β); e, a sua ativação é efetuada por alterações de pH ou de agentes proteolíticos. Tem sido demonstrado que a plasmina é capaz de ativar a forma latente de TGF- β por ação proteolítica melhorada, em cultura de células endoteliais cultivadas. Um

outro ativador de TGF- β recentemente descrito é o trombospondina¹⁴ e neste caso, a ativação prossegue em duas fases sucessivas: enquanto na primeira, a forma latente, se liga a trombospondina, a segunda envolve a liberação da forma ativa.

As moléculas que são capazes de interferir com uma das duas fases podem potenciar agentes terapêuticos capazes de modular a actividade de TGF- β na cicatrização de feridas ou na formação de cicatriz fibrótica. De modo semelhante a PDGF, o TGF- β são sintetizados por vários tipos de células tais como plaquetas, macrófagos, osteoblastos, linfócitos e PMN-neutrófilos. Além de participar na osteogénese, as TGF- β são capazes de realizar uma função mais geral, em processos de crescimento celular, como a estimulação da produção de matriz extra-celular e a inibição do sistema imune. Em particular, foi mostrado que o TGF- β antagoniza a formação de tecido cicatricial e fibrose. Eles identificaram alguns factores importantes para a osteogénese, tais como GF semelhante à insulina, capazes de aumentar a concentração de TGF- β na matriz óssea. O TGF- β desempenha em osteoblastos em cultura um papel importante na quimiotaxia, proliferação, diferenciação e regulação da produção de proteínas da matriz extra-celular; além disso, mesmo que seja capaz de estimular a formação de matriz óssea,exibe a propriedade intrínseca de inibição da sua mineralização.

Conclui-se que para o osso, os efeitos celulares mais importantes diretos produzidos por TGF- β são:

- as funções quimiotáticas e citogénéticas. Porque ativam no sentido osteoprodutor preosteoblastico, células pluripotentes e fibroblastos,
- a estimulação para a deposição de matriz osteóide,
- a formação de osso.
- também atuam como mediadores na remodelação óssea e maturação de enxerto de osso por inibição da actividade dos osteoclastos. Recorda-se, no entanto, que ao contrário da BMP, TGF- β não são capazes de promover a formação de tecido ósseo em locais ectópicos de transplante, tal como ao nível do tecido muscular.¹⁵

Relativamente ao fator de crescimento semelhante à insulina: IGF é um factor de crescimento importante na promoção do crescimento e manutenção do tecido

ósseo. Tal como outros fatores de crescimento envolvidos no metabolismo ósseo, o IGF é uma proteína que está presente neste tecido, como resultado de processos de síntese *ex-novo* e subsequente armazenamento.

Verificou-se que existe diferente produção de IGF em diversas situações caracterizadas por diferenciação seletiva da linha celular de osteoblastos indicando que o IGF está fortemente envolvido nos processos de remodelação óssea. A interação do IGF com o seu receptor específico na membrana de células osteoblásticas, estimula a produção de proteínas da matriz extracelular; como os osteoblastos também produzem e segregam as IGFBPs¹⁶ (IGF's binding proteins) e proteases relacionadas nas células osteoblásticas, em condições basais não são capazes de responder à ação de IGF estimulante.

Uma alteração deste equilíbrio, como acontece durante os processos de reabsorção do osso por osteoclastos, é capaz de ativar a protease de IGFBPs, permitindo a libertação da forma activa do IGF e seriam também liberados outros fatores de crescimento armazenados no osso, que participam na regeneração óssea.

No que concerne à evolução dos compostos plaquetários ricos em FC, desde que um cirurgião maxilo-facial americano (Marx RE), publicou em 1998, os primeiros resultados sobre a aceleração do crescimento do osso maxilar, obtido com a adição local de concentrado esponjoso plaquetário ao transplante ósseo, iniciou-se um grande interesse pelo uso da aplicação tópica de plaquetas, sejam elas, incluídas ou não numa matriz de fibrina, como fonte de fatores de crescimento para o estímulo e reparação de tecidos. Os FC contidos nas plaquetas, representam hoje uma terapia eficaz para a regeneração do tecido. Observa-se que o PRP, administrado localmente no interior da lesão, ativa as funções biológicas que promovem a regeneração e reparação de tecidos, bem como a realização de um efeito anti-inflamatório potente.

Uma vez desinflamado e iniciado o processo de regeneração do tecido tratado, o PRP é rapidamente reabsorvido pelo corpo e é substituído pelo novo tecido; produz um efeito hemostático imediato, biocompatível, segura e eficaz, e aumenta a vascularização do tecido tratado, estimulando a angiogénese. A angiogénese é

controlada tanto por interações físicas entre as células e a matriz extracelular, como por fatores angiogénicos como o VEGF; contudo, o mecanismo pelo qual se processa a sinalização celular que regula a neovascularização permanece desconhecido.¹⁷

De acordo com esta revisão bibliográfica, pode ver-se uma grande diversidade de protocolos relativos à preparação do PRP. Os CP vem do sangue extraído, manipulado com diferentes modalidades para obtenção da polimerização de fibrina. Dada a multiplicidade dos protocolos para preparar o PRP, considere o protocolo inicial proposto por Whitman e revisto por Marx.

1) Punção do sangue com um anticoagulante, como o CPDA (citrato de fosfatodestrose) ou EDTA (ácido etildiaminotatrecético) para evitar a ativação das plaquetas e da sua desgranulação.

2) Primeira centrifugação a 5600 por cerca de 10 minutos definida "hard speen" para separar o sangue nos clássicos 3 extratos a seguir: embaixo um extrato de cor vermelha formado por glóbulos vermelhos constituindo 55% do volume total. No topo, um transparente chamado Plasma Pobre em Plaquetas (PPP), o qual representa cerca de 45% do volume total. Entre estes dois, se encontra um extrato intermediário que contém a máxima concentração de plaquetas e de leucócitos, em menos de 1% do volume, chamado de total chamado de "Buffy Coat".

3) A aspiração do PPP, do "Buffy Coat" e de uma mínima parte do extrato corpuscular vermelho (1-2 mm) e a introdução do aspirado em uma segunda proveta sem anticoagulante.

4) Centrifugação a 2400 rpm "soft speen", para separar as plaquetas no fundo da proveta e em cima o PPP.

5) Com uma seringa descarta-se a maior parte do PPP e o remanescente do fundo da proveta vem delicadamente misturado a fim de se obter o PRP, ou seja, o PRP concentrado.

6) Neste ponto, acrescentando ao PRP uma solução de cloreto de cálcio e trombina humana, se obtém o gel plaquetário, enquanto que a trombina provoca a

transformação do fibrinogênio em fibrina com consequente desgranulação das plaquetas e liberação de citocinas e fatores de crescimento.

Nos dias de hoje, os protocolos recentes de PRP prevêm que a primeira centrifugação seja uma *soft spin* a cerca de 1300 rpm, e uma segunda a *hard spin* a cerca de 2000 rpm por cerca de 10 minutos. Alguns protocolos possibilitam apenas uma centrifugação; por outro lado, enquanto uns usam a trombina bovina para a formação de gel, outros apenas o cloreto de cálcio, ou ainda, o cloreto de cálcio e a batroxobina. Esta lógica, baseia-se no uso de PRP, no âmbito reparador/regenerador prevendo a desgranulação contidas nas plaquetas. A secreção ativa dos grânulos, onde são inseridos os fatores de crescimento, começa cerca de 10 minutos e, após o início do processo de coagulação do sangue, mais de 95% dos fatores de crescimento pre-sintetizados, são secretados aproximadamente durante 1 hora, e por este motivo, o PRP deve ser preparado a partir do sangue integral anticoagulado e aplicado antes da formação do coágulo. As plaquetas continuam a sintetizar e a armazenar os fatores de crescimento por mais 7 dias, no final dos quais são fagocitados pelos macrófagos desta região graças a neoangiogênese estimulada exatamente pelas próprias plaquetas. O número de plaquetas presente nos coágulos determina o grau de cicatrização tecidual; foi demonstrado que a proliferação e diferenciação das célula estaminais mesenquimais são diretamente relacionadas a sua concentração.

