

BRUNO AVELAR SANTOS

PLASMA RICO EM PLAQUETAS: VERDADES E CONTROVÉRSIAS

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2009**

BRUNO AVELAR SANTOS

PLASMA RICO EM PLAQUETAS: VERDADES E CONTROVÉRSIAS

Monografia apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Implantodontia.

Orientador: Professor Luis Marcelo Groth

FACULDADE DE ODONTOLOGIA -- UFMG

BELO HORIZONTE

2009

S237p
2009
MP

Santos, Bruno Avelar

Plasma rico em plaquetas: verdades e controvérsias / Bruno Avelar
Santos. 2009

55 f.: il.

Orientador: Luis Marcelo Groth

Monografia (Especialização) - Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Odontologia.

1. Implantodontia. 2. Plasma rico em plaquetas. I. Groth, Luis Marcelo.

II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia.

III. Título

BLACK D74



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
Belo Horizonte - MG - 31.270-901
Tel: (31) 3499 2470 Fâx: (31) 3499 2472
Email: posgrad@odonto.ufmg.br



Ata da Comissão Examinadora para julgamento de Monografia do aluno

Bruno Avelar Santos do Curso de Especialização em Implantodontia, da FOUFGM realizado no período de 06/04/2007 A 26/03/2009.

Aos 27 (vinte e sete) dias do mês de março de 2009, no horário de 08:00 às 12:00 e de 14:00 às 18:00 horas, na sala de Pós-Graduação (3418) da Faculdade de Odontologia, reuniu-se a Comissão Examinadora composta pelos professores:

Prof: Miltom do Carmo Júnior

Prof. Célio Soares de Oliveira Júnior

Prof. Luis Marcelo Groth

Em audiência pública foram iniciados os trabalhos relativos à Apresentação da Monografia intitulada:

Plasma rico em plaquetas : Verdades e controvérsias. Terminadas as arguições, passou-se à apuração final. Tendo em vista as notas obtidas pelo aluno. Para constar, eu, João Batista Magalhães Filho, Coordenador do curso, lavrou a presente ata que assino, juntamente com os outros membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 27 de Março de 2009.

Prof. Regolith (orientador)

Prof. Celio Soares de Oliveira junior

Prof. Miltom do Carmo Junior

Prof. J Batista Filho

João Batista de Magalhães Filho (Coordenador)

Assinado
27/03/09

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Luis Marcelo Groth, pela paciência e sábias orientações.

Ao Professor Célio Soares, por compartilhar seus conhecimentos.

RESUMO

O plasma rico em plaquetas (PRP) apresenta-se eficaz no processo de regeneração e cicatrização dos tecidos, em especial o tecido ósseo. O método de aplicação do PRP nos mais variados tipos de cirurgias fundamenta-se na modulação e potencialização da atividade cicatricial, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas, responsáveis por estimularem o reparo tecidual, embora alguns autores / pesquisadores não creditem ao PRP a aceleração do processo de regeneração. Outro ponto importante para a conclusão das pesquisas realizadas é que não há uniformidade entre as linhas de pesquisas adotadas e que os resultados obtidos dependem da reação do organismo de cada paciente, o que associado ao local de uso, técnica de obtenção e aplicação do PRP interferem diretamente no parecer conclusivo dos estudos.

Palavra chave: Plasma rico em plaquetas.

ABSTRACT

The platelet-rich plasma has been effective in the process of regeneration and healing of tissues, especially bone tissue. The method of application of PRP in various types of surgery based on the modulation and enhancement of wound healing activity by means of growth factors contained in platelets, responsible for stimulating tissue repair, although some authors / researchers not credited to the PRP acceleration of regeneration. Another important point for the completion of surveys is that there is no uniformity between the lines of research adopted and that the results depend on the reaction of the body of each patient, which associated with the use site, a technique of obtaining and applying the PRP interfere directly into conclusive studies.

Key words: Platelet rich plasma

LISTA DE ABREVIATURAS

CO ₂	Gás carbônico
FCDP	Fator de crescimento derivado de plaquetas.
FGFb	<i>Fibroblast growth factor</i> (Fator de crescimento do fibroblasto)
IGF-I	<i>Insulin-like growth factor I</i>
IGF-II	<i>Insulin-like growth factor II</i>
ng	Nanograma
O ₂	Oxigênio
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i> (fatores de crescimento derivados das plaquetas)
PRP	Plasma rico em plaquetas
PTH	Paratormônio
TGF-β.....	Fatores transformadores de crescimento beta
TGF-β.....	<i>Transforming growth factor</i> (fator transformador do crescimento)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Anatomia dos membros superiores e as principais veias para punção.....	21
Figura 2	Anatomia dos membros superiores e as principais veias para punção	22
Figura 3	Escalpe nº 23 e meio, para técnica do vacutainer	22
Figura 4	Tubos com citrato de sódio (tampa azul) e vazios (tampa vermelha), organizados em engradado próprio	23
Figura 5	Garrote em posição	23
Figura 6	Técnica de punção, demonstrando a tração da pele no sentido distal e a profundidade de penetração da agulha para encontrar a veia	24
Figura 7	Presença do fluxo sanguíneo e coleta do sangue com o vacutainer	24
Figura 8	Fixação da borboleta do escalpe com micropore	25
Figura 9	Utilização de seringa e agulha descartáveis para punção do sangue	25
Figura 10	Utilização de bolsa coletora de sangue	26
Figura 11	Tubos contendo anticoagulante, com o sangue coletado	26
Figura 12	Minicentrífuga para consultório odontológico.....	27
Figura 13	Tubo de ensaio contendo o sangue com plasma separado (porção amarela) das hemácias (porção vermelha), após centrifugação	28
Figura 14	Equipamento PRGF System II para a centrifugação e preparo do PRP	28
Figura 15	Esquema mostrando as mais diferentes frações	29
Figura 16	Coágulo do PRP sendo formado	29
Figura 17	Pipetas utilizadas, com capacidade individual determinada em microlitros	30
Figura 18	Pipetas utilizadas, com capacidade individual determinada em microlitros	30

Figura 19	Pipetagem realizada para separar o plasma das hemácias e proceder à segunda centrifugação	31
Figura 20	Tubos contendo somente o plasma pipetado da primeira centrifugação	31
Figura 21	Segunda centrifugação	32
Figura 22	Pipetagem de 50% do sobrenadante do plasma após a segunda centrifugação	32
Figura 23	Pipetagem de 50% do sobrenadante do plasma após a segunda centrifugação	33
Figura 24	Tubos de ensaio contendo o plasma final com o concentrado de plaquetas	33
Figura 25	Plasma rico em plaquetas no banho maria, com o termômetro para regular a temperatura em 37°C	34
Figura 26	Radiografia pré-operatória	38
Figura 27	Exposição da parede lateral do seio maxilar	39
Figura 28	Abertura da janela de acesso ao seio maxilar	39
Figura 29	Retirada de osso da área retro-molar	40
Figura 30	Seio maxilar preenchido com PRP e osso autógeno	40
Figura 31	Implantes instalados após cinco meses	41
Figura 32	Radiografia após a instalação dos implantes	41
Figura 33	Histologia	42
Figura 34	Maior aumento evidenciando a presença de osteócitos	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Resumo com alguns processos de obtenção do PRP	35
Quadro 2	Resumo complementar com alguns processos de obtenção do PRP	36
Quadro 3	Estudos mostrando os efeitos da utilização do PRP no levantamento de seio	51

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
3	METODOLOGIA DA PESQUISA	13
4	REVISÃO DA LITERATURA	14
4.1	Histórico	14
4.2	Plasma rico em plaquetas (PRP)	15
4.3	Elementos do PRP	16
4.3.1	Sangue	16
4.3.2	Plaquetas	17
4.4	Processo de obtenção do PRP	18
4.5	Reparação óssea e processo de aplicação	36
4.5.1	Fatores de crescimento	43
4.5.2	Fator de crescimento derivado das plaquetas	44
4.5.3	Fator de crescimento similar à insulina	46
4.5.4	Fator de crescimento transformador beta	46
5	DISCUSSÃO	48
6	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Um trabalho acadêmico deve concentrar sua abordagem em um assunto específico (MARCONI; LAKATOS, 1999). Produto de leituras, observações, investigações e aplicação prática, esta pesquisa abordará o estudo científico sobre plasma rico em plaquetas (PRP), mais precisamente sobre seus componentes, sua obtenção e aplicação, bem como a ambiguidade de resultados encontrados em alguns estudos.

Considerando os avanços da engenharia genética, diversos materiais têm sido desenvolvidos no intuito de promover a indução dos fatores de crescimento ósseo ou da osteoindução, estimulando diretamente a atividade osteoblástica do osso lesionado. O plasma rico em plaquetas apresenta-se eficaz no processo de regeneração e cicatrização dos tecidos, em especial o tecido ósseo. O método de aplicação do PRP, nos mais variados tipos de cirurgias, fundamenta-se na modulação e potencialização da atividade cicatricial, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas, responsáveis por estimularem o reparo tecidual, embora alguns autores / pesquisadores não creditem ao PRP a aceleração do processo de regeneração.

Alvo de estudos e pesquisas não só no campo da Odontologia, o PRP, utilizado conjuntamente com osso autógeno, vem apresentando resultados importantes na recuperação e reparação óssea dos pacientes submetidos a tratamentos odontológicos.

Esta pesquisa acadêmica baseia-se em uma revisão de literatura e divide-se em cinco capítulos. O capítulo 2 apresentará os objetivos do trabalho, o capítulo 3 tratará da metodologia utilizada. No capítulo 4 serão abordados os conceitos, definições e relatos referentes ao tema, e no último capítulo será feito um fechamento do trabalho.

2 OBJETIVOS

- a. Descrever o processo de obtenção do plasma rico em plaquetas.
- b. Abordar a reparação óssea por meio do plasma rico em plaquetas.
- c. Comparar a evidência científica da utilização do plasma rico em plaquetas na regeneração óssea.
- d. Baseado na revisão de literatura, verificar se há padronização de critérios na avaliação de uso de PRP como fator de crescimento ósseo.
- e. Analisar se os resultados obtidos pelos autores pesquisados justificam a indicação do uso de PRP em cirurgias que se deseje o crescimento ósseo.

3 METODOLOGIA DA PESQUISA

Foram realizadas pesquisas em diversas fontes bibliográficas, tais como teses, artigos, livros e sites, o que contribuiu para uma melhor definição do foco da pesquisa e percepção do assunto tratado.

Foram consultados 24 artigos, sendo que destes, um em língua espanhola, três em língua portuguesa e 20 em língua inglesa.

Além destes materiais foram consultados quatro livros e duas teses.

4 REVISÃO DA LITERATURA

Diante das pesquisas realizadas, que embasarão este trabalho acadêmico, este capítulo procurará abordar as situações inerentes ao tema, de modo a fundamentar as informações obtidas. O capítulo iniciará a partir de uma explanação referente ao histórico do plasma rico em plaquetas.

4.1 Histórico

Nos anos sessenta, pensava-se que os fatores séricos, possivelmente, controlavam o crescimento dos fibroblastos. Essas células eram consideradas como sendo não responsivas aos hormônios clássicos de crescimento e reparo celular. Tal visão limitada, referente à responsividade dos fibroblastos, deu-se em função de pesquisas realizadas com o intuito de detectar o controle hormonal sobre a proliferação celular dos mamíferos, cujo resultado não foi exitoso (HOLLEY e KIERNAN, 1968).

De acordo com Wang (1994), posteriormente aos experimentos acima citados, foram descobertas que as células fibroblásticas poderiam ser estimuladas por alguns fatores de crescimento extraído da hipófise bovina. Diante disso, além dos fibroblastos servirem para demonstrar sua responsividade hormonal, também contribuem para a elaboração e disponibilização de um protocolo para realização de testes de atividades dos fatores de crescimento.

Conforme Pontual e Magini (2004), este procedimento não é recente, havendo relatos do século XIX em que já se utilizavam compostos sintéticos (sulfato de cálcio) para auxiliar na reparação óssea. Ainda de acordo com estes autores “*a Odontologia do século XXI deixou de ser eminentemente técnica ou empírica para basear-se em evidências que possibilitam previsibilidade e estabilidade nos tratamentos propostos*” (PONTUAL e MAGINI, 2004).

Macedo *et al.* (2008) relata a seguinte situação:

Desde meados da década de 90, o gel de plaquetas, constituído essencialmente por plasma rico em plaquetas (PRP), tem sido usado nas áreas de cirurgia oral, reconstrutiva oral, bucomaxilo-facial e procedimentos de reconstrução para implantodontia, visando acelerar o reparo da ferida cirúrgica e a regeneração óssea. O gel de plaquetas surgiu como uma alternativa viável para minimizar as complicações decorrentes do uso da cola de fibrina, procedimento consagrado há mais de 60 anos. A Odontologia vem se destacando no uso do gel de plaquetas e tem acumulado grande experiência nesta área.

4.2 Plasma rico em plaquetas (PRP)

A utilização do PRP para viabilizar os processos de cicatrização visa ultrapassar os meios de regeneração tradicionais, considerando a presença de fatores de crescimento, permitindo atuar de forma ampliada (MARX, 1998).

Em suma, plasma rico em plaquetas é preparado a partir de uma pequena quantidade de sangue, retirado do próprio paciente, no período pré-operatório e obtido por separação e concentração de plaquetas (CANDINI, 2001).

