

Wykorzystanie potencjału fibryny bogatopłytkowej (PRF) w stomatologii wieku rozwojowego

Exploitation of the platelet rich fibrin (PRF) potential in paedodontics

¹Doktorantka w Zakładzie Stomatologii Wiekii Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. prof. Joanna Szczepańska

²Zakład Stomatologii Wiekii Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. prof. Joanna Szczepańska

KEY WORDS

platelet rich fibrin, apexification, pulp revascularization, pulpotomy

SUMMARY

Based on literature, the exploitation of the potential of platelet rich fibrin (PRF) in many branches of dentistry, in particular in paedodontics, has been described. Platelet rich fibrin is a platelet concentrate collected directly from the patient, thus being biocompatible. Due to several growth factors – cytokines present in the fibrin structure – it shows a great angiogenic and proliferation potential.

In paedodontics, an important issue is to treat permanent teeth with the not completely developed apex where carious or posttraumatic pulp damage occurred. In such a case, the aim is to provide conditions for the further formation of the apex through leaving a fragment of pulp in the apical region, chamber pulp extirpation (pulpotomy), apexification or revascularization. Platelet rich fibrin can be successfully used in each of those procedures.

Platelet rich fibrin is a spectacular biocompatible preparation supporting many branches of dentistry. It is of particular importance in the treatment of immature teeth. Obtaining the preparation neither requires a specialist procedure nor increases costs; hence, it is worth attention as a method of treatment.

WSTĘP

Fibryna bogatopłytkowa jest koncentratem płytek pozyskiwanym z krwi własnej pacjenta. Zawiera szereg czynników przyspieszających angiogenezę, tworzenie się fibroblastów i osteoblastów, przyspiesza proces gojenia. Dzieje się tak dlatego, że w odpowiednim czasie uwalnia zawarte w sobie czynniki wzrostu, cytokiny oraz komórki (1). Po okresie zapalnym (1-4 dni) następuje etap proliferacji (2-22 dni), w trakcie którego dochodzi do nabłonkowania, angiogenezy, odkładania depozytów kolagenu oraz tworzenia tkanki ziarninowej. Ostatnim etapem jest

dojrzwianie i przebudowa kolagenu, trwająca 6-12 miesięcy (2). Poszukiwanie nowych metod leczniczych opartych na wynikach biologii molekularnej pozwoliło na jej wykorzystanie w wielu dziedzinach stomatologii: endodoncji, pedodoncji, chirurgii i periodontologii.

Celem pracy było omówienie wykorzystania fibryny bogatopłytkowej w stomatologii wieku rozwojowego ze szczególnym uwzględnieniem leczenia zębów stałych z niezakończonym rozwojem korzenia. Problem niedojrzałych zębów stałych, które na skutek urazu lub próchnicy wymagają specjalistycznego leczenia, nadal jest trudnym zagad-

nieniem. Wiąże się to z niezakończonym rozwojem wierzchołka, który kształtuje się 3 lata od momentu wyrżnięcia się zęba. Proces ten określany jest mianem apeksogenezy. Z uwagi na duże zdolności regeneracyjne miazgi niedojrzałego zęba, dąży się do pozostawienia chociaż jej fragmentu w okolicy wierzchołka. Działający szkodliwy bodziec może doprowadzić do odwracalnego/nieodwracalnego zapalenia miazgi lub jej martwicy. Dzięki swoim właściwościom fibryna bogatopłytkowa znalazła zastosowanie na każdym etapie leczenia zębów z niezakończonym rozwojem wierzchołka. Konieczność usunięcia miazgi z kanału pozwala na wykorzystanie tego preparatu w apeksyfikacji oraz rewaskularyzacji. W przypadku odwracalnego zapalenia można wykonać pulpotomię lub przykrycie bezpośrednie (2-4).

Na podstawie piśmiennictwa zwrócono uwagę na proces otrzymywania fibryny bogatopłytkowej, mechanizm jej działania oraz możliwości wykorzystania.

PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

Charakterystyka fibryny bogatopłytkowej

Fibryna jest aktywną formą fibrynogenu. Przekształcenie następuje pod wpływem trombiny, polega na odcięciu fibrynopeptydów A i B oraz spontanicznej polimeryzacji. Efektem jest labilna postać fibryny, która na skutek działania czynnika krzepnięcia XIII oraz jonów wapnia transformuje się do nierozpuszczalnej stabilnej fibryny. Jej struktura gwarantuje elastyczną matrycę dla wędrówki komórek w kanale korzeniowym (5, 6). Płytki krwi obecne w PRF (ang. *Platelet-Rich Fibrin*) ogrywają istotną rolę w angiogenezie. Stymulują one proces angiogenezy poprzez uwalnianie następujących czynników: naskórkowy czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego – PD-EGF (ang. *Platelet-Derived Epidermal Growth Factor*), czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego – PDGF (ang. *Platelet-Derived Growth Factor*), czynnik wzrostu śródbłonki naczyniowej – VEGF (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*), czynnik wzrostu fibroblastów – bFGF (ang. *Basic Fibroblast Growth Factor*), angiopoetyny – Angs (ang. *Angiopoietins*) i transformujący czynnik wzrostu – TGF- β (ang. *Transforming Growth Factor Beta*). Na skutek ich działania dochodzi do wędrówki komórek śródbłonki, makrofagów, komórek macierzystych pochodzenia mezenchymalnego oraz osteoblastów, a w efekcie gojenia ran, angiogenezy i regeneracji tkanek (7). Fibryna bogatopłytkowa wspiera układ odpornościowy oraz bierze udział w hemostazie (8).

Dostępne są różne źródła osocza bogatopłytkowego. Można je pozyskać po zastosowaniu separatorów używanych w hematologii lub poprzez dwukrotne odwirowanie próbki krwi żyłnej pobranej od pacjenta (cPRP) (6).

Metodyka wytworzenia osocza bogatopłytkowego jest następująca:

1. Pobranie krwi żyłnej pacjenta.
2. Dodanie do przygotowanych próbek antykoagulantów zabezpieczających płytki krwi przed wykrzepianiem.
3. Wirowanie 1000 x/10 min.

4. Z powstałej trójwarstwowej zawiesiny usuwamy górną warstwę stanowiącą blisko 40% (ubogopłytkowe osocze), a pozostałą część poddaje się wirowaniu 2200 x/15 min.

5. W następstwie ponownego wirowania dochodzi do ponownego wytworzenia trzech warstw, a po usunięciu pozostałej warstwy ubogopłytkowego osocza, stanowiącego blisko 80%, powstaje cPRP (6).

Z uwagi na stosowane antykoagulanty oraz fibrynę wołową osocze bogatopłytkowe, nawet ze zwiększoną ilością płytek, stanowi zagrożenie dla organizmu człowieka. Fibryna bogatopłytkowa jest bezpieczniejsza, gdyż przy jej użyciu nie dodaje się trombiny wołowej zagrażającej wystąpieniem krwawienia, zakrzepicy, istotnej reakcji immunologicznej (toczeń rumieniowaty układowy). Sześć czynników wzrostu uwalnia się z fibryny bogatopłytkowej ze stałym natężeniem przez okres 7-14-28 dni. Osocze bogatopłytkowe jest ich źródłem bezpośrednio po aplikacji. Wydłużony okres uwalniania wynika z odpowiedniej struktury PRF oraz zabezpieczenia czynników wzrostu przed proteolizą (5, 9, 10). Z tego też powodu wprowadzono fibrynę bogatopłytkową (PRF).

Jej pozyskiwanie polega na następujących procedurach:

1. Pobranie krwi od pacjenta bez dodawania antykoagulantów.
2. Poddanie natychmiastowemu, szybkiemu odwirowaniu (3000 rpm przez 10-12 min).
3. Szybkie umieszczenie w docelowym miejscu z uwagi na rozpoczynającą się kaskadę koagulacji (6, 8, 10).

