

## O papel da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização óssea de defeitos em calvária: estudo em coelhos

*The role of fibrin rich in platelets and leukocytes in the bone healing of calvary defects: study in rabbits*

Evans Soares de Oliveira<sup>1</sup>, Paulo Afonso Nunes Nassif<sup>2</sup>, Fernando Issamu Tabushi<sup>3</sup>, Geraldo Odilon do Nascimento-Filho<sup>2</sup>, Samuel Rabello<sup>3</sup>, Alexsandro Batista da Costa Carmo<sup>4</sup>, Jurandir Marcondes Ribas-Filho<sup>1</sup>

### RESUMO

**Introdução:** O L-PRF é concentrado de plaquetas e leucócitos em rede de fibrina, obtido pela centrifugação autóloga coletada no momento da cirurgia. Faz parte da segunda geração de concentrados plaquetários, sendo de baixo custo, fácil preparo, simples obtenção e tem a capacidade de acelerar a cicatrização de tecidos moles e duros.

**Objetivo:** Revisar o reparo ósseo de defeitos não críticos em calvária utilizando o L-PRF isoladamente e em associação com osso autólogo particulado.

**Método:** Revisão integrativa da literatura retirada das plataformas SciELO, Pubmed e Scopus em inglês e português utilizando os seguintes descritores: "L-PRF, cicatrização óssea, defeitos em calvária. Coelhos" em AND ou OR pelo título ou resumo. Após a seleção apenas os artigos considerados pertinentes foram lidos na íntegra.

**Resultados:** Foram incluídos 39 artigos.

**Conclusão:** O L-PRF isoladamente teve efeito positivo na formação óssea no decorrer das semanas.

**PALAVRAS-CHAVE:** L-PRF. Cicatrização óssea. Defeitos em calvária de coelhos.



L-PRF após ser removido do tubo de vidro e separado do coágulo

### Mensagem Central

O L-PRF (fibrina rica em plaquetas e leucócitos) é um concentrado de plaquetas e leucócitos numa rede de fibrina, obtido pela centrifugação autóloga coletada no momento do procedimento cirúrgico que oferece como vantagens o baixo custo, fácil preparo, simples obtenção e que tem a capacidade de acelerar a cicatrização de tecidos moles e duros. Assim, revisar sua aplicabilidade e eficiência no reparo ósseo de defeitos não críticos é interessante para decidir-se sobre o tratamento de feridas em momentos cirúrgicos difíceis pela falta de meios na ossificação.

### Perspectiva

A reconstrução de tecidos vivos é uma constante busca na bioengenharia tecidual, tanto para a reposição de tecidos moles quanto dos duros. Os mais diversos profissionais da saúde, e em especial os cirurgiões orais e maxilofaciais, constantemente buscam materiais e tecnologias que ofereçam a reconstrução de partes ósseas perdidas, quer seja por extrações dentárias, tumores, cistos, traumas, entre outros. Esta revisão traz informações sobre a eficácia da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) nessas necessidades.

### ABSTRACT

**Introduction:** L-PRF is a concentrate of platelets and leukocytes in a fibrin network, obtained by autologous centrifugation collected at the time of surgery. It is part of the second generation of platelet concentrates, being low cost, easy to prepare, simple to obtain and has the ability to accelerate the healing of soft and hard tissues.

**Objective:** To review bone repair of non-critical calvarial defects using L-PRF alone and in association with particulated autogenous bone.

**Method:** Integrative review of literature taken from the SciELO, Pubmed and Scopus platforms in English and Portuguese using the following descriptors: "L-PRF, bone healing, calvarial defects, rabbit" in AND or OR by the title or summary. After selection, only articles considered relevant were read in full.

**Results:** 39 articles were included.

**Conclusion:** L-PRF alone had a positive effect on bone formation over the weeks.

**KEYWORDS:** L-PRF. Bone healing. Defects in calvaria. Rabbit.

## INTRODUÇÃO

A reconstrução de tecidos vivos é uma constante busca na bioengenharia tecidual, tanto para a reposição de tecidos moles quanto dos duros. Os mais diversos profissionais da saúde, e em especial os cirurgiões orais e maxilofaciais, constantemente buscam materiais e tecnologias que ofereçam a reconstrução de partes ósseas perdidas, quer seja por extrações dentárias, tumores, cistos, traumas, entre outros.

