

NUOVI PRESIDI BIOLOGICI DI AUSILIO ALLE TECNICHE DI CHIRURGIA ORALE.

Società di Chirurgia Odontostomatologica (S.I.d.C.O.)

Gilberto Sammartino, Gaetano Marenzi, Susanna Annibali.

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	Pag. 3
2. CAPITOLO I	
Platelet Rich plasma (PRP).....	Pag. 11
Preparazione.....	Pag. 12
3. CAPITOLO II	
Platelet Rich Fibrin (PRF).....	Pag. 14
Distribuzione piastrinica nel PRF.....	Pag. 16
Caratteristiche immunitarie del PRF.....	Pag. 16
Applicazioni cliniche.....	Pag. 17
4. CAPITOLO III	
Differenze tra i vari concentrati piastrinici.....	Pag.20
PRP e PRF a confronto.....	Pag. 20
Differenze sulle modalità di polimerizzazione.....	Pag. 22
Differenze molecolari.....	Pag. 23
5. CAPITOLO IV	
Evoluzioni nell'utilizzo del PRF in Chirurgia Orale..	Pag. 24

Trattamento delle recessioni gengivali.....	Pag. 28
Utilizzo del PRF in chirurgia ricostruttiva.....	Pag. 30.
Prevenzione di complicanze emorragiche.....	Pag. 31
6. CONCLUSIONI.....	Pag.31.
BIBLIOGRAFIA.....	Pag.32.

Introduzione

I concentrati piastrinici sono prodotti autologhi ottenuti mediante una centrifugazione di un prelievo di sangue in grado di riunire piastrine, fibrina e talvolta leucociti e di convertirli in una forma clinicamente utilizzabile (Langer & Gawaz 2008; Stellos & Kopf 2010). Oggi le piastrine oltre essere uno dei principali mediatori dell'emostasi, sono considerate di notevole importanza nella rigenerazione tissutale. Ciò è legato al loro ricco apporto di fattori di crescita in grado di promuovere la riparazione dei tessuti e influenzare la reattività delle cellule ematiche e vascolari durante l'angiogenesi e il processo infiammatorio ((Langer & Gawaz 2008; Stellos & Kopf 2010; Intini 2009). Le piastrine sono cellule anucleate presenti nel sangue circolante alla concentrazione di 150000-400000/mm³ ed hanno una vita media di circa 7 giorni. Sono prodotte nel midollo osseo a partire dalla frammentazione dei megacariociti. Le piastrine sono costituite da un anello periferico (citoscheletro) di microtubuli contrattili, contengono all'interno strutture intracellulari che immagazzinano glicogeno, lisosomi e due tipi di granuli: i *granuli densi* ricchi di ADP, ATP, istamina, serotonina e calcio e i *granuli α* che immagazzinano fattori della coagulazione, fattori di crescita e proteine.

Come noto, la loro principale funzione risiede nell'emostasi primaria: esse intervengono nelle lesioni a carico della parete vasale regolando la formazione del coagulo di fibrina. Le piastrine oltre a consentire la formazione del coagulo di fibrina hanno un ruolo ben definito anche nel processo di rigenerazione tissutale, rilasciando dai granuli α , nella sede della lesione, i fattori di crescita (peptidi che promuovono la proliferazione, la differenziazione cellulare e la chemiotassi) (Werner 2003)(Tab. 1).

FGF	Stimola la proliferazione dei fibroblasti Chemiotassi degli osteoblasti Aumenta l'espressione di osteocalcina. Migliora la guarigione delle ferite
PDAF	Induce la vascolarizzazione e stimola le cellule endoteliali vascolari
PDEGF	Promuove la guarigione delle ferite stimolando la proliferazione dei cheratinociti e dei fibroblasti del derma
EGF	Stimola la proliferazione cellulare e il turnover della matrice extracellulare, la chemiotassi dei fibroblasti
PF-4	Promuove la chemiotassi delle cellule infiammatorie (neutrofili) e la migrazione e la mitosi delle cellule endoteliali
EGF	Stimola la proliferazione cellulare e la differenziazione delle cellule epiteliali

Tabella 1. Gli effetti dei fattori di crescita prodotti dalle piastrine □

La capacità delle piastrine di intervenire nei processi di riparazione dei vasi ha costituito il presupposto per il loro utilizzo anche nella rigenerazione di altri tessuti. □ I livelli dei fattori di crescita rilasciati dalle piastrine dopo l'attivazione sono stati comunemente quantificati attraverso il test ELISA immunoenzimatico (Van den Dolder & Mooren 2006; Eppley & Woodel 2004; Polasek & Richardson 1987). □ Le principali citochine e i principali fattori di crescita identificati e correlati anche alla rigenerazione ossea sono:

PDGF (Platelet-derived Growth Factor) sembra essere il primo dei fattori di crescita a comparire in una lesione. Promuove la rigenerazione del tessuto connettivo attraverso la sintesi di proteine e collagene (Raines & Ross 1985). □ PDGF è una glicoproteina con un peso molecolare di circa 30kD. Esistono tre isoforme, PDGF-AA, PDGF-BB e PDGF-AB (Ross & Raines 1986). L'effetto primario del PDGF nella rigenerazione ossea sembra essere quella di indurre l'attività mitogenica nelle cellule di origine mesodermica come i fibroblasti, le cellule muscolari vasali, le cellule gliali e i condrociti. Il PDGF inoltre richiama e attiva le cellule infiammatorie come neutrofili, monociti e fibroblasti e stimola la sintesi di ulteriori fattori di crescita (Alvarez & Kantarjian 2006). □ Il PDGF attiva la chemiotassi degli osteoblasti favorendo la guarigione delle fratture (Andrew & Hoyland 1995; Canalis 1981) □

TGF-β (Transforming Growth Factor-β) e fattori di crescita della stessa famiglia come le BMPs (Bone Morphogenetic Proteins) rivestono un ruolo importante nella divisione cellulare, differenziazione, migrazione, adesione, organizzazione e apoptosi (Massague & Gomis 2006). □ Nell'uomo, sono presenti tre sottotipi di TGF-β (Duke & Hansen 1988), ma TGF-β1 e TGF-β2 sembrano essere i più importanti in

riferimento alla riparazione e rigenerazione del tessuto connettivo e osseo. TGF- β può inibire la formazione di osteoclasti e la sintesi delle proteasi, promuove la differenziazione degli osteoblasti e la sintesi della matrice osteoide determinando così un rapporto neo apposizione ossea / riassorbimento osseo positivo e favorevole (Oates & Rouse 1993; Wrana & Macho 1988; Bonewald & Mundy 1990; Mohan & Baylink 1991).

IGF-I (Insulin Growth Factor) stimola gli osteoblasti. È stato dimostrato che IGF-I aumenta il turnover osseo in pazienti con scarsa densità ossea (Trippel 1998; Conover 2000; Canalis 1980.) □

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) è il principale regolatore della vasculogenesi e angiogenesi. Riveste, inoltre, un ruolo importante nella rigenerazione del tessuto osseo (Gale & Yancopoulos 1999).

CTGF (Connective Tissue Growth Factor). Le piastrine aderiscono al CTGF nei siti lesionati dove risulta essere in sovra espressione durante il processo di coagulazione piastrinica. E' stato dimostrato che le piastrine non attivate contengono una quantità considerevole di CTGF e che una volta rilasciato promuove l'attività angiogenetica, la rigenerazione cartilaginea e la fibrosi (Kubota & Kawata 2004). Alcuni autori hanno dimostrato che il CTGF è espresso nelle cellule del midollo osseo, ma non nei megacariociti. Ciò suggerisce che la quantità totale di CTGF nelle piastrine è il risultato di endocitosi condotte dall'ambiente extracellulare del midollo osseo (Cicha & Garlich 2004).