PRF jest wykorzystywana w różnych dziedzinach stomatologii, takich jak:

1. stomatologia dziecięca:
 - w leczeniu endodontycznym zębów stałych z niezakończonym rozwojem wierzchołka: regeneracja kompleksu miazgowo-zębinowego (rewaskuryzacja) oraz w apeksyfikacji w celu stabilizacji MTA,
 - w pulpotomii;
2. chirurgia stomatologiczna:
 - do wypełniania defektów kości oraz zębodołów poekstrakcyjnych,
 - w augmentacji kości często jako przygotowanie do leczenia implantologicznego,
 - do sterowania regeneracją kości;
3. periodontologia:
 - w leczeniu ubytków kostnych i recesji dziąsłowych,
 - w leczenie zmian okołowierzchołkowych (3).

Pulpotomia

Pulpotomia polega na usunięciu miazgi koronowej z jej zachowaniem w kanałach korzeniowych. Poprzez zastosowanie preparatów odontotropowych dąży się do pobudzenia odontoblastów celem wytworzenia mostu zębinowego w okolicy ujść kanałowych, który izoluje pozostawiony fragment miazgi. Nieuszkodzony kompleks miazgowo-zębinowy pozwala na dalsze formowanie korzenia w zębach

niedojrzałych. Istnieją doniesienia o skutecznym wykonywaniu amputacji komorowej również w zębach dojrzałych u dzieci, a w przypadku wystąpienia powikłań – wdrożeniu standardowego leczenia endodontycznego (11).

W standardowym postępowaniu zabieg rozpoczyna się od znieczulenia pacjenta i izolacji pola zabiegowego koferdamem. Następnie po usunięciu próchnicy i sklepienia miazgi usuwa się miazgę koronową przy użyciu turbiny z chłodzeniem wodnym. Krwawienie hamuje się sterylnymi watkami, podchlorynem sodu i fizjologicznym roztworem soli przez około 5 minut (12). Brak możliwości uzyskania hemostazy dyskwalifikuje ząb do zabiegu pulpotomii, gdyż świadczy to o objęciu procesem zapalnym miazgi kanałowej (13). Na tak przygotowaną powierzchnię stosuje się wodorotlenek wapnia lub MTA (12). Powszechnie stosowany wodorotlenek wapnia z uwagi na posiadane wady, m.in. brak długotrwałej szczelności, słabą adhezję do zębiny, niską jakość powstałego mostu zębinowego, jest zastępowany coraz nowszymi materiałami (14). MTA zarabia się zgodnie z zaleceniami producenta w odpowiednim stosunku proszku do płynu (3:1), mieszając przez 30 sekund. Do kondensacji MTA w ubytku stosuje się wilgotną watkę, którą umieszcza się na 4 godziny dla prawidłowego związania materiału. W kolejnej dobie pacjentowi odbudowywany jest ubytek.

Z uwagi na wady MTA (tj.: cytotoksyczność w świeżo zarobionym materiale głównie wobec makrofagów i fibroblastów, wysokie pH = 12,5 utrzymujące się przez 8 tygodni, długi czas wiązania, duże koszty, przebarwienie tkanek zęba, trudność aplikacji) opracowano nowy materiał – PRF, pochodzący bezpośrednio od pacjenta (13). Jest on dużo bardziej biokompatybilnym materiałem oraz źródłem potrzebnych czynników wzrostu. Uwalniane TGF1 oraz BMP7 uznawane są za czynniki pobudzające odontoblasty, działając bezpośrednio na zębinę lub odsoniętą miazgę. Metodyka postępowania nie różni się od wyżej opisanej, a na miazgę kanałową umieszcza się wcześniej przygotowany PRF. Kolejno stosuje się 2-mm warstwę MTA, a ubytek zabezpiecza się materiałem szkło-jonomerowym i ostatecznym wypełnieniem. Wielowarstwowość odbudowy gwarantuje idealną szczelność (11). Tlenek cynku z eugenolem jest alternatywnym materiałem w stosunku do MTA. Ważny jest odpowiedni stosunek proszku do płynu w trakcie jego zarabiania – optymalnie 10:1. Niskie stężenie eugenolu działa przeciwzapalnie i znieczulająco, wspomagając proces gojenia (13). Jednym z powikłań pulmotomii jest obliteracja kanału z uwagi na możliwość deregulacji odontoblastów i komórek mezenchymalnych, co prowadzi do niekontrolowanego odkładania zębiny (11).