O material de enxerto "ideal" deveria congregiar as seguintes habilidades: a) ter fornecimento ilimitado sem comprometer a área doadora; b) promover a osteogênese; c) não apresentar resposta imunológica do hospedeiro; d) revascularizar rapidamente; e) estimular a osteoindução; f) promover a osteocondução; g) ser substituído completamente por osso em quantidade e qualidade semelhante ao do hospedeiro.

O L-PRF (Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos) é concentrado de plaquetas e leucócitos, obtido pela centrifugação de sangue venoso autólogo coletado no momento da operação. Foi desenvolvido na França em 2001, por Choukroun<sup>1</sup>, fazendo parte da segunda geração de concentrados plaquetários. Ele oferece diversas vantagens dentre as quais o baixo custo (sangue autólogo), a facilidade no preparo (não há necessidade de anticoagulantes ou ativadores da coagulação), a facilidade na obtenção e alta capacidade de acelerar a cicatrização dos tecidos moles e duros. Ainda, incorpora em matriz de fibrina a maioria das plaquetas, leucócitos e fatores de crescimento coletados de simples amostras de sangue.

Diferentemente do PRP (Plasma Rico em Plaquetas), no L-PRF não há necessidade do uso de anticoagulantes nem de ativadores da coagulação, tornando o procedimento menos sensível, mais fácil, barato e simples de se obter.

Diversos estudos têm sido realizados para avaliar a eficácia do L-PRF, pois apesar de ser geração promissora de concentrados plaquetários, há a desconfiança após estudos do PRP, uma vez que em primeiro momento este também parecia extremamente promissor, e, depois, teve sua eficácia contestada.

As pesquisas atuais têm demonstrado que o uso do L-PRF tem contribuído para melhor cicatrização tanto dos tecidos moles como duros, principalmente por fornecer os fatores de crescimento por mais tempo, 7 a 11 dias, diferentemente do PRP em que os fatores eram liberados em aproximadamente 8 h. No entanto há a necessidade de mais pesquisas in vivo e in vitro para se ter a confirmação dos benefícios do L-PRF.

O objetivo deste trabalho foi revisar o reparo ósseo de defeitos não críticos em calvária de coelhos utilizando o L-PRF isoladamente e em associação com osso autógeno particulado.

## MÉTODO

Revisão integrativa da literatura retirada das plataformas SciELO, Pubmed e Scopus em inglês e português utilizando os seguintes descritores: "L-PRF, cicatrização óssea, defeitos em calvária, coelhos"

em AND ou OR pelo título ou resumo. Após a seleção apenas os artigos considerados pertinentes foram lidos na íntegra. At the end, 39 articles were included.

## DISCUSSÃO

Os fatores de crescimento derivados do sangue estão sendo usados na medicina por algumas décadas. No entanto, é importante ressaltar que com a descoberta do PRF, o uso dos concentrados plaquetários tem crescido exponencialmente. O seu uso na odontologia iniciou-se na década de 90, com o objetivo de fornecer ao leito cirúrgico a maior quantidade de plaquetas para favorecer os fatores de crescimento, a fim de se obter melhor cicatrização tecidual. No entanto o PRP tinha uma série de particularidades e dificuldades de obtenção, incluindo a necessidade de uso do anticoagulante e, principalmente, trombina bovina para a polimerização. A sua rápida polimerização dificultava a incorporação de citocinas na matriz de fibrina devido à alta taxa de trombina bovina que era necessária para a polimerização da fibrina, e como efeito polimerizava de forma rígida. Em consequência, a liberação dos fatores de crescimento no sítio cirúrgico ocorria de forma rápida, ao invés de ocorrer lentamente.

