

# Primjena PRF-a i PRFG-a u oralnoj kirurgiji

Alenka Atelj, dr. med. dent.<sup>1</sup>,  
Ivona Kandić, dr. med. dent.<sup>1</sup>,  
Ankica Kljajić, dr. med. dent.<sup>1</sup>  
doc. dr. sc. Marko Granić<sup>2</sup>

[1] diplomirale u akademskoj godini 2019./2020.

[2] Zavod za oralnu kirurgiju, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

U današnje vrijeme upotreba faktora rasta ima široku primjenu u medicini i dentalnoj medicini posebice u rekonstruktivnoj i estetskoj medicini te u dentalnoj implantologiji. Postoji mnogo različitih metoda dobivanja faktora rasta koji stimuliraju organizam na brži i pojačani odgovor cijeljenja. U dentalnoj medicini najčešća je upotreba PRF i PRGF tehnike. Za razumijevanje mehanizma rada ovih preparata potrebno je poznavati biologiju samih faktora rasta.

Faktori rasta su biološki posrednici koji reguliraju stanične procese uključene u regeneraciju tkiva (1). Oslobođaju se iz citoplazmatskih granula aktivacijom trombocita i vežu se na ciljne stanice preko aktivnih krajeva „dimera“ za tirozin-kinazu (transmembranski receptor na površini stanične membrane) (1, 2). Trombociti sadrže tri vrste citoplazmatskih granula, od kojih su u mehanizmu cijeljenja najvažnije alfa granule jer sadrže fibrinogen, fibronektin i faktore rasta (2,3,4). Pri mekot-

ktivnom i koštanom cijeljenju pokreće se kaskadni proces koagulacije krvi u kojemu fibrinogen u prisutnosti trombina prelazi u aktivni netopljivi fibrin koji se ukrižuje i formira fibrinsku mrežicu (5). Fibrinska mrežica receptorima C11/18 ubrzava migraciju neutrofila što dovodi do upalnog odgovora organizma. Ona također potiče i rast epitela te potiče stvaranje novih krvnih žila (angiogenezu) (6). Degranulacijom aktiviranih trombocita, osim faktora rasta, otpuštaju se i vitronektin, fibronektin i trombospondin. Njihovim umrežavanjem s fibrinom počinje faza stvaranja ugruška. Inicijalni ugrušak se tijekom 7-11 dana razgrađuje i služi kao spremnik faktora rasta koji se progresivno otpuštaju i imaju važnu ulogu u kasnijim fazama cijeljenja. Faktori rasta koji se oslobađaju prilikom cijeljenja su: trombocitni faktor rasta (PDGF), transformirajući faktor rasta (TGF-β), inzulinu sličan faktor rasta (IGF-1,2), koštani morfogenetski protein (BMP), vaskularni endotelni faktor rasta

(VEFG), EGF, FGF i fibroblastni faktor rasta (FBF). PDGF je prvi faktor rasta prisutan pri cijeljenju i najvažniji posrednik u zarastanju rane (4,7). U najvišim koncentracijama prisutan je u samom početku cijeljenja koštanoga tkiva. Cijeljenjem kosti, broj se trombocita smanjuje i razina PDGF-a pada (8,9,10). TGF-β ima ulogu u staničnim funkcijama tijekom svih faza cijeljenja (11). Sintetiziraju ga koštane stanice i skladište ga u inaktivnom obliku u izvanstanični matriks stvarajući rezerve TGF-β u tijelu. IGF-1,2 najobilniji su faktori rasta prisutni u koštanom tkivu (12). BMP je važan za ranu fazu cijeljenja kosti te je najčešći u razdoblju između drugoga i osmoga tjedna nakon ekstrakcije zuba (13). VEGF, EGF, FGF potiču angiogenezu i vaskularizaciju granulacijskog tkiva (14). FBF pospješuju i ubrzavaju mekotkivno cijeljenje i formiranje ožiljka. Takav se učinak postiže zamjenom staroga kolagena tipa 3 s kolagenom tipa 1 i umrežavanjem kolagenih molekula (15). Cijeljenje košta-

Tablica 1. Popis faktora rasta i njihov učinak na ciljno tkivo/stanice (2,3,16,17,18)