Apeksyfikacja

Apeksyfikacja jest zabiegiem umożliwiającym dalszy rozwój korzenia i wytworzenie bariery w okolicy niekształtowanego wierzchołka w niedojrzałych zębach stałych, gdy konieczne jest usunięcie chorobowo zmienionej miazgi. Proces ten może być stymulowany wykorzystaniem

preparatów wodorotlenkowo-wapniowych, MTA, Biodenty. Po usunięciu resztek miazgi z kanału, długość roboczą określa się radiologicznie. W standardowym postępowaniu na okres 6-18 miesięcy (zależnie od stopnia ukształtowania korzenia w momencie zainfekowania miazgi) umieszcza się wkładkę na bazie Ca(OH)_2 . Po wytworzeniu widocznej na zdjęciu radiologicznym bariery w okolicy wierzchołka można przystąpić do tradycyjnego wypełnienia kanału.

Inną metodą postępowania jest leczenie z wykorzystaniem MTA. Polega ono na umieszczeniu w okolicy okołowierzchołkowej 4-5-mm warstwy MTA, a pozostałą część kanału wypełnia się tradycyjnie po jego związaniu (9). Trudność pracy z tym materiałem wynika z braku bezpośredniej kontroli w trakcie jego kondensacji i możliwości jego przepchnięcia/niedopełnienia. Duża ilość materiału umieszczona w tkance okołowierzchołkowej może doprowadzić do utrzymującego się stanu zapalnego, dezintegracji materiału, resorpcji i braku możliwości wygojenia się zmian okołowierzchołkowych. Zastosowanie bariery PRF, np. membrany kolagenowej, umożliwiłoby uniknięcie wyżej wymienionych powikłań. Dodatkowo PRF jest źródłem czynników wzrostu i stymuluje fibroblasty, osteoblasty, komórki ozębnej, wspomagając gojenie się tkanek. Jest materiałem pochodzącym od pacjenta – autologicznym i w pełni biokompatybilnym (15).

Po przygotowaniu kanału korzeniowego, tj. usunięciu chorobowo zmienionej miazgi, na okres tygodnia umieszcza się wkładkę z Ca(OH)_2 . Gdy pacjent na kolejnej wizycie nie zgłasza dolegliwości bólowych, wprowadza się delikatnie w okolicę okołowierzchołkową wcześniej przygotowany PRF. Na tak przygotowaną barierę kondensuje się warstwę MTA, pozostawiając do związania w obecności wilgotnej watki. Ostateczne wypełnienie kanału następuje po stwardnieniu MTA (15, 16). PRF gwarantuje poprzez zawartość leukocytów i cytokin działanie przeciwbakteryjne i przeciwzapalne. Stopniowo uwalniane PDGF, TGF- β , IGF 1 wspomagają proces gojenia. Struktura fibryny ułatwia migrację komórek, głównie komórek śródbłonka, które są konieczne w procesie angiogenezy i waskularyzacji. PRF jako membrana gwarantuje właściwe umiejscowienie MTA (16).

Rewaskularyzacja

Fibryna bogatopłytkowa jest wykorzystywana w zabiegu rewaskularyzacji miazgi. Z uwagi na jej elastyczność, uwalnia przez co najmniej 7-14 dni czynniki wzrostu, które wzmagają proliferację komórek i ich różnicowanie. Osoczne bogatopłytkowe uwalnia te składniki zaledwie przez 7-14 godzin i wymaga dodatkowo użycia antykoagulantów i trombiny wołowej. Fibryna dodatkowo zawiera leukocyty, cytokiny i niewielką ilość limfocytów (5, 17, 18). Niski poziom trombiny pozwala na wędrówkę komórek śródbłonka i fibroblastów, tworząc nowe naczynia krwionośne. W rewaskularyzacji istotną rolę odgrywają komórki macierzyste, które dzięki strukturze fibryny, z łatwością wędrują do kanału zęba. Prawidłowa budowa fibryny wy-

nika z powolnej polimeryzacji w trakcie przekształcania fibrynogenu w fibrynę (19).

