UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa

Corso di Laurea Magistrale in Odontoiatria e Protesi Dentaria

Presidente: Chiar.mo Prof. Ugo Consolo

Valutazione clinica e radiografica dell'efficacia di L- PRF nelle estrazioni di terzi molari inferiori

Relatore:

Chiar.mo Prof. Pierantonio Bellini

Correlatore:

Dott. Davide Marraffa

Tesi di Laurea di:

Chiara Dimastrogiovanni

Anno Accademico 2025/2026

Sommario

CAPITOLO 1- INTRODUZIONE 3
1.1 Indicazioni all'estrazione 3
1.2 Valutazioni fattori di rischio preoperatori 4
1.3 Valutazioni fattori di rischio intra-operatori 7
1.4 Valutazioni post-operatorie 8
1.5 Il L-PRF 9
1.5.1 Definizione degli emocomponenti 9
1.5.2 Dalla biologia alla clinica 12
1.5.3 Metodo di preparazione 16
1.5.4 L-PRF in chirurgia orale 17
1.5.5 Preservazione alveolare 20
1.6 Scopo dello studio 23
CAPITOLO 2 - MATERIALI E METODI 24
2.1 Disegno dello studio 24
2.2 Scelta del campione 24
2.3 Variabili valutate 25
2.4 Visite dello studio 28
2.4.1 I° Visita – Baseline ed intervento chirurgico 28
2.4.2 II° Visita – Controllo post-operatorio (a 48h da I° Visita) 31
2.4.3 III° Visita - follow up a 7 gg dall'intervento 31
2.4.4 IV° Visita – follow up a 6 mesi dall'intervento 31
2.4.5 V° Visita – follow up a 12 mesi dall'intervento 32
2.5 Outcomes e analisi statistica 32
CAPITOLO 3 - RISULTATI 32
3.1 Caratteristiche del campione al baseline 32
3.2 Dolore post-operatorio e consumo di analgesici 34
3.3 Tumefazione facciale 34
3.4 Trisma 35
3.5 Guarigione ossea radiografica e spessore della cresta alveolare 35
3.6 Sintesi dei risultati 36
CAPITOLO 4 - DISCUSSIONE 37
4.1 Interpretazione dei risultati 37
4.2 Punti di forza e limiti dello studio 38
CAPITOLO 5 - CONCLUSIONI 39
BIBLIOGRAFIA 40

CAPITOLO 1- INTRODUZIONE

1.1 Indicazioni all'estrazione

Nella pratica odontoiatrica quotidiana il terzo molare inferiore è tra i denti inclusi più frequentemente interessato da valutazioni cliniche e radiografiche. Questo elemento dentario, per la sua posizione e la frequente mancata eruzione con conseguente inutilità funzionale, è spesso soggetto a estrazione chirurgica[1]. Il terzo molare presenta un'incidenza di inclusione tra il 66% e il 77%, spesso dovuta a disodontiasi o impattamento con strutture adiacenti[2].

La mancata eruzione può causare diverse problematiche che richiedono un intervento chirurgico, come pericoronariti, carie, riassorbimenti radicolari, disordini temporo-mandibolari, lesioni osteolitiche e danni parodontali al secondo molare. Tra le indicazioni all'estrazione rientrano anche problematiche di salute generale, necessità ortodontiche e chirurgia ortognatica[3]. Tuttavia, l'indicazione all'avulsione di un dente incluso deve essere valutata solo al termine di un adeguato percorso decisionale, che escluda ogni possibilità di recupero mediante un'analisi clinica e radiologica.

Sono numerose le variabili da considerare in relazione all'estrazione del terzo molare inferiore e alla sua guarigione:

- **Preoperatorie**: profondità di inclusione, vicinanza a strutture anatomiche nobili **(Fig.1),** età del paziente, condizioni sistemiche e livello di collaborazione.
- **Intraoperatorie**: esperienza dell'operatore, protocollo chirurgico (lembo, osteotomia, odontotomia, sutura).
- **Postoperatorie**: gestione delle complicanze e sintomi nel periodo di guarigione, impiego di biomateriali innesti, membrane, collagene o emocomponenti) [2]

