
Avaliação da qualidade dos agregados leucoplaquetários

Evaluation of the quality of the leuco platelet aggregates

Gabrielle Testa¹, Samuel Thobias Nogueira de Souza², Elaine Faga Iglecias², Angelo Stefano Secco², Maristela Cesquini Oliveira²

¹Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil; ²Curso de Odontologia da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – Avaliar a qualidade do plasma rico em plaquetas (PRP) e da fibrina rica em plaquetas (PRF) obtidos através de alguns tipos de protocolos de obtenção por meio da contagem de plaquetas e leucócitos nos materiais. **Métodos** – Foram coletadas amostras de sangue de voluntários mediante aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). As amostras foram centrifugadas em diferentes rotações e tempos (1300 RPM por 5 minutos, 550 RPM por 5 minutos e 550 RPM por 3 minutos). As concentrações de plaquetas e leucócitos foram avaliadas no Coulter LH 750 analyzer. Os resultados foram submetidos a análise estatística (Graph Pad Prism). **Resultados** – As dosagens de plaquetas foram significativamente maiores ($p < 0.0001$) no protocolo de PRF centrifugado a 1300 rpm em comparação com os outros materiais, e as dosagens de leucócitos foram maiores no PRF centrifugado a 550 rpm ($p < 0.05$). **Conclusão** – Os resultados desse trabalho sugerem que a velocidade de centrifugação, o uso de anticoagulante e o tempo de centrifugação são alguns interferentes que afetam a qualidade do material obtido impactando na diminuição do número de células presentes no material. Os resultados também apontam que o PRF apresenta maiores concentrações celulares, principalmente próximo à camada de leucócitos.

Descritores: Plasma; Plaquetas; Sangue; Fibrina; Leucócitos

Abstract

Objective – To evaluate the quality of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) obtained through some types of protocols for obtaining platelet and leukocyte counts in the materials. **Methods** – Blood samples were collected from volunteers with the approval of the Research Ethics Committee (CEP). The samples were centrifuged at different speeds and times (1300 RPM for 5 minutes, 550 RPM for 5 minutes and 550 RPM for 3 minutes). Platelet and leukocyte concentrations were evaluated on the Coulter LH 750 analyzer. The results were subjected to statistical analysis (Graph Pad Prism). **Results** – Platelet dosages were significantly higher ($p < 0.0001$) in the PRF protocol centrifuged at 1300 rpm compared to other materials, and leukocyte dosages were higher in PRF centrifuged at 550 rpm ($p < 0.05$). **Conclusion** – The results of this work suggest that the centrifugation speed, the use of anticoagulant and the centrifugation time are some interferences that affect the quality of the material obtained impacting on the decrease of the number of cells present in the material. The results also point out that PRF presents higher cellular concentrations, mainly near the leukocyte layer.

Descriptors: Plasma; Platelet; Blood; Fibrin; Leukocytes

Introdução

Os agregados leucoplaquetários são um grupo de compostos bioquímicos que incluem o Plasma rico em plaquetas (PRP) e o Plasma rico em fibrina (PRF). Eles são obtidos através de variadas técnicas que tem por finalidade utilizar o sangue do próprio paciente e maximizar a concentração de plaquetas, fibrina e leucócitos diluídos em um pequeno volume de plasma¹⁻³.

Eles apresentam diversas vantagens, por serem materiais autólogos, não conferem risco de contaminação por doenças infectocontagiosas, não são imunogênicos, e, por serem ricos em plaquetas, fatores de crescimento e leucócitos, eles aceleram a regeneração tecidual⁴⁻⁶.

Os fatores de crescimentos contidos nos agregados leucoplaquetários incluem as citocinas, fibronectina e vitronectina, dentre outros. Essas proteínas estão presentes no plasma e participam do processo de cicatrização de tecidos, por isso, esses agregados são utilizados nas áreas clínicas e estéticas. A medicina humana e veterinária e a odontologia utilizam os agregados leucoplaquetários em todas as situações onde a formação de tecido novo é desejada. Dessa forma, suas aplicações incluem a melhora da cicatrização de cirurgias, a inte-

gração de enxertos cutâneos, os tratamentos de tendinites e artrites, os tratamentos de fechamento de úlceras crônicas, a recuperação rápida de atletas pelos ortopedistas esportivos, o estímulo de regeneração de tecido epitelial pelas áreas estéticas e a cicatrização e regeneração óssea nos processos odontológicos⁷⁻¹².