Oltre alle piastrine, anche i leucociti rivestono un ruolo attivo nella guarigione dei tessuti. In particolare rilasciano citochine infiammatorie e fattori di crescita nel sito della lesione. I macrofagi producono collagenasi inducendo il rimodellamento della ferita, rilasciano transforming growth

factor (TGF) stimolando la proliferazione dei cheratinociti, interleukin-1 (IL-1), fibroblast growth factor (FGF) e tumor necrosis factor (TNF) attivando i fibroblasti a produrre collagene e accelerando l'angiogenesi. I granulociti e i macrofagi sono coinvolti nella sintesi di mediatori infiammatori come il leucotriene B4 e il platelet activating factor (PAF), i quali aumentano la permeabilità dei vasi sanguigni e stimolano la produzione di citochine infiammatorie ed enzimi proteolitici. Questi fattori agiscono sulle cellule endoteliali dei vasi sanguigni, provocando l'adesione dei neutrofili e dei linfociti e la loro diapedesi, ossia la migrazione all'esterno del vaso (Ohki & Heissig 2005). Anche i linfociti producono fattori di crescita e contribuiscono al rimodellamento tissutale durante le fasi tardive del processo di guarigione. Secondo alcuni autori i linfociti T sono capaci di produrre insulin-like growth factor I (IGF-I) dopo l'attivazione e promuovono la guarigione delle ferite (Toulon & Breton 2009). □ Oltre al rilascio di fattori di crescita e citochine per la modulazione del processo infiammatorio, i globuli bianchi attendono alla loro primaria funzione immunitaria. Infatti i leucociti, specialmente i neutrofili, costituiscono una ricca risorsa non solo di fattori di crescita, ma anche di proteine antibatteriche naturali. I neutrofili rappresentano il tipo più comune di leucociti con forti proprietà fagocitiche e costituiscono la prima linea di difesa antibatterica. Il citoplasma dei neutrofili contiene numerosi granuli. I più importanti sono i *granuli primari* connessi al processo di distruzione batterica intracellulare poiché contengono numerosi fattori battericidi come difensine, catelicidine, serprocidina, BPI (Bactericidal/Permeability-Increasing Protein), mieloperossidasi e calprotectina citoplasmatica. I *granuli secondari* invece sono ricchi di proteine antibatteriche come lisozima, collagenasi, gelatinasi, lattoferrina, fosfolipasi A2, transcobalamina-1 e proteine di membrana (Levy & Sisson 2002). Negli ultimi anni, numerosi studi si

sono focalizzati sulle proprietà antimicrobiche dei leucociti in relazione alla presenza di peptidi naturali antibatterici. □ I peptidi antibatterici (HDP-Host Defense Peptides) sono prodotti dai macrofagi, cellule epiteliali, neutrofili e trombociti. Costituiscono parte degli elementi più importanti dell'immunità naturale dell'uomo. Queste proteine possiedono un ampio spettro di attività contro i batteri gram-positivi, gram-negativi, virus e miceti (Sima & Trebichavsky □ 2003). La loro attività è regolata dai recettori PRR (pathogen recognition receptors), mentre la loro produzione è regolata dai linfociti Th17 e dalle interleuchine IL-17, IL-22. La principale caratteristica delle proteine antibatteriche è la loro abilità nel distruggere la membrana cellulare microbica. Il meccanismo si basa sulla disintegrazione della membrana cellulare formando dei canali all'interno della stessa, la depolarizzazione e la frammentazione conducono alla morte cellulare. Nel caso di interazione con la membrana cellulare di batteri gram negativi, i peptidi antibatterici reagiscono con i lipopolisaccaridi, nel caso di batteri gram positivi interagiscono con i peptidoglicani e acido teicoico, sempre attraverso un legame di tipo polare (Hancock & Rozek 2002). Durante le fasi successive inducono la degranolazione dei mastociti e, quindi, il rilascio di istamina, vasodilatazione e chemiotassi dei neutrofili. I peptidi antibatterici inibiscono il processo di fibrinolisi e la distruzione tissutale bloccando l'attività delle proteasi batteriche, inoltre, aumentano la chemiotassi dei fibroblasti e la loro proliferazione, accelerando il processo di guarigione. Diversamente dagli antibiotici, che sono specificamente indirizzati verso costituenti particolari della cellula bersaglio, i peptidi antibatterici agiscono indifferentemente contro la membrana cellulare dei batteri, riducendo il rischio di sviluppare resistenza batterica e riducendo la citotossicità (Scott & Hancock 2000).

Alla luce di ciò, negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi con lo scopo di utilizzare “concentrati piastrinici” detti anche “gel piastrinici”, in differenti applicazioni cliniche che possono beneficiare di un rapido processo di rigenerazione tissutale, utilizzando le piastrine e, in secondo luogo, i leucociti come fonte autologa di fattori di crescita (Anitua & Andia 2004; Crovetto & Martinelli 2004; Rozman & Bolta 2007). L'uso del concentrato di piastrine autologo mira ad accelerare la riparazione delle ferite e a diminuire l'infiammazione legata al trauma. Ha inoltre lo scopo di stimolare la capacità rigenerativa del tessuto danneggiato evitando la produzione di tessuto di riparazione e di una cicatrice non funzionale. Vi sono numerosi studi che descrivono l'utilizzo dei concentrati piastrinici in ambito chirurgico (Anitua & Sánchez 2006), in Chirurgia Maxillo-Facciale e l'Odontoiatria (You & Choi 2007; Kang & Jeon 2010; Simonpieri & Del Corso 2012; Del Corso & Vervelle 2012), in Chirurgia ortopedica (Coetzee & Pomeroy 2005; Silva & Sampaio 2009) in Chirurgia Estetica (Braccini & Dohan 2007), in Oftalmologia (Noda & Hata 2004) in Medicina sportiva (Hall & Band 2009; Sánchez & Anitua 2009), in Dermatologia (Sclafani 2009) vi sono, inoltre, alcuni dati che forniscono l'evidenza di un possibile ruolo dei concentrati piastrinici anche nella rigenerazione nervosa (Cho & Jang 2010; Farrag & Lehar 2007). I concentrati piastrinici possono essere in forma di soluzione o di gel e possono essere iniettate o collocate in un sito chirurgico o una zona lesa, per favorire la rigenerazione dei tessuti danneggiati. Un gel autologo di fibrina è stato impiegato per la prima volta in Chirurgia Maxillo-Facciale nel 1994 da Tayapongsak che lo utilizzò come addensante del particolato osseo in una ricostruzione mandibolare (Tayapongsak & O'Brien 1994). Slater nel 1995 evidenziò come il preparato fibrina-piastrina potesse essere in grado di accelerare i processi osteogenetici (Slater & Patava 1995) . Whitman nel 1997 iniziò

ad impiegare il PRP nel posizionamento di impianti in siti post-estrattivi (Whitman & Berry 1997) e successivamente nel 2009 Marx ha valutato l'effetto del PRP nelle complesse ricostruzioni mandibolari. Choukroun nel 2006 fu il primo a impiegare clinicamente il PRF in ambito implantare (Dohan & Choukroun 2006).

La classificazione POSEIDO (Periodontology, Oral Surgery, Esthetic and Implant Dentistry Organization) raggruppa le preparazioni di concentrati piastrinici in quattro famiglie, in relazione al loro contenuto di cellule e fibrina (Dohan & Sammartino 2013) □ I concentrati piastrinici in stato liquido e prima dell'attivazione (con trombina, cloruro di calcio o altri agenti) sono denominati PRP (Platelet-Rich Plasma). Abbiamo quindi:

P-PRP (Pure Platelet Rich Plasma) senza leucociti; □

L-PRP (Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin) con leucociti. □ Le versioni attivate del P-PRP e L-PRP sono rispettivamente P-PRP gel e L-PRP gel. Dopo l'attivazione, queste preparazioni sono caratterizzate da una polimerizzazione incompleta di fibrinogeno e un'architettura finale di fibrina molto labile. □ Per quanto riguarda invece il PRF esistono solo due famiglie per definizione in forma di gel e sono: □

P-PRF (Pure Platelet-Rich Fibrin) senza leucociti; □

L-PRF (Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin) con leucociti. □

CAPITOLO I

Platelet Rich Plasma (PRP)

La logica su cui si basa l'utilizzo del Platelet Rich Plasma (PRP) in ambito riparativo/rigenerativo prevede la degranolazione degli α -granuli contenuti nelle piastrine. L'attiva secrezione dei granuli in cui sono stoccati i fattori di crescita incomincia circa 10' dopo l'inizio del processo di coagulazione del sangue; più del 95% dei fattori di crescita presintetizzati è secreto nel giro di un'ora, per questo motivo il PRP deve essere preparato da sangue intero anticoagulato e applicato sulle ferite entro 10' dalla formazione del coagulo. Appena il processo di coagulazione attiva le piastrine, gli α -granuli si fondono alla membrana cellulare piastrinica e i fattori di crescita in essi contenuti vengono resi bioattivi grazie all'aggiunta di istoni e di catene carbonio. I fattori di crescita appena rilasciati si legano attraverso recettori transmembrana alla membrana di cellule mesenchimali, osteoblasti, fibroblasti, cellule endoteliali e epidermiche inducendo l'attivazione di proteine segnale che causano espressione di una sequenza genica che porta a proliferazione cellulare, formazione di matrice, produzione di tessuto osteoide, sintesi di collagene. Le piastrine continuano a sintetizzare e secernere fattori di crescita per ulteriori 7 giorni, al termine dei quali vengono fagocitate dai macrofagi giunti in questa regione grazie alla neoangiogenesi stimolata proprio dalle piastrine stesse. Il numero di piastrine presenti nel coagulo condiziona il grado di guarigione tissutale; è stato dimostrato che la proliferazione e differenziazione di cellule staminali mesenchimali è direttamente correlata alla loro concentrazione (Kadereit & Deeds 2002). Si pensa anche che il PRP acceleri la guarigione di tessuti molli promuovendo una più rapida neovascolarizzazione e riepitelizzazione dei flaps

ottenuti in seguito all'incisione chirurgica (Anitua & Bozzi 2001). La validità del PRP è stata maggiormente correlata alla guarigione di tessuti molli piuttosto che di quelli duri perché le piastrine non contengono BMP (proteine morfogenetiche dell'osso) e non sono osteoinduttive. È da tener tuttavia presente che un'accelerazione del processo di osteosintesi possa essere giustificato dalla sensibilità mostrata al PRP sia dagli osteoblasti e sia dalle cellule staminali mesenchimali che conducono alla formazione di osteoblasti. Nel 2009 Marx sosteneva che la validità del PRP fosse dovuta alla sua provata efficacia, alla sua sicurezza, al suo costo limitato, alla semplicità nella preparazione (Marx 2009).