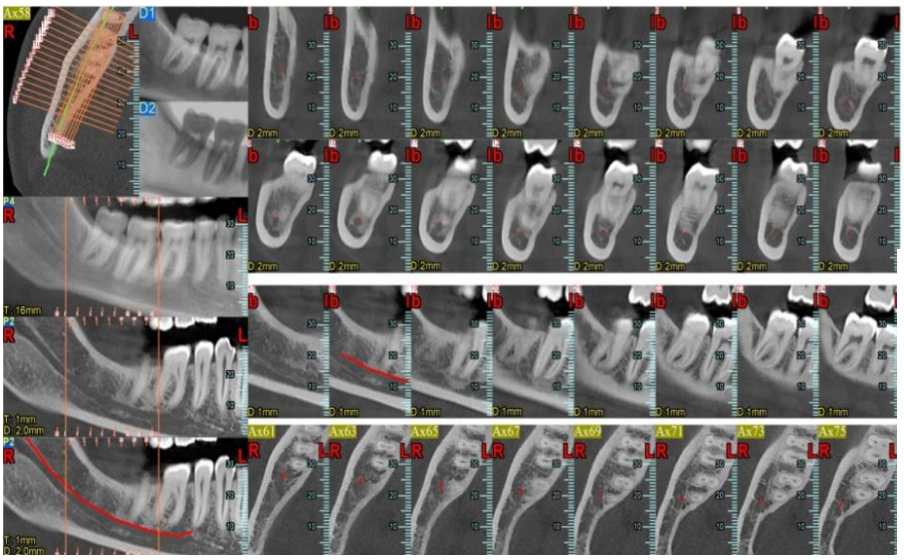


Figura 1 Valutazione radiografica di TC di terzo molare in prossimità di NAI

1.2 Valutazioni fattori di rischio preoperatori

Come in tutte le estrazioni, l'operatore deve eseguire una corretta valutazione anamnestica per evitare complicanza intra-operatorie o post-operatorie. Inevitabilmente sono da considerare alcune valutazioni in riferimento allo stato di salute generale del paziente, qualora soffrisse di patologie, quali diabete o malformazioni cardiache, piuttosto che fosse sottoposto a terapia radiante, chemioterapica. Sono inoltre da valutare l'assunzione di farmaci anticoagulanti e/o bifosfonati, che possono portare a conseguenze durante l'intervento o possono agire in termini di guarigione dei tessuti molli e duri.

Secondo le nuove linee guida per l'endocardite batterica e i protocolli per prevenire MRONJ, in determinati contesti l'operatore deve eseguire profilassi antibiotica[1]. In pazienti a rischio, secondo quanto suggerito da un'analisi del 1990, è consigliabile estrarre il terzo molare prima dei 25 anni, in quanto tale intervento eseguito in età più avanzata diminuirebbe la probabilità di ottenere una restitutio ad integrum[2]. Sono da considerarsi anche abitudini viziate, quali fumo, che possono comportare stimoli irritativi cronici al sito chirurgico e conseguenze negative sulla guarigione.

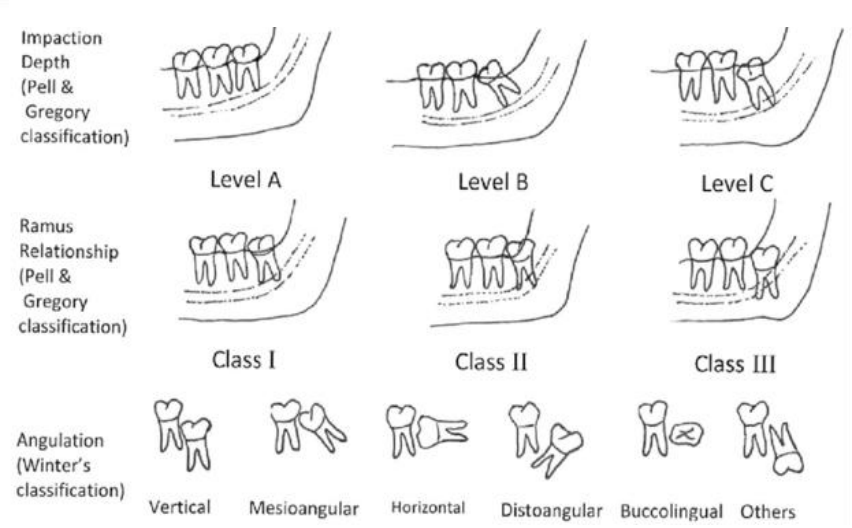
Tra i fattori da considerare in fase preoperatoria inevitabilmente si deve considerare la compliance del paziente: tanto più il paziente è collaborante, tanto più l'operatore è avvantaggiato nella procedura, riducendo così le tempistiche chirurgiche. Inoltre, la ridotta apertura del paziente può rendere più difficoltoso l'accesso per il primo operatore.

Uno dei fattori più rilevanti in termini di guarigione su cui la letteratura si è maggiormente soffermata è certamente l'età del paziente. I pazienti giovani possono trarre maggiori vantaggi da un'estrazione chirurgica di un terzo molare rispetto a pazienti più anziani per diversi motivi, tra cui minori rischi intraoperatori (ad esempio di danno al nervo alveolare inferiore). Le difficoltà estrattive nel caso dei terzi molari aumentano con l'età a causa dello sviluppo radicolare, dell'assottigliamento del legamento parodontale, della possibilità di anchilosi e della conformazione dell'osso mandibolare che diventa, in età adulta, più consistente. Secondo alcuni autori, al di sopra dei 25 anni abbiamo elementi dentari con una maturazione degli apici ormai completa e una posizione più angolata rispetto ai pazienti più giovani[3,4].