A presença de fatores de crescimento é de extrema importância para a qualidade do material, assim como a alta concentração de plaquetas, porém alguns autores têm dúvidas quanto a concentração adequada de plaquetas que os agregados devem conter para que sejam considerados materiais terapêuticos. Segundo *Vendramin et al*¹³, as concentrações de plaquetas devem ter um aumento de 400% em relação ao sangue total. Portanto, a determinação da concentração de fatores de crescimento e de plaquetas nesses materiais é de extrema relevância para a regeneração tecidual. De acordo com o mesmo autor, esses fatores de crescimento estimulam as reações inflamatórias que aceleram a cicatrização tecidual. No processo de inflamação macrófagos e fibroblastos são recrutados e, como consequência, ocorre a regeneração e o aumento da taxa de produção de colágeno^{4, 9, 10, 14, 15}.

Os agregados leucoplaquetários são classificados de duas maneiras, pela presença de leucócitos e pela densidade de fibrina, e podem ser divididos em 4 grupos: P-PRP (Plasma rico em plaquetas puro) que possui baixa densidade de fibrina e não tem leucócitos, L-PRP (Plasma rico em plaqueta e leucócitos) que possui leucócitos e baixa densidade de fibrina, P-PRF (Plasma rico em fibrina puro) que não contém leucócitos e tem alta densidade de fibrina, e o L-PRF (Plasma rico em fibrina e leucócitos) que contém leucócitos e alta densidade de fibrina^{1, 2, 16, 17}.

Deve-se ter cautela na preparação desses materiais, pois pode-se causar alterações morfológicas nas plaquetas e atrapalhar a qualidade do material. A concentração de plaquetas, de leucócitos e a disposição das fibras de fibrina podem ter impacto na qualidade do material obtidos. Por esse motivo, análises dos materiais obtidos de diversos protocolos torna-se importante para as aplicações clínicas a que se destinam. Os biomédicos apresentam qualificação adequada para extrair e analisar os agregados leucoplaquetários^{4, 7, 9, 13, 18, 19}.

O objetivo do trabalho foi comparar alguns protocolos de obtenção de agregados leucoplaquetários (PRP e PRF) quanto à qualidade desses materiais. Para isso, foi realizada a contagem de plaquetas e leucócitos encontradas nos produtos obtidos após submissão aos diferentes protocolos. O trabalho também objetivou avaliar possíveis interferentes capazes impactar negativamente a qualidade do PRF e do PRP.

Métodos

Para elaboração do trabalho, com aprovação do Comitê de Ética, foram selecionados 15 voluntários, saudáveis, misturados entre homens e mulheres, de 19 a 30 anos. Todos os indivíduos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Paulista (parecer nº 3.287.504).

Os mesmos foram submetidos à venopunção e posteriormente as amostras de sangue obtidas foram imediatamente centrifugadas na centrífuga Kasvi – K14-0815C. Os protocolos utilizados foram: PRP (1300 rpm, 5 min), i-PRF₁ (1300 rpm, 5 min), i-PRF₂ (550 rpm, 5 min), i-PRF₃ (550 rpm, 3 min). Para a realização dos protocolos de PRP, os sangues foram coletados em tubo de vácuo contendo citrato de sódio. As amostras para os protocolos de PRF foram coletadas em tubo de vácuo sem aditivo. Os tubos contendo anticoagulante ETDA foram utilizados para a coleta das amostras controle. Todos os materiais obtidos estavam líquidos, sendo o método adotado para posterior contagem do número de plaquetas.

Após a realização dos protocolos, os tubos coletados foram conservados em água resfriadas com gelo e levados para contagem de plaquetas e leucócitos em aparelho específico do laboratório de análises clínicas (Couter LH 750 Andaluzas). Para a contagem de células, os materiais foram coletados para em locais distintos da coluna de plasma, próximos (F) e distantes (C) do buffy coat como mostrado na figura 1 abaixo.