Preparazione

Il Plasma Ricco di Piastrine si ottiene mediante due centrifugazioni di sangue. L'attivazione del processo di rilascio di fattori di crescita dalle piastrine si ottiene mediante l'aggiunta di calcio e trombina bovina in grado di attivare l'ultima fase della cascata della coagulazione. E' possibile seguire 2 protocolli (Dohan & Choukroun 2006; Sunitha & Munirathnam 2008)

1. *General-purpose cell separation*: occorrono 450 ml di sangue riposto in una borsa di raccolta con citrato - fosfato - destrosio (anticoagulanti). Una prima centrifugazione a 5600 rpm separa il sangue in 3 strati in base alla massa dei differenti componenti: il più profondo costituito dalle emazie (RBCs) forma il 45% del totale, uno strato intermedio formato dalle cellule della serie bianca detto *buffy coat* che forma l'1% del totale ed uno strato superficiale o supernatante di colore giallastro costituito dal plasma acellulare (definito PPP, platelet-poor plasma) che forma il 54% del totale. Gli eritrociti sono poi scartati e la seconda centrifugazione alla velocità a 2400 rpm è realizzata solo con il plasma acellulare e il buffy coat. La sospensione liquida finale di piastrine è definita PRP (Platelet-Rich Plasma) in medicina trasfusionale; questo termine è stato utilizzato per raggruppare molteplici famiglie di concentrati piastrinici ad

uso chirurgico (Kubo & Van de Water 2001).

2. *Platelet-concentrating cell separators*: la metodica precedente è stata nel tempo semplificata e la quantità di prelievo di sangue si è ridotta a circa 60 ml. Anche con questa procedura per ottenere il concentrato piastrinico si eseguono due centrifugazioni; con la prima si ottiene un prodotto intermedio, il “Plasma Ricco di Piastrine”, con la seconda il “Concentrato Piastrinico”. Ai circa 54 ml di sangue prelevato al paziente vengono aggiunti 6 ml di citrato di sodio, per evitarne la coagulazione. Il sangue venoso viene riposto in provette con gli anticoagulanti per evitare l’attivazione piastrinica e la loro degranolazione. La prima centrifuga (soft spin) separa il sangue in 3 strati, procedendo dal basso verso l’alto (Dohan & Choukroun, 2006): RBCs (55% di volume); PRP (5% del volume) e PPP (40% del volume). Con una siringa sterile vengono trasferiti i PPP, PRP e poco RBCs in un’altra provetta con anticoagulante. Questa viene sottoposta ad una seconda centrifugazione (hard spin), più veloce e più prolungata (13’) così che le piastrine possono posizionarsi sul fondo della provetta con poco RBCs. Il PPP (80% del volume), posto superiormente, viene rimosso con una siringa e il PRP rimanente viene attivato con Botropase, farmaco ad azione coagulante, e calcio cloruro. □ Dopo l’attivazione il concentrato piastrinico diventa gel piastrinico che rispetto la conta basale piastrinica iniziale presenta un aumento del 358% di piastrine.

CAPITOLO II

Platelet Rich Fibrin (PRF)

La fibrina ricca di piastrine (PRF) rientra in una nuova generazione di concentrati piastrinici, che derivano da una preparazione alquanto semplificata e priva di alcuna manipolazione biochimica del sangue prelevato.

Il PRF è stato ideato da Choukroun al fine di essere utilizzato specificamente in Chirurgia Orale e Maxillo-Facciale (Choukroun & Diss 2006). Questa tecnica in fase di preparazione esclude l'uso di anticoagulanti e di trombina di origine bovina o di qualsiasi altro tipo di agente gelificante. Il protocollo di preparazione differisce da quello del PRP in quanto richiede una sola centrifugazione del sangue prelevato. Il sangue (solo 10 ml) viene posto in provette senza coagulanti e centrifugato a 2700 rpm per 10 minuti. L'assenza di anticoagulante e il contatto delle piastrine con la provetta determina una rapida attivazione di queste ultime e quindi delle ultime fasi della coagulazione.

Fisiologicamente il fibrinogeno viene convertito in fibrina in presenza di: trombina, di fattore XIII, di fibronectina e di ioni calcio (fase finale della coagulazione). Successivamente alla centrifugazione il fibrinogeno è inizialmente concentrato nella parte più alta della provetta, ma in seguito al contatto con la trombina (normalmente presente), viene trasformato in fibrina disponendosi nella porzione centrale della provetta, quindi tra la fase corpuscolata (RBC_s), depositata sul fondo ed il plasma acellulare (PPP) disposto nella parte più alta (Fig.1).

Le piastrine quindi tendono a rimanere intrappolate tra le maglie di fibrina disposta nello strato intermedio.

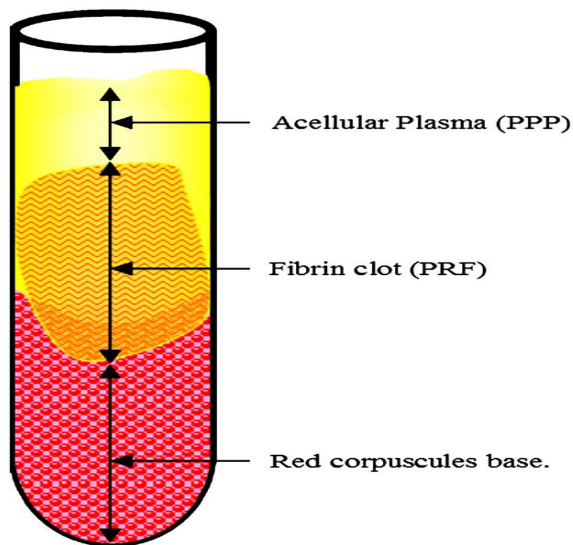


Fig. 1

Mediante l'impiego di forbici lo strato di (PRF) di colore giallo viene separato dallo strato inferiore rosso, ricco di emazie.

Il PRF ottenuto può essere compresso tra due garze sterili creando una membrana molle-elastica di circa 3cm x 1.5 cm (Dohan & Choukroun, 2006) (Fig. 2).

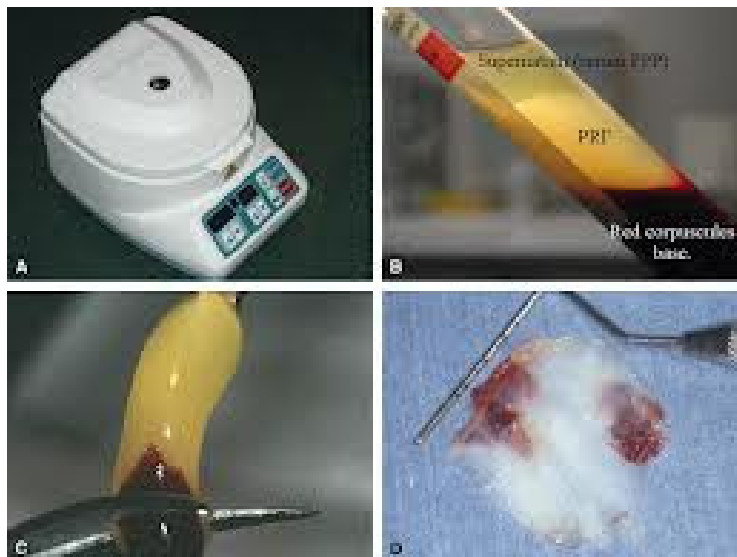


Fig. 2 (A) Kit centrifuga PC-02. (B) PRF in provetta dopo singola centrifugazione, compreso tra PPP e trombo rosso. (C) Separazione del gel di fibrina dai globuli rossi includendo anche la porzione di buffy coat (D) Membrana di PRF.