Alcuni autori riscontrano una guarigione migliore della cresta ossea negli interventi chirurgici eseguiti su individui giovani[5]. Secondo uno studio condotto nel 1995 dopo l'estrazione del terzo molare la profondità di tasca distale al secondo molare era aumentata di 3 volte dopo i 25 anni rispetto ai soggetti con meno di 25 anni[6]. Tuttavia, studi longitudinali condotti successivamente dimostrano come i risultati possano essere molto diversi in relazione all'età del paziente[7].

Secondo quanto riportato in letteratura l'inclusione del terzo molare non solo rappresenta di per sé, un fattore di rischio per l'estrazione, ma è fortemente connesso alla profondità di tasca distale al II molare e al difetto osseo[8].

Figura 2 Classificazione Pell e Gregory e Classificazione di Winter



Il tipo di inclusione **(fig.2)** e lo stato parodontale iniziale influenzano la guarigione parodontale, come dimostrato in uno studio retrospettivo[4].

L'estrazione chirurgica di un dente completamente incluso determina la creazione di un opercolo osseo unilaterale che solitamente è a carico della parete ossea vestibolare. Negli elementi dentari semi-inclusi, o in inclusione mucosa, invece, abbiamo la perdita di due pareti ossee, quella coronale causata dall'eruzione e quella vestibolare che spesso deve essere parzialmente rimossa per consentirne l'estrazione. Inoltre, qualora il terzo molare sia a stretto contatto con il secondo molare, in assenza di osso sul piano coronale, tale contiguità può causare maggiori difetti parodontali del secondo molare dopo l'intervento chirurgico di estrazione.

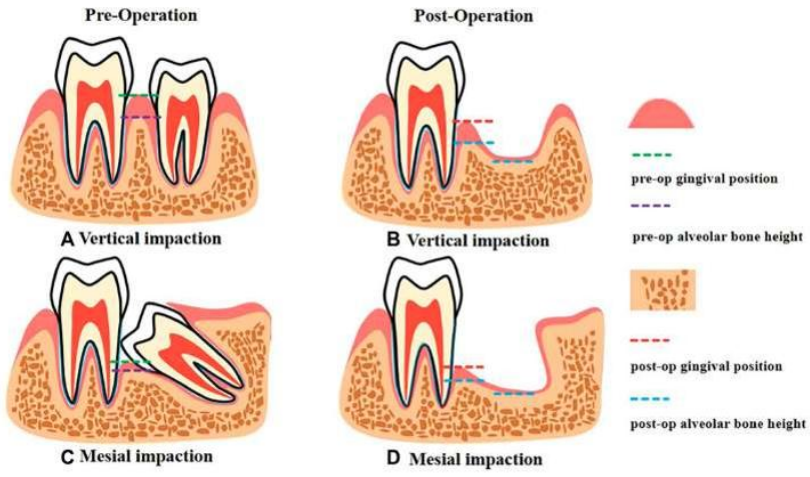


Figura 3 Rapporto di diretta correlazione tra tipologia di inclusione terzo molare e difetto osseo distale al VII residuo

Secondo uno studio di Nunn ME, Fish MD, Garcia RI, et al., in un elemento semi-incluso il rischio di difetto parodontale è maggiore rispetto ad un incluso totale, con un rischio aumentato di 4,8 volte dopo l'estrazione di un semi-incluso e di sole 1,7 volte in un elemento in inclusione totale[9] **(Fig.3)**.

L'inclinazione mesio-angolata del terzo molare induce inevitabilmente la presenza di un difetto, o di uno "spazio", tra il secondo e il terzo molare che può favorire la colonizzazione di un microbiota sub-gengivale, inclusi batteri parodontopatogeni.[4]

Fondamentale in termini di valutazione di guarigione è lo stato di igiene del paziente. L'inclusione e la sua profondità possono determinare tasche tali da rendere complesso un buon mantenimento igienico quotidiano.
L'eruzione del terzo molare avviene in uno spazio estremamente limitato nel quale spesso si crea un impatto di cibo e un accumulo di placca che determinano una maggior suscettibilità parodontale del secondo molare adiacente[10]