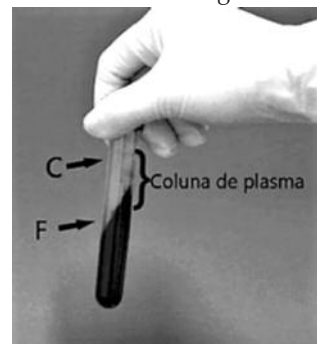


Figura 1. Coluna de plasma obtida após centrifugação, com indicações dos locais onde foram coletadas as amostras F e C. Fonte: Arquivo pessoal

Todas as amostras, depois de centrifugadas, foram transportadas em caixa de isopor com gelo, para o laboratório SM, localizado em Jaguariúna, onde foi realizada a contagem de plaquetas e leucócitos de todos os materiais no aparelho Coulter LH 750 Analyzer.

Análise estatística

Todos os dados passaram no teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov test). Foi aplicado o teste t de student não pareado para se obter os valores de p das comparações entre as concentrações de plaquetas e leucócitos obtidas em cada material, sendo considerado significativos os valores com $p < 0,05$.

Também foram realizados a média, intervalo de confiança considerando 95%, o desvio padrão, para testes com mais de duas variáveis foi aplicado o método de ANOVA. Todas as análises foram feitas no software Graph Pad Prism 8, inclusive a plotagem de gráficos comparativos.

Resultados

Os resultados desse trabalho mostram que existem diferenças na quantidade de células dependendo do protocolo aplicado às amostras. Como pode ser observado no gráfico 1, que apresenta as concentrações de plaquetas de todos os protocolos testados, as amostras que foram centrifugadas a 1300 rpm por 5 minutos para a obtenção de PRF apresentaram maior concentração de plaquetas na dosagem do material coletado próximo da camada de leucócitos ($507.143/\mu\text{l} \pm 81.538$). O PRF centrifugado a 1300 rpm por 5 minutos dosado no material coletado distante da camada de leucócitos mostrou a menor concentração de plaquetas ($224.000/\mu\text{l} \pm 36.806$).

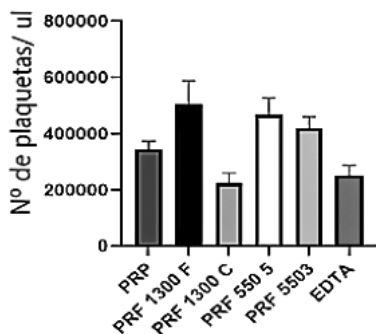


Gráfico 1. Concentração de plaquetas em todos os tipos de materiais e controle analisados nesse trabalho. Os resultados representam a média ± SD da concentração de plaquetas obtidas nos experimentos realizados com o Plasma rico em plaqueta (PRP), o Plasma rico em fibrina (PRF) e no EDTA (amostra controle)

Os gráficos 2 (a, b e c) mostram as comparações das concentrações de plaquetas entre os protocolos de obtenção de PRP e PRF (1300 rpm e 550 rpm por 5 min) e o controle (sangue total). Pode-se observar que todos os grupos apresentaram maior concentração de plaquetas do que o controle. O grupo PRF 1300 F apresentou concentração de plaquetas de $507.143/\mu\text{l} \pm 81.538$, enquanto o controle mostrou $255.167/\mu\text{l} \pm 32.443$ plaquetas, o PRF 550 5 também apresentou valores significativos de plaquetas ($471.000/\mu\text{l} \pm 56.292$) em relação ao controle. Os valores de plaquetas encontradas no PRP ($345.143/\mu\text{l} \pm 29.374$) não foram significativos em relação à amostra controle.