Segundo se constata na literatura, a utilização do PRP está, em grande parte, relacionada, sobretudo, com a cicatrização dos tecidos moles, do que dos duros, porque as plaquetas não contém BMP e não são osteoindutivas - assim prende-se a necessidade de adição de osso autólogo ou outro composto para atingir os melhores resultados possíveis.

Relativamente às suas aplicações, nas diversas áreas médicas, o PRP está intimamente ligado à cicatrização como já foi, anteriormente, mencionado. O tratamento coadjuvado com PRP melhora tanto a cicatrização como a regeneração tecidual mediante a limitação da resposta inflamatória, promovendo a angiogênese, tendo portanto, um efeito estimulante na regeneração capilar e na

cicatrização de feridas, acelerando ainda a epitelização no caso de feridas crónicas. Atualmente é também utilizado em lesões desportivas, a fim de melhorar os processos biológicos associados à reparação e regeneração de tecidos. É ainda utilizado em cirurgia cardíaca, oftalmologia, cirurgia ortopédica, cirurgia plástica, cirurgia oral e maxilofacial.

Relativamente à sua utilização em medicina dentária, é mais comum, actualmente, o seu uso coadjuvado com outro material de enxerto para regeneração de tecido ósseo e periodontal - utilizado, por exemplo, para recobrimento radicular. A sua aplicação contribui para os principais processos de regeneração óssea pelos seus efeitos estimulantes sobre a migração tanto dos osteoblastos como das células do ligamento periodontal; apresenta ainda um efeito positivo em sítios pós-extração, promovendo a manutenção da densidade óssea. Na implantologia é útil por diminuir o tempo de cicatrização, reduzindo o espaço temporal médio necessário para a colocação dos implantes após as exodontias - que passa a ser de 2 a 4 meses, melhorando ainda a osteointegração. Segundo um dos estudos revistos, conclui-se que o PRP acelera a resposta angiogénica das lesões da mucosa oral durante os 10 dias seguintes ao ato cirúrgico.

Tendo em consideração tudo o que foi exposto relativamente à forma como atuam o PRP nos tecidos, considera-se que é uma boa alternativa terapêutica, promotora de regeneração; contudo, as respostas biológicas de algumas células que contactam com este composto ainda não estão totalmente esclarecidas.

Como vantagens o PRP apresenta uma boa previsibilidade, uma boa capacidade regenerativa e, portanto, uma ampla versatilidade nos métodos de emprego. As principais desvantagens da utilização do PRP são o protocolo ser difícil para o clínico e o custo. Seguidamente, surge o PRGF, de Anitua, considerado como uma evolução do PRP que permite uma maior concentração dos fatores de crescimento na sua preparação, o plasma utilizado é recolhido com aspirações sucessivas e o tempo total para a preparação é de cerca de 15 a 20 min. Para a ativação utilizam sempre CaCl + trombina bovina, eventualmente misturando-se biomateriais. Entre as desvantagens do PRGF encontramos a possibilidade de se obter reduzidas

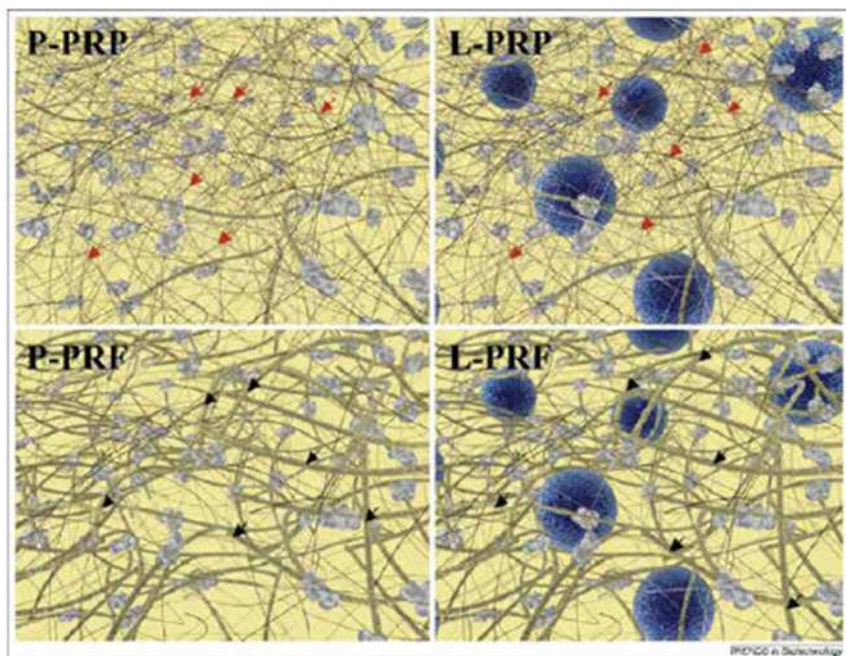
quantidades de sangue e da mesma forma que o PRP, problemáticas análogas medico-legais para o dentista. Tem como vantagens: o tempos rápidos de formação do coágulo, que requer velocidade e notável habilidade do operador.

Em paralelo a evolução do PRP e PRGF, desenvolvia-se, uma segunda geração de hemoderivados, proposta em França, pelo Dr. Joseph Choukroun no ano de 2000, chamada Fibrina rica em Plaquetas (PRF). Esta técnica, em fase de preparação exclui o uso de anticoagulante e de trombina e de qualquer tipo de agente geleificante; e requer apenas uma centrifugação do sangue obtido. O contato das plaquetas com o tubo de ensaio leva a uma rápida ativação destas últimas, e então, dá-se a última fase da coagulação. Durante a centrifugação, o fibrinogénio, inicialmente concentrado na parte mais alta do tubo, é transformado em fibrina, dispendo-se na porção central do tubo – *buffy coat* - entre a fase vermelha, depositada no fundo e o plasma acelular (PPP), disposto na parte mais alta. (Fig. 9) Estas ficam dispostas segundo o gradiente de densidade de centrifugação.