As pesquisas com o PRP foram demonstrando que os resultados obtidos não eram tão promissores como acreditou-se em primeiro momento.<sup>2-6</sup> Com elas constatou-se que o PRP aumentava a resposta fisiológica ao trauma e superava a deposição normal dos fatores de crescimento; porém, apesar dele liberar grandes quantidades de fatores de crescimento, eles só se sustentavam no estágio inicial após o preparo, por aproximadamente 8 h, ou seja, período muito curto de tempo.<sup>7</sup>

### A evolução para o L-PRF

Em 2001, Choukroun<sup>1</sup> desenvolveram novo protocolo para concentrar plaquetas e fibrinas em um simples passo sem modificação do sangue: o L-PRF. Nele não há necessidade de heparina (anticoagulante) nem tampouco o uso da trombina bovina (coagulação), e segundo os autores este método apresenta uma série de vantagens em relação ao PRP.

L-PRF pertence à segunda geração de concentrados plaquetários, onde a rede de fibrina é muito mais semelhante à rede natural. Esta característica leva à migração celular mais eficiente, e à maior proliferação celular, o que culmina em melhor cicatrização. Além disto, o L-PRF é capaz de liberar os fatores de crescimento de forma lenta e progressiva no processo de remodelação de matriz de fibrina, uma vez que, na técnica de Choukroun, a polimerização da fibrina ocorre de maneira lenta e controlada dentro da centrifuga, produzindo matriz de fibrina de arquitetura tridimensional estável, capaz de incorporar praticamente todas as plaquetas e a maioria dos leucócitos circulantes, mantendo a liberação dos fatores de crescimento no sítio cirúrgico por 7-11 dias, o que traz muitos benefícios na cicatrização tecidual.<sup>3,4,7-9</sup> Ele ainda tem como vantagens: a) facilidade técnica de obtenção; b) ser obtido de sangue autólogo; c) exige

mínima manipulação sanguínea; d) não necessita de nenhum tipo de aditivo (como trombina bovina, cloreto de cálcio ou heparina); e e) é mais eficaz, mais eficiente e menos controverso do que o PRP.<sup>5,10,11</sup>



**FIGURA 1** — L-PRF após ser removido do tubo de vidro e separado do coágulo

A gama de utilização do L-PRF na odontologia e na medicina é muito vasta e é citada para melhorar a preservação alveolar, melhorar a cicatrização dos tecidos moles, melhorar a cicatrização óssea, dentre outras.<sup>2,5,6,10,12-18</sup>

Apesar de possuir técnica simples, alguns passos são fundamentais para a obtenção de correto L-PRF, como muito cuidado na coleta sanguínea e no tempo entre a coleta e o início da centrifugação, que precisa ser imediato.<sup>19</sup>

Outro fator muito importante é em relação ao adequado posicionamento dos tubos sanguíneos na centrífuga, a fim de obter estabilidade. Recomenda-se colocar sempre um tubo contra o outro, evitando instabilidade e vibração. Diversos autores ressaltam que baixos níveis de vibração e de variação térmica são fundamentais para adequada obtenção do PRF.<sup>19,20-23</sup>

Há também que se tomar cuidado com a maneira de formar as membranas e de comprimir o L-PRF. A caixa específica para a produção de membranas de L-PRF permite a produção de membranas em espessura constante e hidratadas, além de permitir recolher o soro, que é rico em proteínas como a fibroconectina e vitronectina. Este exsudato coletado do fundo pode ser utilizado para hidratar materiais de enxerto, lavar o sítio cirúrgico ou armazenar enxerto autólogo, melhorando os resultados obtidos. Deve-se evitar no máximo o uso de gaze para comprimir as membranas, uma vez que este procedimento pode acabar tirando também os fatores de crescimento da membrana, como o PDGF.<sup>3,19,20,24</sup>

#### A produção do L-PRF

Os protocolos de produção do L-PRF variam de acordo com o tempo de centrifugação, número de rotações, tipo de tubo de ensaio e até a quantidade de

sangue para a obtenção das membranas. O tempo de centrifugação e o número de rotações dependem da centrífuga, do tamanho do raio, da angulação dos tubetes na centrífuga, entre outros. Assim sendo, a maior parte dos fabricantes de centrífugas já entregam a velocidade e o tempo para a confecção de cada um dos agregados plaquetários desejados, incluindo o L-PRF.<sup>19,20,22,23</sup>