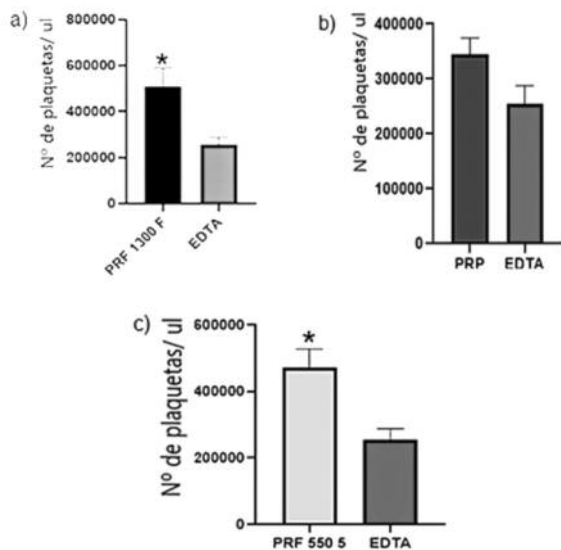


Gráfico 2. Comparação da quantidade de plaquetas de PRF 1300 rpm (gráfico 2a), de PRP (gráfico 2b) e de PRF 550 rpm por 5 min (gráfico 2c) com a quantidade de plaquetas das amostras controle. Os resultados representam a média ± SD da concentração de plaquetas obtidas nos experimentos realizados com o Plasma rico em plaqueta (PRP), o Plasma rico em fibrina dosado ao final do plasma (PRF 1300 F), o Plasma rico em Fibrina centrifugado a 550 rpm por 5 minutos (PRF 550 5) e no EDTA (amostra controle). * $p < 0.0001$ contra o grupo controle

O gráfico 3 apresenta a comparação entre a concentração de plaquetas do PRF centrifugado a 1300 rpm coletado próximo ao buffy coat (PRF 1300 F) e distante do buffy coat (PRF 1300 C). Observa-se que a amostra coletada próxima ao buffy coat obteve maior concentração de plaquetas ($507.143/\mu\text{l} \pm 81.538$) em relação a obtida distante do buffy coat ($224.000/\mu\text{l} \pm 36.806$), este resultado foi significativo ($p < 0.0001$).

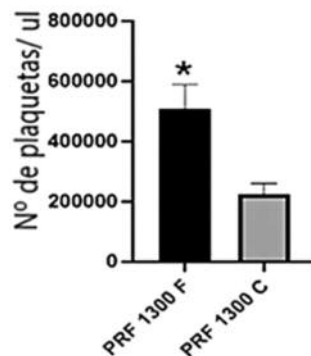


Gráfico 3. Comparação entre PRF 1300 rpm dosado perto da camada de leucócitos e PRF 1300 dosado na superfície. Os resultados representam a média ± SD da concentração de plaquetas obtidas nos experimentos realizados com o Plasma rico em fibrina dosado ao final do plasma (PRF 1300 F) e o Plasma rico em Fibrina dosado no começo do plasma (PRF 1300 C). * $p < 0.0001$ contra o grupo PRF 1300 C

O gráfico 4 apresenta a comparação do número de plaquetas entre o PRP e o PRF centrifugados a 1300 rpm e coletados próximos ao buffy coat. Nesse gráfico observa-se que o PRF 1300 F apresentou maior concentração de plaquetas ($507.143/\mu\text{l} \pm 81.538$) quando comparado ao PRP ($345.143/\mu\text{l} \pm 29.374$).

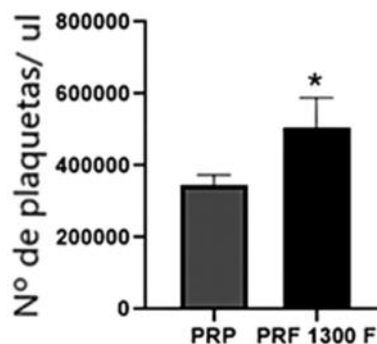


Gráfico 4. Comparação entre a concentração de plaquetas do PRP e do PRF 1300 rpm. Os resultados representam a média ± SD da concentração de plaquetas obtidas nos experimentos realizados com o Plasma rico em fibrina dosado ao final do plasma (PRF 1300 F) e o Plasma rico em plaquetas (PRP). * $p < 0.02$ contra o grupo PRP

O gráfico 5 apresenta as concentrações de leucócitos medidas nos materiais extraídos de todos os protocolos analisados. Dentre todos os materiais, foram encontradas as maiores concentrações de leucócitos no PRF centrifugado a 550 rpm por 5 minutos ($6.460/\mu\text{l} \pm 4.509$) e a menor concentração foi encontrado no PRP ($243/\mu\text{l} \pm 113$)

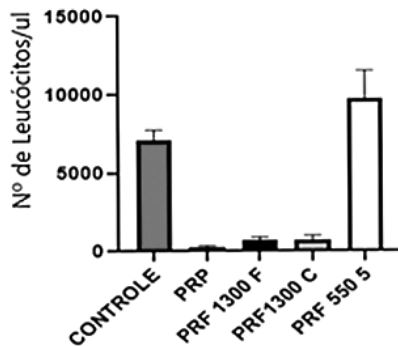


Gráfico 5. Concentração média de leucócitos obtidas em cada protocolo. Os resultados representam a média \pm SD da concentração de leucócitos obtidas experimentos realizados com o Plasma rico em plaqueta (PRP), o Plasma rico em fibrina (PRF) e no EDTA (amostra controle)