Wstępne procedury zabiegu rewaskularyzacji z wykorzystaniem PRF wykonywane w trakcie pierwszej wizyty nie różnią się od tradycyjnej metody ze skrawianiem okolicy okołowierzchołkowej. Polegają one na usunięciu miazgi martwej bądź w stanie nieodwracalnego zapalenia oraz dezynfekcji przy użyciu 5,25% NaOCl w ilości 20 ml. Pierwsza wizyta kończy się założeniem opatrunku w postaci pasty poliantybiotykowej. W jej skład wchodzi: ciprofloksacyna, metronidazol, minocyklina w równych ilościach. Z uwagi na możliwe przebarwienie zęba, minocyklinę można zastąpić cefaklorem, a ściany zęba zabezpieczyć systemem wiążącym. Do kolejnej wizyty konieczne jest pobranie krwi żyłnej od pacjenta i jej odwirowanie. Z przygotowanej próbki oddziela się warstwę fibryny bogatopłytkowej, którą dzieli się na mniejsze fragmenty po osuszeniu. Następnie umieszcza się je w kanale korzeniowym do połączenia szkliwno-cementowego i pokrywa 3-mm warstwą MTA. Z uwagi na właściwości MTA, do ubytku zakłada się wilgotną watkę, a 3 dni później wymienia się na ostateczne wypełnienie. W tej metodzie MTA jest dużo stabilniej umieszczony i zregenerowana tkanka powstanie do szyjki zęba (5, 17, 18). Z tego względu fibryna bogatopłytkowa wykorzystywana jest w rewaskularyzacji również jako membrana do pokrycia wytworzonego skrzepu w kanale (20).

Zalety wykorzystania fibryny bogatopłytkowej w rewaskularyzacji:

- w przeprowadzonych dotychczas badaniach metoda ta pozwalała na rewaskularyzację miazgi, eliminację dolegliwości bólowych oraz cofanie się zmian okołowierzchołkowych,
- przywrócenie żywotności zęba gwarantuje wzrost długości korzenia, pogrubienie jego ścian oraz prawidłowy rozwój wierzchołka,
- fibryna bogatopłytkowa zawiera dużą ilość czynników wzrostu, proliferacyjnych i różnicujących umożliwiających ponowne unaczynienie zęba,
- w metodzie rewaskularyzacji ze skrawianiem okolicy okołowierzchołkowej nie ma możliwości określenia składników powstałego skrzepu – inaczej niż przy wykorzystaniu fibryny bogatopłytkowej,
- MTA można wykonać u pacjentów z niewielkim krwawieniem, gdzie w tradycyjnej metodzie rewaskularyzacji nie doszłoby do wytworzenia skrzepu,
- MTA jest bardziej stabilny na skrzepie z fibryny bogatopłytkowej niż na tym powstałym w procesie skrawiania okolicy okołowierzchołkowej,

Wady wykorzystania fibryny bogatopłytkowej w rewaskularyzacji:

- metoda nie do końca poznana,
- wymaga specjalistycznego sprzętu i jest skomplikowana,
- jest kosztowna (5, 9, 21).

Regeneracja ran poekstrakcyjnych

PRF wpływa na PDLFs (ang. *Periodontal Ligament Fibroblasts*) i powoduje ich przekształcenie w osteoblasty, stymulując odbudowę ubytków kostnych. Dochodzi wówczas do wzrostu następujących czynników: ERK (ang. *Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase*), OPG (ang. *Osteoprotegerin*) i ALP (ang. *Alkaline Phosphatase*). OPG jest inhibitorem różnicowania osteoklastów. ERK ogrywa istotną rolę we wzroście i różnicowaniu komórek. ALP to marker różnicowania osteoblastów i wskaźnik powstawania nowej kości. Pod wpływem PRF każdy z tych czynników ulega wzrostowi (10). PRF poprzez uwalnianie płytkopochodnego czynnika wzrostu – PDGF – aktywuje fibroblasty i osteoblasty oraz ma działanie chemotaktyczne w stosunku do nich. Bierze również udział w odpowiedzi immunologicznej, hamując rozwój stanu zapalnego poprzez uwolnienie cytokin, tj. IL-1, IL-4, IL-6 oraz TNF- α (19).