Há uma linha de pesquisadores que afirmam que a centrífuga ideal para a confecção do L-PRF seria a Intra-Spin (Intra-Lock International, Boca-Raton, FL, USA). Há trabalhos que mostram que ela é a mais estável, com nível de vibração entre 4,5 e 6 vezes menor que das outras centrífugas, que a temperatura dos tubetes no final do processo era menor que nas outras marcas comerciais, que produz coágulo e exsudato mais pesados, além de mostrar matriz de fibrina espessa fortemente polimerizada, apresentar células vivas e com forma normal, enquanto as outras membranas realizadas pelas outras máquinas apresentam gel de fibrina fino ligeiramente polimerizado e a maioria dos corpos celulares parece destruída. Segundo diversos autores as características da centrífuga e os protocolos de centrifugação impactam de maneira significativa nas células, nos fatores de crescimento e na arquitetura de fibrina do L-PRF.<sup>20-22</sup>

A centrífuga da Intra-Spin foi idealizada e criada pelo pioneiro do L-PRF, Joseph Choukroun. No entanto, após alguns anos, ele mesmo desenvolveu outra centrífuga, na qual o L-PRF ficaria ainda mais ativado (chamou de A-PRF), através da utilização da centrífuga A-PRF<sup>12</sup> (Advanced PRF, Nice, France) em um tempo e velocidade de rotações por minuto diferentes da originalmente descrita.

Há, no entanto, uma linha de pesquisadores que afirmam que não é obrigatório o uso destas marcas comerciais específicas, mas que se tenha centrífuga que respeite os requisitos básicos necessários para a confecção do L-PRF. Para utilizar outras centrífugas é necessário realizar os cálculos para determinar a força G da centrífuga e adequar a velocidade e tempo. Oliveira<sup>23</sup>, realizou pesquisa onde utilizou a centrífuga Fibrin Fuge 25 (Montserrat, Brasil) e concluíram que as plaquetas estavam intactas e aderidas à rede de fibrina, emitindo pseudópodes e em degranulação, além de aumento de VEGF até 7 dias para todas as forças (200g, 400g e 800g por 10 min). No entanto, as concentrações foram maiores quando usou-se 200g.

Desta maneira há muitos clínicos e pesquisadores que questionam até que ponto estas centrífugas fazem realmente a grande diferença na obtenção do L-PRF e se isto acaba sendo apelo comercial para a venda de centrífugas de valor muito mais elevado. Defendem que não se deve ficar reféns de marcas comerciais, e que o mais importante é calcular a força G da centrífuga que será utilizada, bem como o tempo de centrifugação. No mercado há centrífugas dos mais variados preços, e a centrífuga da Intra Spin chega a custar até 10 vezes mais do que outras, o que inviabiliza muitas vezes a aquisição deste equipamento pelos clínicos.

Para realizar a obtenção das amostras de sangue em coelhos, foi estudada técnica que permitisse a obtenção de sangue venoso em quantidade suficiente e que não

trouxesse efeitos colaterais usando a veia auricular. Também descreveu-se técnica através da jugular desses animais,<sup>25</sup> com coleta mais volumosa e sem eventos adversos atribuídos a este procedimento.

Após a centrifugação fica visível a divisão do conteúdo dos tubos em 3 partes, sendo a camada do topo composta por plasma acelular; a intermediária contendo o L-PRF propriamente dito; e a camada da base apresentando as células vermelhas do sangue. Vale aqui ressaltar que a camada do L-PRF que mais contém células viáveis é a camada mais próxima das células vermelhas do sangue, e assim sendo, deve-se tomar cuidado na remoção da camada vermelha evitando remover também a parte do L-PRF que contém a maior parte destas células viáveis.