No gráfico 6 está representada a comparação das médias de concentração de leucócitos no PRP, no PRF centrifugado a 1300 rpm próximo ao buffy coat e distante do buffy coat, sendo que PRF 1300 C mostrou $628/\mu\text{l} \pm 354$ leucócitos enquanto o PRF 1300 F apresentou $1.047/\mu\text{l} \pm 533$ leucócitos. Ambos apresentaram valores significativamente maiores ($p < 0.02$) em relação ao PRP ($243/\mu\text{l} \pm 113$).

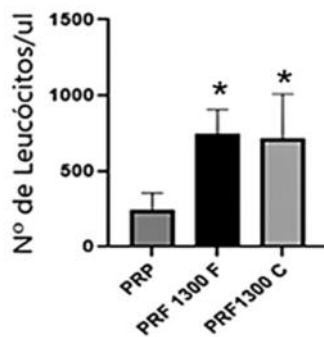


Gráfico 6. Comparações entre o PRP e o PRF centrifugado a 1300 rpm. Os resultados representam a média \pm SD da concentração de leucócitos obtidas experimentos realizados com o Plasma rico em fibrina dosado ao final do plasma (PRF 1300 F), o Plasma rico em fibrina dosado ao começo do plasma (PRF 1300 C), e no Plasma rico em plaqueta (PRP). * $p < 0.02$ contra o PRP

O gráfico 7 demonstra que os valores de leucócitos encontrados no PRF centrifugado por 5 minutos ($6.460/\mu\text{l} \pm 4.509$) são significativamente maiores que os encontrados no PRP ($243/\mu\text{l} \pm 113$), que obteve a menor concentração de leucócitos dentre todos os materiais testados.

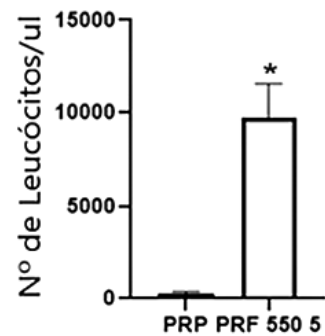


Gráfico 7. Comparação entre PRP e PRF centrifugado a 550 rpm. Os resultados representam a média \pm SD da concentração de leucócitos obtidas experimentos realizados com o Plasma rico em fibrina centrifugado a 550 rpm por 5 minutos (PRF 550 5) e no Plasma rico em plaqueta (PRP). * $p < 0.0001$ contra o PRP.

O gráfico 8 representa a comparação da concentração de leucócitos obtida entre os protocolos de PRF, sendo que dentre eles o que apresenta maior concentração de leucócitos foi o PRF centrifugado a 550 rpm por 5 minutos ($6.460/\mu\text{l} \pm 4.509$), enquanto o PRF 1300 F ($1.047/\mu\text{l} \pm 533$) e o PRF 1300 C ($628/\mu\text{l} \pm 354$) obtiveram menores concentrações celulares.

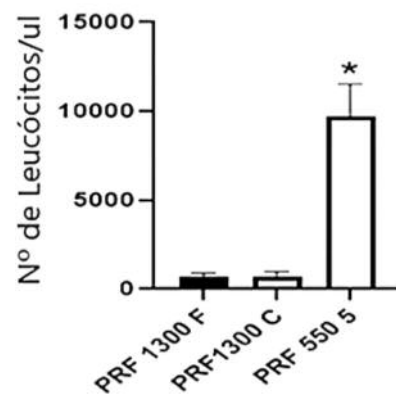


Gráfico 8. Comparação entre a concentração de leucócitos o PRF centrifugado a 1300 rpm e o PRF centrifugado a 550 rpm. Os resultados representam a média \pm SD da concentração de leucócitos obtidas experimentos realizados com o Plasma rico em fibrina dosado ao final do plasma (PRF 1300 F), o Plasma rico em fibrina dosado ao começo do plasma (PRF 1300 C), e no Plasma rico em fibrina centrifugado a 550 rpm por 5 minutos. * $p < 0.0001$ contra o PRF 1300 F e PRF 1300 C

Discussão

Vários protocolos foram desenvolvidos, ao longo dos anos, na tentativa de aprimorar a qualidade de obtenção dos agregados leucoplaquetários e também para diminuir os custos para que pudessem ser realizados em clínicas odontológicas e de estética. Segundo Messora et al²⁰, inicialmente a técnica era muito limitada, pois requeria um grande volume de sangue.