Pontual e Magini (2004) relatam que este hemocomponente, o PRP, utilizado com sucesso em algumas cirurgias, é usado juntamente com o concentrado de plaquetas para liberar fatores de crescimento em altas concentrações na área onde se quer reparar um defeito ou lesão no tecido ósseo, sendo o PRP neste caso, normalmente misturado com osso autógeno triturado.

Conhecido também como plasma autógeno de plaquetas, plasma enriquecido com plaquetas e outras denominações similares, o plasma rico em plaquetas vem sendo, segundo Vendramin *et al.* (2006), alvo de pesquisas na área de Odontologia, tendo aplicabilidade principalmente em enxertos ósseos para viabilizar os implantes dentários, e em outros tipos de cirurgias, tais como periodontais e maxilo-faciais. Este processo tem sido cada vez mais utilizado, contribuindo para o desenvolvimento de estudos que demonstram um grande potencial de melhorar os resultados não só na Odontologia, mas também em outros tipos de procedimentos (ortopédicos, neurocirúrgicos, cirurgia plástica, etc.) (CAMARGO, 2002).

Vendramin *et al.* (2006) definem PRP como sendo:

[...] uma concentração autóloga de plaquetas em um pequeno volume de plasma, com a conseqüente presença de fatores de crescimento (FC) liberados por estas plaquetas, além de proteínas osteocondutoras, que também servem de matriz para migração epitelial e formação óssea e de tecido conectivo.

Silva *et al.* (2007) destacam que:

O plasma rico em plaquetas possui propriedades osteoindutoras e tem sido utilizado desde a década de 90 como fonte autógena de fatores de crescimento combinado aos diferentes enxertos e substitutos ósseos no intuito de estimular a regeneração óssea, aumentando a velocidade de formação óssea e sua qualidade. É geralmente utilizado no homem para reconstruções ósseas maxilofaciais, levantamento de seios maxilares, defeitos ósseos alveolares, bolsas periodontais e em implantodontia, com a finalidade de melhorar a osteointegração dos implantes dentários.

4.3 Elementos do PRP

Considerando que o plasma rico em plaquetas é composto por elementos biológicos torna-se necessário apresentar alguns pontos que elucidarão tal procedimento.

4.3.1 Sangue

Considerado com um tecido conjuntivo vivo, o sangue tem como funções básicas transportar oxigênio para o corpo humano e participar ativamente da defesa do organismo (IVAN e DRANGOV, 2005).

Hall (1996) define que o sangue é um tecido conjuntivo livre que circula pelos vasos sanguíneos, cuja função precípua é a continuidade da vida no organismo. É composto por uma parte sólida e líquida. O componente sólido, que também pode ser entendido como elemento figurado ou formadores, representa cerca de 45% do volume total do sangue e são classificados em leucócitos, responsáveis pela defesa do organismo, os eritrócitos que são encarregados do

transporte de oxigênio (O₂) e as plaquetas que também podem ser identificadas como fatores de coagulação sanguínea. Já a parte líquida, que perfaz 55% do volume total do sangue, é representada pelo plasma ou soro.

Segundo Pontual e Magini (2004), o sangue é um material biológico que possui características únicas e é fabricado na região oca dos ossos.

O sangue é um tecido biológico de peculiaridades ímpares. O sangue total é líquido, mas a qualquer momento pode tornar-se gel e a seguir, sólido (coagulação). Sendo líquido, não tem forma definida, e sua presença se dá em todo o corpo humano. É constituído por uma fase líquida (o plasma) e uma fase sólida, composta por três séries celulares:

- Eritrócitos ou glóbulos vermelhos.
- Leucócitos ou glóbulos brancos.
- Plaquetas ou trombócitos (PONTUAL e MAGINI, 2004, p.3).

O plasma que forma o compartimento líquido é composto de 90% de água, aproximadamente 2% de elementos inorgânicos, 7% compõe as proteínas plasmáticas, em especial a albumina, imunoglobulinas e fibrinogênio, e 1% de elementos orgânicos não protéicos, materiais resultantes do metabolismo celular e hormônios. Além disto, o sangue é rico em O₂ e gás carbônico (CO₂) e possui uma coloração¹ característica (DÖRI *et al.*, 2007).

4.3.2 Plaquetas

Whitman *et al.* (1997) consideram as plaquetas o componente mais importante do PRP, em virtude da sua capacidade em liberar os fatores de crescimento.

Um dos componentes do sangue, a plaqueta é definida por Candini (2001, p.51) conforme passagem abaixo:

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos presentes no sangue circulante. Derivam de megacariócitos. Apesar de seu tamanho reduzido, cerca de 3 µm, atuam na coagulação do sangue, retração e dissolução do coágulo e nos processos de cicatrização [...]. Esses elementos são as primeiras células de resposta à traumas e sofrem desgranulação nos sítios de injúria, liberando dentre outros, fatores de

¹ A coloração vermelha é resultado da presença da hemoglobina, a qual representa em torno de 8% do volume sanguíneo total do homem.

crescimento, os quais [...] desempenham papel relevante em muitos processos biológicos.

É sabido que as plaquetas apresentam papel de extrema importância na coagulação sanguínea por meio da formação do tampão plaquetário. Atualmente sabe-se ainda que estas liberam variados fatores de crescimento, os quais são potencialmente importantes para a regeneração dos tecidos (CARLSON, 2002).

Pontual e Magini (2004) relatam que as plaquetas são provenientes de células reticulares oriundas do desenvolvimento do embrião e mesmo não possuindo núcleo, têm uma composição interna adaptada à sua função². A parte externa contém glicoproteínas com receptores para vários agentes capazes de estimular as plaquetas.

As plaquetas possuem importante função na coagulação sanguínea formando o tampão plaquetário. Atualmente, sabe-se que as plaquetas também atuam liberando diversos fatores de crescimento envolvidos no processo de regeneração dos tecidos (DIAS *et al.*, 2004).

Pode-se dizer que as plaquetas atuam no processo de cicatrização, liberando diversos fatores de crescimento que facilitam a angiogênese, contribuindo para o crescimento vascular e proliferação de fibroblastos, que por sua vez proporcionam um aumento na síntese de colágeno. Tais propriedades das plaquetas tornam o PRP um produto com grande potencial de melhorar a integração de enxertos, bem como estimular a cicatrização de feridas (VENDRAMIN *et al.*, 2006).

4.4 Processo de obtenção do PRP

Para Pontual e Magini (2004), *“o plasma rico em plaquetas é um produto derivado do processamento laboratorial do sangue autólogo, coletado no período pré-operatório e rico em fatores de crescimento originários dos grânulos α plaquetários”*. Ainda de acordo com este autor:

² Coagulação do sangue, ou seja, coibir o sangramento.

O gel de plaquetas é na verdade, um produto derivado da mistura de plasma rico em plaquetas com trombina bovina e cloreto de cálcio. A trombina, quando na presença de cálcio, transforma fibrinogênio em fibrina e ativa o fator XIII, desencadeando a formação organizada do coágulo. Essa reação em cadeia confere à mistura uma consistência adesiva e gelatinosa, facilitando o manejo cirúrgico dos enxertos. Assim sendo, o PRP é um produto orgânico, atóxico e não imuno-reativo, que tem sido utilizado para acelerar o reparo das feridas cirúrgicas a partir dos vários fatores de crescimento que contém (PONTUAL e MAGINI, 2004, p.55).

Considerando que existem diversas metodologias sugeridas para obter-se o PRP, é prudente que se avalie qual delas é a mais indicada considerando as condições de trabalho do profissional. Pontual e Magini (2004) apresentam uma dessas metodologias cujo desenvolvimento deu-se no Hemonúcleo Regional de Araraquara – Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP.

Os autores relatam ainda que *“esse procedimento tem mostrado ser muito adequado, com rendimento satisfatório, quando comparado aos procedimentos que empregam volumes de sangue inferiores e preconizam as centrifugações em centrífugas sorológicas convencionais”*.

Os materiais envolvidos no processo, segundo Pontual e Magini (2004, p.191, 192), são:

- luvas de procedimento;
- algodão (gaze) e álcool 70%;
- garrote;
- pano de campo;
- escalpe número 23 ^{1/2} ou 24 para Vacutainer [...];
- micropore;
- tubos de ensaio esterilizados de 5 ml, sendo um grupo com e outro sem anticoagulantes. Os com anti-coagulante devem ser do tipo Vacutainer, citrato de sódio a 10% como anticoagulante em seu interior [...];
- engradado para tubos de ensaio;
- ampolas com 2 ml de cloreto de sódio a 10% estéril [...]

Ainda segundo os autores supracitados, o método consiste em:

- Preparar o material e colocando-o próximo ao paciente, explicando o procedimento. É de fundamental importância tranquilizar o paciente, pois a ansiedade e o temor podem desencadear um reflexo vagal com consequente síncope e ativação do Sistema Nervoso Simpático, produzindo vasoconstrição. Esse colapso periférico é totalmente indesejável, tornando-se um fator complicador para a punção venosa. Não deve ser administrado nenhum medicamento para tranquilizá-lo antes desse procedimento, pois a pressão arterial dele poderá baixar, dificultando o acesso à veia desejada para punção;
- expor a área de acesso venoso;

- vestir as luvas;
- garrotear sem compressão exagerada, aproximadamente quatro dedos acima do local escolhido para a punção venosa [...];
- pedir que o paciente abra e feche a mão diversas vezes para determinação do local. Posteriormente, solicita-se ao paciente que conserve a mão fechada e o braço imóvel;
- fazer a anti-sepsia do local da punção com álcool 70°;
- fixar a veia em sentido distal com o polegar da mão oposta. Com o dedo indicador da mão dominante, deve-se apoiar o canhão da agulha. O bisel deve estar voltado para cima, formando um ângulo de 15° com o local da punção [...]
- constatada a presença do refluxo sanguíneo [...], pede-se ao paciente para abrir a mão e solta-se o garrote;
- fixar a “borboleta” do escalpe com um micropore para evitar que a agulha saia de posição durante a técnica, o que poderia ocasionar sua saída de dentro da veia [...]. A coleta pode ser feita também com seringa descartável e bolsas coletoras, utilizadas em nível hospitalar [...];
- fazer a coleta do volume de sangue necessário para o procedimento [...], sendo que a quantidade coletada vai variar de acordo com a necessidade do sítio receptor. Por exemplo, normalmente três tubos dão uma quantidade suficiente de PRP para preencher um alvéolo de extração, enquanto 8 a 12 tubos são suficientes para serem utilizados com enxerto de osso autógeno, ou xenógeno, para levantar a membrana do assoalho de um seio maxilar.
- apoiar o local da punção com algodão embebido em álcool e retirar a agulha, comprimido o vaso e solicitando que o paciente permaneça com o braço distendido. Não flexioná-lo quando a punção ocorrer na fossa antecubital, pois esse procedimento provoca lesão no tecido, dando origem ao hematoma;
- cobrir o local da punção com curativo adesivo
- providenciar a limpeza e ordem do material (PONTUAL e MAGINI, 2004: 192-195).

Seguindo a mesma linha de Pontual e Magini (2004), Vendramin *et al.* (2006) definem que:

O gel de PRP é obtido através da adição de trombina e gluconato de cálcio ao PRP. Estes ativam o sistema de coagulação, resultando na gelação do PRP, o que facilita sua aplicação em diversas cirurgias e também ativam as plaquetas. Inicialmente o PRP era obtido através de máquinas de plasmaferese e utilizava-se a trombina bovina para sua ativação. O interesse em facilitar sua obtenção e diminuir os custos fez com que surgissem algumas máquinas automatizadas e diversos protocolos, inclusive com substituição da trombina bovina por trombina autóloga. As máquinas automatizadas com seus “kits” tornam simples a obtenção do PRP, porém os custos ainda são elevados. Assim, alguns protocolos foram criados para se obter pequenas quantidades de PRP e trombina autólogos, utilizando-se centrífugas comuns e reduzindo muito os custos na preparação do produto.

Tais autores relatam que para realizar esta primeira etapa de forma exitosa e evitar desconforto ao paciente, é fundamental verificar o local e as condições do acesso venoso, dando preferência às veias localizadas em membros

superiores. Visando evitar o risco de flebite³ e possibilidade de embolia pulmonar, as veias de extremidades inferiores devem ser evitadas, principalmente em pacientes idosos. A palpação é um método eficiente para localizar e verificar a pulsação arterial, dando-se preferência aos vasos⁴ de maior calibre e facilidade de acesso. O procedimento acima é ilustrado pelas FIG. 1 a 11.