Faktor	Ciljno tkivo/stanice	Učinak
PDGF	osteoblasti, hondrociti, mezenhimalne matične stanice, fibroblasti	rast stanica, kemotaksija, angiogeneza, sekrecija faktora rasta, osteogeneza
TGF-β	fibroblasti, hondroblasti, osteoblasti	migracija stanica, diferencijacija, proliferacija, formiranje kosti
IGF-1,2	kost, krvne žile, fibroblasti	koštana homeostaza, razvoj i održavanje skeletnomišićnoga sustava
FGF	endotelne stanice, fibrociti, fibroblasti	angiogeneza, proliferacija, diferencijacija, formiranje ožiljka
VEGF	stanice krvnih žila	rast stanica, migracija, urastanje novih krvnih žila, antiapoptoza
BMP	osteoblasti, hondroblasti	diferencijacija osteoblasta, induciranje stvaranja kosti, sinteza trabekularne kosti
EGF	endotel, epitel	proliferacija, kemotaksija i diferencijacija stanica, sekrecija citokina
HGF	hematopoetske stanice, epitel, endotel	mitoza, angiogeneza, stanična migracija, regeneracija

Tablica 2. Prikaz trenutno dostupnih protokola za pripremu različitih oblika PRF-a. Protokol prikazuje broj okretaja/broj minuta.

PRF (A-PRF+, S-PRF, I-PRF+, I-PRF+ M)						
VRSTE VAKUETA	STARI PROTOKOL	NOVI PROTOKOL	ŠTO DOBIJEMO	GDJE	Dodatno	
<b>A-PRF</b> Red tubes	1300 x 8 (13 x 8)	1300 x 14 (13 x 14)	Fibrinski ugrušak Fibrinska membrana Fibrinski ležnjak	PRF BOX	PRF Box, pivota, Starica, starica toplica	
<b>S-PRF</b> Green tubes	1300 x 8 (13 x 8)	1300 x 14 (13 x 14)	Takvi A-PRF (kada S-PRF) koji se pomiješa sa granulama ugotovo leži na STANCIJAMA BONE Takvi A-PRF od kojih se može napraviti velika PRF membrana	Tehnološki pribor	Materijal nametli (dijelove u ležnju i aplikaciju na granule) ili na tekućinskoj površini	
<b>S-PRF</b> Green tubes	700 x 3	700 x 4	S-PRF vakvete mijenjaju I-PRF vakvete	I-PRF (norman) PRF (man)	Ispuna	Bez dodatnih na tekućinskoj površini
<b>I-PRF+</b> Purple tubes	700 x 5		PRF Liquid Injektible bogat matičnim stanicama (20% više nego u PRF-u) Iz I-PRF+ LIKA ODRŽAVANJE	I-PRF+ (norman) I-PRF+ M (man)	Ispuna	MEZOTERAPIJA: 30-35 Hz, 10min, 27-32 min, LUKA LUKA SPINICE
I-PRF vakvete više nisu u primjeri						

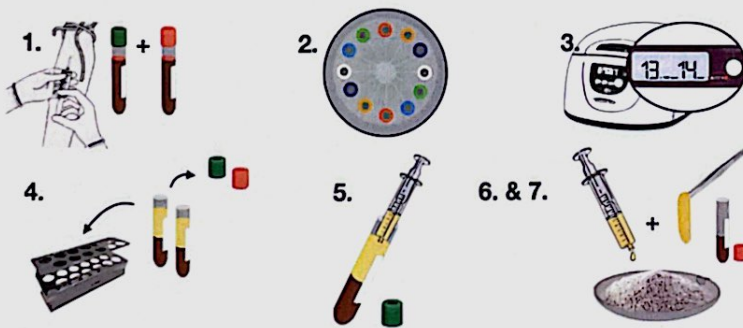
nog tkiva odvija se dugotrajno i sporije nego cijeljenje mekih tkiva. Najznačajniji su faktori koji djeluju pri koštanoj cijeljenju PDGF, TGF- $\beta$ , IGF, BMP-2 i BMP-7, VEGF i FGF. Oni potiču mitozu matičnih stanica, kemotaksiju i proliferaciju fibroblasta i osteoblasta, sintezu izvanstaničnog matriksa te morfogenezu tkiva (2,14).