Distribuzione piastrinica nel PRF

Alcune analisi istologiche hanno valutato la distribuzione delle piastrine nei vari strati del tubo di raccolta sottoposto a centrifuga (Dohan & Choukroun 2006).

Le piastrine tendono ad accumularsi soprattutto nella parte inferiore del coagulo di fibrina nel punto di giunzione tra i globuli rossi (trombo rosso) e lo stesso coagulo di PRF.

E' interessante notare che la matrice di PRF raccoglie inoltre glicosaminoglicani (eparina e acido ialuronico) dal sangue e dalle piastrine. Il loro aspetto istologico, dopo una colorazione di Alcian Blu, segue l'architettura fibrillare della fibrina infatti attraverso collegamenti gliconici sono in grado di incorporarsi nei polimeri di fibrina. I glicosaminoglicani, oltre ad interagire con le citochine piastriniche, sono in grado di supportare la migrazione delle cellule ed il processo di guarigione (Dohan & Choukroun, 2006)

Caratteristiche immunitarie del PRF

Nel PRF è stato identificato un cospicuo numero di leucociti, questo potrebbe spiegare la riduzione di processi infettivi post-operatori quando il PRF è stato utilizzato come additivo chirurgico. Durante l'elaborazione del PRF, i leucociti contenuti al suo interno possono secernere numerose citochine in reazione ai fenomeni emostatici ed infiammatori indotti artificialmente nella provetta sottoposta a centrifuga. E' possibile individuare e quantificare cinque mediatori cellulari all'interno del plasma povero di piastrine e siero essudato di coagulo PRF.

- tre citochine pro infiammatorie (IL-1 β , IL-6, TNF- α)
- una citochina antinfiammatoria (IL-4)
- un fattore di crescita chiave dell'angiogenesi (VEGF).

Così come le piastrine, queste citochine leucocitarie vengono intrappolate nelle maglie di fibrina e lentamente rilasciate. (Dohan & Choukroun, 2006; Bucci Sabattini 1999)

Applicazioni cliniche

Il PRF è un concentrato che raccoglie cellule del sistema immunitario e piastrine immerse in una matrice fibrinica. Sebbene piastrine, leucociti e citochine svolgano un ruolo importante nella biologia di questo biomateriale, la matrice di fibrina che li supporta costituisce l'elemento determinante del reale potenziale terapeutico di PRF. Tutte le applicazioni cliniche conosciute di PRF evidenziano un'accelerata cicatrizzazione dei tessuti per lo sviluppo di un'efficace neovascolarizzazione, accelerando la chiusura delle ferite con un veloce rimodellamento cicatriziale dei tessuti e con la quasi totale assenza di eventi infettivi. Per determinare i potenziali campi di applicazione di questo biomateriale bisogna ragionare su quattro eventi fondamentali della cicatrizzazione (guarigione): angiogenesi; controllo immunitario; cattura delle cellule staminali circolanti; riepitelizzazione. Le membrane di PRF sono in grado di sostenere tutte queste fasi. Esse, inoltre, possono essere utilizzate per tutti i tipi di guarigione superficiale (cutanea e mucosa).

- **ANGIOGENESI**

Consiste nella formazione di nuovi vasi sanguigni all'interno della ferita. Richiede una matrice per consentire la migrazione, la divisione ed il cambiamento fenotipico delle cellule endoteliali. È stato dimostrato che la matrice di fibrina ha proprietà angiogenetiche per la struttura tridimensionale del gel di fibrina e per l'azione simultanea delle citochine intrappolate nelle sue maglie. I fattori di crescita solubili principali implicati nell'angiogenesi sono:
-FGFB (Fibroblast growth factor basic) prodotto da macrofagi e cellule endoteliali danneggiate;

-VEGF (Vascular endothelial growth factor) prodotto da cheratinociti e macrofagi;

-PDGF (Platelet-derived growth factor) prodotto dalle piastrine.

Tali fattori sono inclusi nel gel di fibrina.

Alcuni studi indicano che FGF e PDGF si legano alla fibrina con elevata affinità; ciò spiegherebbe l'induzione angiogenetica della fibrina.

Una fase importante dell'angiogenesi è l'espressione dell'integrina α -v β 3 da parte delle cellule endoteliali. Ciò permette il legame alla fibrina, fibronectina e vitronectina. Un aspetto importante, supportato da studi condotti utilizzando cellule endoteliali umane, è che la fibrina stessa induce l'espressione dell'integrina α -v β 3 da parte delle cellule endoteliali stesse.

- IMMUNITÀ'

La fibrina e i prodotti di degradazione del fibrinogeno (FDP) stimolano la migrazione dei neutrofilii ed aumentano l'espressione di membrana del recettore CD11C/CD18. Quest'ultimo permette la tras migrazione dei neutrofilii e l'adesione di questi all'endotelio ed al fibrinogeno. Inoltre la fagocitosi dei neutrofilii e il processo di degradazione enzimatica sono modulati dal FDP. I monociti arrivano al sito dell'adesione in una fase successiva rispetto ai neutrofilii. E' stato inoltre dimostrato che la colonizzazione della ferita da parte dei macrofagi è controllata dalla fibronectina tramite le proprietà chimiche e fisiche della fibrina e dagli agenti chemiotattici intrappolati nelle sue maglie.

- RIEPITELIZZAZIONE

La matrice di fibrina guida la copertura dei tessuti lesi agendo sul metabolismo delle cellule epiteliali e dei fibroblasti. Le cellule epiteliali perdono la loro polarità basale ed apicale ed in compenso producono estensioni basali e laterali verso il lato della ferita. Le cellule, in seguito, migrano sulla matrice transitoria costituita da fibrinogeno, fibronectina, tenascina e vitronectina.

Fibrina, fibronectina, PDGF e fattori di crescita trasformante (TGF- β) sono essenziali per modulare l'espressione delle integrine, la proliferazione dei

fibroblasti e la loro migrazione all'interno della ferita. Grazie all'espressione dei due attivatori di plasminogeno, i fibroblasti sviluppano un'importante attività proteolitica per spostarsi all'interno del coagulo di fibrina. In seguito alla migrazione e la degradazione di fibrina, i fibroblasti iniziano la sintesi del collagene.

- **ANGIOGENESI ED IMPIEGO DELLE CELLULE STAMINALI**

Durante ogni fenomeno dell'emostasi e della guarigione, il coagulo di fibrina intrappola le cellule staminali circolanti portate al sito di ferita grazie alla neovascolarizzazione. Le cellule staminali, una volta posizionate all'interno della matrice di fibrina, supportano i processi angiogenetici. Questa capacità può essere importante in caso di ampi difetti ossei. Infatti la guarigione richiede l'accumulo di cellule staminali a livello midollare e la loro conversione fenotipica in osteoblasti.

CAPITOLO III

Differenze tra i vari concentrati piastrinici

E' possibile effettuare un'analisi comparativa degli emoderivati considerati finora, andando a valutare le peculiarità, le diversità nella composizione e quindi di impiego in ambito clinico e la differente predicibilità nei risultati.

PRP e PRF a confronto

Il PRP è stato sostituito nella pratica clinica per una serie di motivi:

- Il protocollo di applicazione è indaginoso e costoso;
- L'elevate quantità di sangue da prelevare

Il PPP rimanente generalmente viene rimosso dalle provette dopo centrifugazione anche se potrebbe essere utilizzato come membrana di protezione della ferita chirurgica. La quantità di prodotto ottenuto (PRP) è pari a 0,6 - 0,7 ml per ogni 8 ml di sangue prelevato costringendo ad un prelievo ematico di circa 450 ml di sangue anche a soggetti con patologie ematiche o cardiovascolari (Dohan & Choukroun, 2006). L'attivazione del PRP con trombina eterologa può indurre la formazione di anticorpi anti-trombina (rischio modesto). Inoltre, secondo studi di Sunitha (Sunitha & Munirathnam 2008), il PRP può portare allo sviluppo di anticorpi per i fattori V e XI della coagulazione (Sunitha & Garg 2003).

La manipolazione del preparato di centrifugazione induce importanti problematiche medico-legali nella preparazione di questo prodotto da parte dell'odontoiatra infatti, al momento dell'applicazione, al PRP viene aggiunta una quantità uguale di soluzione contenente cloruro di calcio al 10% (un inibitore del citrato per favorire la coagulazione) e 100 U/ml di trombina di origine bovina, un attivatore che permette la polimerizzazione della fibrina in un

gel insolubile, che determina la degranulazione piastrinica con rilascio di Growth Factor (GF)(Dohan & Choukroun, 2006).