Sterowana regeneracja kości pozwala na odbudowę kości poprzez zastosowanie materiałów kościostępczych, których pochodzenie może być różne. Najlepsze wyniki otrzymuje się po zastosowaniu materiałów autologicznych, czyli pochodzących bezpośrednio od pacjenta, np. przeszczep z kości biodrowej. Wadą takich zabiegów jest powstanie dodatkowej rany oraz dość szybka resorpcja w jamie ustnej. Komórki pobrane wewnątrznie posiadają krótkotrwałą żywotność (24 godziny), znaczną resorpcję, a ich ilość jest ograniczona (22). Zaopatrzenie defektu kostnego może również polegać na użyciu PRF-żel lub PRF-membrana, które same lub z materiałami kostnymi będą brały udział w procesie sterowanej regeneracji kości. Odbudowa kości w całym obszarze jej braku możliwa jest poprzez zastosowanie dwóch membran, które zabezpieczą przed ich miejscową resorpcją (2). Zabieg rozpoczyna się od znieczulenia pacjenta i atraumatycznego usunięcia zęba lub przygotowania miejsca defektu kostnego, np. rozszczepionego podniebienia. Wcześniej przygotowaną próbkę PRF umieszcza się w miejscu biorczym, kondensując delikatnie plugerami. Zabieg kończy się zaopatrzeniem rany szwami (23).

Zalety regeneracji ran poekstrakcyjnych z wykorzystaniem PRF:

- gwarantuje lepsze gojenie ran poekstrakcyjnych z ograniczeniem obrzęku, krwawienia, rozejścia się rany,
- skrócony czas zabiegu przy wykorzystaniu PRF jako materiału lub membrany,
- mniejsza ilość komplikacji związanych z odsłonięciem materiału PRF,
- wytworzenie lepszej jakości kości bez obszarów z materiałem kościostępczym, np. DFDBA, który przez lata będzie resorbowany przez makrofagi oraz jest miejscem osłabienia kości,
- mniejsze ryzyko resorpcji (5, 9, 22).

Wady regeneracji ran poekstrakcyjnych z wykorzystaniem PRF:

- metoda innowacyjna,
- metoda wymagająca dodatkowo pobrania krwi od pacjenta.

PODSUMOWANIE

Opierając się na wynikach badań z ostatnich lat, można stwierdzić, że fibryna bogatopłytkowa (PRF) odgrywa istotną rolę w wielu dziedzinach stomatologii, stymulując procesy naprawcze. Jest to szczególnie ważne w zę-

bach z niekształtowanym wierzchołkiem, gdzie fibryna zwiększa szanse na powodzenie zabiegów pulpotomii, apeksyfikacji i rewaskularyzacji. Dalsze wielokierunkowe badania będą miały na celu rozszerzenie wskazań do wykorzystania PRF.

ADRES DO KORESPONDENCJI

*Joanna Szczepańska
Zakład Stomatologii
Wieków Rozwojowego UM
ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź
tel.: +48 (42) 675-75-16
joanna.szczepanska@umed.lodz.pl