**PRF (engl. Platelet Rich Fibrin) – trombocitima obogaćen fibrin**

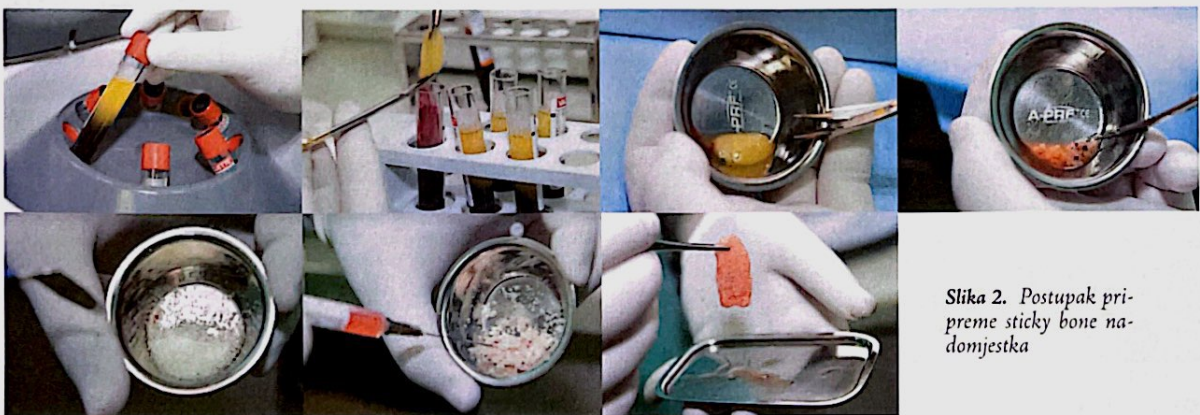
PRF predstavlja drugu generaciju autoloških trombocitnih koncentrata dobivenih centrifugiranjem krvi pacijenta i nasljednik je trombocitima bogate plazme (engl. Platelet Rich Plasma; PRP). Koristi se za stimuliranje cijeljenja mekog i tvrdog tkiva jer potiče: proliferaciju fibroblasta, vaskularizaciju tkiva, stvaranje kolagena te mitozu mezenhimalnih matičnih stanica i osteoblasta (19). Leukocitima i trombocitima obogaćen fibrin (L-PRF), danas nazivan i samo PRF

ili Choukrounov PRF, koncentrat je trombocita nove generacije, a prvi ga je put predstavio Choukroun 2001. godine (2). Za dobivanje PRF-a dovoljno je uzeti 20 – 60 ml pacijentove krvi, raspodijeliti je u više staklenih epruveta od 9 -10 ml i staviti ih u uređaj za centrifugiranje. Nakon centrifugiranja u svakoj se epruveti formira troslojni koloid sastavljen od sloja acelularne plazme na vrhu, fibrinskog ugruška u središnjem sloju i sloja crvenih krvnih stanica na dnu epruvete. Glavna je prednost PRF-a sporije i dugotrajnije otpuštanje faktora rasta, tijekom 7-10 dana, u odnosu na naglo i masivno otpuštanje kod prethodno korištene plazme bogate trombocitima (PRP), što rezultira kvalitetnijim procesom cijeljenja (20). Priprema je PRF-a jednostavna te ne zahtijeva upotrebu antikoagulansa, goveđeg trombina ni bilo koje druge tvari za geliranje, što smanjuje mogućnost pogreške prilikom pripreme. Od-

sutnost dodatnih supstanci omogućuje stvaranje fibrinske mrežice na prirodan način, a zbog fiziološke koncentracije trombina u PRF-u, fibrinska je mrežica po svojoj strukturi fleksibilnija u odnosu na rigidnu fibrinsku mrežicu PRP-a. Time omogućuje ugradnju većeg broja citokina u svoju strukturu te bolju migraciju stanica zaslužnih za procese angiogeneze i formiranja obnovljenog tkiva. Nedostatak je PRF-a obavezan brzi prijenos izvađenog uzorka krvi u uređaj za centrifugiranje jer koagulacija započinje pri prvom dodiru krvi sa stijenkom epruvete (21). Smanjenjem sile centrifugiranja te upotrebom različitih protokola dobivene su poboljšane inačice L-PRF-a : A- PRF (engl. *Advanced PRF*), A- PRF + (engl. *Advanced PRF Plus*) te I- PRF (engl. *Injectable PRF*). Zbog smanjene sile centrifugiranja struktura je tih preparata poroznija, što posljedično olakšava migraciju stanica. Oni sadržavaju veći udio trombocita i leukocita, otpuštaju faktore rasta kroz dulje vrijeme te posjeduju veći regenerativni potencijal. A- PRF otpušta faktore rasta preko 10 dana te omogućuje bolju angiogenezu zbog poboljšane migracije stanica duž fibrinske mrežice. A- PRF + dokazano otpušta najviši ukupni broj faktora rasta u odnosu na prethodnike. I- PRF se razlikuje po tome što se za njegovu pripremu koriste plastične epruvete koje ne aktiviraju proces zgrušavanja, sadrži najveći udio leukocita i trombocita, a zbog tekuće se strukture lako aplicira na različita područja (22).