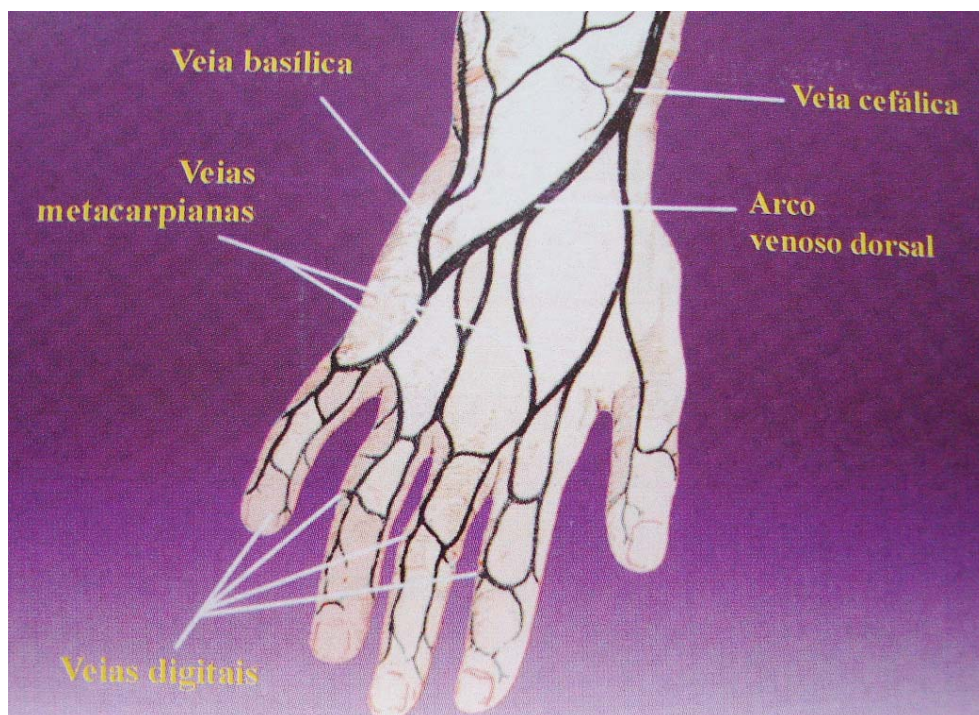


FIGURA 1 - Anatomia dos membros superiores e as principais veias para punção
Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.191.

³ Inflamação interna da veia.

⁴ Veias medianas, basílica e cefálica.

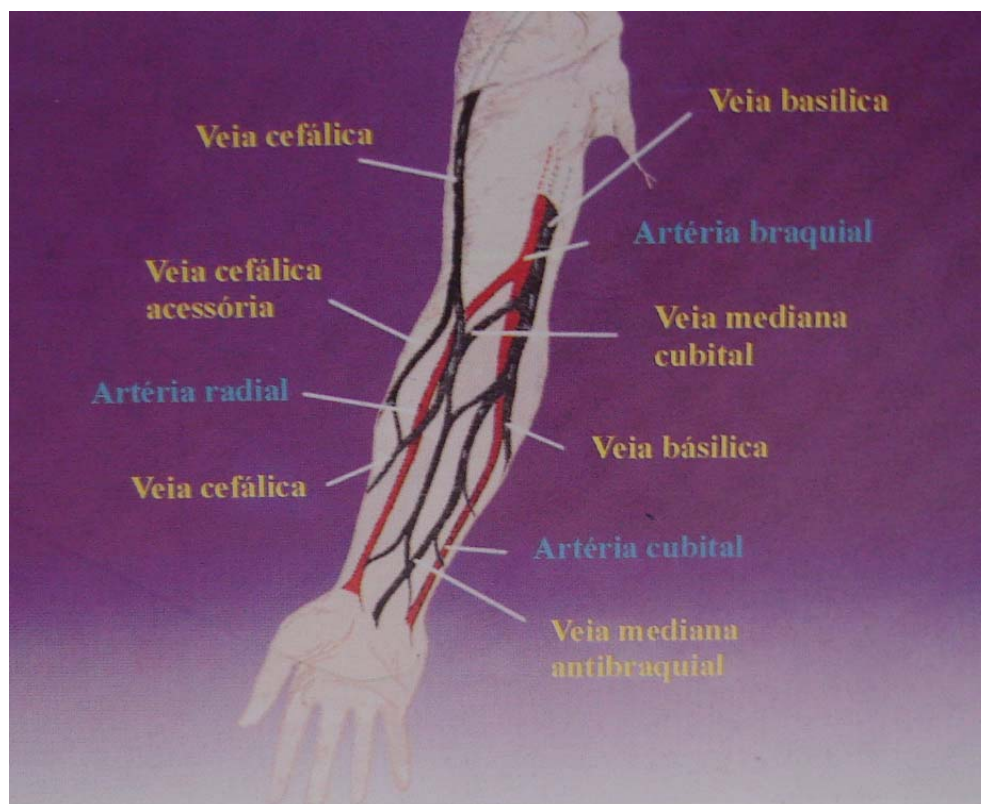


FIGURA 2 - Anatomia dos membros superiores e as principais veias para punção
 Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.191.



FIGURA 3 - Escalpe nº 23 e meio, para técnica do vacutainer
 Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.192.

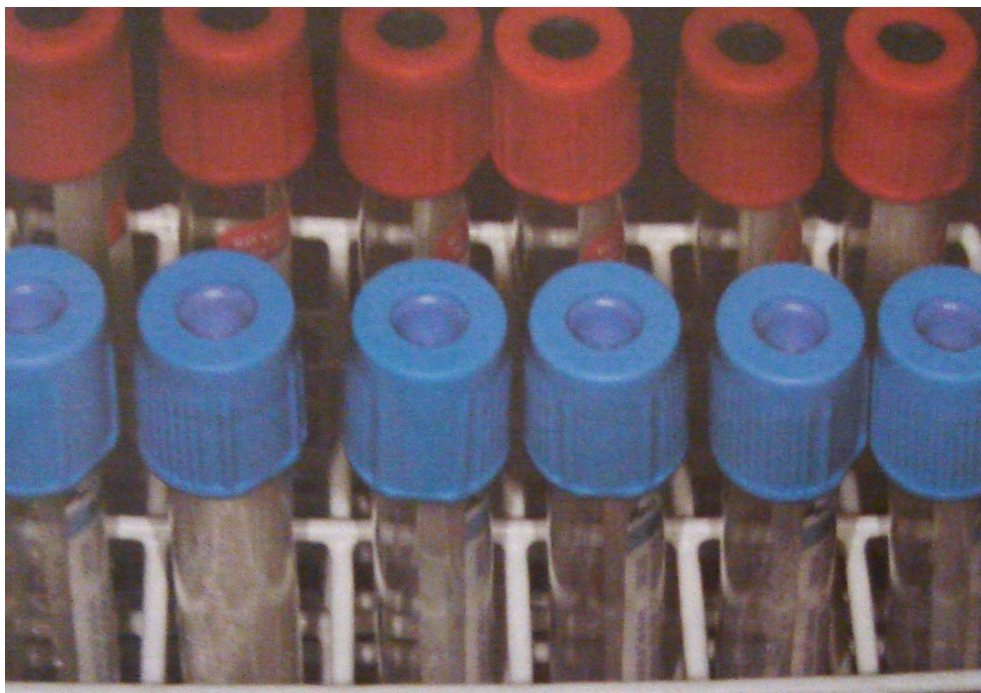


FIGURA 4 - Tubos com citrato de sódio (tampa azul) e vazios (tampa vermelha), organizados em engradado próprio
O nome do paciente deve ser escrito nos rótulos e, após o final da técnica, os tubos devem ser descartados adequadamente.
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.193.



FIGURA 5 - Garrote em posição
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.194

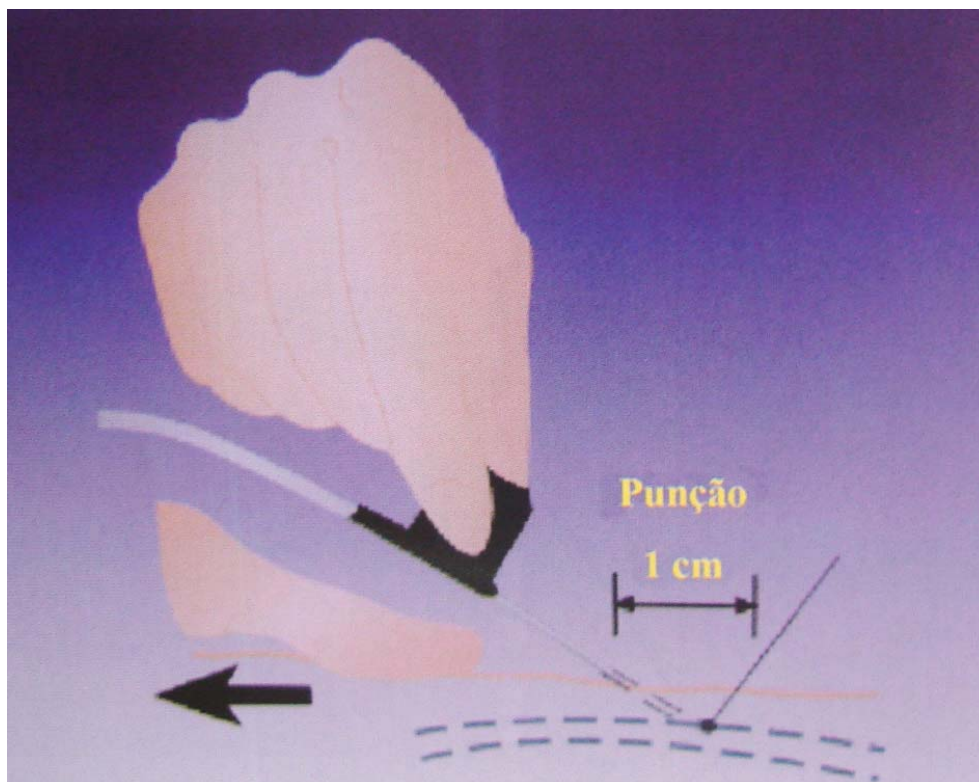


FIGURA 6 - Técnica de punção, demonstrando a tração da pele no sentido distal e a profundidade de penetração da agulha para encontrar a veia
Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.194

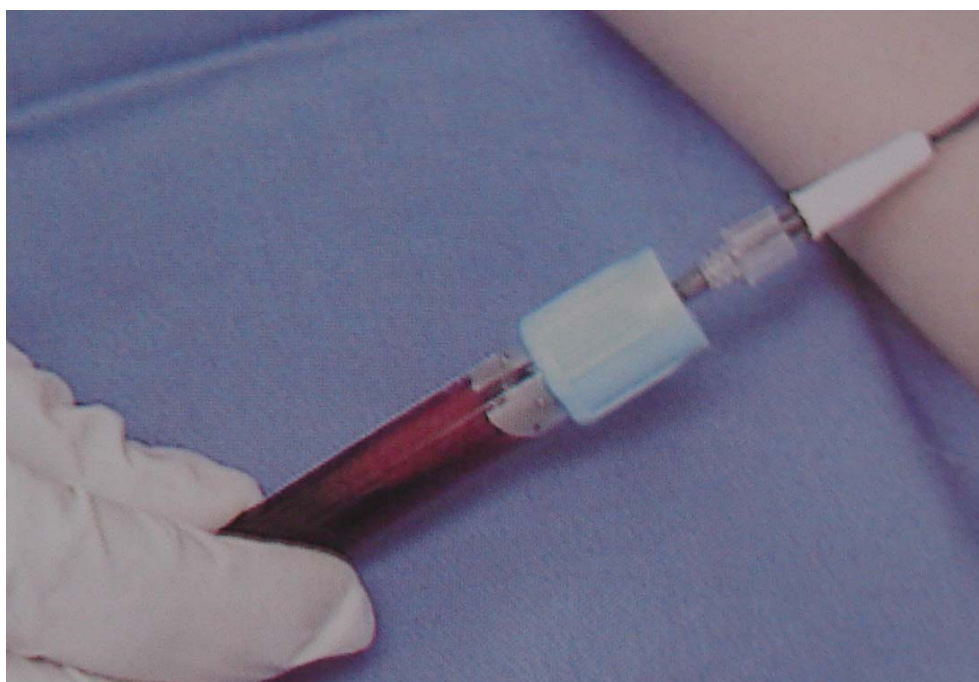


FIGURA 7 - Presença do fluxo sanguíneo e coleta do sangue com o vacutainer
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.195

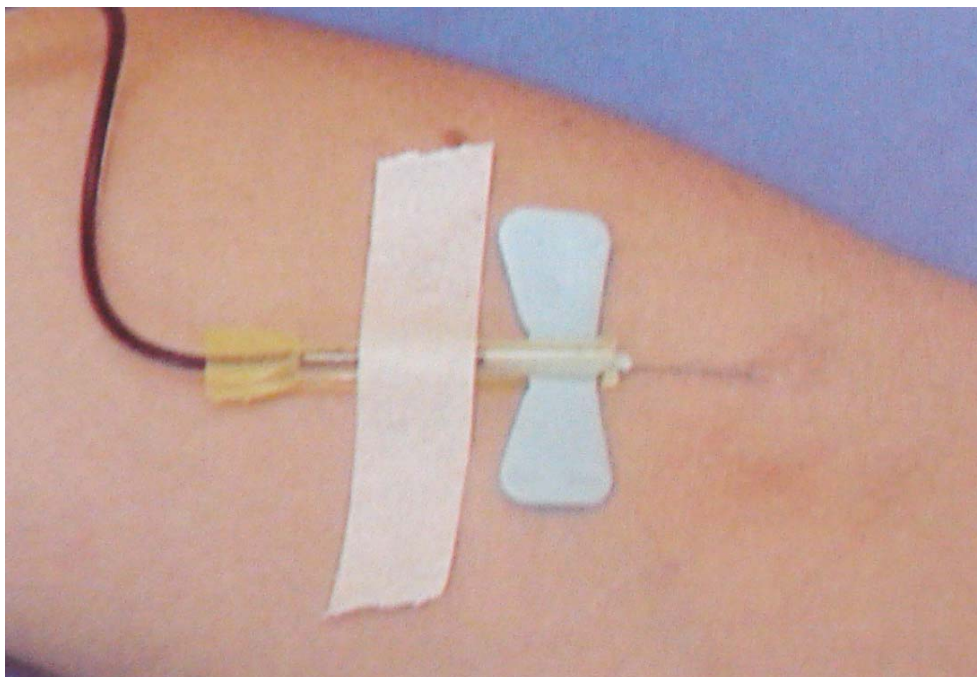


FIGURA 8 - Fixação da borboleta do escalpe com micropore
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.195



FIGURA 9 - Utilização de seringa e agulha descartáveis para punção do sangue
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.196.