Dessa forma, diferentes protocolos utilizados nas áreas clínicas e estéticas foram testados no presente trabalho. Os resultados constataram que algumas condições são importantes para garantir a qualidade na obtenção dos agregados leucoplaquetários (PRP e PRF) para que sejam efetivos. De acordo com Anitua et al ²¹, os protocolos diferem-se entre si quanto a concentração de plaquetas e leucócitos, devido as variáveis como força de centrifugação, tempo de centrifugação, temperatura, tempo entre a coleta e centrifugação. Essas variáveis têm importante impacto na qualidade do bio-material obtido.

Por causa disso, é necessário otimizar a forma de coleta do material de modo que o tempo do procedimento seja o mais breve possível para assim garantir uma coleta segura, mas também rápida o suficiente para se obter um material de qualidade. Tostes et al ²² cita que se deve ter um rigoroso controle de qualidade do processo de coleta e de estocagem do material.

O gráfico 1 apresenta um panorama geral das médias de concentração de plaquetas obtidas nos protocolos testados nesse presente trabalho. Observou-se que a concentração de plaquetas aumenta em protocolos que utilizam baixas forças de centrifugação, esse resultado está de acordo com os achados de Choukroun e Ghanaati ²³, que relatou a influência da diminuição da força de centrifugação na concentração do conteúdo celular no material.

Nas análises dos gráficos 2a, 2b e 2c feitas entre a concentração de plaquetas dos agregados leucoplaquetários e o sangue total utilizado como amostra controle, observou-se que as amostras submetidas à velocidade de PRF 1300 rpm por 5 minutos e posteriormente coletada na face próxima ao "buffy coat" (F) apresentaram maior quantidade de plaquetas por microlitro de material (507.143/ul), esse resultado é respaldado pelo estudo de Giannini et al ²⁴, que afirmou que o PRF apresenta maiores concentrações de plaquetas e leucócitos em relação aos outros materiais, tais como PRP e sangue total. Ele acrescenta ainda que as plaquetas se concentram mais na coluna de plasma próxima ao "buffy coat", como mostrado pelos nossos resultados. Isso se deve à densidade celular diferencial entre as plaquetas, leucócitos e plasma. As plaquetas apresentam menor densidade que os leucócitos, porém são mais densas que o plasma, dessa forma, quando a força de centrifugação é aplicada, a distribuição se dá respeitando esse gradiente.

Os dados do gráfico 5 corroboram o conceito de distribuição de células dependente de densidade. No gráfico, é demonstrado que a concentração de plaquetas, ao longo do plasma, sofre variação significativas, sendo esperado que se obtenha menor quantidade da célula na superfície do plasma. Por esse motivo, este material chamado de Plasma pobre em plaquetas (PPP), e, em alguns casos, é um material descartado pela escassez celular, como sugerido por Giannini et al ²⁴ em seu estudo.

Nas comparações feitas entre o PRP e o PRF, que estão demonstradas no gráfico 6, observou-se que a concentração de plaquetas obtidas no PRF foi significativamente maior que a obtida no PRP ($p < 0.02$).

Esses dados estão de acordo com a literatura que sugere que os protocolos utilizados para obtenção do PRF são superiores aos de obtenção de PRP, uma vez que a presença de anticoagulante nos protocolos de obtenção de PRP apresenta algumas desvantagens, tais como atrapalhar a qualidade exclusivamente autóloga dos agregados leucoplaquetários, uma vez que o citrato usado como anticoagulante é um aditivo químico. Há relatos na literatura da influência do anticoagulante usado para obter o PRP, onde Jun Araki et al ²⁵ descreve também em seus resultados que PRP obtidos no tubo de citrato apresentam baixas concentrações de plaquetas. O processo de quelação do cálcio desempenhado pelo citrato impede a formação de qualquer rede de fibrina, diminuindo a concentração de plaquetas por falta de arcabouço celular ^{26, 27}.

As vantagens dos protocolos de obtenção de PRF sobre os de obtenção de PRP já são conhecidas na literatura, tanto que o PRF é chamado de segunda geração de agregados leucoplaquetários, nos estudos de Choukroun et al ²⁸.