Slika 1. Prikaz pripreme sticky bone nadomjestka s A-PRF-om i S-PRF-om



Slika 2. Postupak pripreme sticky bone nadomjestka

Na tržištu su se nedavno pojavile nove epruvete i protokoli za I-PRF, gdje su klasične epruvete za I-PRF s narančastim čepom zamijenjene epruветama od 13 ml s ljubičastim čepom. Primjenjuju se u estetskoj medicini i ortopediji. PRF se može koristiti kao samostalan suplement ili se može kombinirati s drugim biomaterijalima (2). Pomiješan s koštanim nadomjesnim materijalom, tzv. „sticky bone“ čini biološku cjelinu koja potiče neoangiogenezu, proliferaciju matičnih stanica te migraciju osteoprogenitornih stanica u centar transplantata (23). Za tu je primjenu osmišljena nova epruveta sa zelenim čepom koja nosi oznaku S-PRF, a zapravo se radi o tekućem obliku A-PRF-a. Prednost ove epruvete je u tome što pojednostavljuje pripremu „sticky bone-a“. Upotrebom S-PRF epruvete omogućeno je da se samo jednim ciklusom centrifugiranja, koji se odvija prema protokolu za pripremu A-PRF+, istovremeno dobiju fibrinski ugrušci A-PRF-a i tekući oblik A-PRF (S-PRF) bez potrebe da se ciklus centrifugiranja prekida i odvija u više navrata. Ta dva preparata u kombinaciji s koštanim preparatima čine „sticky bone“, a njegova se konzistencija modificira različitim omjerima fibrinskih ugrušaka i tekuće faze. Protokoli se primjenjuju ovisno o operaterovim preferencijama i potrebama (Slika 1. i Slika 2.).

#### PRGF (engl. *Plasma Rich in Growth Factors*) – plazma obogaćena faktorima rasta

Zbog pretpostavke da leukociti trebaju biti izostavljeni iz krvnih pre-

parata, Antinua i suradnici razvijaju novi trombocitni koncentrat, PRGF (24). Za pripremu PRGF-a potrebni su centrifuga, Plasmaterm, 4-8 epruveta zapremnine 9 mL, sustav za vađenje krvi, 2 epruvete za frakcioniranje, pipeta, jedna šprica s aktivatorom te ampula PRGF aktivatora ili epruveta koja već u sebi sadrži aktivator. Pacijentu se vadi 36-72 mL venske krvi koja se zatim centrifugira 8 minuta, čime se postiže separacija eritrocita, leukocita i plazme bogate faktorima rasta (Slika 3. a). Dvije frakcije plazme bogate faktorima rasta, F1 i F2, separiraju se pipetom od ostatka krvi. Frakcija F1 služi kao fibrinska membrana, dok frakcija F2 služi kao koncentrat faktora rasta. Neaktivirana frakcija F2 rabi se za namakanje postekstrakcijske alveole ili punjenje parodontnoga džepa (aktivacija u tim slučajevima nije potrebna jer kalcij u tkivu aktivira faktore rasta), dok se aktivirana frakcija F2 (Slika 3. b) stavlja se u Plasmaterm nakon čega se dobiva želatinozna tvar (clot) koju se može miješati s autolognom kosti, čime se dobiva kompaktna masa koja se primjenjuje kao gradivni materijal (25). PRGF sadrži veću koncentraciju trombina u odnosu na PRP, što utječe na stvaranje rigidnije fibrinske mrežice, međutim, to pogoduje njegovoj stabilnosti u tkivu čak i nakon 8 dana od formiranja ugruška (26). Otpuštanje je faktora rasta, u odnosu na PRP preparate, stabilnije i dulje (27). 70% faktora rasta otpušta tijekom prva tri dana, dok je preostalih 30% zadržano i do tjedan dana nakon formiranja ugruška-

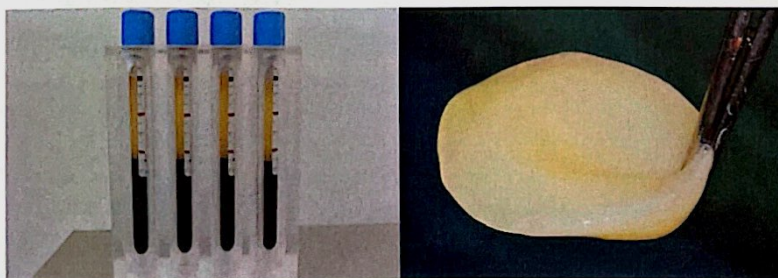
ka. To omogućava dostupnost faktora rasta kroz različite faze cijeljenja tkiva (28). Nedavna su istraživanja dokazala da je koncentracija trombocita koja je tri puta viša od fiziološke optimalna za cijeljenje tkiva (29). Svojim udjelom trombocita, preparat PRGF-a zadovoljava te kriterije (24). Također, PRGF stimulira adheziju gingivnih fibroblasta na matriks kolagena tipa 1 te inhibira biološki fenotip koji dovodi do nastanka fibroznog tkiva i ometanja normalne funkcije tkiva. Tako PRGF stimulira regeneraciju gingivnog vezivnog tkiva. Proliferacija alveolarnih osteoblasta, kao i sinteza prokolagena tipa I te osteokalcina, stimulirana je nakon primjene PRGF-a. Stimulirana je i alkalna fosfataza, enzim uključen u mineralizaciju koštanog matriksa (30).