### O uso do o L-PRF e sua ação na cicatrização

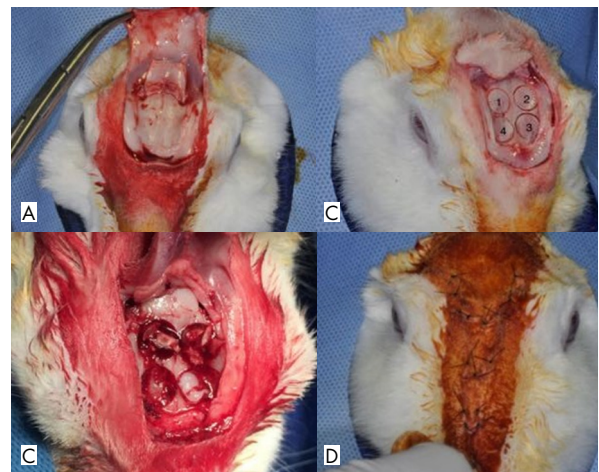
A reparação dos diferentes tecidos do corpo humano, incluindo o osso, é mediada por diferentes fatores de crescimento em processo que se inicia pela formação do coágulo sanguíneo e continua pela degranulação das plaquetas, que liberam os fatores de crescimentos, como o PDGF, TGF  $\beta$ 1 e  $\beta$ 2, VEGF e EGF (contidos dentro dos grânulos  $\alpha$  das plaquetas). A angiogênese, fundamental nos processos reparadores é especialmente dependente dos fatores de crescimento oriundos da degranulação plaquetária. No L-PRF os fatores de crescimento dependem da matriz de fibrina como arcabouço de suporte e proteção proteolítica. Eles se desprendem da malha de fibrina de forma lenta e gradual, acompanhando a fibrinólise. As plaquetas atuam no processo de hemostasia, cicatrização de feridas e reepitelização, liberam fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, promovem o crescimento vascular e a proliferação de fibroblastos, que proporcionam aumento na síntese de colágeno. O TGF ativa os fibroblastos para formação do protocolágeno que resulta na deposição de colágeno e cicatrização de feridas; o PDGF aumenta a vascularização tissular, promove a proliferação de fibroblastos, aumenta a quantidade de colágeno, estimula a produção de tecido de granulação e melhora a angiogênese; o VEGF estimula a angiogênese, a mitose das células endoteliais e a permeabilidade vascular; o EGF induz o crescimento de tecido epitelial e promove a angiogênese. Tudo isto torna a cicatrização mais rápida e eficiente, favorecendo a integração de enxerto sejam eles ósseos, cutâneos, cartilaginosos ou de células de gordura.<sup>23,26,27</sup>

Os materiais aloplásticos e xenógenos tem uma ampla indicação em procedimentos de enxertia óssea. No entanto apesar de serem bons osteocondutores, não possuem a propriedade de serem osteogênicos nem osteoindutores. A associação do L-PRF e do i-PRF a estes materiais aloplásticos e xenógenos pode potencializar as chances de sucesso, pois contém diversos fatores de crescimento como o PDGF, TGF, IGF, EGF, bFGF.<sup>27-30</sup> Desta maneira tanto o ganho ósseo pode ser maior, como o tempo de cicatrização e qualidade do osso lamelar também pode ser melhorado.<sup>9,26,31</sup> O L-PRF atua em 4 fases fundamentais do processo de cicatrização: 1) angiogênese; 2) controle imunológico; 3) liberação

de fatores de crescimento; e 4) recrutamento das células indiferenciadas. Também serve de cobertura e arcabouço para migração de células epiteliais.

A importância de avaliar o L-PRF na formação óssea é que há muitos casos em que não se tem disponibilidade óssea autógena suficiente para completar todo o leito receptor. Há casos em que não há sequer a possibilidade de se obter osso autógeno para colocar no leito receptor. Nestes casos há grande importância de se pesquisar alternativas para complementar o enxerto autógeno e/ou xenógeno, bem como para propiciar melhor cicatrização óssea, diminuindo comorbidade no uso de área doadora.

Os resultados de Evans<sup>32</sup> mostraram em estudo experimental que houve ganho ósseo proporcional e significativo entre 2 e 6 semanas para o grupo onde foi colocado L-PRF exclusivamente (Figura 2). Esse resultado é especialmente importante para a prática clínica diária, pois há inúmeras situações onde não está indicada a utilização de qualquer tipo de enxerto ósseo (independentemente de ser seja autógeno, xenógeno ou alógeno) e poder-se-ia utilizar o L-PRF isoladamente para se evitar infecção e maximizar toda a resposta tecidual. Um destes exemplos seria a remoção de cistos e/ou tumores, com ou sem margem de segurança, onde não é indicado a utilização de enxertos no primeiro momento, mas para um segundo com enxerto ósseo. Nestes casos pode ser muito interessante utilizar o L-PRF, pois além de evitar hemorragias e sangramentos, evitaria infecções e iria melhorar toda resposta tecidual, incluindo a angiogênese e a neoformação óssea, facilitando uma segunda etapa cirúrgica de reconstrução tecidual, ou até mesmo evitando a necessidade dela.