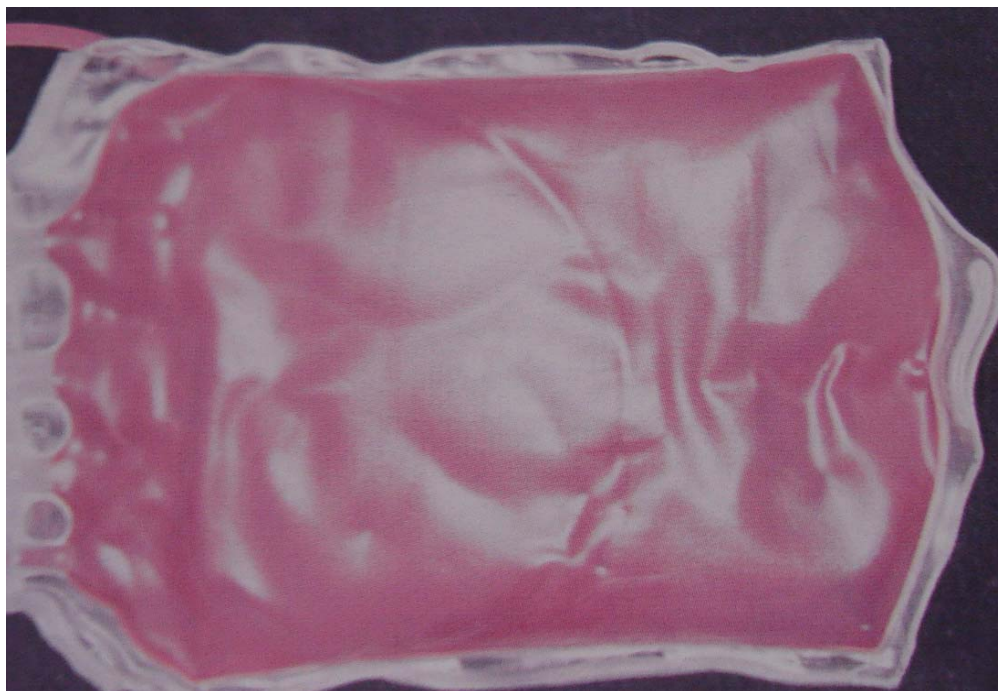


FIGURA 10 - Utilização de bolsa coletora de sangue
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.196.

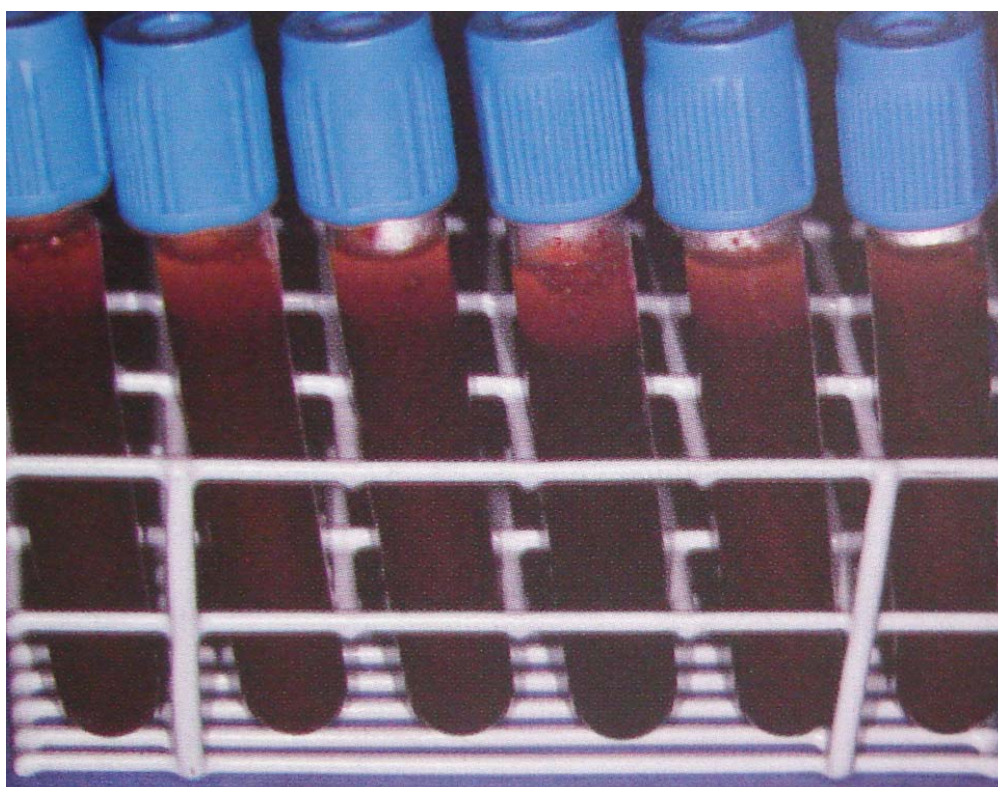


FIGURA 11 - Tubos contendo anticoagulante, com o sangue coletado
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.196.

Após a execução da primeira etapa, inicia-se a segunda que consiste na separação celular e preparo do plasma. O material coletado constante nos tubos⁵ é colocado na centrífuga⁶, equipamento necessário para a realização desta etapa, de modo que esta faça a separação do sangue obtendo o máximo de concentração plaquetária por unidade de volume, sem rompimento das plaquetas (PONTUAL e MAGINI, 2004). Seguindo estes autores:

Os tubos são centrifugados a 160 G por seis minutos, o que resulta na separação do sangue em três componentes básicos:
células vermelhas do sangue (fundo do tubo);
plasma rico em plaquetas (meio do tubo);
plasma pobre em plaquetas (topo do tubo) (PONTUAL e MAGINI, 2004, p.201).

Anitua (1999 citado por PONTUAL e MAGINI, 2004) mostra que:

O PRP é obtido somente com um ciclo de separação celular, onde 1 ml de plasma pobre de cada tubo de 5 ml é descartado. Segue-se coletando o PRP, incluindo 1 a 2 mm da porção superior das células vermelhas do sangue, totalizando um volume de aproximadamente 1,2 ml por tubo. Nesse volume de PRP adicionam-se 50 microlitros de cloreto de cálcio 10%, e após um período de 15 a 20 minutos, o gel de plaquetas é formado (ANITUA, 1999 *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.201) (FIG. 12 a 25).



FIGURA 12 - Minicentrífuga para consultório odontológico
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.199.

⁵ Pontual e Magini (2004) relatam que tais tubos apresentam 0,5 ml de anticoagulante, sugerindo normalmente, o citrato de sódio 10% e não o EDTA, devido à verificação em algumas amostras de destruição celular.

⁶ Equipamento que tem como objetivo acelerar a decantação do material recolhido, por meio de rotações circulares.



FIGURA 13 - Tubo de ensaio contendo o sangue com plasma separado (porção amarela) das hemácias (porção vermelha), após centrifugação
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.200.



FIGURA 14 - Equipamento PRGF System II para a centrifugação e preparo do PRP
Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.203.



FIGURA 15 - Esquema mostrando as mais diferentes frações
Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.203.



FIGURA 16 - Coágulo do PRP sendo formado
Fonte: ANITUA *apud* PONTUAL e MAGINI, 2004, p.204.

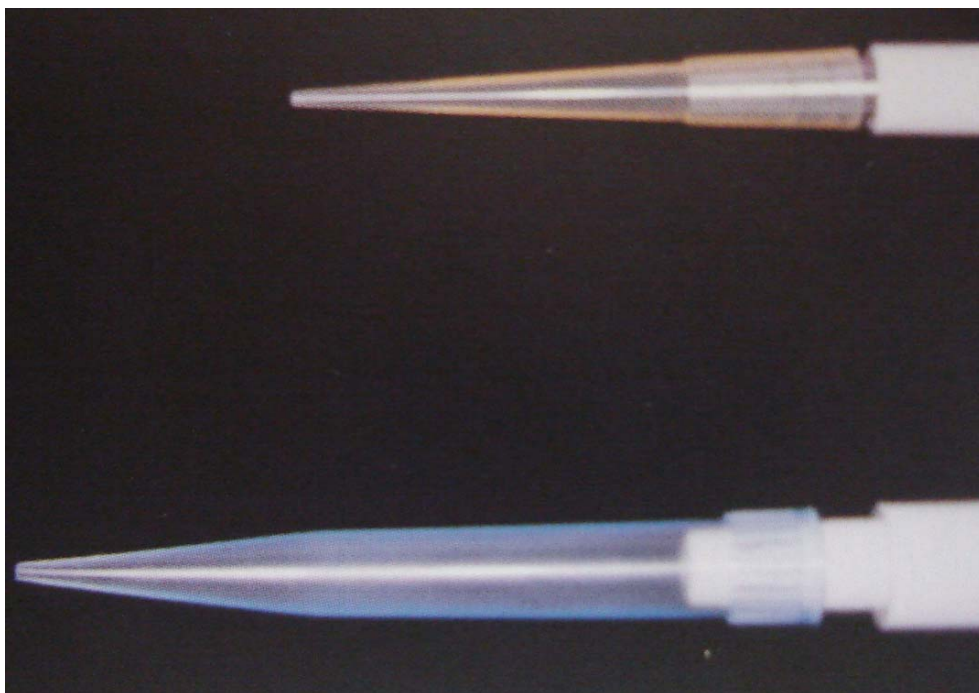


FIGURA 17 - Pipetas utilizadas, com capacidade individual determinada em microlitros
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.206.



FIGURA 18 - Pipetas utilizadas, com capacidade individual determinada em microlitros
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.206.



FIGURA 19 - Pipetagem realizada para separar o plasma das hemácias e proceder à segunda centrifugação
 Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.206.

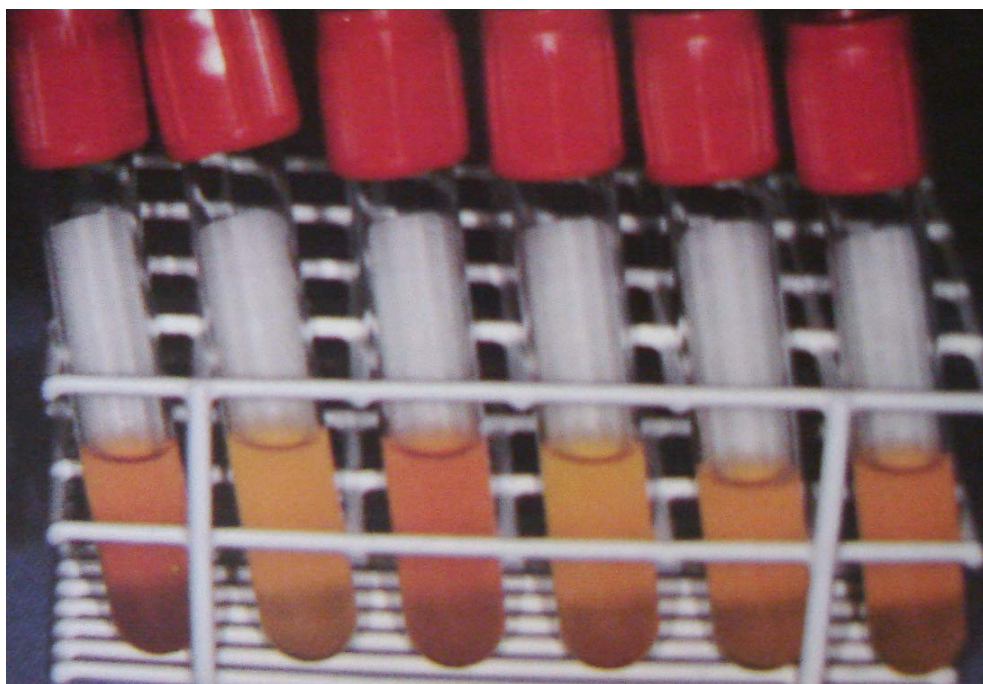


FIGURA 20 - Tubos contendo somente o plasma pipetado da primeira centrifugação
 Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.206.