As plaquetas tendem a permanecer presas entre as malhas de fibrina dispostas na camada intermediária. É interessante notar que a matriz de PRF recolhe também as glicosaminoglicanas (heparina e ácido hialurônico) do sangue e das plaquetas. As glicosaminoglicanas, além de interagirem com a citocinas plaquetárias, são capazes de suportar a migração das células e dos processos de cicatrização.¹⁸⁻²⁰ Com o uso de tesouras, o extrato de cor amarela vem separado do extrato inferior vermelho, rico em hemácias. O PRF pode ser comprimido criando uma membrana elástica de cerca de 3 cm x 1,5 cm.¹⁸⁻²⁰ O protocolo do PRF permite obter em poucos minutos, um coágulo de fibrina autóloga muito resistente que pode ser enxertada como tal, ou transformado em uma membrana biológica que pode ser também suturada. Além disso, os fatores de crescimento continuam a ser liberados lentamente e gradualmente. Isto favorece ativamente uma rápida reparação dos tecidos moles, particularmente durante as duas primeiras semanas, que são as mais críticas, além de uma rápida cicatrização óssea e uma maior adesão dos osteoblastos a outros biomateriais. Com a evolução dos PRP e dos seus derivados, bem como com a inovação que as centrifugadoras utilizadas para estes procedimentos de medicina

regenerativa, houve necessidade de adaptar, ao longo das últimas décadas os seus protocolos. Uma terapia correta é codificada por protocolos, procedimentos e linhas guia muito precisos. O protocolo consiste num instrumento informativo que define um modelo formalizado de comportamento através da descrição de uma sucessão de intervenções a fim de alcançar um determinado objetivo. Os procedimentos são instrumentos de integração úteis em situações complexa que descrevem uma sequência detalhada e lógica de ações a fim de uniformizar e garantir assim, a qualidade dos efeitos. As linhas guias são recomendações de comportamentos clínicos com o objetivo de orientar o médico na escolha das modalidades da intervenção e ações mais apropriadas nas situações clínicas. Acrescente-se que surgiram novas classificações dos CP que foram propostas de forma a ajudar a esclarecer os sucessivos insucessos, além de fornecer uma abordagem objetiva para posterior desenvolvimento desta técnica.

Após esta revisão bibliográfica, consegue-se classificar os CP em 4 categorias^{21,22}, dividindo os que contêm leucócitos e fibrina (Classif. POSEIDO (Periodontology, Oral Surgery, Esthetic and Implant Dentistry Organization): (Fig. 10)



10- Estruturas diferentes de P-PRP, L-PRP, P-PRF e L-PRF

- plasma rico em plaquetas puro (P-PRP), como o PRGF de Anitua;
- plasma rico em leucócito e plaquetas (L-PRP);
- pura fibrina rica em plaquetas (P-PRF);
- fibrina rica em leucócitos e plaquetas (L-PRF), como o PRF de Choukroun.

O concentrado plaquetário em estado líquido e antes da ativação são denominados: PRP.

Portanto temos:

P-PRP (Pure Platelet Rich Plasma) sem leucócitos;

L-PRP (Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin) com leucocitos.

A versão ativada dos P-PRP e L-PRP são respectivamente P-PRP gel e L-PRP gel. Depois da ativação, estas preparações são caracterizadas por uma polimerização incompleta e uma arquitetura final de fibrina muito fugaz.

Analisando os artigos, observam-se estudos como o de Dohan et al.¹⁹ que tem demonstrado como as citocinas plaquetárias (PDGF, TGF β 1 ed IGF1) são incorporadas intimamente na arquitetura dos polímeros fibrínicos; além das matrizes de PRF contendo glicosaminoglicanas como as heparinas e ácido hialuronicos, os quais apresentam notáveis afinidades com alguns peptídeos do círculo hemático com notável capacidade de suportar a migração celular e a cicatrização dos tecidos.¹⁹ Em um recente artigo de Dohan, Sammartino et al. enfatizaram a presença de leucócitos e dos fatores de crescimento (PDGF e VEGF), que são libertados lentamente, o que não era tão notável nos outros protocolos (tipo PRP, PRGF).

Em suma, sempre Dohan et al, tem demonstrado que os leucócitos têm um papel importante na regulação imunitária local com capacidade de modulação da inflamação pós-operatória e na desgranulação leucocitária²¹ que liberta interleucina (TNF- α , IL1 β , IL6 e 4, VEGF) internamente na matriz fibrínica assim como as citocinas plaquetárias. Por isso, embora, os leucócitos apresentem uma atividade fibrinolítica, propriedade esta considerada negativa por muitos autores, a sua presença é considerada válida no PRF por possuir certa atividade imunitária e bioestimulante que desenvolve no sítio cirúrgico.

Finalmente em relação às interações entre a fibrina do PRF e as células ósseas, podemos evidenciar como a tal matriz seja um válido suporte para o transplante de proteínas morfogenéticas (BMP) liberadas de maneira progressiva como demonstram estudos recentes de preparados musculares, indutores de osteogênese.²³ Os resultados de Wiltfang et al. são por este lado, encorajantes, pois evidenciam uma melhora dos FC na proliferação osteoblástica para o PRF em relação ao PRP.

Conjuntamente, é possível individualizar um caso de Choukroun et al.²⁴, onde foi documentado o preenchimento de uma cavidade de grandes dimensões com PRF e completa remodelação óssea em poucos meses. Pensa-se que o poder osteogénico do PRF esteja ligado à sua extraordinária capacidade neoangiogénica e a concentração dos FC, nele contidos e as citocinas presentes, todos adequados a migração de células totipotentes e a ativação de células preosteoblásticas presentes no sítio cirúrgico, aspectos fundamentais para o processo de regeneração óssea. Por último, recentes estudos indicam que o agrupamento da fibrina aos protocolos de PRP melhora os resultados histológicos na regeneração óssea. O PRF demonstra ser um produto versátil no âmbito cirúrgico graças às suas propriedades biológicas e pela sua fácil manipulação sob forma de gel ou membrana, que permitem serem utilizadas em casos de sítios pós-extração, cobertura de tecidos moles, incorporação de biomateriais, prevenção e tratamento das perfurações buco-sinusais. Outros estudos de Choukroun, Dohan, Sammartino et al. demonstraram aumento na regeneração óssea intrasínusal no caso de associação de PRF e FDBA, além de uma compactação melhor do biomaterial.^{25,26}

CONCLUSÃO

1. A expressão “engenharia de tecidos” surgiu, originalmente, relacionada com a construção laboratorial de dispositivos os quais continham células e mediadores, numa matriz biológica ou sintética, que podia ser utilizada em pacientes com o intuito de facilitar a regeneração de determinados tecidos. Geralmente combina três elementos-chave: scaffolds (estruturas tridimensionais que serve, de suporte ao crescimento celular); moléculas de sinalização (como os fatores de crescimento) e células (e.g., osteoblastos, fibroblastos, ou outras populações adequadas à regeneração do tecido lesado). Para abordar a evolução dos biomateriais utilizados em Medicina Dentária, urge a compreensão da evolução da aplicação dos materiais autólogos derivados do sangue, desde as colas de fibrina até aos concentrados plaquetários. O PRP – Plasma Rico em Plaquetas – consiste numa modificação de cola de fibrina, resultante da centrifugação do sangue do próprio paciente e contém os FC que influenciam na cicatrização tendo, desse modo, um papel importante nos mecanismos de reparação tecidular: com um papel crucial no processo de regulação celular, que inclui quimiotaxia, diferenciação e metabolismo.

2- Geralmente, o PRP é usado sob a forma de gel, que é conseguido pela mistura de PRP (resultante da centrifugação de sangue, integralmente, autólogo) com trombina e cloreto de cálcio. O PRP é usado vulgarmente em cirurgia, otorrinolaringologia, cirurgia cardiovascular e maxilofacial. Todas as técnicas de PRP disponíveis têm pontos em comum como a necessidade de recolher uma amostra de sangue com anticoagulante, imediatamente antes ou durante a cirurgia e ser, de seguida, centrifugada. Devido às restrições legais inerentes ao manuseamento de sangue, e na tentativa de minorar as limitações do PRP, surgiam outros compostos como o PRF com um método de

preparação, certamente mais simples comparado ao PRP e PRGF sem a adição de substâncias auxiliares e estranhas, proporcionando:

- a formação de uma matriz fibrosa com estrutura similar à natural -flexível e de boa qualidade, capaz de incorporar citocinas e de sustentá-la na migração celular;
- estímulo neoangiogénico típico do biomaterial associado a uma ação osteogénica sobre a célula osteoprogenitora; representando, uma nova abordagem à cirurgia regenerativa.