Fonte: Evans<sup>32</sup>

**FIGURA 2** — Estudo experimental em coelhos: A) descolamento do tecido mole e periósteeo, deixando o tecido ósseo da calvária exposto; B) definição de cada um dos grupos para osteotomia; C) preenchimento dos gaps ósseos com materiais em estudo; D) aspecto final do experimento.

Muitos autores também já verificaram que defeitos podem ser reparados com sucesso com aplicação exclusivamente de L-PRF.<sup>9,14,28,31,33-37</sup> Awadeen<sup>38</sup>, avaliaram os benefícios do L-PRF em defeitos críticos de ratos, após 1, 2 e 4 semanas e verificaram que os tratados com a associação de células tronco e



L-PRF tiveram melhores resultados do que com PRF isoladamente. Oliveira<sup>26</sup>, realizaram estudo onde o PRF teve efeito positivo na regeneração óssea quando associado ao Bio-Oss, mas não quando utilizaram o L-PRF isoladamente. A associação do L-PRF a biomateriais também merece especial atenção, uma vez que potencializa a regeneração tecidual sem a necessidade de uma área óssea doadora. Nem todas as pesquisas são unânimes em relação às vantagens do L-PRF, trazendo ainda alguns questionamentos sobre sua estabilidade na osteogênese.<sup>39,40</sup>

Quanto ao tipo de centrifuga, muitos pesquisadores defendem que não se deve ficar refém de marcas comerciais, desde que sejam observados o tempo e a força G em cada centrifuga utilizada.

## CONCLUSÃO

Esta revisão mostra que houve aumento progressivo e proporcional estatisticamente significativo utilizando o L-PRF em defeitos não críticos em coelhos entre 2 e 6 semanas.

### Afiliação dos autores:

<sup>1</sup>Instituto Presbiteriano Mackenzie, São Paulo, SP, Brasil;

<sup>2</sup>Hospital Monte Sinai, Garanhuns, PE, Brasil;

<sup>3</sup>Departamento de Medicina, Centro Universitário de Várzea Grande - UNIVAG, Cuiabá, MT, Brasil;

<sup>4</sup>Hospital São Mateus, Cuiabá, MT, Brasil.

### Correspondência:

Evans Soares de Oliveira

Email: evanssoares@hotmail.com

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001

### Como citar:

de Oliveira ES, Nassif PAN, Tabushi FI, do Nascimento-Filho GO, Rabello S, Carmo ABC, Ribas-Filho JM. O papel da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização óssea de defeitos em calvária: estudo em coelhos. *BioSCIENCE*. 2024;82:e026