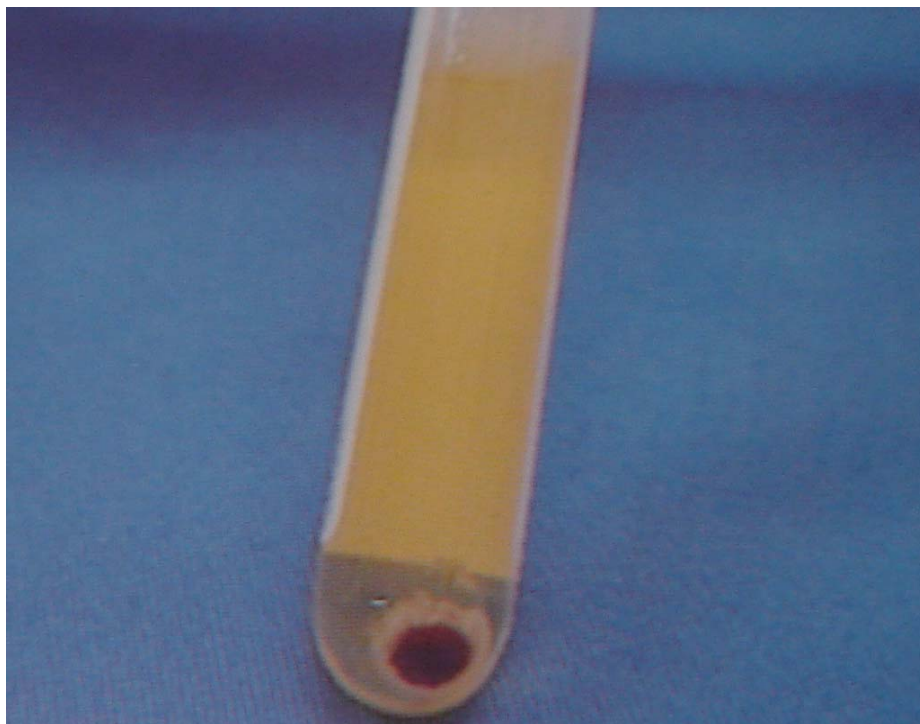


FIGURA 21 - Segunda centrifugação

Após a segunda centrifugação, temos a obtenção do concentrado de plaquetas em forma de um botão no fundo do tubo, e de um plasma pobre em plaquetas (líquido amarelo).

Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.207.

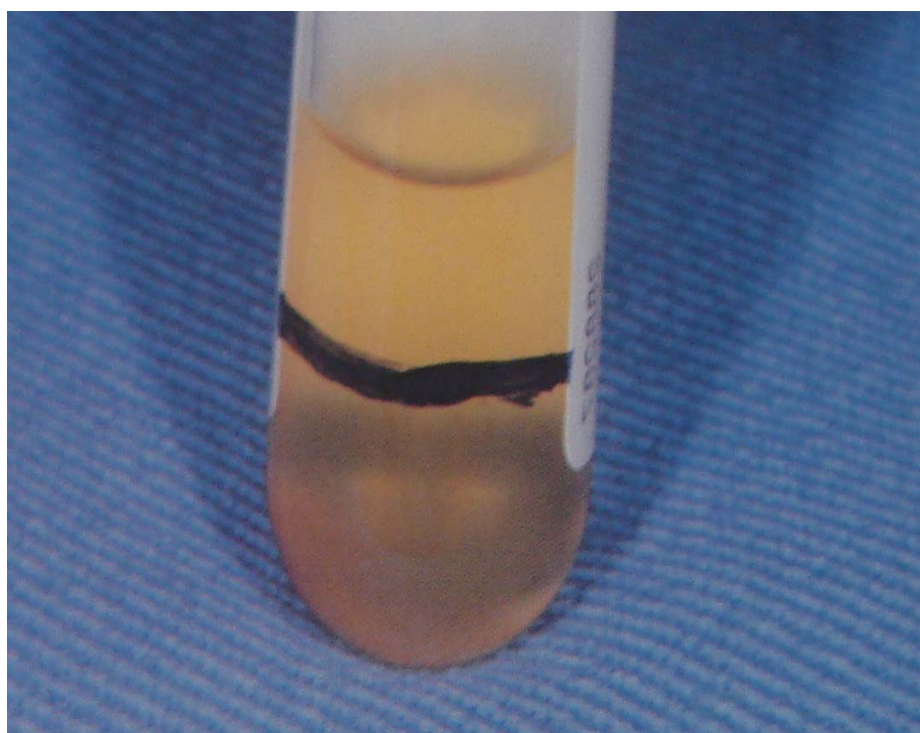


FIGURA 22 - Pipetagem de 50% do sobrenadante do plasma após a segunda centrifugação

Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.208.



FIGURA 23 - Pipetagem de 50% do sobrenadante do plasma após a segunda centrifugação
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.208.

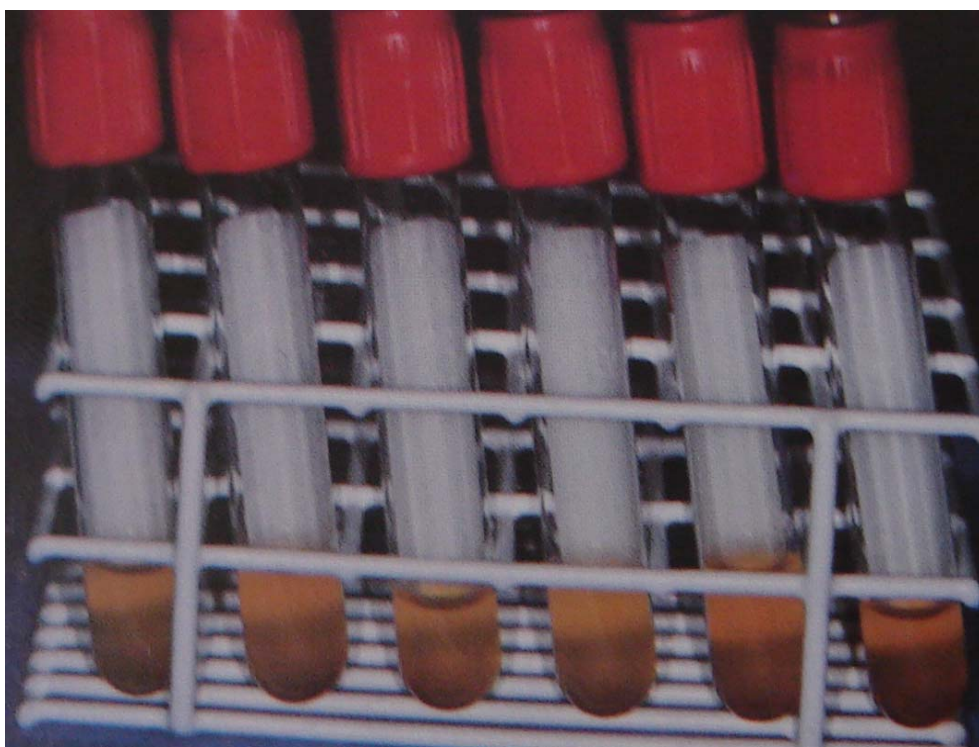


FIGURA 24 - Tubos de ensaio contendo o plasma final com o concentrado de plaquetas
Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.208.



FIGURA 25 - Plasma rico em plaquetas no banho maria, com o termômetro para regular a temperatura em 37°C

Fonte: PONTUAL e MAGINI, 2004, p.209.

Lemos *et. al.* (2002) apresenta um método simplificado que consiste em:

O autor, através da experimentação de diversos diâmetros de centrífugas, utilizadas nas rotações preconizadas para a obtenção de "papa de plaquetas" para uso em pacientes portadores de distúrbios de coagulação, logrou uma relação adequada a necessidade volumétrica de PRP para a utilização clínica. Desta maneira é possível reproduzir de maneira precisa o protocolo proposto utilizando uma simples centrífuga de laboratório biomédico de 8 x 15 ml (ex: FANEN 260 mp de 8 x 15 ml)

O Plasma Rico em Plaquetas é obtido a partir do seguinte protocolo:

1 - Através de punção venosa periférica, sangue venoso é obtido na quantidade de aproximadamente 15 ml, colhidos em 3 tubos de vácuo contendo citrato de sódio de 4,5 ml.

2 - Os tubos são centrifugados em uma centrífuga de 8 x 15 ml a 2 gravidades (equivalente a 700 - 800 rpm por 10 minutos).

3 - A porção celular (leucócitos e hemáceas) precipita na porção final do tubo e o plasma rico sobrenada.

4 - O PRP é pipetado diretamente dos tubos e acondicionado em um tubo único. Pipetamos 1ml da "zona de névoa" e reservamos em outro tubo. Esta suspensão será utilizada juntamente com o PRP para a obtenção do coágulo, pois contém hemácias e plaquetas maiores.

Desta maneira podemos obter um volume de 1,0 ml de PRP autógeno por cada tubo em um total de 3 ml. No momento da utilização o PRP é mesclado ao enxerto e adicionado com 1 ml do tubo com as células maiores e hemácias, bem como a solução de trombina bovina e cloreto de cálcio para obtermos a coagulação.

O fato do PRP ser um preparado autólogo elimina as influências de transmissão de doenças ou reações imunogênicas que existe com

preparados alogênicos ou xenogênicos. Por isso o PRP é preparado no ato da cirurgia, a possibilidade da rotulação errada de uma amostra (que pode ocorrer quando usamos um sistema laboratorial) é também eliminada.

O mecanismo relativamente "bruto" de acréscimos de aditivos bioquímicos na ferida pode ser um precursor do futuro, mais sofisticado e com mais possibilidades (BRANDÃO, 2008).

Os clínicos e pesquisadores estão atualmente procurando a disponibilidade clínica do DNA recombinante produzido pelo BMP. Estudos com animais e experiências recentes com humanos indicam que o BMP (em um suporte reabsorvível apropriado) tem a capacidade de produzir osso fisiologicamente normal, a qual pode eliminar a necessidade do enxerto ósseo no futuro próximo (Marx16 1993). A dificuldade destes modelos reside, entretanto na obtenção de um protocolo confiável para reprodução clínica dos resultados experimentais (BOYAPATI e WANG, 2006).

Andriolo (2002) lista cinco formas para obter-se o PRP, conforme sintetizado no Quadro 1

Quadro 1 – Resumo com alguns processos de obtenção do PRP

Pesquisador	Quantidade de sangue coletado	Substância Adicionada	Velocidade de Centrifugação	Tempo de centrifugação	Resultados Percebidos	Observações
Marx <i>et. al.</i> (1998)	400 a 450 ml	Citrato-fosfato-dextrose (CFD)	5.600 rpm	50 ml/minuto	Intensa captação de anticorpos	-
Lemos (2002)	4,5 ml/ tubo	Citrato de sódio	700 a 800 rpm (200G)	10 minutos	Obtenção de aproximadamente 1,0ml de PRP autólogo de cada 5,0ml de sangue coletado	-
Sonnleitner <i>et al.</i> (2000)	6 ml/ tubo	Cloreto de cálcio	1.200 rpm (160G)	20 minutos	Não informado	Centrifugado novamente por 15 minutos a 2.000 rpm (400G)
Landesberg <i>et al.</i> (2000)	5 ml/ tubo	Citrato de sódio	200G	10 minutos	Incremento de 150% no número de plaquetas em cada etapa de centrifugação	Centrifugado novamente a 200g por 10 minutos
Rosenberg & Torosian (2000)	450 ml	Não informado	5.600 rpm	50 ml/minuto	PRP obtido de 30 a 40 ml	Ao se completar o fracionamento, a velocidade da centrífuga é reduzida para 2400rpm para liberar as plaquetas

Fonte: Elaborado pelo autor

O Quadro 2 apresenta alguns processos de obtenção de acordo com diversos autores:

Quadro 2 – Resumo complementar com alguns processos de obtenção do PRP

Pesquisador	Quantidade de sangue coletado	Substância adicionada	Velocidade de centrifugação	Tempo de centrifugação	Resultados Percebidos	Observações
Vendramin et al. (2006)	10 ml	Gluconato de cálcio	Entre 300G e 760G	Entre 10 e 15 minutos	Concentração plaquetária quatro vezes superior ao da amostra de sangue	Tempo gasto: 45 minutos após a coleta do sangue
Monteiro et al. (2009)	9 ml	Citrato de sódio	1.300 rpm	12 minutos	Separação do plasma e das hemácias, passando a existir entre elas uma camada intermediária (zona de névoa).	Centrifugado novamente por 8 minutos a 1.300 rpm
Elias et al. (2008)	32 ml	Citrato de sódio e gluconato de cálcio	200G (800 rpm)	10 minutos	Não informado	Centrifugado novamente por 10 minutos a 2.000 rpm (400G)
Lemos et al. (2002)	13,5 ml	Citrato de sódio	750 rpm	10 minutos	Valores apresentados por ml: 1.000.000 a 1.200.000 plaquetas	Gel obtido sem nenhum problema

Fonte: Elaborado pelo autor

4.5 Reparação óssea e processo de aplicação

Os enxertos ósseos são usualmente utilizados com o intuito de repor o osso ausente, quer seja por motivos congênitos ou por necessidade de substituição, quando da ocorrência de perda traumática ou procedimentos cirúrgicos, e o sucesso da reparação e a pega dependem diretamente da vascularização do leito receptor (MAST, 1997).

Para Andriolo (2002), “a reparação de enxertos ósseos é uma combinação de três processos: osteoindução, osteoprodução e osteocondução.”

Dando continuidade aos entendimentos da autora:

A osteoindução é a estimulação de células mesenquimais no leito receptor que se transformem em osteoclastos e osteoblastos que debridam o osso desvitalizado e produzem novo osso. A osteoprodução é o processo pelo qual os osteoblastos sobreviventes dentro do enxerto ósseo produzem novo osso. Osteocondução é o processo de brotamento vascular e celular no osso enxertado, no qual a arquitetura interna serve como matriz ou estrado para a formação e deposição do novo osso (Wornom & Buchman, 1992; Szachowicz, 1995).