Ovviamente queste procedure fanno del PRP un prodotto di manipolazione ematica e non un semplice emoderivato.

Il PRP è stato per lungo tempo utilizzato offrendo anche una certa predicibilità di risultato sia in chirurgia orale sotto forma di gel che in chirurgia parodontale sotto forma di membrane.

In quest' ultimo caso, poiché le membrane sono facilmente riassorbibili, non possono garantire un'adeguato effetto barriera contro l'invasione del sito da parte di cellule epiteliali. In questi casi si può prevedere l'utilizzo di membrane riassorbibili solo imbevute di PRP. In chirurgia orale il PRP può essere utilizzato per la correzione di difetti ossei in seguito al posizionamento di impianti (Dohan & Choukroun, 2006; Bucci Sabattini 1999).

Alcuni autori (Sánchez & Sheridan 2003; Dohan & Choukroun 2006) hanno rilevato mediante test di ELISA che i GF (PDGF e TGF), contenuti nel PRP e nel PRF, siano comparabili; tuttavia il PRF è un prodotto privo di manipolazione biochimica, che lo rende un emostatico naturale di facile preparazione ed applicazione (Kubo & Van De Water 2001).

Per quanto concerne il PRF, questo biomateriale deriva da una preparazione semplificata rispetto al PRP, senza manipolazione biochimica del sangue. La tecnica di preparazione infatti non richiede l'aggiunta né di anticoagulanti né di trombina di origine bovina (o qualunque altro agente gelificante) ponendo minori problematiche medico-legali (Dohan & Choukroun, 2006)

La sua produzione risulta essere pratica e poco costosa pertanto l'uso del PRF può considerarsi realizzabile anche in pazienti sottoposti a terapia anticoagulante di paesi in via di sviluppo (rispetto alla colla di fibrina sicuramente più costosa). I vantaggi possono essere anche di natura meccanica in quanto, rispetto ad altri materiali di derivazione ematica, il PRF è in grado di assicurare membrane di consistenza tale da essere anche suturabili. Il PRF

presenta anche delle caratteristiche strutturali tali da favorire una proliferazione osteoblastica superiore a quella indotta dal PRP (Sanchez & Sheridan, 2003). Anche la struttura della fibrina, presentandosi simile a quella che fisiologicamente si sviluppa durante la coagulazione, con concentrazioni fisiologiche di trombina, si presenta di buona qualità e flessibile (giunzioni equilaterali tra le fibrille di fibrina) quindi capace di favorire l'intrappolamento delle citochine e di glucosaminoglicani, come l'eparina e l'acido ialuronico. Inoltre, nel PRF abbiamo una maggiore attivazione leucocitaria rispetto al PRP. Questo si traduce in un incremento della degranulazione leucocitaria, permettendo una maggiore liberazione di interleuchine infiammatorie e una maggiore attivazione del processo di guarigione (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-2, IL-4) (Dohan & Choukroun, 2006).

Differenze sulle modalità di polimerizzazione

Nelle fasi di polimerizzazione del PRF, la trombina ha un ruolo importante, in quanto le sue concentrazioni influenzano notevolmente l'organizzazione tridimensionale della rete di fibrina durante la gelificazione.

Nel PRF, poiché la trombina è presente in concentrazioni fisiologiche, il processo di gelificazione procederà in maniera lenta permettendo alle fibrille di fibrina di assemblarsi in modo più fisiologico mediante congiunzioni trimolecolari connesse (o equilaterale) (fig. 3). La struttura risulta molto flessibile e permette l'intrappolamento delle citochine e la migrazione cellulare (Dohan & Choukroun, 2006; Gaultier & Navarro 2004)

Il PRP e il PRGF, come sappiamo hanno la necessità di un'attivazione con trombina di origine bovina e cloruro di calcio per dare inizio all'ultima fase della coagulazione e alla polimerizzazione della fibrina. Questi 2 additivi influenzano la velocità (aumentandola) e le modalità di gelificazione della matrice di fibrina (Dohan & Choukroun, 2006; Dohan & Donsimoni 2003:

Dohan & Bielecki 2012). Concentrazioni elevate di trombina determinano l'ispessimento dei polimeri di fibrina e la costituzione di un' architettura tridimensionale costituita da congiunzioni tetra molecolari condensate (o bilaterali) (fig. 4). La trama fibrillare pertanto risulterà molto rigida sfavorendo l'intrappolamento di citochine e la migrazione cellulare rispetto al PRP. Tale rigidità può solo favorire la sigillatura dei tessuti biologici (Bucci Sabattini 1999).



Fig. 3 Condensazione trimolecolare o equilaterale presente nel PRF

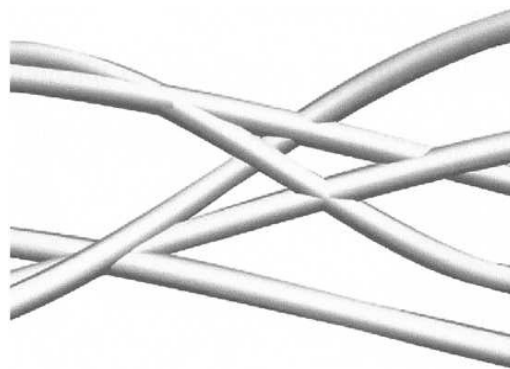


Fig. 4 Condensazione tetramolecolare o bilaterale presente nel PRF o PRGF

Differenze molecolari tra PRP e PRF

Il PRP e il PRF presentano differenze nel loro comportamento biologico molecolare che si ripercuote sulle capacità cliniche di rigenerazione ossea e riparazione delle ferite (Ling & Ye 2009). Alcuni studi suggeriscono che il PRP sia in grado di mediare solo i fenomeni precoci del processo di riparazione ossea tramite meccanismi osteopromotori (Schlegel & Donath 2004; Thorwarth & Rupprecht 2005). Tale caratteristica deriverebbe dalla breve durata del rilascio di fattori di crescita. L'attivazione del PRP da parte della trombina causa l'81% del rilascio totale di TGF- β 1 e simili livelli di PDGF-AB durante le prime 24 ore dalla sua attivazione. Questo effetto causerebbe un impoverimento nel PRP dei fattori di crescita necessari al processo ripartivo nelle fasi tardive (Tsay & Vo 2005). Tsay et al. hanno suggerito che un prolungato rilascio di

fattori di crescita può facilitare e migliorare il processo di riparazione ossea (Tsay & Vo 2005). Altri Autori riportano inoltre che l'alta concentrazione di trombina (42 UI/ml) impedisce la migrazione cellulare durante la riparazione ossea, dunque un minore effetto del PRP su tale processo (Karp & Sarraf 2004). La ragione principale del minor effetto del PRP (rispetto al PRF) sulla rigenerazione ossea è quindi che l'alta concentrazione di trombina (usata per l'attivazione del concentrato piastrinico) induce un rapido rilascio di fattori di crescita. Questo rilascio avverrebbe, dunque, prima della migrazione degli osteoblasti dai tessuti circostanti verso il sito di interesse lasciando una disponibilità di fattori minore a disposizione degli osteoblasti accorrenti (Lacoste & Martineau 2003).

Il PRF deriva da una naturale, lenta e progressiva polimerizzazione che avviene durante la centrifugazione che può incrementare l'incorporazione delle citochine circolanti nella mesh di fibrina. È ipotizzabile che molecole solubili come il PDGF e TGF β -1 possano essere intrappolate nella mesh di fibrina del PRF e che possano essere rilasciate gradatamente per avere un effetto controllato e relativamente lento (Dohan & Choukroun 2006). Tale ipotesi al momento trova pochi riscontri scientifici e necessità di ulteriori studi per essere confermata.

CAPITOLO IV

Evoluzioni nell'uso del PRF in Chirurgia Orale

Studi nell'ambito della biologia cellulare hanno evidenziato la presenza, all'interno degli alfa-granuli endopiastrinici, di notevoli quantità di fattori di crescita: il PDGF (Platelet derived growth factor), il TGF (Transforming growth factor), l'IGF (Insulin like growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), l'EGF (Epidermal growth factor) e altri fattori ematici protagonisti dei processi di rigenerazione tissutale. Il razionale del loro uso clinico è l'assunto che l'aumento in situ della loro concentrazione favorisca l'accelerazione dei meccanismi fisiologici di rigenerazione tissutale, in particolare ossea.