#### Primjena PRF-a/PRGF-a u oralnoj kirurgiji

##### Vađenje zuba / prezervacija alveole

Nakon ekstrakcije zuba alveola se puni krvlju iz prekinutih krvnih žilica koja sadrži proteine i oštećene stanice. One potiču stvaranje fibrinske mrežice koja s trombocitima formira krvni ugrušak. Nakon fibrinolize ugrušak se zamjenjuje granulacijskim tkivom koje će kasnije zamijeniti nova kost. Kod zdrave populacije takav proces traje 6 do 12 mjeseci. Radiološka istraživanja evaluacije gustoće novostvorene kosti nakon ekstrakcije zuba pokazuju bržu regeneraciju defekta kod pacijenata tretiranih faktorima rasta u odnosu na kontrolnu skupinu bez dodatnog tretmana (31,32). Osim nastanka koštanog i mekotkivnog defekta moguća je i pojava postoperativnih komplikacija. U slučaju primjene faktora rasta znatno je reducirana pojava postekstrakcijske boli i otekline (33).

Prezervacija alveole je minimalno invazivni zahvat koji reducira morfološke promjene u alveolarnoj kosti te osigurava očuvanje koštanog volumena koji je postojao u trenutku ekstrakcije



Slika 3. a) Frakcije krvi nakon centrifugiranja, b) PRGF ugrušak, aktivirana frakcija F2

zuba. Osim što se može koristiti zasebno, faktori rasta se često kombiniraju s preparatima autologne ili umjetne kosti u vidu dobivanja većeg volumena kosti što je od iznimne važnosti prije ugradnje dentalnog implantata. Miješanjem faktora rasta s umjetnom kosti (sticky bone) dobiva se bolja kvaliteta kosti i brže cijeljenje u odnosu na kontrolnu skupinu gdje se koristila samo umjetna kost (23).

#### Apikotomija / cistektomija

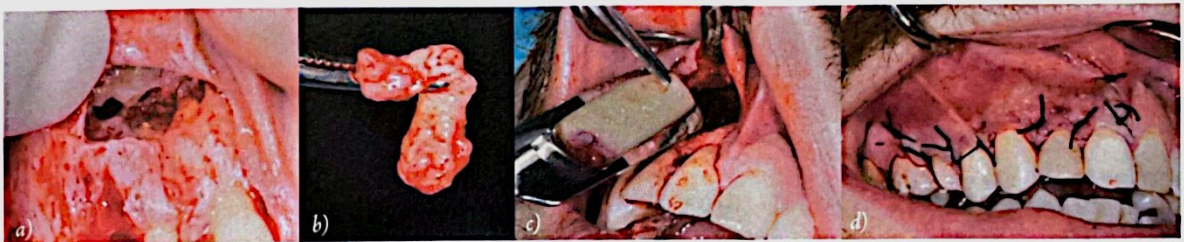
Apikotomija je kirurški postupak odstranjenja vrška korijena s periapikalnim procesom. Periapikalni procesi ili ciste, neuspjelo endodontsko liječenje, morfološke varijacije poput oblika korijena ili anomalija zuba, resorpcija

vrška korijena zuba ili protetski razlozi neki su od indikacija za apikotomiju. Defekt koji zaostaje nakon učinjene apikotomije bit će nadomješten ovisno o potencijalu reparacije tkiva i odsustvu infekcije. Cijeljenje koštanog tkiva obično traje od 4 do 6 mjeseci. Aplikacija faktora rasta u koštani defekt smanjuje postoperativne komplikacije te ubrzava regeneraciju tkiva (34). Opisani postupak prikazuju sljedeće slike (Slika 4. a), b), c), d)):