A osteoindução e a osteocondução têm grande participação no processo de reparação de enxertos não vascularizados. As margens do osso vascularizado proporcionam condições para a osteoprodução (Wornom & Buchman, 1992) (ANDRIOLO, 2002, p.13).

“Os enxertos apresentam maior chance de sobrevivência se a superfície medular estiver em contato com o sítio receptor e as camadas periostais ou corticais estiverem justapostas ao retalho de tecido mole” (ANDRIOLO, 2002).

Dias *et. al.* (2004) realizaram uma cirurgia para levantamento do assoalho do seio maxilar, em um paciente com as seguintes características:

[...] 45 anos, sexo feminino, não fumante, apresentando perda dos elementos 24, 25, 26 e 27, com pneumatização do seio maxilar esquerdo e perda óssea alveolar em altura e espessura na região. Antes da cirurgia, 40cc de sangue venoso da paciente foi colhido em laboratório pelo hematologista para processamento a fim de obter o PRP (DIAS *et al.*, 2004).

O processo consistiu em realizar uma radiografia pré-operatória e de posse da imagem iniciou-se a intervenção cirúrgica por meio de anestesia infiltrativa com articaína 2%, o que possibilitou fazer uma incisão sobre a crista alveolar da distal do elemento 23 até a região do túber. Os demais passos foram descritos conforme relato a seguir (FIG. 26-34).

Uma incisão vertical relaxante foi feita na mesial do canino e o retalho muco-periósteo levantado, expondo a parede lateral do seio maxilar. Com o auxílio de uma broca diamantada esférica número 4 em baixa rotação e irrigada com soro fisiológico 0,9% gelado, procedemos a abertura da janela de acesso, seguida de um descolamento cuidadoso da membrana do seio maxilar. A loja criada foi protegida com gaze umedecida em soro fisiológico. Procedemos então a retirada de um fragmento de osso da região retro-molar do mesmo lado, o qual foi triturado e adicionado ao PRP.

Após a mistura com o osso autógeno, foi adicionado ao PRP 0,25ml (5% em volume) de cloreto de cálcio a 10% para a ativação do PRP, que ocorre em cerca de 8 a 10 minutos. Enquanto aguardamos a ativação do PRP procedemos a sutura da área doadora e conferimos a integridade da membrana do seio maxilar. Acomodamos o PRP com osso autógeno no seio maxilar sob a membrana com cuidado para não deixar espaços vazios nem condensar excessivamente o enxerto, o que dificultaria a angiogênese.

O plasma médio em plaquetas (PMP) foi também ativado e utilizado como membrana de barreira para proteger a janela de acesso ao seio e o retalho fechado com sutura simples com fio de Nylon 5-0.

A área foi reaberta após 05 (cinco) meses e instalados 03 (três) implantes Neodent Alvim 4,3 x 13mm, com um torque final de inserção de 45N / cm². Neste mesmo tempo cirúrgico, um fragmento ósseo foi retirado com uma trefina na região da janela de acesso ao seio para análise histológica. Esta área foi escolhida porque era toda de osso enxertado. A histologia mostrou predomínio áreas de osso organizado, com osteoblastos e osteócitos e, algumas outras áreas de osso remanescente do enxerto, em remodelação, sem a presença de osteócitos (DIAS *et. al.*, 2004).

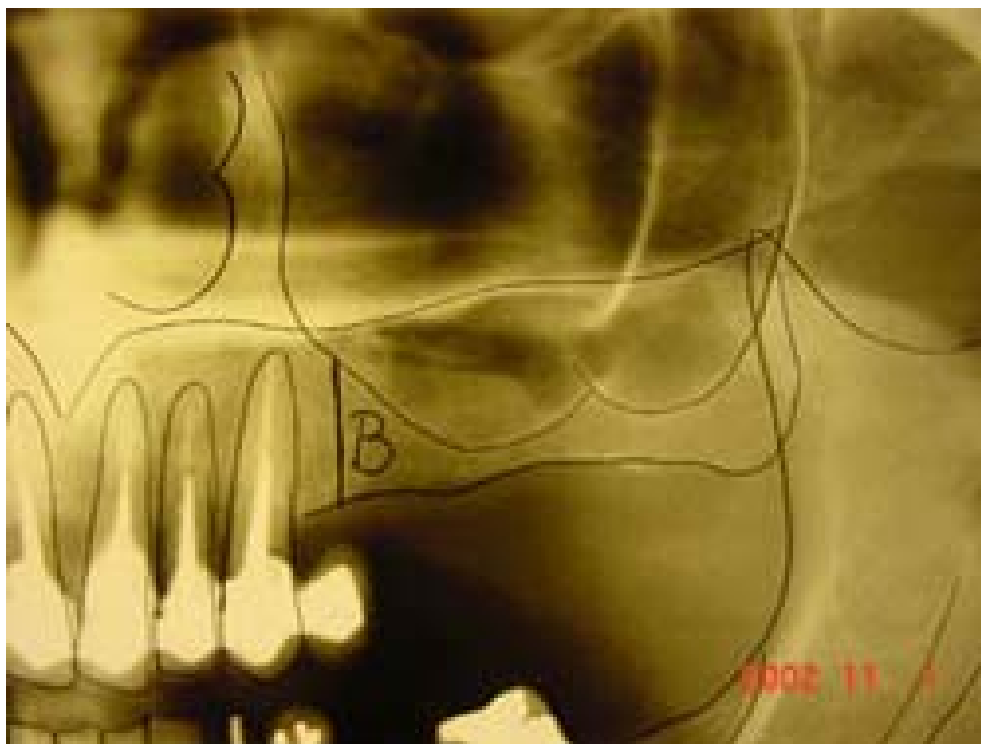


FIGURA 26 - Radiografia pré-operatória
Fonte: DIAS *et al.*, 2004



FIGURA 27 - Exposição da parede lateral do seio maxilar
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.



FIGURA 28 - Abertura da janela de acesso ao seio maxilar
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.



FIGURA 29 - Retirada de osso da área retro-molar
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.



FIGURA 30 - Seio maxilar preenchido com PRP e osso autógeno
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.



FIGURA 31 - Implantes instalados após cinco meses
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.

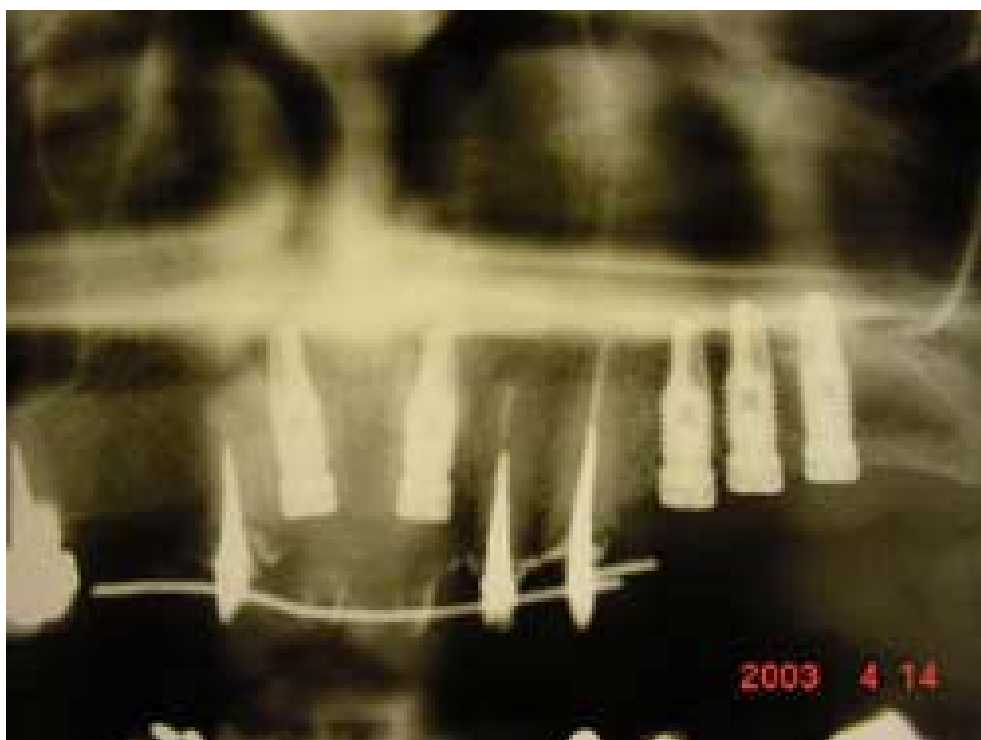


FIGURA 32 - Radiografia após a instalação dos implantes
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.



FIGURA 33 - Histologia
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.

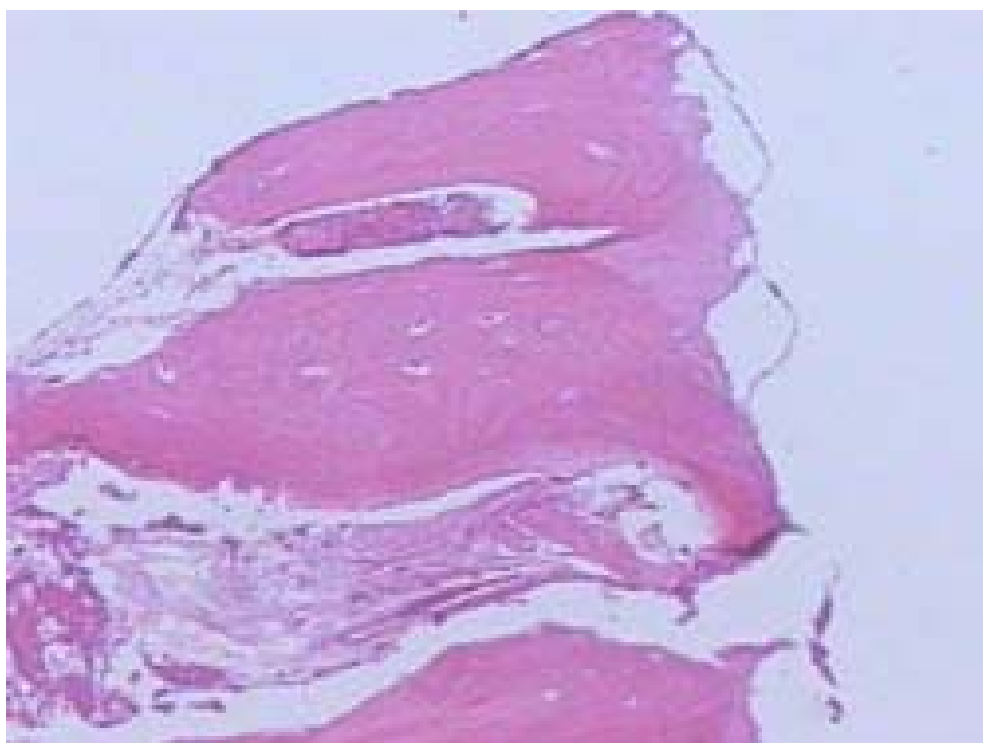


FIGURA 34 - Maior aumento evidenciando a presença de osteócitos
Fonte: DIAS *et al.*, 2004.

4.5.1 Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento (FC) são polipeptídeos⁷ de aminoácidos que formam uma proteína globular pertencentes ao grupo das citosinas. Em alguns momentos estes fatores de crescimento induzem a proliferação e diferenciação dos leucócitos, macrófagos e osteoblastos, além de propiciar a angiogênese⁸ (AJZEN et al., 2005)

Para Reddi (1998), o reparo espontâneo dos diferentes tecidos do corpo humano resulta da ação dos diversos fatores de crescimento, advindo de um processo que se inicia com a formação do coágulo sanguíneo passando para a degranulação plaquetária, onde a mesma libera fatores de crescimento.

“Os fatores de crescimento são um tipo de mediador biológico que regulam processos-chave na reparação tecidual pela modulação da proliferação celular e síntese de matriz” (MUGNOLO, 1999 *apud* ANDRIOLO, 2002). Seguindo o pensamento da autora:

Alguns dos fatores de crescimento são sintetizados, praticamente, em todas as células, isto significa que afetam quase todos os processos fisiológicos enquanto outros são sintetizados em concentrações muito baixas por células específicas e exercem atividades como reguladores locais em funções bem definidas (Solheim, 1998b). Cada fator de crescimento tem uma ou várias atividades fundamentais e suas ações específicas em uma célula dependerão da fase da atividade celular (Lenharo & Cosso, 2002). Os fatores de crescimento parecem ter papel crítico no processo de reparação óssea, a qual envolve interações complexas de diversos fatores reguladores locais e sistêmicos (Canalis *et al.*, 1988; Celeste *et al.*, 1990; Joyce *et al.*, 1990; Rosier *et al.*, 1998; Wozney *et al.*, 1988; Wozney & Rosen, 1998). Inicialmente, esses fatores foram nomeados a partir da célula-alvo ou da célula de origem, fato que não permite relacionar, sempre, o nome com a função (Rudkin & Miller, 1996). Mais recentemente, a nomenclatura tem se preocupado em identificar não só a origem do fator como sua atuação no crescimento celular, ainda que cada fator possa ter efeitos diversos, em diferentes tecidos e possam interagir (Hom & Winters, 1992; Parise *et al.*, 2001).

[...]