### Contribuição dos autores

Conceituação: Evans Soares de Oliveira Jurandir Marcondes Ribas-Filho

Metodologia: Jurandir Marcondes Ribas-Filho

Administração do projeto: Paulo Afonso Nunes Nassif, Fernando Issamu Tabushi

Redação (esboço original): Todos os autores

Redação (revisão e edição): Todos os autores

Recebido em: 20/12/2023

Aceito em: 04/03/2024

## REFERÊNCIAS

1. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*. 2001;4:55-62.
2. Dohan MD, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, 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(3):37-44. Doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.008
3. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3): 158-67. Doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009
4. Lauritano D, Avantaggiato A, Candotto V, Zollino I, Carinci F. Is platelet-rich fibrin really useful in oral and maxillofacial surgery? Lights and shadows of this new technique. *Ann Oral Maxillofac Surg*. 2013;1(3):1-5. Doi: 10.13172/2052-7837-1-3-826
5. Borie E, Olivé DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltrán V, Fuentes R. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):7922-9.
6. Miron RJ, Choukroun J. Platelet rich fibrin in regenerative dentistry: biological background and clinical indications. John Wiley & Sons, Ltd. 2017. Doi: 10.1002/9781119406792
7. Zhao QM, Ding YJ, Si T. Doi: Platelet-rich fibrin in plastic surgery. *OA Evidence-Based Medicine*. 2013;1(1):1-6. 10.13172/2053-2636-1-1-512
8. Dohan MD, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):45-50. Doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.009
9. Mallmann F, Lago PEW, Bona ADU. Uso de fibrina rica em plaquetas (PRF) no tratamento de perfurações da membrana sinusal. *Full Dent Sci*. 2013;5(17):59-66.
10. Blinstein B, Bojarskas SE. Efficacy of autologous platelet rich fibrin in bone augmentation and bone regeneration at extraction socket. *Stomatologija*. 2018;20(4): 111 - 18.
11. Blatt S, Thiem DGE, Pabst A, Al-Nawas B, Kämmerer PW. Does platelet-rich fibrin enhance the early angiogenic potential of different bone substitute materials? An in vitro and in vivo analysis. *Biomedicine*. 2021;9(1). Doi: 10.3390/biomedicine9010061
12. Eshghpour M, Dastmalchi P, Nekooei AH, Nejat A. Effect of platelet-rich fibrin on frequency of alveolar osteitis following mandibular third molar surgery: a double-blinded randomized clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014;72(8):1463-7. Doi: 10.1016/j.joms.2014.03.029
13. Marenzi G, Riccitiello F, Tia M, di Lauro A, Sammartino G. Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the healing of simple postextraction sockets: a split-mouth study. *Biomed Res Int*. 2015:1-6. Doi: 10.1155/2015/369273
14. Kumar YR, Mohanty S, Verma M, Kaur RR, Bhatia P, Kumar VR, Chaudhary Z. Platelet-rich fibrin: the benefits. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2016;54(1):57-61. Doi: 10.1016/j.bjoms.2015.10.015
15. Canellas JVS, Ritto FG, Medeiros PJD. Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: a systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017;46(9): 1138-46. Doi: 10.1016/j.ijom.2017.04.006
16. Diana C, Mohanty S, Chaudhary Z, Kumari S, Dabas J, Bodh R. Does platelet-rich fibrin have a role in osseointegration of immediate implants? A randomized, single-blind, controlled clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg*. 2018;47(9):1178-88. Doi: 10.1016/j.ijom.2018.01.001
17. Stähli A, Strauss FJ, Gruber R. The use of platelet-rich fibrin to enhance the outcomes of implant therapy: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2018;18(18):6-19. Doi: 10.1111/clr.13275
18. Zhou T, Yang HW, Tian ZW, Wang Y, Tang XS, Hu JZ. Effect of Choukroun platelet-rich fibrin combined with autologous micro-morselized bone on the repair of mandibular defects in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg*. 2018;76(11):221-8. Doi: 10.1016/j.joms.2017.05.031
19. Oliveira LA, Almeida FLD. Liberação de VEGF, TGFβ e FGFβ da matriz de fibrina rica em plaquetas e leucócitos obtida pelo protocolo de centrifugação. *Rev Catarinense de Implantodontol*. 2019;19:29-37.
20. Ehrenfest DMD, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang BS, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 1: evaluation of the vibration shocks of 4 models of table centrifuges for L-PRF. *Poseido*. 2014;2(2):129-139.
21. Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Del Corso M, Kang BS, Wang HL, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 2: macroscopic, photonic microscopy and scanning electron microscopy analysis of 4 kinds of L-PRF clots and membranes. *Poseido*. 2014;2(2): 141 -54.
22. Ehrenfest DMD, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang BS, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*. 2018;29(2): 171 -84. Doi: 10.1080/09537104.2017.1293812
23. de Oliveira LA, Borges TK, Soares RO, Buzzi M, Küchelhaus SAS. Methodological variations affect the release of VEGF in vitro and fibrinolysis' time from platelet concentrates. *PLoS ONE*. 2020;15(10):e0239562. Doi: 10.1371/journal.pone.0240134
24. Kobayashi M, Kobayashi M, Kawase T, Horimizu M, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. *Biologicals*. 2012;40(5):323-9. Doi: 10.1016/j.biologicals.2012.07.004
25. Nelson EA, Keller GL, Mitchell TW, Pennypacker B, Rebbeck P, Rogers IT. A jugular bleeding technique in rabbits. *Lab Anim*. 2010;39(1):17-22. Doi: 10.1038/labana0110-17