Quanto à influência do tempo de centrifugação, não houve diferenças significativas entre o PRF centrifugado por 3 minutos e o PRF centrifugado por 5 minutos. Embora os trabalhos da literatura apontem que a diminuição da velocidade e do tempo de centrifugação colaboram para a formação de uma malha de fibrina menos densa ²⁹, os achados não mostram diferença entre os protocolos de PRF quando aplicadas as velocidades de 1300 rpm e 550 rpm por 5 ou 3 minutos. Pode-se supor que esses resultados se devem ao fato de termos trabalhado com material líquido, onde a formação de malha de fibrina é mínima.

Além da presença de plaquetas, a riqueza dos agregados leucoplaquetários se deve também à presença de fatores de crescimento e leucócitos no PRF e PRP. De acordo com Caruana et al ³⁰, os leucócitos nos agregados leucoplaquetários são essenciais para que o material seja eficaz. Os resultados apontam para a presença de leucócitos nos materiais obtidos. Observou-se maior concentração de leucócitos no material centrifugado com menor força de centrifugação e por menos tempo (Gráfico 7), esse resultado está de acordo com Choukroun e Ghanaati ²³, que observou o aumento da concentração de leucócitos conforme a força de centrifugação diminuiu.

Em resumo, os dados sugerem que existem várias opções de protocolos aplicados às áreas biomédicas, mas que os protocolos de PRF têm ganhado destaque pela qualidade e facilidade de obtenção, como também sugerido por grande parte dos estudiosos no assunto ^{25, 27, 30}.

Conclusão

Os resultados desse estudo puderam sugerir que há vários interferentes no processo de preparação dos agregados leucoplaquetários que podem causar a diminuição da concentração de células e impactar negativamente na qualidade do material obtido. O conhecimento desses interferentes traz uma vantagem ao profissional, uma vez que eles podem ser contornados e evitados se houver conhecimento técnico adequado do profissional que irá executar a técnica.

Quando obtidos de maneira correta, os agregados leucoplaquetários funcionam como uma potente ferramenta de regeneração tecidual e, por esse motivo, são amplamente aplicáveis às áreas clínicas e estéticas. Obter um material rico em plaquetas, leucócitos e fatores de crescimento obtido do próprio paciente traz ao clínico estímulo de reparo tecidual, defesa imunológica local e estímulo da síntese de tecido novo.

Os profissionais da biomedicina, devido às suas áreas de formação, estão entre os profissionais que possuem as características necessárias para a execução dos protocolos de forma adequada e podem figurar entre aqueles com competências para obter e analisar os agregados leucoplaquetários com eficiência.

Referências

1. Ehrenfest DMD, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, Ligaments Tendons J*. 2014;4(1):3.
2. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158-67.
3. Hersant B, La Padula S, SidAhmed-Mezi M, Rodriguez AM, Meningaud JP. Use of platelet-rich plasma (PRP) in microsurgery. *J Stomatol, Oral Maxillofac Surg*. 2017;118(4):236-7.
4. Vendramin F, Franco D, Franco T. Método de obtenção do gel de plasma rico em plaquetas autólogo. *Rev Bras Cir Plást*. 2009;24(2):212-8.
5. Bauer JA, Correa L, Lima FLM, Lima LAPA, Pustigliani FE. Efeitos do plasma rico em plaquetas no processo de reparação de feridas dérmicas padronizadas em ratos. *Periodontia*. 2009;19(3):98-108.
6. Akhundov K, Pietramaggiore G, Waselle SD, Guerid S, Scaletta C, Hirt-Burri N, et al. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. *Ann Burns Fire Disasters*. 2012;25(4):207.
7. Nagata MJ, Messoria MR, Furlaneto FA, Fucini SE, Bosco AF, Garcia VG, et al. Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits. *Eur J Dent*. 2010;4(4):395.
8. Vendramin F, Franco D, Schamall R, Franco T. Utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) autólogo em enxertos cutâneos em coelhos. *Rev Bras Cir Plást*. 2010;25(1):4-10.
9. Takamori ER, Teixeira MVT, Menezes K, Carias RBV, Borojevic R. Fibrina rica em plaquetas: preparo, definição da qualidade, uso clínico. *Rev Visa em Debate*. 2018;6(1).