Estudos experimentais têm demonstrado como os fatores de crescimento promovem a reparação e influenciam a reepitelização, a angiogênese e a síntese da matriz extracelular em lesões agudas. Os ensaios típicos para avaliar a ação dos fatores de crescimento consistem em testes de proliferação e de avaliação da densidade celulares, por exemplo, fibroblastos obtidos do ligamento periodontal, osteoblastos em tecido ósseo etc (Lenharo & Cosso, 2002) (ANDRIOLO, 2002, p.25-27).

⁷ Ligações de aminoácidos que geram uma proteína.

⁸ Processo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes.

Segundo Anitua (1999), os principais fatores de crescimento já identificado são os fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF)⁹, fatores de crescimento similares à insulina (IGF-I)¹⁰, e os fatores transformadores de crescimento beta (TGF- β)¹¹.

Os fatores de crescimento integram uma família de sinalizadores peptídicos moleculares, com capacidade de alterar as respostas biológicas envolvendo-se no processo de crescimento e diferenciação celular. São mediadores que controlam a migração, proliferação, diferenciação e metabolismo celular (PENARROCHA *et al.*, 2001).

4.5.2 Fator de crescimento derivado das plaquetas

O fator de crescimento plaquetário foi descoberto em princípio, como sendo um poderoso agente mitógeno (ROSS *et al.*, 1988).

Esta elevada quantidade inicial de PDGF articula uma maior atividade celular osteocompetente e de uma forma mais completa do que ocorre naquelas com enxerto apenas em coágulo sanguíneo (ROSS *et al.*, 1988).

Segundo o pensamento de Soma e Grotendorst (1989), o fator de crescimento em pauta apresenta-se como uma glicoproteína de baixo peso molecular, produzida por plaquetas, macrófagos e outras células inflamatórias que atuam como um componente mitógeno de células mesenquimais. Esta proteína é formada por dois genes diferenciados em duas correntes, as quais são 28 e 31 KDA. Quando liberada posteriormente à agregação plaquetária, promove instantaneamente a migração de fibroblastos em direção ao reparo tecidual.

Para Wang (1994), o fator de crescimento derivado das plaquetas é um polipeptídeo formado por duas cadeias de aminoácidos igualmente com potenciais para estimular a síntese de DNA em fibroblastos. A cadeia A contém 121 aminoácidos e o gene responsável pela sua codificação está situado no cromossomo 7, enquanto que a outra cadeia, a B, possui 125 aminoácidos e a sede

⁹ Platelet derived growth factors.

¹⁰ Insulin Derived Growth Factor

¹¹ Transformator Growth Factor

do seu gene está no braço longo do cromossomo 22 (ANITUA, 1999). Essas proteínas quando ligadas a receptores de tirosina em células mesenquimais indiferenciadas produzem a mitose, intensificando a angiogênese.

Diante da realidade que os PDGF são potencialmente instáveis e não perduram muito em estado livre circulante, o PRP então se apresenta como um meio adequado para elevar suas concentrações nas áreas teciduais prejudicadas. A lenta liberação destes fatores de crescimento pela degranulação das plaquetas promoveria quantidade suficiente para dar início ao crescimento tecidual (BUCKLEY *et al.*, 1999).

Sabe-se que estão presentes em torno de 0,06 ng de PDGF em cada milhão de plaquetas, ou seja, cerca de mil e duzentas moléculas de PDGF por plaquetas. Isto é capaz de demonstrar o grande potencial destas pequenas moléculas.

Andriolo (2002), após minuciosa pesquisa, trata com propriedade do assunto:

O FCDP¹² é, possivelmente, o primeiro fator de crescimento presente em uma ferida participante da reparação do tecido conjuntivo, por regeneração, do tecido ósseo. Suas funções mais importantes são mitogênese (aumento da população de células, principalmente das células de reparação), angiogênese (mitose endotelial dentro de capilares em função) e quimiotaxia de macrófagos os quais darão origem à segunda onda de fatores de crescimento que impulsionarão a reparação (Ross & Raines, 1988; Garg, 1999).

Outros efeitos biológicos do FCDP incluem o aumento da síntese de DNA, reprodução celular e produção de proteínas colágenas e não colágenas em culturas de calvária de ratos (Canalis, 1981; Kasperk *et al.*, 1990). Estudos da ação do FCDP em células ósseas derivadas de calvária embrionária em pintainho mostrou que o FCDP estimula a reprodução celular (Herold *et al.*, 1971; Linkhart *et al.*, 1986; Jennigs *et al.*, 1989). O FCDP tem efeito sobre as células ósseas e de cartilagem, entretanto, seu papel fisiológico preciso na reparação de fraturas não foi ainda totalmente esclarecido, mas segundo Harker *et al.* (1976), são essenciais para a reparação tecidual e ainda no desenvolvimento de aterosclerose. O FCDP pelo uso de métodos de histoquímica, pode ser detectado em vários tipos celulares, além das plaquetas, durante a reparação de tecidos (Harker *et al.*, 1976). Howes *et al.* (1988) realizaram experimentos de aplicação exógena de FCDP local e obtiveram aumento da osteogênese heterotópica induzida quando da associação de osso desmineralizado, em ratos; Nash *et al.* (1994) obtiveram reparação de osteotomias realizadas em cães e Lynch *et al.* (1991b) observaram, também em cães, a formação de osso, cimento e ligamentos periodontais em 31 cirurgia periodontal convencional.

Bithell (1998b) afirmou que o FCDP é capaz de induzir a proliferação de células endoteliais cultivadas. Segundo o autor, o mitógeno mais importante do soro, pois estimula a reprodução dos fibroblastos, das células

¹² Nota do autor: Fator de crescimento derivado de plaquetas.

musculares lisas e das células gliais, mas aparentemente não é essencial para a proliferação endotelial basal. Para o autor, o FCDP proveniente de megacariócitos pode induzir a proliferação de fibroblastos na medula óssea. (ANDRIOLO, 2002, p.29-31).

4.5.3 Fator de crescimento similar à insulina

Este fator de crescimento pode ser bem evidenciado durante o processo de formação óssea, sendo secretado pelos osteoblastos. A presença deste fator de crescimento potencializa aspectos da formação óssea como osteogênese e aceleração da deposição óssea (MARX, 1998; CANALIS, 1980).

Alguns trabalhos têm evidenciado a participação tanto do IGF-I, quanto do IGF-II no diferenciamento de células específicas, atuando ainda no auxílio à migração, proliferação celular, produção e liberação dos produtos que caracterizam os tipos celulares específicos como os osteoblastos. Desde modo pode-se dizer ainda que estes fatores de crescimento regulam a formação óssea via autócrina ou parácrina, com síntese de DNA, osteocalcina, bem como da atividade de fosfatase alcalina (CANALIS, 1980).

O IGF-I e o IGF-II são ambos homólogos à pró-insulina, compartilhando mesmas funções e a mesma homologia estrutural. Estes são capazes de promover a mitose dos osteoblastos, bem como estimular a osteogênese a partir de osteoblastos diferenciados já existentes (MARX, 1998).

4.5.4 Fator de crescimento transformador beta

Os TGF- β apresentam como principal propriedade o estímulo à produção de DNA ósseo e a replicação celular, sendo então mais responsivos a estes os osteoblastos (CENTRELLA, 1988).

Em estudo realizado por Pleischifter et al. (1990), os fatores de crescimento TGF- β , IGF-I e PDGF e a taxa de deposição óssea, pode-se observar que a associação destes três fatores de crescimento é efetiva em elevar a taxa de

aposição óssea num período relativo de quarenta e oito horas, exercendo ainda efeito inibitório sobre a ação do paratormônio (PTH).

Segundo Giannobile (1999), existem alguns aspectos de extrema importância que devem ser levados em consideração na interação dos diferentes fatores de crescimento associados ao metabolismo ósseo. Dentre estes aspectos pode-se destacar:

- a. na matriz óssea podem ser encontrados vários fatores de crescimento em altas concentrações, dentre os quais IGF-I, TGF- β , FGFb (fator de crescimento do fibroblasto) e PDGF;
- b. as células ósseas estão aptas a liberarem variados tipos de fatores de crescimento;
- c. durante o período de reparo ósseo, ocorre a expressão transitória de variados genes de fatores de crescimento e de seus respectivos substratos.

5 DISCUSSÃO

Após apresentar-se o processo de obtenção e de aplicação, faz-se necessário relatar os resultados, conforme consta na literatura existente.

Cabe salientar que há correntes de estudiosos e pesquisadores do tema que atrelam ao PRP a efetividade na reparação óssea enquanto outros não condicionam a formação óssea acelerada ao procedimento em pauta nesta monografia. Outro ponto importante para a conclusão das pesquisas realizadas é que não há uniformidade entre as linhas de pesquisas adotadas e que os resultados obtidos dependem da reação do organismo de cada paciente, o que associado ao local de uso, técnica de obtenção e aplicação do PRP interferem diretamente no parecer conclusivo dos estudos.

Segundo Camargo *et. al.* (2002), a utilização do PRP tem se mostrado eficaz com relação aos processos de regeneração óssea periodontal, uma vez que mediante estudos realizados verificou-se que, com a utilização deste procedimento, houve ganho no tempo do processo de cicatrização.

Para Ajzen *et.al.* (2005), o estudo realizado em cirurgia de levantamento de seio com 34 pacientes adultos de ambos os sexos, com idade média de 48 anos e oito meses, demonstrou uma potencialidade no uso do PRP, apesar da amostra não ser significativa, conforme relato abaixo:

Pesquisando tratamentos realizados em 162 seios, com 353 implantes colocados, concluiu-se que enxertos ósseos realizados na cirurgia de “sinus lift” com osso autógeno para a inserção futura de implantes são uma modalidade que apresenta excelentes resultados a longo prazo (AJZEN, 2005, p.27)

Ainda de acordo com o autor supra mencionado:

Apesar dos nossos resultados não serem estatisticamente significantes, evidências clínicas têm mostrado a eficácia dos enxertos de osso autógeno, principalmente aqueles associados a fatores indutores de crescimento ósseo, como o PRP, alterando a altura e a largura necessárias para a reconstrução protética do arcabouço maxilofacial, através de implantes osteointegrados, porque na odontologia atual busca-se cada vez mais devolver aos pacientes edêntulos a sua capacidade mastigatória e estética, e, conseqüentemente, promovendo a integridade dos vários elementos que compõem o sistema estomatognático (AJZEN, 2005, p.31).

Ivan e Drangov (2005) propuseram-se a abordar as possibilidades das principais aplicações feitas com o PRP em cirurgia oral. Os autores concluíram que o mesmo pode ser amplamente utilizado, inclusive interferindo de forma positiva no resultado clínico de pacientes.

Diante da vasta gama de opiniões acerca do tema, Boyapati e Wang (2006) pesquisaram na literatura a possibilidade de incorporar a utilização do PRP como um método válido para encurtar o processo de cicatrização quando houver uma intervenção cirúrgica, como por exemplo, o levantamento de seio. Para os autores a literatura é conflitante em relação à adoção desta técnica, tendo em vista que existem diversas maneiras de coletar e processar o plasma, diferentes materiais são utilizados na obtenção e na aplicação, bem como as várias formas de quantificar a regeneração óssea e a cicatrização.

Considerando o exposto, Boyapati e Wang (2006) consolidaram em um quadro (Quadro 3), os estudos realizados por determinados pesquisadores, bem como os seus desfechos e observações. Estes concluíram que não há uma unanimidade com relação ao tema, uma vez que alguns pesquisadores condicionam o uso do PRP à célere regeneração e outros não.

Döri *et al.* (2007) constataram que, após o tratamento de 30 pacientes aleatórios e a decorrência de um ano, não houve diferença em nenhum dos parâmetros investigados e que o tratamento de todos os pacientes ocorreu de forma exitosa, logo não há, segundo esta experiência, indícios de que a utilização do PRP é responsável pela reformação óssea.

Em artigo publicado¹³ os autores objetivaram avaliar a eficácia do PRP quando combinado com beta TCP para tratar de defeitos no osso anterior interproximal, em 25 pacientes saudáveis, utilizando enxerto com PRP em parte do grupo. Após 1 ano, verificou-se que não houve diferença clínica significativa entre os pacientes.

Para Albuquerque *et. al.* (2008), as propriedades apresentadas pelas plaquetas fazem do PRP um potencial produto para aperfeiçoar a integração dos enxertos, quer sejam ósseos, cutâneos, cartilaginosos ou de gordura, sendo recomendado também para a cicatrização de feridas oriundas de cirurgia. Sua utilização é recomendada para realização de cirurgias odontológicas.

¹³ Artigo sem referência a autores e disponível em <<http://www.perfusion.com/cgi-bin/absolutenm/templates/mobilearticledisplay.asp?articleid=2871&zoneid=8>>. Acesso em: 03. mar 2009.

Brandão (2008) relata que:

O uso de enxertos ósseos autógenos, alógenos e aloplásticos, em pacientes que não receberam o Plasma Rico em Plaquetas na implantação dos mesmos, demonstrou uma eficiência na reparação dos defeitos ósseos de 50% em média, podendo atingir uma percentagem maior com o uso de osso autógeno(9) e alógeno (13) em lesões mais profundas e com duas paredes (2,7), levando em consideração o ângulo da lesão (11,12) e o manuseio cirúrgico correto. Em relação ao uso de osso aloplástico, demonstrou uma deficiência na reparação óssea, em relação aos ossos autógenos e alógenos, quando não usamos o PRP.