Deveremos porém, realizar mais estudos para melhor poder compreender a versatilidade, o mecanismo de ação, as potenciais aplicações clínicas destes protocolos.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Daar AS. The World Health Organization resolution on human organ trans-plantation: will it result in action? *Transplantation* 2005 Mar 27;79(6):641-2.
- 2- Greenwood HL, Singer PA, Downey GP et al. Regenerative medicine and the developing world. *PLoS Med* 2006 Sep;3(9):e381.
- 3- Robert E. Marx, DDS. Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support Its Use *Journal Oral Maxillofac Surg* 62:489-496, 2004.
- 4- Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*. 2012, Vol.83, n°12: 1499-1507.
- 5- Matras H, Braun F, Lassmann H et al. Plasma clot welding of nerves (experimental report). *J Maxillofac Surg* 1973;1:236.
- 6- Matras, H. The use of fibrin sealant in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac Surg* 1982;40(10):617-22.
- 7- Rodan GA Martin TJ. Role of osteoclast in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. *Calcif Tissue Int* 1981;33:349-51.
- 8- Baron R, Vignery A, Horowitz M. Lymphocytes, macrophages and the regulation of bone remodelling. Peck WA (ed). *Bone and mineral research* 1984:175-243.
- 9- Somerman Mj, Hewitt AT, VarnerHH et al.: Identification of bone matrix derived chemiotactic factor. *Calc tiss Int* 1983a;35:481-85.
- 10- Antoniades HN. Human *PDGF*: purification of *PDGF-I* and *PDGF-II* and separation of their reduced sub-units. *Proc Nad Acad Sci USA* 1981;78:7314-7.
- 11- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1998;85: 638-46.
- 12- Canalis E et al. PDGF and the Skeleton. *Principles of bone biology*. Academic press 1996;44:619-26.
- 13- Pierce GF, Tarpley JE, Yanagihara D, T. A. Mustoe, G. M. Fox, and A. Thomason et al. Platelet Derived Growth Factor-BB, Transforming Growth Factor- β , and basic Fibroblast

Growth Factor in dermal wound healing. Neo-vessel and matrix formation and cessation of repair. *Am J Pathol* 1992 Jun; 140(6):1375–88.

14- Schultz-Cherry S, Chen H, Mosher DF et al. Regulation of Transforming Growth Factor β activation by discrete sequences of thrombospondine 1. *J Biol Chem*. 1995;270:7304-10.

15- Flaumenhaft R, Abe M, Sato Y et al. Role of the latent TGF-beta binding protein in the activation of latent TGF-beta by co-cultures of endothelial and smooth muscle cells. *J Cell Biol* 1993 Feb;120(4):995-1002.

16- Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev* 2008 Aug;29(5):535-59.

17- Akiko Mammoto¹, Kip M. Connor², Tadanori Mammoto¹, Chong Wing Yung¹, Dongeun Huh¹,

Christopher M. Aderman, Gustavo Mostoslavsky, Lois E. H. Smith & Donald E. Ingber A mechanosensitive transcriptional mechanism that controls angiogenesis. Vol 457|26 February 2009| doi:10.1038/nature07765

18- Dohan D M, Choukroun J, Diss A et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Mar;101(3):E51-5

19- Dohan D M, Choukroun J, Diss A et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:E37-44

20- Dohan D M., Choukroun J, Diss A et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:E45-501

21- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158-67.

22- Dohan Ehrenfest DM, Sammartino G, Shibli JA et al. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin-PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO*. 2013;1(1):17-27.

- 23- Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann NY Acad Sci* 2001;936:11-30.
- 24- Choukroun J., Diss A., Simonpieri A. 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* 2006;101:E56-60.
- 25- Dohan D.M., Choukroun J., Diss A. 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* 2006; 101: E37-44.
- 26- Dohan D.M., Choukroun J., Diss A., et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:E51-5.

ANEXOS

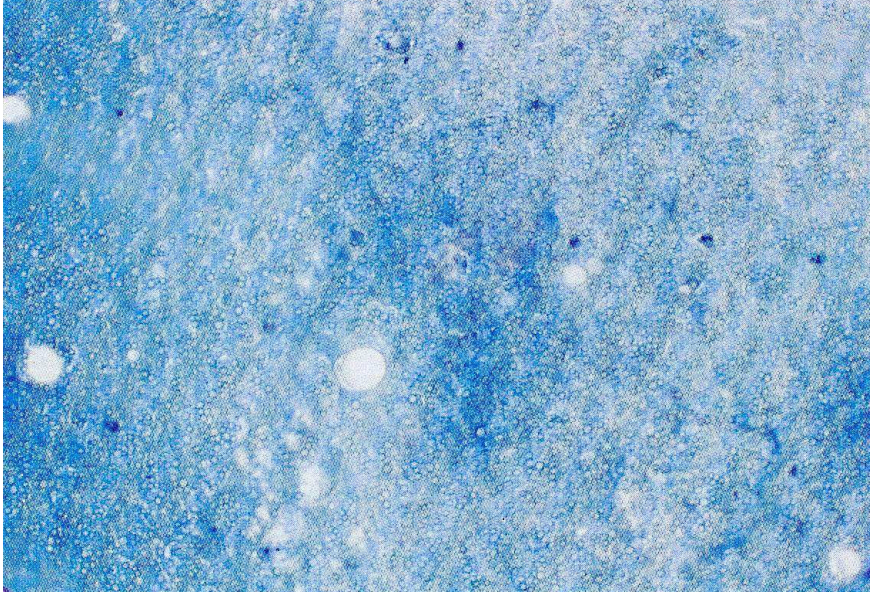


Figura 1

Porção central do hematoma numa fractura experimental sob o microscópio óptico: o grupo de células, aproveitada de fibrina, consistindo principalmente em eritrócitos que rodeiam alguns leucócitos, dos quais pode-se ver claramente os núcleos, e algumas cavidades correspondentes aos adipócitos pré-existentes. A coloração com azul de toluidina.(A. Bianchi Implantologia e Implantoprotesi UTET)

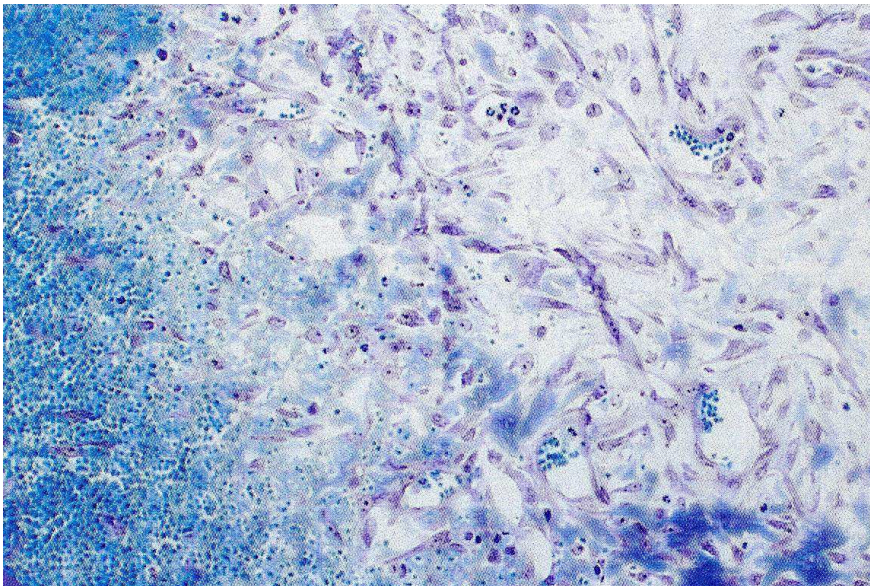


Figura 2

Parte periférica do hematoma em uma lesão óssea experimental de causa mecânica: macrófagos arredondados removem tanto os elementos celulares quanto o estroma do hematoma. Fibroblastos compridos colocam fibras de colagénio e matriz amorfa que iniciam o blastema fibro-celular. A coloração com azul de toluidina.(A. Bianchi Implantologia e Implantoprotesi UTET)