PIŚMIENNICTWO

- Gupta V, Bains VK, Singh GP et al.: Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin In Dentistry: Literature Review. *Asian J Oral Health Allied Sci* 2011; 1(1): 22-28.
- Pazera R, Szczepańska J: Nowoczesna metoda leczenia martwicy miazgi w zębach z niekształtowanym wierzchołkiem – rewaskularyzacja miazgi. Część II. *Nowa Stomatol* 2014; 2: 110-115.
- Agrawa M, Agrawa V: Platelet Rich Fibrin and its Applications in Dentistry – A Review Article. *NJMADR* 2014; 2(3): 51-58.
- Pazera R, Szczepańska J: Nowoczesna metoda leczenia martwicy miazgi w zębach z niekształtowanym wierzchołkiem – rewaskularyzacja miazgi. Część I. *Nowa Stomatol* 2014; 1: 37-40.
- Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Kumar MR: Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *J Conserv Dent* 2012; 15(4): 395-398.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A 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.
- Mammoto T, Jiang A, Jiang E, Mammoto A: Platelet rich plasma extract promotes angiogenesis through the angiopoietin-1-Tie2 pathway. *Microvasc Res* 2013; 89: 15-24.
- Naik B, Karunakar P, Jayadev M, Marshal VR: Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *J Conserv Dent* 2013; 16(4): 284-293.
- Girish Rao S, Bhat P, Nagesh KS et al.: Bone regeneration in extraction sockets with autologous platelet rich fibrin gel. *J Maxillofac Oral Surg* 2013; 12(1): 11-16.
- Chang YC, Zhao JH: Effects of platelet-rich fibrin on human periodontal ligament fibroblasts and application for periodontal infrabony defects. *Aust Dent J* 2011; 56(4): 365-371.
- Hiremath H, Saikalyan S, Kulkarni SS, Hiremath V: Second-generation platelet concentrate (PRF) as a pulpotomy medication in a permanent molar with pulpitis: a case report. *Int Endod J* 2012; 45 (1): 105-112.
- Barnkgkei IH, Halboub ES, Alboni RS: Pulpotomy of symptomatic permanent teeth with carious exposure using mineral trioxide aggregate. *Iran Endod J* 2013; 8(2): 65-68.
- Keswani D, Pandey RK, Ansari A, Gupta S: Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and mineral trioxide aggregate as pulpotomy agents in permanent teeth with incomplete root development: a randomized controlled trial. *J Endod* 2014; 40(5): 599-605.
- Lee KY, Lee SH, Lee NY: Vital pulp therapy using platelet – rich fibrin in an immature permanent tooth: case reports. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2013; 40(2): 120-126.
- Rudagi KB, Rudagi B: One-step apexification in immature tooth using grey mineral trioxide aggregate as an apical barrier and autologous platelet rich fibrin membrane as an internal matrix. *J Conserv Dent* 2012; 15(2): 196-199.
- Khetarpal A, Chaudhry S, Talwar S, Verma M: Endodontic management of open apex using MTA and platelet – rich fibrin membrane barrier: A newer matrix concept. *J Clin Exp Dent* 2013; 5(5): 291-294.
- Keswani D, Pandey RK: Revascularization of an immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *Int Endod J* 2013; 46: 1096-1104.
- Johns DA, Shivashankar VY, Krishnamma S, Johns M: Use of photoactivated disinfection and platelet-rich fibrin in regenerative Endodontics. *J Conserv Dent* 2014; 17(5): 487-490.
- Chandran P, Sivadas A: Platelet-rich fibrin: Its role in periodontal regeneration. *J Dent Res* 2014; 5(2): 117-122.
- Geeta IB, Galagali G, Kulkarni S et al.: A Natural Meliorate: Revolutionary Tissue Engineering in Endodontics. *J Clin Diagn Res* 2013; 7(11): 2644-2646.
- Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Sönmez H: Concentrated platelet-rich plasma used in root canal rewaskularization: 2 case reports. *Int Endod J* 2014; 47: 41-49.
- Simon BI, Zatzoff AL, Kong JJW, O'Connell SM: Clinical and Histological Comparison of Extraction Socket Healing Following the Use of Autologous Platelet-Rich Fibrin Matrix (PRFM) to Ridge Preservation Procedures Employing Demineralized Freeze Dried Bone Allograft Material and Membrane. *Open Dent J* 2009; 3: 92-99.
- Athraa Y, Alhijazi BDS, Siba AM: Evaluation the effect of platelet rich fibrin matrix on bone healing. *J Bagh College Dentistry* 2011; 23(4): 65-70.

nadesłano: 12.12.2014

zaakceptowano do druku: 26.02.2015