Já os enxertos ósseos autógenos, alógenos e aloplásticos, que receberam o plasma rico em plaquetas em seu processo cirúrgico, demonstraram resultados encorajadores quanto à reparação do tecido ósseo (4), mostrando uma consolidação mais rápida e uma mineralização do enxerto na metade do tempo em relação aos que não receberam o PRP, além de uma melhora de 15% a 30% na densidade do osso trabecular (6), devido às suas propriedades osteoprogenitoras. (BRANDÃO, 2008, p.?).

Powell *et. al.* (2009) realizaram um estudo com animais acerca dos efeitos do PRP em procedimentos cirúrgicos e concluíram que não houve diferença significativa no processo de cicatrização entre a utilização do PRP e a não utilização.

Quadro 3 – Estudos mostrando os efeitos da utilização do PRP no levantamento de seio

Pesquisadores	Estudo	Desfechos	Principais Observações
Rosenberg e Torosian	Levantamento de seio com PRP e enxerto composto	Tempo de tratamento reduzido pela metade (implante colocado em 3 meses)	1 relato de caso
Rodriguez <i>et al</i>	Levantamento de seio facial com osso bovino e PRP Colocação simultânea de 70 implantes	Densidade óssea devido ao enxerto de osso autógeno	Aceleração da consolidação óssea não creditada ao PRP
Philippart <i>et al</i>	Levantamento de seio utilizando PRP, tetraciclina e osso	Importante formação óssea	Sem controle
Maiorana <i>et al</i>	Levantamento de seio enxertado com gel de PRP e osso bovino	Formação de novo osso mediante ao procedimento realizado	Sem controle
Wiltfang <i>et al</i>	Levantamento de seio randomizado	Pequena regeneração óssea	Vasta gama de resultados
Monov <i>et al</i>	Enxerto em levantamento de seio composto de osso autógeno (30% a 40%) e xenógeno (70% a 60%)	Redução do tempo de regeneração (3 meses)	Sem controle
Velich <i>et al</i>	Estudo realizado durante 5 anos com diversos materiais	Diferentes resultados obtidos	Pequeno número de casos utilizando PRP
Philippart <i>et al</i>	Levantamento de seio realizado em 3 pacientes utilizando PRP e osso autógeno	Elevada capacidade de regeneração óssea	Pequena amostra sem controle
Graziani <i>et al</i>	Levantamento de seio utilizando PRP, osso autógeno e fibrinogênio	Regeneração óssea mediana	Sem controle
Kassolis e Reynolds	Levantamento de seio bilateral randomizado	Recuperação tecidual moderada	Rendimento plaquetário não determinado
Steigmann e Garg	Levantamento de seio bilateral utilizando somente o PRP	Elevada formação óssea por meio do procedimento	Não houve interferência negativa no controle

Fonte: BOYAPATI e WANG, 2006.

5 CONCLUSÃO

- a. Por meio desta pesquisa acadêmica pode-se verificar que os estudos abordados aqui não seguiram a mesma linha de pesquisa, conforme relatado na discussão deste trabalho, ou seja, cada pesquisador adotou um método peculiar, obtendo resultados específicos, considerando diversos fatores, tais como a característica biológica e orgânica de cada paciente / animal, técnica de obtenção e aplicação do PRP, etc.
- b. Em nenhum dos trabalhos citados notou-se o cuidado dos pesquisadores em verificar a contagem de plaquetas após o processo de centrifugação e preparo do PRP.
- c. Outro ponto observado foi a divergência entre os autores quanto à aplicabilidade do plasma rico em plaquetas enquanto protocolo válido e eficiente para guiar e acelerar a reconstrução, cicatrização e regeneração dos tecidos, em especial o tecido ósseo. Alguns autores não atribuem o efeito da cicatrização ao uso do PRP em procedimentos odontológicos. Porém, outros pesquisadores consideram este procedimento apropriado e benéfico não só quando voltado à Odontologia, mas também aos outros tipos de intervenções que demandam sua utilização, atrelando a célere recomposição à utilização deste método.
- d. Neste sentido torna-se necessária a realização de mais pesquisas científicas para o aprimoramento do plasma rico em plaquetas, uma vez que este procedimento vem sendo utilizado pelos profissionais da área da saúde, principalmente na Odontologia, quando se deseja regenerar, de maneira célere, o tecido ósseo.

REFERÊNCIAS

1. AJZEN, S. A.; MOSCATIELLO, R. A.; LIMA, A. M.; MOSCATIELLO, V. A.; MOSCATIELLO, R. M.; NISHIGUSHI, C. I.; ALVES, M. T.; YAMASHITA, H. K. Análise por tomografia computadorizada do enxerto autólogo na cirurgia de "sinus lift". **Radiol Bras.**, v.38, n.1, p.25-31, 2005.
2. ALBUQUERQUE, D. P.; OLIVEIRA, T. M. F.; MARANHÃO FILHO, A. W. A.; MILHOMENS FILHO, J. A.; GUSMÃO, E. S. Aplicação clínico-cirúrgica do plasma rico em plaquetas – estudo revisional. **Odontologia Clín. Científ.**, Recife, v.7, n.2, p.119-122, abr./jun. 2008.
3. ANDRIOLO, A. R. **A participação dos mediadores biológicos presentes no plasma rico em plaquetas (prp) na reparação óssea.** 2002. 125f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
4. ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.14, n.4, p.529-235, July/Aug. 1999.
5. BOYAPATI, L.; WANG, H. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. **Implant Dentistry**, v. 15, n. 2, p. 160-170, June 2006.
6. BRANDÃO, G. H. F. **Estudo comparativo entre eficácia clínica de enxertos ósseos (autógenos, alógenos e aloplásticos) com e sem utilização de plasma rico em plaquetas.** Abre Campo – MG, 2008.
7. BUCKLEY, R. C.; BREAZEAL, E. E.; EDMOND, J. A.; BRZEZIENSKI, M. A. A simple preparation of autologous fibrin glue for skin-graft fixation. **Plast. Rec. Surg.**, v. 103, n.1, p.202-206, Jan. 1999.
8. CAMARGO, P. M.; LEKOVIC, V.; WEINLAENDER, M.; VASILIC, N.; MADZAREVIC, M.; KENNEY, E. B. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. **J. Periodontal Res.**, v.1, n.4, p.300-306 August 2002. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118943888/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>>. Acesso em: 03 mar. 2010.
9. CANALIS, E. Effect of insulin like growth factor I on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. **J. Clin. Invest.**, New York, v.66, n. 4, p.709-719, Oct. 1980.
10. CANDINI, A. L. **Avaliação do efeito do plasma rico em plaquetas fotoestimulado pelo laser de baixa potência no processo de regeneração**

- óssea.** 2001. 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade do Vale da Paraíba, São José dos Campos.
11. CARLSON, N. E.; ROACH JR., R. B. Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.133, n. 10, p.1383-1386, 2002. Disponível em: <<http://jada.ada.org/cgi/content/full/133/10/1383>>. Acesso em: 16 nov. 2010.
 12. CENTRELLA, M. Isolation and characterization of insulin-like growth factor I (somatomedin-C) from cultures of fetal rat calvariae. **Endocrinology**, Bethesda, v.122, p.22-7, 1988.
 13. DIAS, E. C.; CHIARELLI, F. M.; FILHO, A. M.; FEITOSA, A. C. **Uso do plasma rico em plaquetas associado a osso autógeno em cirurgia de levantamento do assoalho do seio maxilar.** 25 out. 2004. Disponível em: <http://www.guiaodonto.com.br/ver_artigo.asp?codigo=94>. Acesso em: 12 nov. 2010.
 14. DÖRI, F.; HUSZÁR, T.; NIKOLIDAKIS, D.; ARWEILER, N. B.; GERA, I.; SCULEAN, A. **Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane.** 25 jan. 2007. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118533289/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>>. Acesso em: 02 mar. 2010.
 15. ELIAS, F. M.; NEGREIROS, R. M.; PRIMEIRO NOMEZJUNIOR, R. R.; JORGE, W. A. Utilização de plasma rico em plaquetas em enxertos ósseos para reparação de defeitos ósseos. **Revista de Odontologia**, São Paulo, v.20, n.3, p.295-300, set./dez., 2008.
 16. GIANNOBILE, W. V. Periodontal tissue engineering by growth factors. **Bone**, New York, v.19, n.1, p. S23-S37, July 1999.
 17. HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
 18. HOLLEY, R. W.; KIERNAN, J. A. Contact inhibition of cell division in 3T3 cells. **Proc. Nat.. Acad. Sci.**, v. 60, n.?, p. 300-304, 1968.
 19. IVAN, C.; DRANGOV, M. The use of platelet rich plasma in the oral surgery. **Journal of IMAB**, 2005. Disponível em: <http://www.journal-imab-bg.org/statii-05/29-30_br2-05.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2010.
 20. LANDESBURG, R.; ROY, M.; GLICKMAN, R. S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.58, n.3, p.297-300, Mar. 2000.
 21. LEMOS, J. J.; JUNIOR, R. R.; PÍSPICO, R. **Utilização de plasma rico em plaquetas em enxertos ósseos;** proposta de um protocolo de obtenção simplificado. Internet Health Company do Brasil S/A. Medcenter Periodontia. Data da publicação 07/11/2002. Disponível em: www.odontologia.com.br/artigos.asp?id=225. Acesso em: 12 jan. 2010.

22. MACEDO, A. P.; BATSCHAUER, A. P.; DUSSE, L. M.; CARVALHO, M. G. Plasma rico em plaquetas (PRP) e sua aplicação em Odontologia. **RBAC**, v. 40, n.3, p.193-197, 2008.
23. MARCONI, M. A.; LAKATOS, E. M. **Técnicas de pesquisa:** planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração, análise e interpretação de dados. 4.ed. São Paulo: Atlas, 1999.
24. MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUSS, J. E.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.85, n. 6, p.638-646, June 1998.
25. MAST, B. A. Healing in other tissues. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 77, n.3, 1997.
26. MATSUDA, T. Mitogen chemotactic and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. **J. Periodontol.**, v.63, n.6, p.515-25, 1992.
27. MONTEIRO, B. S.; VILORIA, M. I.; PAEZ, O. L.; SILVA, P. S.; BALBINOT, P. Z.; ELEOTÉRIO, R. B.; DEL CARLO, R. J.; SERAKIDES, R. Plasma rico em plaquetas associado ou não ao osso esponjoso autógeno no reparo de falhas ósseas experimentais. **Ciência Rural**, v. 39, n.1, p. 129-134, jan./fev. 2009.
28. PEÑARROCHA, M.; SANCHIS, J. M.; MARTINEZ, J. M. Factores de crecimiento y proteínas que influyen en el crecimiento óseo: aplicaciones en implantología oral. **Periodoncia**, v.11, n.3, p.205-216, 2001.
29. PONTUAL, M. A. B.; MAGINI, R. S. **Plasma rico em plaquetas (PRP) e fatores de crescimento;** das pesquisas científicas à clínica Odontológica. São Paulo: Santos, 2004.
30. POWELL, C. A.; BANNISTER, S. R.; MACKEY, S. A.; MALLER, S. C; MACDONNELL, H. T; DEAS, D. E. Periodontal wound healing with and without platelet-rich plasma: histological observations and assessment of flap tensile strength. **J. Periodont.**, v.80, n.6, p. 985-992, June 2009.
31. REDDI, A. H. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. **Nature Biotech.**, v.16, p.247-252, 1998.
32. ROSEMBERG, E.S.; TOROSIAN, J. Sinus grafting using platelet-rich plasma initial case presentation. **Pract. Periodont. Aesthet. Dent.**, v.12, n.9, p.843-850, 2000.
33. ROSS, R.; GLOMSET, J.; KARIYA, B.; RAINES, E. Role of platelet factors in the growth of cells in culture. **Nat. Cancer Inst. Nonogr.**, v.48, p.103-108, 1988.
34. SILVA, S. B.; FERRIGNO, C. R.; STERMAN, F. A.; BACCARIN, D. C.; YAZBEK, K. V.; MURAMOTO, C.; AMAKU, M. Plasma rico em plaquetas combinado a hidroxiapatita na formação do calo ósseo em fraturas induzidas

- experimentalmente no rádio de cães **Ciência Rural**, v.37, n.4, jul./ago. 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n4/a20v37n4.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2010.
35. SOMA, Y.; GROTEENDORST, G. R. TGF-beta stimulates primary human skin fibroblast DNA synthesis via an autocrine production of PDGF-related peptides. **J. Cell. Physiol.**, v.140, p.246-253, 1989.
36. SONNLEITNER, H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, v.15, p.879-882, 2000.
37. STEVENS, A.; LOWE, J. **Sistema muscular esquelético**. São Paulo: Manole, 2001.
38. VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v.32, n.1, p.24-28, jan./fev. 2006. Disponível em <<http://www.drashirleydecampos.com.br>>. Acesso em: 29 nov. 2010.
39. WANG, H. L. The effect of platelet-derived growth factor on the cellular response of the periodontum: a microradiographic study on dogs. **J. Periodontol.**, v.65, n.5, p.429-436, May 1994.
40. WHITMAN, D. H.; BERRY, R. L.; GREEN, D. M. Platelet Gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 55, n.11, p.1294-1299, Nov. 1997.