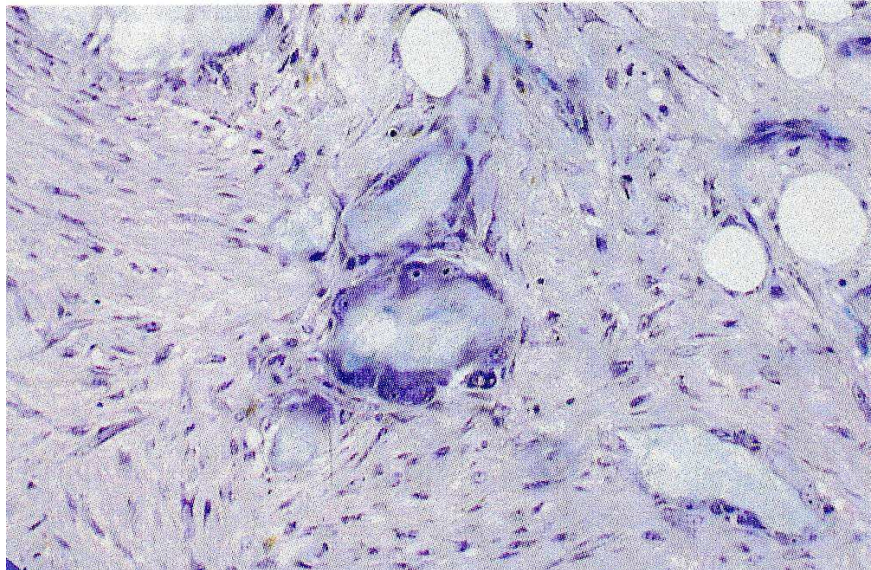


Figura 3

Blastema fibrocelular em uma lesão óssea experimental, ao m.o.: osteoclastos plurinucleados reabsorvem e envolvem os fragmentos de osso produzidos pelo factor nocivo. A ação erosiva de osteoclastos é acompanhada pelo desenvolvimento de uma nova rede vascular (coloração com azul de toluidina; A. Bianchi Implantologia e Implantoprotesi UTET)

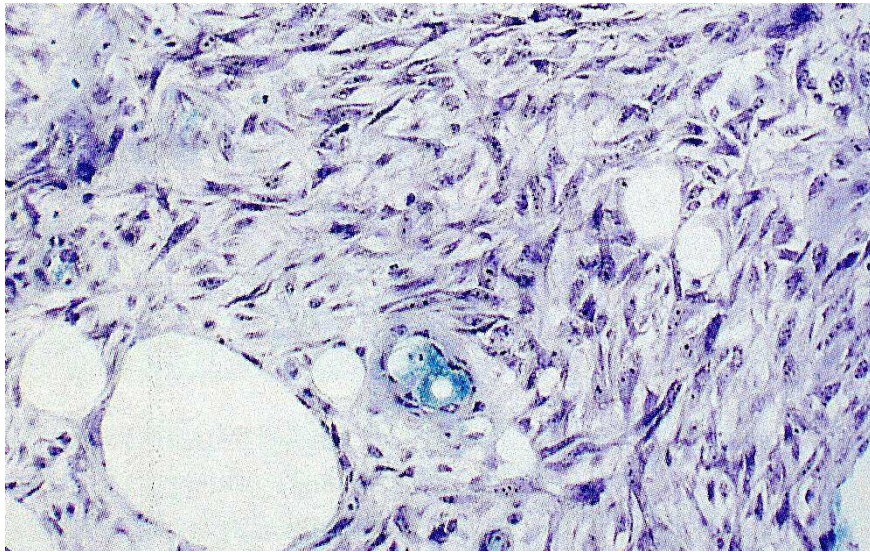


Figura 4

Blastema fibrocelular em lesão óssea experimental: os fibroblastos são reproduzidos formando um tecido conjuntivo frouxo, rico em células e vasos. A diferenciação até osso neste blastema requer a ação de esforços mecânicos, mas que ao mesmo tempo o centro da lesão permanece imóvel. (A. Bianchi Implantologia e Implantoproteses UTET)

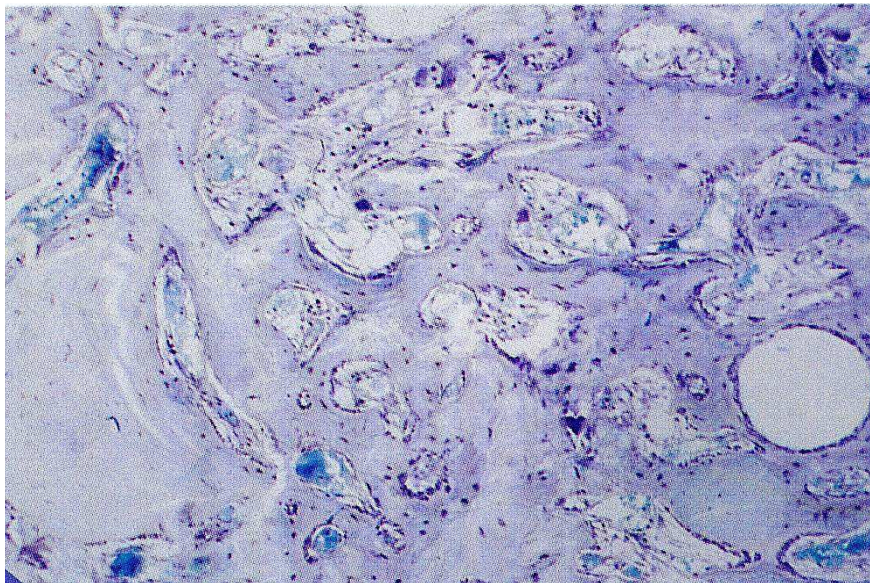


Figura 5

Tecido ósseo recém-formado como resultado de lesão experimental: numerosos osteoblastos estabelecem trabéculas dispostas de forma irregular em torno dos vasos compreendidos nas cavidades medulares. Estas estruturas ósseas são, então, expandidas até que toda a área adquira as propriedades mecânicas adequadas para lidar com o novo estado funcional (coloração com azul de toluidina; da A. Bianchi Implantologia e Implantoproteses UTET)