Il PRP e il PRF sono alla base di metodiche di semplice esecuzione per incrementare la concentrazione di queste molecole nelle sedi chirurgiche ove ciò occorra. Risale agli anni settanta l'uso di fibrina liofilizzata di banca (Tissucol) o autologa, in particolare nella chirurgia ortopedica dove risultava utile negli innesti per una migliore neoosteogenesi, allora attribuita a un generico effetto osteoconduttore della fibrina.

Anche Tayapongsak et al. che per primi adottarono la fibrina autologa in Chirurgia Maxillo-Faciale, aderirono a tale spiegazione (Tayapongsak & O'Brien 1994). Nel 1995 altri autori rilevarono che l'aggiunta di piastrine a una coltura di osteoblasti in vitro ne accelerava lo sviluppo (Slater & Patava 1995). Nell'ambito della Chirurgia Orale e Maxillo-Facciale la tecnica dei concentrati piastrinici è stata oggetto di numerose pubblicazioni (Lynch & Genco 1999; Carlson 2000; Kassolis & Rosen 2000; Landesberg & Roy 2000; Obarrio & Arauz-Dutari 2000; Sacchi & Bellanda 2000; Sonrùeitner & Huemer 2000; Anitua 2001; Anitua & Bozzi 2001; Lozada & Caplanis 2001; Shanaman & Filstein 2001). In particolare la fibrina ricca di piastrine (PRF) è un prodotto autologo che concentra un gran numero di piastrine in un piccolo volume di

plasma. Numerosi studi dimostrano l'efficacia emostatica e le proprietà sigillanti tissutali del PRF ricordando, in tal senso, le funzioni svolte da altri adesivi tissutali come ad esempio la colla di fibrina da cui si differenzia perché le sue piastrine forniscono una capacità unica nel promuovere la guarigione delle ferite e migliorare l'osteogenesi.

Il PRF fornisce un agente emostatico chirurgico immediato che è biocompatibile, sicuro ed efficace (Della Valle & Sammartino 2003). Il PRF accelera la rigenerazione endoteliale, epiteliale e dell'epidermide, stimola l'angiogenesi, aumenta la sintesi del collagene, favorisce la guarigione dei tessuti molli, riduce le cicatrici cutanee, migliora la risposta emostatica al danno e inverte l'inibizione della guarigione della ferita causata dai glucocorticoidi. L'elevata concentrazione di leucociti ha un effetto antimicrobico aggiunto. Il PRF è un prodotto del sangue autologo, ma non comporta il rischio di trasmissione di malattie infettive.

Il PRF ha una gamma estremamente ampia di applicazioni per la guarigione clinica nella chirurgia del distretto testa-collo, Otorinolaringoiatria, Chirurgia Cardiovascolare, guarigioni delle ferite e ustioni, Chirurgia Orale e Maxillo-Facciale, Chirurgia Estetica, e Parodontologia (Tab. 2). Oltre alla sua efficacia per i pazienti con ferite croniche è stato anche utilizzato come agente anti-angiogenico e come supporto per fattori di crescita.

In contesti chirurgici, il PRF diminuisce la frequenza del sanguinamento intraoperatorio e postoperatorio ai siti donatori e riceventi, accelera la guarigione dei tessuti molli, supporta l'iniziale stabilità del tessuto innestato a siti riceventi come conseguenza della sua natura coesiva e adesiva, favorisce una rapida vascolarizzazione di guarigione del tessuto consegnando fattori di crescita e, quando usato in combinazione con materiali di sostituzione ossea, induce la rigenerazione (Dohan & Choukroun 2006)

NEUROCHIRURGIA	Asportazione di tumori ipofisari; Resezione di tumori della base cranica; Procedure intradurali per asportazione di masse tumorali; Escissione di neurinomi del nervo acustico
CHIRURGIA ORALE E MAXILLO-FACCIALE	Ricostruzione mandibolare ; Riparazione di fratture alveolari; Fistole oro-nasali; Fistole oro-sinusali; Grandi rialzi del pavimento del seno mascellare; Exodonzia; riempimento difetti ossei dei mascellari
UROLOGIA	Prostatectomia radicale retro-pubica e dissezioni linfonodali retroperitoneali
OTORINOLARINGOIATRIA E CHIRURGIA CERVICO-FACCIALE	Dissezioni radicali del collo radicali; lembi miocutanei (Grande pettorale); fratture facciali; ricostruzioni
CHIRURGIA ESTETICA	Innesti cutanei a spessore completo e parziale in siti donatori e siti riceventi; lembi cutanei; innesti ossei; impianti metallici; espansione di tessuto; lifting, liposuzione. Aumento e mastoplastica riduttiva
CHIRURGIA PARODONTALE	Impianti dentali; Rigenerazione ossea guidata; Terapia delle recessioni
ORTOPEDIA / CHIRURGIA SPINALE	Chirurgia dell'Anca; Sostituzione totale del ginocchio, scoliosi fusione spinale; Tutte le operazioni di apertura di riduzione e fissazione interna; Chirurgia della mano e del piede

Tab. 1 Applicazioni chirurgiche del PRF nelle varie discipline.

Per un corretto impiego in chirurgia orale il PRF necessita di essere modellato. Tale modellazione può esitare nella produzione di membrane o di frammenti.

La preparazione di membrane si ottiene comprimendo tra due garze sterili il PRF, al fine di eliminare parte del siero. Si ottiene una membrana solida e sottile, che può essere sagomata con l'ausilio di forbici. Questo tipo di modellazione trova indicazione nelle seguenti procedure operative:

- Ricopertura e riempimento di siti post-estrattivi;
- Ricopertura di innesti ossei;
- Trattamento di perforazioni della membrana del seno mascellare (Bucci Sabattini 1999)
- Riempimento di cavità cistiche

Va da sé che l'utilizzo del PRF sotto forma di frammenti per il riempimento delle cavità (patologiche o iatrogene che siano) può prevedere l'associazione con altri materiali da innesto (bone chips) o di sintesi (Bucci Sabattini 1999). Sono numerosissimi i lavori riportati in letteratura che descrivono le applicazioni cliniche del PRF, e dei concentrati piastrinici in genere, in Chirurgia Orale riguardanti tanto gli interventi sui tessuti duri che quelli sui tessuti molli. Di seguito sono riportati solo alcune indicazioni cliniche dove il PRF è in grado di assicurare una riduzione dei tempi di ospedalizzazione e di convalescenza, una migliore e più rapida guarigione delle ferite, un migliore decorso post-operatorio, un minore discomfort del paziente e un minore rischio di complicanze.

Trattamento di recessioni gengivali multiple e adiacenti con lembo a riposizionamento gengivale e PRF (Del Corso & Sammartino 2009; Moraschini & Barboza 2016; Aroca & Leglevich 2009)

In casi di recessioni multiple adiacenti, la superficie radicolare avascolare è molto estesa. Alcune caratteristiche anatomiche come il biotipo gengivale sottile, la diminuzione del tessuto cheratinizzato (KT) e la larghezza delle radici rende il trattamento chirurgico molto più difficile rispetto a difetti gengivali isolati. Numerosi interventi chirurgici di plastica parodontale sono stati proposti nel trattamento delle recessioni gengivali variando la prevedibilità e i tassi di successo. Una delle procedure più ampiamente impiegate per coprire le radici esposte è il lembo a riposizionamento coronale (CAF). Le percentuali di successo di questa tecnica variano tra 9-95% risultando pertanto, poco predicibile. La predicibilità del risultato può essere aumentata combinando il CAF con altre tecniche rigenerative come un innesto di tessuto connettivo, di materiali di sintesi e di concentrati piastrinici come il PRF.

Un recente studio ha valutato l'uso di PRF nel trattamento di molteplici recessioni gengivali con procedura lembo a riposizionamento coronale verificando un miglioramento significativo nelle prime fasi di guarigione parodontale con un effetto rimodellante stabile sulla gengiva e un guadagno dello spessore gengivale (Del Corso & Sammartino 2009). Un altro studio clinico randomizzato dello stesso anno ha riportato una copertura radicolare inferiore (80,7%) sul sito testato (CAF + PRF) rispetto al 91,5% ottenuto al sito di controllo (CAF), tuttavia al sito test si è riscontrato un guadagno in spessore gengivale / mucosale rispetto alla terapia convenzionale (Aroca & Keglevich 2009). Un aumento di spessore dei tessuti cheratinizzati riportato negli studi può contribuire ad uno stabile risultato clinico a lungo termine con una ridotta probabilità di reiterazione della recessione.

Utilizzo del PRF in chirurgia ricostruttiva dei mascellari atrofici.