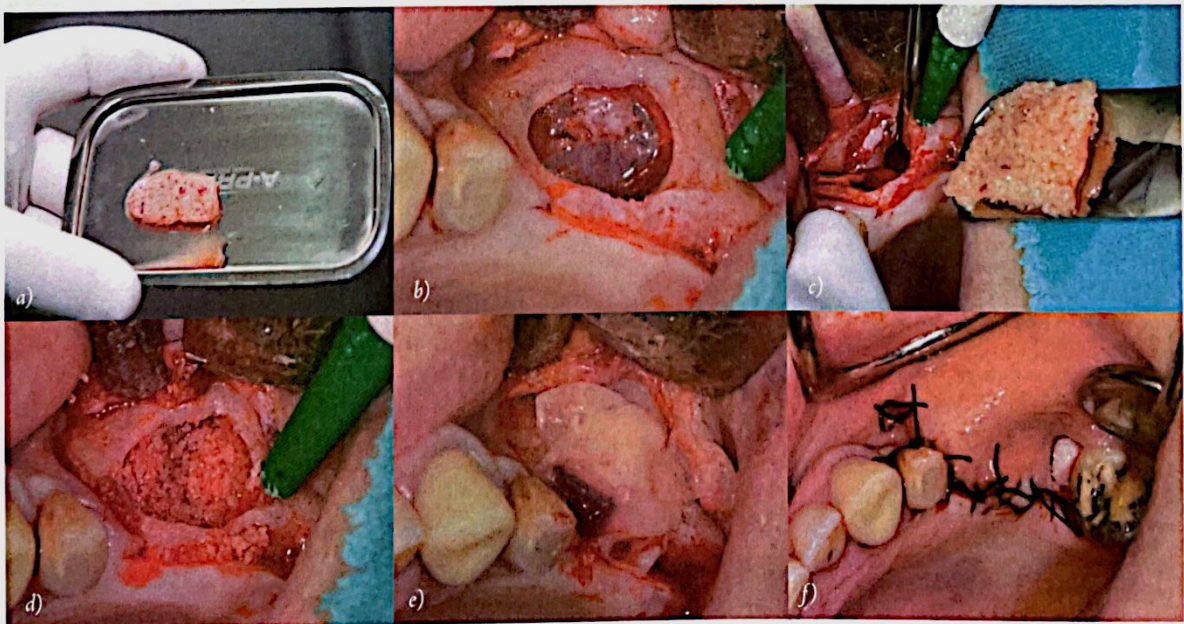
#### Sinus lift

Sinus lift predstavlja kiruršku tehniku odizanja dna maksilarnog sinusa uz istovremenu augmentaciju, sa svrhom stvaranja dovoljnog volumena kosti potrebnog za ugradnju implan-

tata. (35,36). Resorpcija kosti zbog gubitka zuba te pneumatizacija maksilarnog sinusa uzrok su nedovoljne visine i širine alveolarnog grebena. Od osnovnih tehnika izvođenja sinus lifta poznajemo lateralni i transkrestalni pristup. Bilo da se radi o nativnoj koštanoj regeneraciji, augmentaciji autolognim koštanim graftom ili umjetnim koštanim nadomjescima, PRF/PRGF ubrzava stvaranje novog koštanog tkiva (Slika 5.). Može se koristiti samostalno ili u kombinaciji s koštanim nadomjestkom u kojem slučaju se usitnjava kako bi smjesa bila što izjednačenija. Proliferativni i kemotaktični potencijal faktora rasta potaknut će migraciju osteoprogenitornih stanica na čestice



Slika 4. a) Cistektomija i apikotomija, b) izvučena cista, c) apliciranje PRF ugruška u defekt, d) zašivena rana



Slika 5. a) Priprema PRF membrane pomiješane s umjetnim koštanim nadomjestkom, b) Sinus lift tehnika i prikaz Schneiderianove membrane, c) Aplikacija PRF membrane pomiješane s koštanim nadomjestkom u defekt, d) Apliciran nadomjestak u defekt, e) Postavljanje membrane PRF-a preko nadomjestka, f) Zašivena rana

grafta. Bolje povezivanje čestica grafta kao i njegovu lakšu manipulaciju omogućuje vitronektin, stanični adhezijski protein u serumskom eksudatu kojim se hidrira smjesa. (37,38). PRF/PRGF membrane mogu se aplicirati na Schneiderianovu membranu čime štite istu od mogućih perforacija nastalih kompaktijom čestica koštanog nadomjestka u sinusnu šupljinu ili samim implantatom pri transkrestalnom pristupu. Ako se radi o postojećoj perforaciji PRF/PRGF membrana omogućuju njihovo zatvaranje te sprječavaju invaginaciju mukogingivnog tkiva.