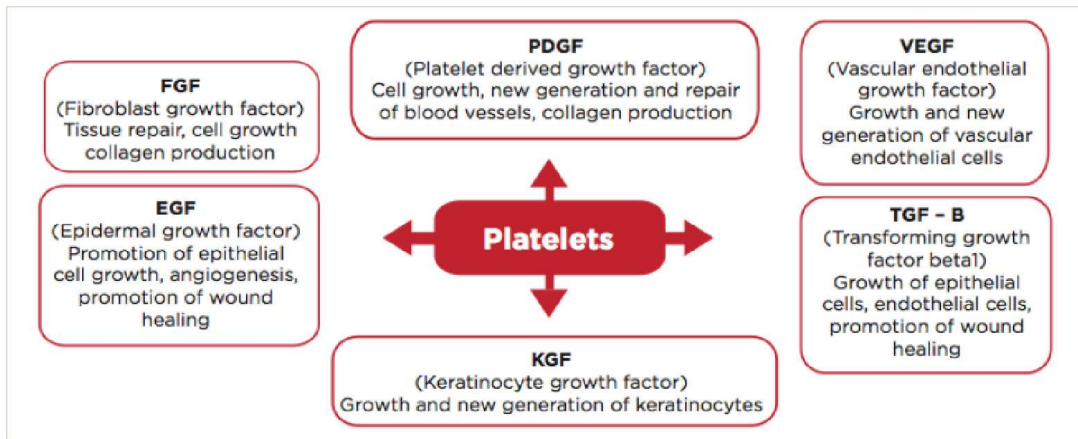


Figura 6

Factores de crecimiento (Ancaster Laser Medispa)

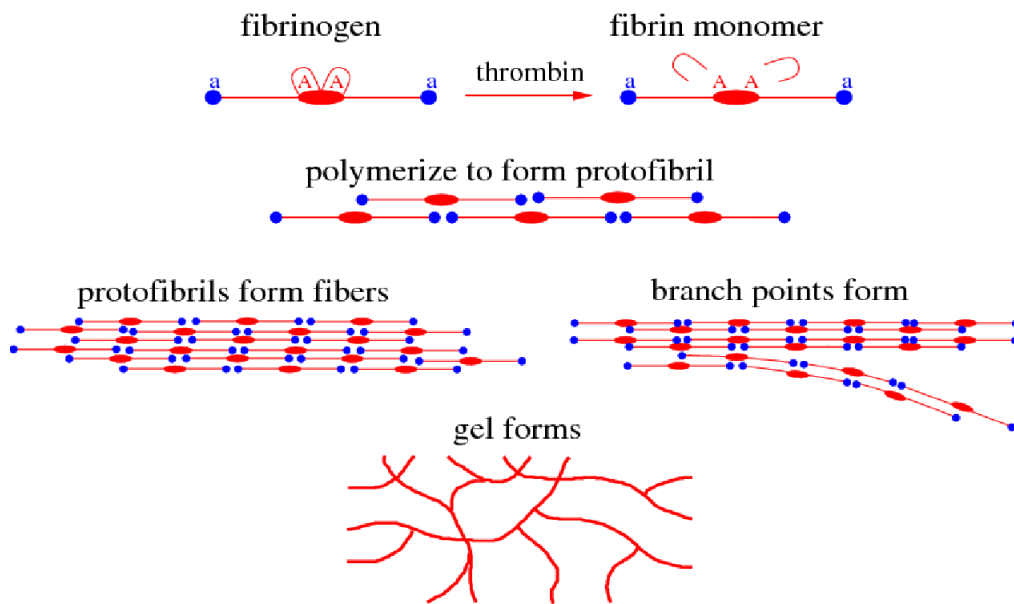


Figura 7

Passagem de fibrinogenio a fibrina (Physiological Gels Research Group)

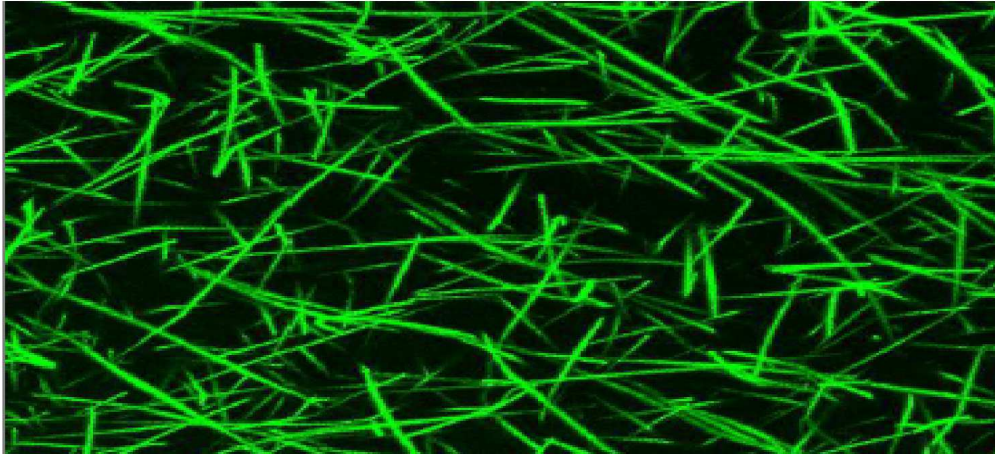


Figura 8

Estrutura da fibrina em gel (Physiological Gels Research Group)

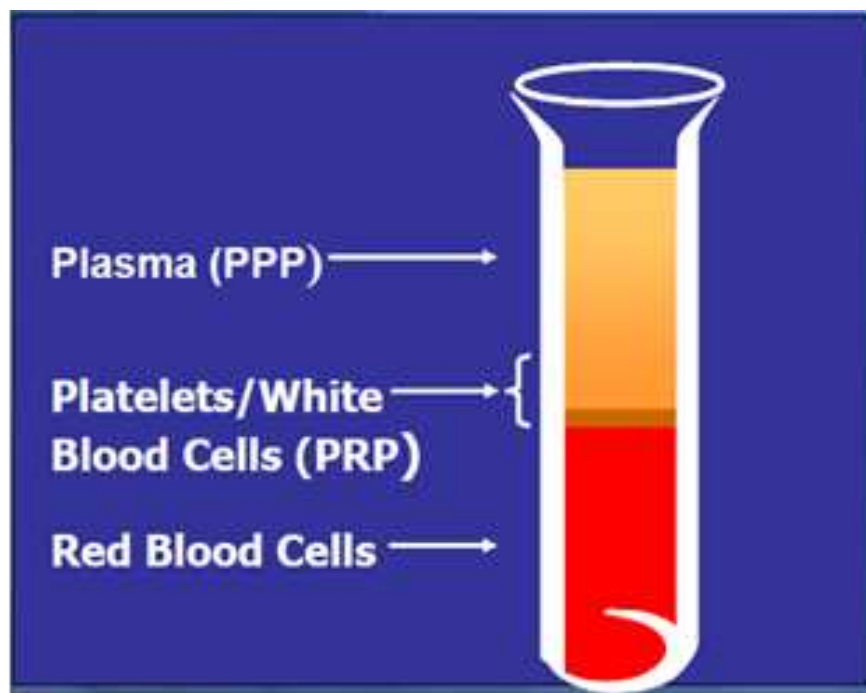


Figura 9

*Separação do PRP das outras componentes do sangue após centrifugação (Tesis em Medicina-Chirurgia
Denis Paolozzi Roma 2009
("Osteonecrosi dei mascellari in pazienti che assumono bifosfonati e terapia con PRP")*