10. Takamori Eea. Fibrina rica em plaquetas: preparo, definição da qualidade, uso clínico. *Vigilância Sanitária em Debate*. 2018;6:118-24.
11. Le AD, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Platelet-rich plasma. *Clini Sports Med*. 2019;38(1):17-44.
12. Ribeiro MVMR, Melo VF, Barbosa MEFC, Tozzi MUF, Ramos MSB, Gaia NMSRS, et al. O uso do concentrado de plaquetas na oftalmologia: uma revisão da literatura. *Rev Bras Oftalmol*. 2017;76(6).
13. Vendramin FS, Franco D, Nogueira CM, Pereira MS, Franco TR. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. *Rev Col Bras Cir*. 2018;33(1):24-8.
14. Martínez-Martínez A, Ruiz-Santiago F, García-Espinosa J. Platelet-rich plasma: Myth or reality? *Radiología*. 2018;60(6):465-75.
15. Ferracioli E. Avaliação das fibras colágenas de feridas dérmicas de coelhos tratadas com diferentes fontes de plasma rico em plaquetas [dissertação de mestrado]. Presidente Prudente - SP: Universidade do Oeste Paulista;2016.
16. Devreaux J, Nurgali K, Kiatos D, Sakkal S, Apostolopoulos V. Effects of platelet-rich plasma and platelet-poor plasma on human dermal fibroblasts. *Maturitas*. 2018;117:34-44.
17. Mendoza-Azpur G, Olaechea A, Padial-Molina M, Gutiérrez-Garrido L, O'Valle F, Mesa F, et al. Composite Alloplastic Biomaterial vs. Autologous Platelet-Rich Fibrin in Ridge Preservation. *J Clin Med*. 2019;8(2):223.
18. Aleixo GAS, Coelho MCOC, Teixeira MN, Mesquita EP, Oliveira FF, Zubieta LMV, et al. Comparação entre dois protocolos para obtenção de plasma rico em plaquetas, em cães. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2011;63(3):567-73.
19. Chahla J, Cinque M, Piuze NS, Mannava S, Geeslin AG, Murray IR, et al. A call for standardization in platelet-rich plasma preparation protocols and composition reporting: a systematic review of the clinical orthopaedic literature. *JBJS*. 2017;99(20):1769-79.
20. Messoria MR, Nagata MJH, Furlaneto FAC, Deliberador TM, Garcia VG, Bosco AF. Análise de um protocolo de única centrifugação para o preparo do plasma rico em plaquetas (PRP)-estudo em coelhos. *Rev Sul-Bras Odontol*. 2009;6(2):135-41.
21. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol*. 2006;24(5):227-34.
22. Tostes M, Tostes Jr S, Pereira GA, Soares S, Moraes-Souza H. Influência da coleta, da produção e da estocagem na qualidade dos concentrados de plaquetas. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2008;30(5):367-73.
23. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(1):87-95.
24. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, et al. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(6):927-30.
25. Araki J, Jona M, Eto H, Aoi N, Kato H, Suga H, et al. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma and non-coagulating platelet-derived factor concentrates: maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. *Tissue Eng Part C: Methods*. 2012;18(3):176-85.

26. Abd El Raouf M, Wang X, Miusi I, Chai J, Mohamed AbdEl-Aal AB, Nefissa Helmy MM, et al. Injectable-platelet rich fibrin using the low speed centrifugation concept improves cartilage regeneration when compared to platelet-rich plasma. *Platelets*. 2019;30(2):213-21.
27. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *J Periodontol*. 2017;88(1):112-21.
28. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard M-O, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation

platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Endod*. 2006;101(3):e56-e60.

29. Alves R, Grimalt R. A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification. *Skin Appendage Disord*. 2018;4(1):18-24.

30. Caruana A, Savina D, Macedo JP, Soares SC. From platelet rich plasma to advanced platelet-rich fibrin: Biological achievements and clinical advances in modern surgery. *Eur J Dent*. 2019;13(2):280-6. Doi: 10.1055/s-0039-1696585. Epub 2019 Sep 11.

Endereço para correspondência:

Gabrielle Testa
Rua Hermínio Poltronieri, 210 – Mauá
Jaguariúna – SP, 13912-114
Brasil

E-mail: gabrielle.testa11@gmail.com

Recebido em 27 de novembro de 2019
Aceito em 10 de dezembro de 2019