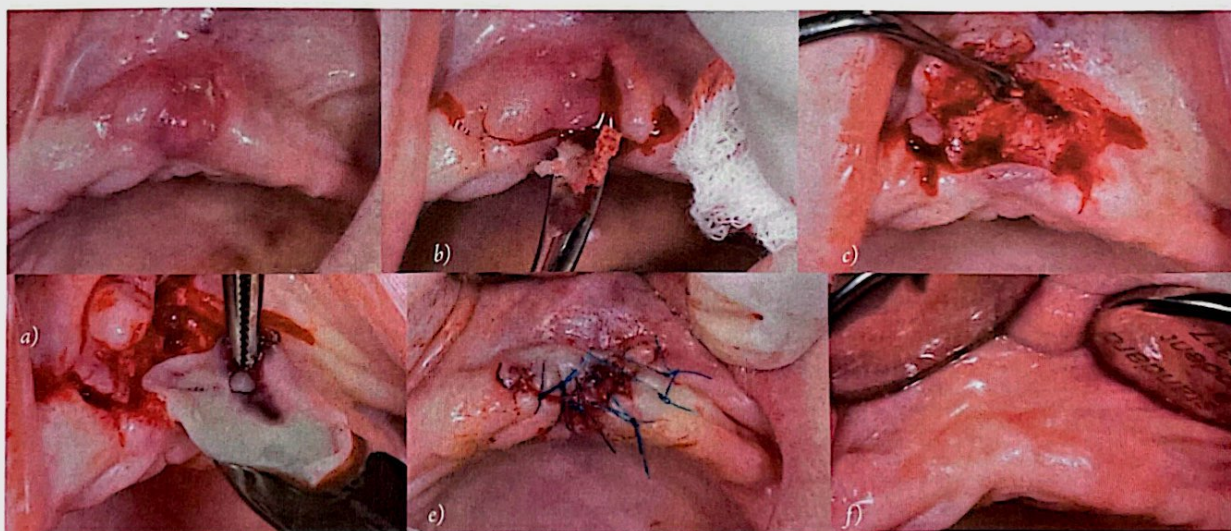
#### Terapija osteonekroze čeljusti

Osteonekroza čeljusti označava odumiranje kosti koje se može pojaviti

kao nuspojava terapije antiresorptivnim lijekovima ili radioterapije u području glave i vrata. Klinički se očituje kao ekspanzirana avitalna kost u usnoj šupljini koja perzistira više od osam tjedana s pratećim simptomima bola i upale (39). Bilo da se pojavljuje spontano ili je potencirana traumom poput ekstrakcije zuba ili iritacije neadaptiranih proteza, osteonekroza predstavlja terapijski izazov za terapeuta. Zbrinjavanje osteonekroze danas se temelji na empirijskim preventivnim mjerama i konzervativnim postupcima u početnoj, odnosno kirurškim u uznapredovalim stadijima bolesti. Pojava PRF/PRGF omogućila je regeneraciju velikih koštanih defekata koji zaostaju nakon uklanjanja osteonekrotične kosti kao i zarastanje

gingivalnih ulceracija. PRF/PRGF se također pokazao učinkovitim u prevenciji nastanka osteonekroze kod rizičnih pacijenata.

Metabolizam antiresorptivnih lijekova inhibira resorpciju kosti i blokira aktivnost VEGF-a, a time i angiogenezu. Aplikacija faktora rasta osigurava prisustvo proteina i faktora rasta lokalnim faktorima angiogeneze (VEGF i angiotensin) te faktora koji potiču osteogenetsku diferencijaciju čime se aktivira regeneracija okolnog tkiva. Primjena faktora rasta se pokazala uspješnom u regeneraciji tkiva zahvaćenog osteonekrozom kao i samo prevenciji nastanka istog. Terapija nekrotizirane čeljusti prikazana je na sljedećim slikama: 6. a), b), c), d), e), f). ①



Slika 6. a) Osteonekroza izazvana bisfosfonatnom terapijom u gornjoj čeljusti, b) Fragmenti nekrotične kosti, c) Obrada rane nakon uklanjanja nekrotične kosti, d) Aplikacija PRF ugruška, e) Zašivena rana, f) Cijeljenje rane nakon 4 tjedna