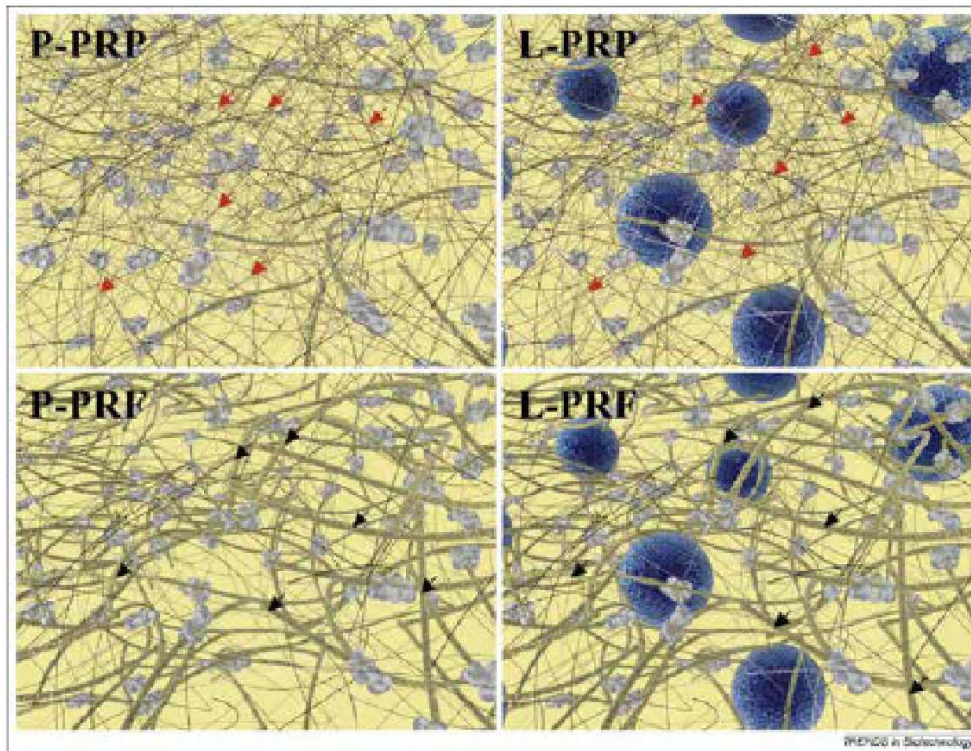


Figura 10

(Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends Biotechnol. 2009;27(3):158-67.)

Estrutura diferente de P-PRP, L-PRP, P-PRF e L-PRF

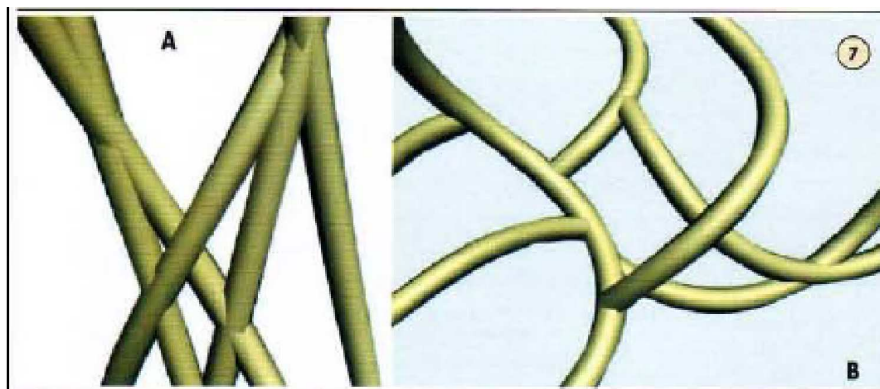


Figura 11

(Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends Biotechnol. 2009;27(3):158-67.)

Diferença entre a arquitetura molecular da fibrina produzida pela técnica de PRP (A) e PRF (B). Observe a diferença de elasticidade entre as duas estruturas.

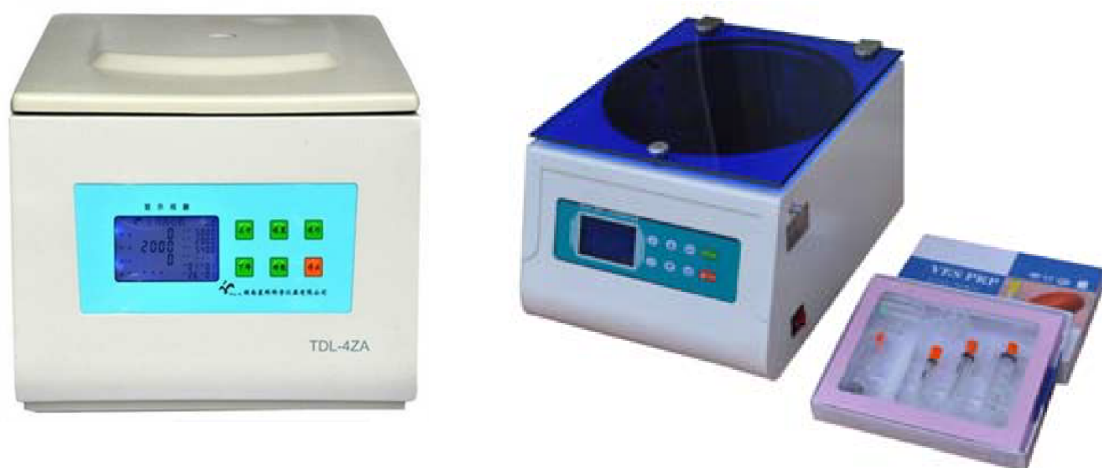


Figura 12
(Medical Expo e xingke.en.alibaba.com)
Duas ferramentas diferentes para produção de PRP



Figura 13
Centrífuga para a preparação de A-PRF e i-PRF



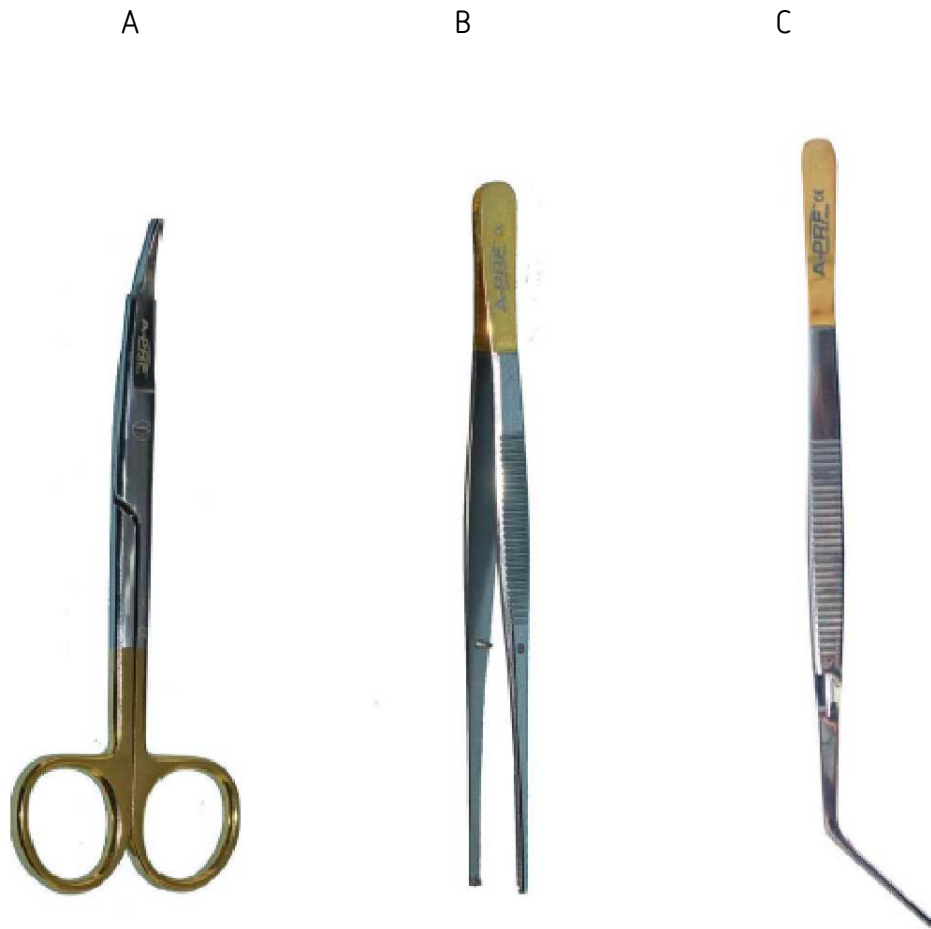
Figura 14
A coleta de sangue



Figura 15

(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)

A caixa PRF mantém as membranas hidratadas constantemente e com uma espessura constante, mas também recupera o exsudado rico em integrinas: vitronectina e fibronectina. Também é possível produzir fragmentos ou cotonetes para locais de extração.