(Tatullo & Marrelli 2012)

Le cause che portano ad atrofia locale o generalizzata si trovano in molteplici fattori, ma l'edentulia gioca un ruolo primario (Tallgren 1972). Un materiale da innesto assume il ruolo di sostituto del tessuto osseo se soddisfa criteri di biocompatibilità, se ha una risposta ottimale agli stress biomeccanici e la capacità di sostituire le funzioni di sintesi/rimodellamento della struttura ossea (Van der Wal & Visscher 1986). L'osso autologo raccolto dalla zona intraorale, grazie alla stessa derivazione embriogenetica e per la presenza delle proteine morfogenetiche dell'osso (BMP), che favoriscono l'osteoiduzione, è il gold standard in questi casi. L'osso autologo infatti è l'unico materiale con proprietà osteogeniche oltre che osteoinduttive e osteoconduttive (Chiapasco & Romeo; Friberg & Sennerby 1995; Lekholm & Wannfors 1999; Yildirim & Spiekermann 2000; Inchingolo & Bux 1996). Dalla seconda metà degli anni 1990, l'attenzione della Comunità Scientifica è attratta da una serie di articoli scientifici che sostengono il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) come utile non solo per l'emostasi, ma anche nel campo degli innesti ossei (Dohan & Choukroun, 2006; Dohan & Choukroun 2006; Dohan & Choukroun 2006; Choukroun & Diss 2006; Lakey & Akella 2000; Schmid & Wollkamm 1997; Choukroun & Diss 2006; Diss & Dohan 2008; Carlson & Roach 2002; Whitman & Berry 1997). Alcuni lavori hanno valutato il potenziale rigenerativo osseo del PRF in importanti atrofie del mascellare superiore che richiedevano una chirurgia ricostruttiva preimplantare (rialzo del seno mascellare) (Diss & Dohan 2008). In questi casi l'uso di PRF ha ridotto il tempo di guarigione, rispetto ai 120-150 giorni descritti in letteratura (Van der Wal & de Visscher 1986; Chiapasco & Romeo 2003; Adell & Lekholm 1990) favorendo un'ottimale rigenerazione ossea. A 106 giorni è già possibile ottenere una buona

stabilità primaria degli impianti endossei, anche se in assenza di carico funzionale.

2) Implicazioni cliniche del PRF nella guarigione del tessuto osseo:

Normalmente, in seguito alla rimozione di una lesione cistica, la cavità residua si riempie di sangue con formazione di un coagulo, il quale non è altro che la fisiologica versione del PRF. In tal modo i tempi di guarigione di tale cavità cistica sono compresi tra i 6 e i 12 mesi. La matrice di PRF presenta migliore organizzazione: infatti quando questa viene utilizzata per occupare una cavità cistica residua, i fenomeni di guarigione sono accelerati con tempi di circa 2 mesi anziché 6-12 mesi. Questo perché il PRF è in grado di dirigere in modo più efficace lo sfruttamento delle cellule staminali ed il programma di guarigione (Choukroun, & Diss 2006)

3) Prevenzione di complicanze emorragiche

Alcuni autori (Della Valle & Sammartino 2003) considerano il PRF come un biomateriale da riempimento che riduce il rischio emorragico durante le estrazioni dentarie in pazienti sottoposti a terapia anticoagulante.

CONCLUSIONI

Differenti procedure e protocolli possono fornire vari emoconcentrati piastrinici per applicazioni in medicina rigenerativa. □ Quando l'attivazione piastrinica avviene con l'aggiunta di cloruro di calcio o trombina, le piastrine rilasciano una quantità maggiore di PDGF e altri fattori di crescita coinvolti principalmente nella proliferazione dei fibroblasti.

Contrariamente, quando il concentrato piastrinico è ottenuto direttamente senza l'aggiunta di anticoagulante, le alte concentrazioni di VEGF e citochine pro-angiogeniche, eventualmente rilasciati dai globuli bianchi incorporati, facilitano la neoangiogenesi.

BIBLIOGRAFIA

1. Adell R, Lekholm U, Grondahl K, Branemark PI, Linstrom J, Jacobsson M. Reconstruction of severely resorbed edentulous maxillae using osseointegrated fixtures in immediate autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1990;5:233-246
2. Alvarez RH, Kantarjian HM, Cortes JE. Biology of platelet –derived growth factor and its involvement in disease. *Mayo Clin Proc.* 2006;81:1241-57
3. Andrew JG, Hoyland JA, Freemont AJ, et al. Platelet-derived growth factor expression in normally healing human fractures. *Bone*1995;16:455-60
4. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91:4-15
5. Anitua E, Bozzi L. Gel di plasma ricco di piastrine. *Implantologia Orale* 2001;3: 9-24
6. 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;24:227-34
7. Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001;13:487-93
8. Aroca S, Leglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet rich fibrin membrane for the adjacent multiple gingival recession: a 6 month study. *J periodontal* 2009;80:244-52
9. Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13(7):1121-30
10. Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin Orthop* 1990;250:261-76

11. Braccini F, Dohan DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic liposuction (Coleman's technique): preliminary results. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*. 2007;128:255-60
12. Bucci Sabattini V: Tecniche ricostruttive e rigenerative dei mascellari atrofici: i biomateriali, scelta, indicazione e metodi d' uso. Pag. 36-40; pag. 129-151
13. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol* 1989;140:530-7
14. Canalis E. Effect of insulinlike growth factor I on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *J Clin Invest* 1980;66:709-19
15. Canalis E. Effect of platelet-derived growth factor on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *Metabolism* 1981;30:970-5
16. Carlson ER. Bone grafting the jaws in the 21st century: the use of platelet-rich plasma and bone morphogenetic protein. *Alpha Omegan* 2000;93:26-30
17. Carlson NE, Roach R Jr. Platelet rich plasma - Clinical applications in dentistry. *J Am Dent Assoc*, 2002; 133: 1383
18. Chiapasco M, Romeo E. Chirurgia preimplantare nelle atrofie dei mascellari. In: "La Riabilitazione Implantoprotesica nei casi complessi". UTET. 2003:142-159
19. Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JY, Lee KH, Cho YB. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope* 2010;120:907-13
20. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dhoan SL, Dhoan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluation of PRF effect on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Mar; 101(3):299-303
21. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard M-O, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan A J.J, Mouhyi J., Dohan D M. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-

- generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 101: E56-6
22. Cicha I, Garlich CD, Daniel WG, Goppelt-Struebe M. Activated human platelets release connective tissue growth factor. Thromb Haemost 2004;91:755-60
23. Coetzee JC, Pomeroy GC, Watts JD, Barrow C. The use of autologous concentrated growth factors to promote syndesmosis fusion in the Agility total ankle replacement. A preliminary study. Foot Ankle Int. 2005;26:840-6
24. Conover CA. In vitro studies of insulin-like growth factor I and bone. Growth Horm IGF Res 2000;10 suppl.B:S107-10 review
25. Crovetto G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, Moroni M, Carabelli A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. Transfus Apher Sci. 2004;30:145-51
26. Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. J Periodontol 2009; 80: 1694–1697
27. Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest D M. Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 1: Periodontal and Dentoalveolar Surgery. Curr Pharm Biotechnol 2012;13:1145-52
28. Della Valle A., Sammartino G., Marenzi G., Tia M., Espedito di Lauro A., Ferrari F, Lo Muzio L. Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel J Oral Maxillofac Surg 2003 Nov; 61(11): 1275-8
29. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year

- prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 May;105(5):572-9
30. Dohan D M, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B: Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Mar; 101 (3): E51-5
 31. Dohan D M, Choukroun J, Diss A, Steve L. Dohan A J. J. Dohan, Jaafar M, Bruno G: Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: E37-44
 32. Dohan D M., Choukroun J, Diss A, Dohan S, Jaafar M, Bruno G 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: E45-501
 33. Dohan D., Donsimoni J-M, Navarro G., Gaultier F. Platelet concentrates. Part 1: technologies *Implantodontie* 2003;12:5-16
 34. Dohan DM, Choukroun J. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC. How to find your way in the jungle of platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;103: 305-6
 35. Dohan Ehrenfest , Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence- Based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1145-52
 36. Dohan Ehrenfest D M, Sammartino G, Awad J S, Wang H-L, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, or Platelet-Rich Fibrin – PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO Journal.*2013
 37. Duke PT, Hansen P, Iwata KK, Pieler C, Foulkes JG. Identification of another member of the transforming growth factor type b gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988