## LITERATURA

- Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999 May 1;13(9):1055-66.
- Borie E, Olivé DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltrán V, Fuentes R. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):7922-9.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biological features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):45-50.
- Blair P, Flaumenhaft R. Platelet  $\alpha$ -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood reviews*. 2009;23(4):177-89.
- Hollinger JO, Hart CE, Hirsch SN, Lynch S, Friedlaender GE. Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 2008 Feb;90(1):48-54.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, 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):56-60.
- Simon BI, Gupta P, Tajbaksh S. Quantitative evaluation of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2011;31(3):285-95.
- Ono I, Gunji H, Zhang JZ, Maruyama K, Kaneko F. Studies on cytokines related to wound healing in donor site wound fluid *J Dermatol Sci* 1995;10(3):241-5.
- Ono I, Gunji H, Zhang JZ, Maruyama K, Kaneko F. A study of cytokines in burn blister fluid related to wound healing. *Burns*. 1995;21(5):352-5.
- Matsuoka J, Grotendorst GR. Two peptides related to platelet-derived growth factor are present in human wound fluid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(12):4416-20.
- Faler BJ, Macsata RA, Plummer D, Mishra L, Sidawy AN. Transforming growth factor-beta and wound healing. *Perspect Vasc Surg Endovasc Ther* 2006 Mar;18(1):55-62.
- Livingstone C, Borai A. Insulin-like growth factor-II: its role in metabolic and endocrine disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jun; 80(6):773-81.
- des Rieux A1, Ucakar B, Mupendwa BP, Colau D, Feron O, Carmeliet P, Pr at V. 3D systems delivering VEGF to promote angiogenesis for tissue engineering. *J Control Release* 2011 Mar 30;150(3):272-8.
- Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunit  en parodontologie: le PRF: Implantodontie. 2001;42:55-62.
- Wu XJ, Zhu JW, Jing J, Xue D, Liu H, Zheng M, Lu ZF. VEGF165 modulates proliferation, adhesion, migration and differentiation of cultured human outer root sheath cells from central hair follicle epithelium through VEGFR-2 activation in vitro. *J Dermatol Sci* 2014 Feb;73(2):152-60.
- Sialli M, Chatzopoulou D, Gillam DG. An overview of periodontal regenerative procedures for the general dental practitioner. *The Saudi Dental Journal*. 2018;30(1);26-37.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):37-44.
- Lerrer S, Liubomirski, Y, Bott A, Abnaof K, Oren N, Yousaf A. et al. Co-Inflammatory Roles of TGF $\beta$ 1 in the Presence of TNF $\alpha$  Drive a Pro-inflammatory Fate in Mesenchymal Stem Cells. *Frontiers in Immunology*. 2017;8:479.
- Blašković M, Gabrić Pandurić D, Katanec D, Brozović J, Gikić M, Sušić M. Primjena trombocitima obogaćenog fibrina u oralnoj kirurgiji. *Medix: specijalizirani medicinski dvomjesečnik*. 2012;18(103).
- Singh S, Singh A, Singh S, Singh R. Application of PRF in surgical management of periapical lesions. *Natl J Maxillofac Surg*. 2013;4(1):94-9.
- Patel JS, Patel SG, Kadam C. Choukroun's platelet rich fibrin in regenerative dentistry. *Univ Res J Dent*. 2013;3(1):22-5.
- Miron RJ. Platelet rich fibrin in regenerative dentistry: biological background and clinical indications. Choukroun J, editor. John Wiley & Sons, 2017. 268 p.
- Kuiš D. et al. Trombocitima bogat fibrin u parodontnoj plastičnoj kirurgiji. *Medicina Fluminensis: Medicina Fluminensis*, 2018, 54.2: 177-181.
- Nishiyama K. et al. Basic characteristics of plasma rich in growth factors (PRGF): blood cell components and biological effects. *Clinical and experimental dental research*, 2016, 2.2: 96-103.
- Matulić N, Tafr  D, Barić J, Gabrić D. Regeneracija koštanog i mekog tkiva primjenom PRGF-Endoret tehnologije – prikaz slučaja. *Medix*. 2006;21(119):310-11.
- Giannini S. 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.
- Anitua E. et al. Morphogen and proinflammatory cytokine release kinetics from PRGF-Endoret fibrin scaffolds: Evaluation of the effect of leukocyte inclusion. *Journal of biomedical materials research Part A*, 2015, 103.3: 1011-1020.
- Anitua E, Orive G. Endogenous regenerative technology using plasma- and platelet-derived growth factors. *J Control Release*. 2012;157:317-20.
- Rappl LM. 2011. Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury. *Int. Wound J*. 8, 187–195.
- Anitua E, Troya M, Orive G. Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast proliferation and migration and by blocking transforming growth factor- $\beta$ 1-induced myodifferentiation. *J Periodontol*. 2012;83(8):1028-37.
- S. Girish Rao, Preethi Bhat, KS Nagesh, Gundu HR Rao, Bharthi Mirle, Lubna Kharbhari et al. Bone regeneration in Extraction sockets with Autologous Platelet Rich Fibrin Gel. *J Maxillofac Oral Surg*. 2013 Mar;12(1):11-16.
- Gürb zer B, Pikkoken L, Urhan M, Suer BT, Narin Y. Scintigraphic evaluation of early osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010;68:980-9.
- Canellas JV, Ritto FG, Medeiros PJD. Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2017 May;(17)31414-5.
- Mazumdar, Paromita, Sanjib Bhunia, Debabrata Nag. Treatment of Periapical Lesion with Platelet Rich Fibrin. *Indian Medical Gazette*. 2013 Jan;28-33.
- Lindhe J, Lang N. P, Karring T. *Kliniĉka parodontologija i dentalna implantologija*. Nakladni zavod Globus, Zagreb 2010; 86-95, 553-63, 587- 610, 634-74, 1099-118.
- Miloro M, GE Ghali, Larsen P, Waite P. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*; Second Edition, BC Decker Inc, London 2004; 223- 34, 295-312.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):299-303.
- Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant Dent*. 2009;18(2):102-11.
- Ruggiero SL, Fantasia J, Carlson E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Oct;104(4):433-41.