- A) Tesoura cirúrgica curvada:
permitem separar facilmente o coágulo de fibrina dos glóbulos vermelhos e cortar as membranas em pequenos fragmentos.
- B) Pinça cirúrgica:
usado para extrair e manipular as membranas.
- C) Pinça cirúrgica curva:
usada para misturar as membranas cortadas em pequenos fragmentos com os biomateriais. Também pode ser usada para cortar, colocando a membrana na tigela e cortando-la com tesouras cirurgicas

Figura 16
(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)

*Bandeja de aço inoxidável PRF
usado para a preparação da
membrana
(cortar e dobrar as membranas,
fazer tampões)*



*Bacia de aço inoxidável PRF
usada para misturar as
membranas cortadas em
pequenos fragmentos com
biomateriais.
Tambem pode ser utilizada para
cortar,
colocando a membrana no
interno
dissa e cortando*



Figura 17
(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)



Figura 18
(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)
Recipiente para tubos de ensaio



A-PRF™ **i-PRF™**

Figura 19
(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)
Tubos de teste separados para cores e butterfly para a coleta

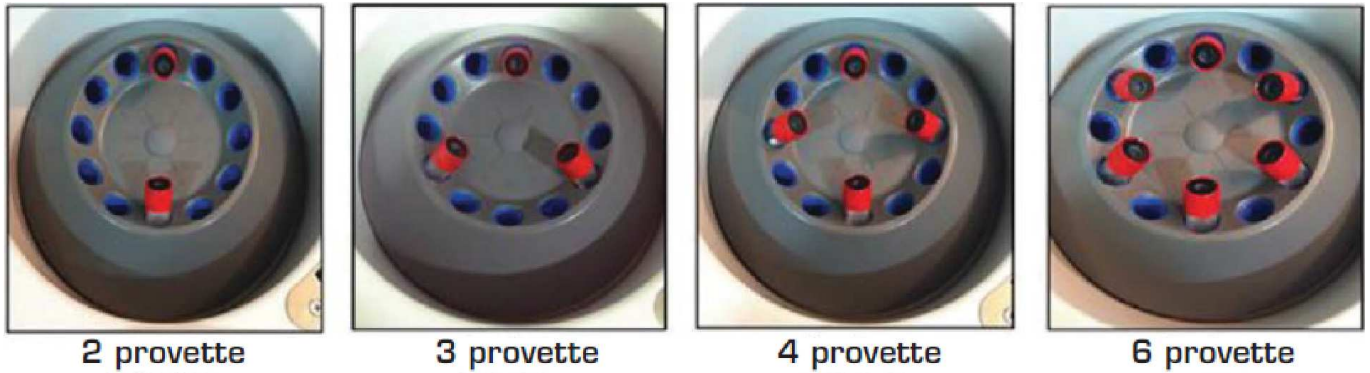


Figura 20

(Intralock Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)

Alguns exemplos de equilíbrio

Se os tubos de ensaio estiverem em um número ímpar, deve-se preparar outro tubo de ensaio em que serão coletados 10 ml de água.



Figura 21

(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)

Exemplo de concentrado apos centrifugação



Figura 22

(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)

Exemplo das fases de separação do Buffy - Coat

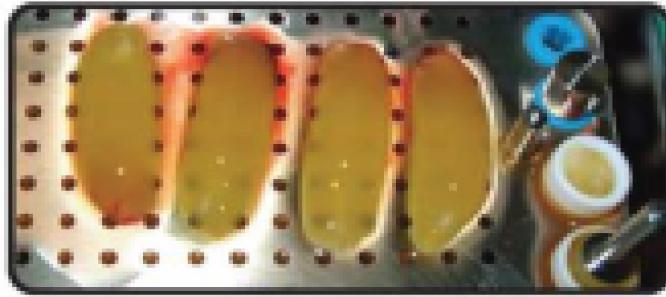


Figura 23
(Centrifuga IntraSpin, Instrumentos, Protocolos)
Exemplo de PRF

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

Este relatório de estágio foi realizado no Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário de Ciências de Saúde – Norte (ISCS-N), no ano lectivo 2016/2017. Consiste na descrição das atividades realizadas e conhecimentos adquiridos nos estágios de clínica hospitalar, de saúde oral comunitária e de clínica geral dentária no período de setembro de 2016 a junho de 2017.

RELATÓRIO DAS ATIVIDADES PRÁTICAS DAS DISCIPLINAS DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

1 Relatório de atividades por unidade curricular.

1.1- Estágio em Clínica Hospitalar (Hospital Padre Américo).

A supervisão do mesmo esteve sob a tutela do Prof. Fernando Figueira.

Realizado do dia 26 junho 2017 ao dia 30 junho 2017.

Realizado do dia 17 julho 2017 ao dia 21 julho 2017.

Realizado do dia 7 agosto 2017 ao dia 11 agosto 2017.

Com uma carga semanal de 40 horas compreendidas entre as 09:00h-18:00h.

Com duração total de 120 de horas.

A discriminação e contabilização dos atos clínicos está efetuada na tabela 1.

1.2- Estágio em Saúde Oral Comunitária (EB Valado, EB Saibreiras, EB Susão, Agrup. Escolas Daniel Faria, Centro Social Ermesinde).

A supervisão do mesmo esteve sob a tutela do Professor Doutor Paulo Rompante.

Realizado com um total de 120 horas, com uma carga horária semanal de 10 horas, compreendidas entre as 09h00 e as 14h00 de terça-feira e quinta-feira.

A aprendizagem retirada deste estágio é o trabalho em equipa e a acção social do mesmo na minha formação pessoal e académica. No local, os objetivos a que nos propusemos foram cumpridos, com exposições orais sobre as diferentes temáticas de saúde oral e levantamento de dados de acordo com o Plano Nacional de Promoção de Saúde Oral.

1.3- Estágio em Clínica Geral Dentária (Clínica Nova Saúde – Gandra).

Foi realizado na Clínica Universitária de Gandra, sob tutela da Prof. Doutora Filomena Salazar, Prof. Doutora Maria Do Pranto, mestre Luis Santos, mestre José Baptista, Prof. Doutora Cristina Coelho, Mestre Sónia Machado, Mestre Célia Marques.

Num total de 180 horas. Foi possível aplicar os diferentes conhecimentos aprendidos separados nas diferentes disciplinas, numa só, de uma forma mais abrangente, fomentando a partilha de conhecimentos.

A discriminação e contabilização dos atos clínicos está efetuada na tabela 2.

Tabela 1 Atos clínicos do Estágio Hospitalar

ATO	QUANTIDADE
Consulta	5
Destartarização	20
Endodontia	3
Exodontia	16
Remoção pontos	2
Restauração	12
Selante fissura	1

Tabela 2 Atos clínicos do Estágio de Clínica Geral

ATO	QUANTIDADE
Branqueamento interno	1
Consulta	2
Destartarização	3
Endodontia	1
Exodontia	2
Ferulização	1
Remoção pontos	1
Restauração	5