38. Eppley BL, Woodel JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114:1502-8
39. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope* 2007;117:157-65
40. Friberg B, Sennerby L, Roos J, Lekholm U. Identification of bone quality in conjunction with insertion of titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 1995; 6: 213-219
41. Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999;13:1055-66
42. Gaultier F., Navarro G., Donsimoni J-M, Dohan D., [Platelet concentrates. Part 3: clinical applications] *Implantodontie* 2003; 2004; 13:3-11
43. Hall MP, Band PA, Meislin RJ, Jazrawi LM, Cardone DA. Platelet-rich plasma: current concepts and application in sports medicine. *J Am Acad Orthop Surg.* 2009;17:602-608
44. Hancock RE, Rozek A. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. *FEMS Microbiol Lett* 2002;206:143-9
45. Inchingolo F, Bux M, Ronzulli F, Di Franco M. Il rialzo del seno mascellare e riabilitazione protesica. *Quintessence International* 1996; 639-642
46. Intini G. The use of platelet – rich plasma in bone reconstruction therapy. *Biomaterials* 2009;30:4956-66
47. Kadereit S, Deeds LS, Haynesworth SE, Koc ON, Kozil MM, Szekely E. Expansion of LTC-ICs and maintenance of p21 and BCL-2 expression in cord blood CD34⁽⁺⁾/CD38⁽⁻⁾ early progenitors cultured over human MSCs as a feeder layer. *Stem Cell* 2002;20:573-82

48. Kang YH, Jeon SH, Park JY, Chung JH, Choung YH, Choung HW, Kim ES, Choung PH. Platelet rich fibrin (PRF) is a bio-scaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2011;17:349-59
49. Karp JM, Sarraf F, Shoichet MS, Davies JE. Fibrin-filled scaffolds for bone-tissue engineering: an in vivo study. *J Biomed Mater Res* 2004;71A:162-71
50. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich-plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol* 2000;71:1654-61
51. Kubo M, Van de Water L, Piantefaber LC. Fibrinogen and fibrin are antedhesive for keratinocytes: a mechanism for fibrin eschar slough during wound repair. *J Invest Dermatol* 2001
52. Kubota S, Kawata K, Yanagita T, Doi H, Kitoh T, Takigawa M. Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets. *J Biochem*. 2004;136:991-6
53. Lacoste E, Martineau L, Gagnon G. Platelet concentrates: effect of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *J Periodontol* 2003;74:1498-507
54. Lakey LA, Akella R, Ranieri JP. Angiogenesis: implications for tissue repair. In: Davies JE, ed. *Bone engineering*. Toronto: Em Squared Incorporated; 2000: 137-42
55. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58:297-300.
56. Langer HF, Gawaz M. Platelets in regenerative medicine. *Basic Res Cardiol*. 2008;103:299-307.
57. Lekholm U, Wannfors K, Isaksson S, Adielsson B. Oral implants in combination with bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999; 28:181-187
58. Levy O, Sisson RB, Fryer HE et al. Neutrophil defense in patients undergoing bone marrow transplantation: bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and defensins in graft-derived neutrophils. *Transplantation* 2002;15:1522-6

59. Ling He, Ye Lin, Xiulian Hu, Yu Zhang, and Hui Wu: A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:707-713)
60. Lozada JL, Caplanis N, Proussae P, Willardsen J, Kammeyer G. Platelet rich plasma application in sinus graft surgery. PartI: background and processing techniques. *J Oral Implantol* 2001;7:38-42
61. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics. Carol Stream (Ili, USA): Quintessence Publishing Co Inc, 1999
62. Marx RE reconstruction of defects caused by bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws. *J Oral maxillofac Surg* 2009;67:107-19
63. Massague J, Gomis RR. The logic of TGF beta signaling. *FEBS Lett* 2006;22:2811-20
64. Mohan S, Baylink DJ. Bone growth factors. *Clin Orthop* 1991;263:30-48
65. Moraschini V, Barboza Edos S. Use of Platelet- Rich Fibrin membrane in the treatment of gingival recession: a systematic review and meta-analysis. *J periodontal* 2016;87:281-90
66. Moraschini V, Barboza Edos S. Use of Platelet Rich Fibrin membrane in the treatment of gengiva recession: a Systematic Review and Meta-Analysis *J Periodontol* 2016;87:281-90
67. Noda Y, Hata Y, Hisatomi T, Nakamura Y, Hirayama K, Miura M, Nakao S, Fujisawa K, Sakamoto T, Ishibashi T. Functional properties of hyalocytes under PDGF-rich conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:2107-14
68. Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontal* 1993;64:142-8

69. Obarrio JJ, Arauz-Dutari JI, Chamberlain TM, Croston A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology - case reports. *Int J Periodont Rest Dent* 2000;20:486-97
70. Ohki Y, Heissig B, Sat Y. Granulocyte colony-stimulating factor promotes neovascularization by releasing vascular endothelial growth factor from neutrophils. *FASEB J* 2005;19:2005-7.
71. Polasek J, Richardson M, Moore MA, Blajchman MJ. Evidence for an alternative mechanism of platelet secretion involving peripheralization of secretory granules and formation of membrane associated multivesicular structures. *Thrombosis Research*. 1987;15:771-82.
72. Raines EW, Ross R. Purification of human platelet-derived growth factors. *Methods Enzymol*, 1985;109:749-73.
73. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 1986;46:155-69.
74. Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat*. 2007;16:156-65.
75. Sacchi MC, Bellanda M, Vercellotti T. Il concentrato piastrinico in chirurgia orale e implantare. *Dent Mod* 2000;1:69-78.
76. Sánchez A.R., Sheridan P.J., Kupp L.I. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review... *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003 Jan-Feb; 18(1): 93-103
77. Sánchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. *Sports Med*. 2009;39:345-54.
78. Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, Wiltfang J. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials* 2004;25:5387-93.

79. Schmid J, Wollkamm B, Hammerle CH, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. *Clin Oral Implants Res* 1997 Jun;8(3):244-8.
80. Sclafani AP. Applications of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg*. 2009;25:270-6.
81. Scott MG, Hancock RE. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. *Crit Rev Immunol* 2000;20:407-31.
82. Shanaman R, Filstein MR, Danesh Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case report. 2001; 345-55
83. Silva A, Sampaio R. Anatomic ACL reconstruction: does the platelet-rich plasma accelerate tendon healing? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009;17:676-82.
84. Sima P, Trebichavsky I, Sigler K. Mammalian antibiotic peptides. *Folia Microbiol* 2003;48:123-37.
85. Simonpieri A, Del Corso M, Vervell A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G and Dohan Ehrenfest D. M. Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 2: Bone Graft, Implant and Reconstructive Surgery. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2012;13:1231-56.
86. Slater M., Patava J., Kinghan K., S. Mason R. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J. Orthop Res* 1995; 13:665-63.
87. Sonrùeitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Impl* 2000;15 : 879-82.
88. Stellos K, Kopf S, Paul A, Marquardt JU, Gawaz M, Huard J, Langer HF. Platelets in regeneration. *Semin Thromb Hemost*. 2010;36:175-84.

89. Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian J Dent. Res.* 2008 Jan-Mar; 19(1): 42-46
90. Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridge in complete denture wearers. A mixed longitudinal study covering 25 years. *J Prosthet Dent* 1972;27:120-132.
91. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli V L, Scacco S, Di Palma G, Pacifici L, Inchingolo F. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in Reconstructive Surgery of Atrophied Maxillary Bones: Clinical and Histological Evaluations. *Int J Med Sci* 2012;9:872-80
92. Tayapongsak P., O'Brien D.A., Monteiro C.B., Arceo-Dias L.L. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J. Oral Maxillofac Surg.* 1994; 52(2): 161-6
93. Thorwarth M, Rupprecht S, Falk S, Felszeghy E, Wiltfang J, Schlegel KA. Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (PRP)—an immunohistochemical analysis. *Biomaterials* 2005;26: 2575-84.
94. Toulon A, Breton L, Taylor KR et al. A role for human skin-resident T cells in wound healing. *J Exp Med* 2009;13:743-50.
95. Trippel SB. Potential role of insulinlike growth factors in fracture healing. *Clin Orthop Related Res* 1998(355 suppl):S301-13.
96. Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:521-8.
97. Van den Dolder J, Mooren R, Vloon AP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng.* 2006;12:3067-73.
98. Van der Wal KGH, de Visscher J, Stoelinga JW. The autogenous inner table iliac bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986;14:22-25.
99. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.

100. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel - An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*, 1997;55:1294.
101. Wrana JL, Macho M, Hawrylyshyn B, et al. Differential effects of transforming growth factor-beta on the synthesis of extracellular matrix proteins by normal fetal rat calvarial bone cell populations. *J Cell Biol* 1988;106:915-24.
102. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2000 Jun;11(3):217-29.
103. You TM, Choi BH, Zhu SJ, Jung JH, Lee SH, Huh JY, Lee HJ, Li J. Platelet-enriched fibrin glue and platelet-rich plasma in the repair of bone defects adjacent to titanium dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22:417-22.