26. Oliveira MR, de C Silva A, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR Jr, Mariano RC. Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44(5):649-55. Doi: 10.1016/j.ijom.2014.12.005
27. Panda S, Ramamoorthi S, Jayakumar ND, Sankari M, Varghese SS. Platelet rich fibrin and alloplast in treatment of intrabony defect. *J Pharm Bioallied Sci.* 2014;6(2):127-131. Doi: 10.4103/0975-7406.129178
28. Acar AH, Yolcu Ü, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Altundag Kahraman S. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Arch Oral Biol.* 2015;60(4):606-14. Doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.09.017
29. Ortega-Mejia H, Estrugo-Devesa A, Saka-Herrán C, Ayuso-Montero R, López-López J, Velasco-Ortega E. Platelet-rich plasma in maxillary sinus augmentation: systematic review. *Materials.* 2020;13(3):736. Doi: 10.3390/ma13030622
30. Blatt S, Thiem DGE, Kyyak S, Pabst A, Al-Nawas B, Kämmerer PW. Possible implications for improved osteogenesis? The combination of platelet-rich fibrin with different bone substitute materials. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;16(9):680912. Doi: 10.3389/fbioe.2021.640053
31. Abdullah WA. Evaluation of bone regenerative capacity in rats calvarial bone defect using platelet rich fibrin with and without beta tricalcium phosphate bone graft material. *Saudi Dent J.* 2016;28(3):109-17. Doi: 10.1016/j.sdentj.2015.09.003
32. de Oliveira ES, Ribas-Filho JM, Sigwalt MF, Lourenço ES, Figueiredo FP, Czezczko NG, et al. Platelet-rich fibrin improves the osteoneogenesis in non-critical defects in calvaria: a histological and histometric study. *Acta Cir Bras.* 2023;38:e383423. Doi: 10.1590/acb383423
33. Lee JW, Kim SG, Kim JY, Lee YC, Choi JY, Dragos R, et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(4):459-63. Doi: 10.1016/j.tripleo.2011.03.043
34. Pripatnanont P, Nuntanarant T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013;41(8):649-55. Doi: 10.1016/j.jcms.2013.01.018
35. Durmuşlar MC, Ballı U, Öngöz Dede F, Bozkurt Doğan Ş, Mısırlı AF, Barış E, et al. Evaluation of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in diabetic rabbits. *J Craniomaxillofac Surg.* 2016;44(2):126-133. Doi: 10.1016/j.jcms.2015.11.009
36. Liu Y, Sun X, Yu J, Wang J, Zhai P, Chen S, et al. Platelet-rich fibrin as a bone graft material in oral and maxillofacial bone regeneration: classification and summary for better application. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6387612. Doi: 10.1155/2019/3295756
37. Canellas JVDS, da Costa RC, Breves RC, de Oliveira GP, Figueiredo CMDS, Fischer RG, et al. Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin: A randomized, single-blind, controlled clinical trial. *J Craniomaxillofac Surg.* 2020;48(1):24-32. Doi: 10.1016/j.jcms.2019.11.006
38. Awadeen MA, Al-Belasy FA, Ameen LE, Helal ME, Grawish ME. Early therapeutic effect of platelet-rich fibrin combined with allogeneic bone marrow-derived stem cells on rats' critical sized mandibular defects. *World J Stem Cells.* 2020;12(1):55-69. Doi: 10.4252/wjsc.v12.i1.55
39. Dragonas P, Katsaros T, Avila-Ortiz G, Chambrone L, Schiavo JH, Palaologou A. Effects of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2019;48(2):250-262. Doi: 10.1016/j.ijom.2018.06.003
40. Fernandes F, Obregón PL. Características de vítimas de violência durante o período peri-pandêmico de COVID-19. *BioSCIENCE.* 2022;80(2):63-9. Doi: 10.55684/80.2.15