Un terzo molare in disodontiasi, semincluso o incluso, se esposto all'ambiente orale può essere un sito più suscettibile ad infezione e quindi alla perdita di attacco parodontale.
In uno studio su estrazioni di terzi molari inferiori si è rilevata nel 43% dei casi presenza di tasca parodontale adiacente al II molare > di 7 mm, mentre nel 32% la presenza di un difetto infra-osseo parodontale > 4 mm[2]. Molto spesso si riscontrano situazioni di danno parodontale a carico del secondo molare associate a terzi molari completamente asintomatici.
Secondo alcuni autori, l'operatore deve interrogarsi su quale sia il possibile danno parodontale derivato dalla mancata estrazione di terzo molare[11].
Diversi ricercatori si sono pertanto soffermati sulla possibilità che il III molare asintomatico o sintomatico possa causare lo sviluppo di danno parodontale a carico del II molare e l'evoluzione poi del quadro clinico in seguito all'estrazione dello stesso.

La presenza quindi, ma anche l'estrazione, di un terzo molare possono essere dannose e favorire la perdita di attacco, l'aumento della profondità di sondaggio della tasca parodontale e/o la perdita di altezza ossea nell'aspetto distale della superficie del II molare adiacente. La preesistenza di un difetto osseo, l'età del paziente ed il livello di controllo di placca possono essere fattori predittivi associati alla perdita di attacco parodontale.
L'estrazione preventiva dei terzi molari asintomatici presenti in soggetti giovani che presentano sondaggio patologico, ovvero con una PPD ≥ 4mm, può portare ad un effetto benefico sulle condizioni parodontali della parete distale del secondo molare[12].

La condizione parodontale presente nel preoperatorio influenza l'outcome post-estrattivo. Secondo alcuni autori, i pazienti con storia di parodontite hanno probabilità 41 volte maggiore di sviluppare danno parodontale a carico del II molare[13] (PPD>4).

1.3 Valutazioni fattori di rischio intra-operatori



Figura 4 OPT preoperatoria

Nel contesto estrattivo si procede con una rivalutazione radiografica dell'OPT **(Fig.4)**, prima indagine diagnostica a basso dosaggio di radiazioni, eseguibile anche in presenza di una apertura limitata della bocca in breve tempo e confortevole per il paziente, che consente all'operatore una visione di insieme di entrambe le arcate dentarie e delle strutture adiacenti, confermando così le indicazioni all'estrazione e la pianificazione dell'intervento. L'operatore mediante l'esecuzione di una tomografia computerizzata (TC) può analizzare una rappresentazione dello scenario anatomico e chirurgico più realistico.

Il biotipo gengivale insieme al disegno del lembo sono altri fattori che possono incidere sulla formazione o meno di tasca parodontale. Secondo alcuni autori, in relazione alla tecnica chirurgica utilizzata, il disegno di lembo non influenzerebbe la perdita di osso distalmente al secondo molare, ma potrebbe essere associato ad una diminuzione della tasca parodontale distale residua[14].

Ogni incisione e scollamento del lembo mucoperiosteo crea uno squilibrio nell'omeostasi dell'osso alveolare e attiva gli osteoclasti. Dopo la chirurgia del terzo molare, un fattore prognostico importantissimo è la quantità rimanente di fibre del legamento parodontale e di fibroblasti gengivali presenti.

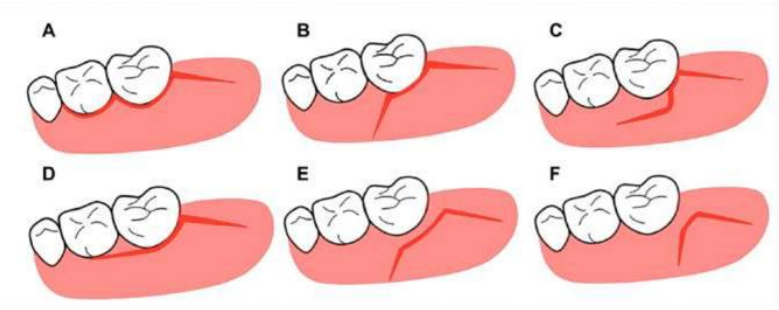


Figura 5 Diversi tipologie di lembo per estrazione di terzo molare. A- lembo standard a busta, B- lembo standard triangolare, C-F lembi modificati

Altri autori indicano che la decisione del disegno di lembo da utilizzare per accedere al terzo molare dovrebbe essere una scelta dell'operatore, ma deve comunque favorire il mantenimento della salute parodontale distalmente al secondo molare[15].

Dalla letteratura emerge che il lembo triangolare è migliore del lembo a busta nel favorire la salute parodontale e i lembi modificati in determinate situazioni cliniche risultano migliori rispetto al lembo triangolare **(Fig.5)**

Inevitabilmente l'esperienza del chirurgo può rappresentare un fattore significativo in termini di decisioni terapeutiche, tempistiche e manovre chirurgiche come incisone, osteotomia[16].

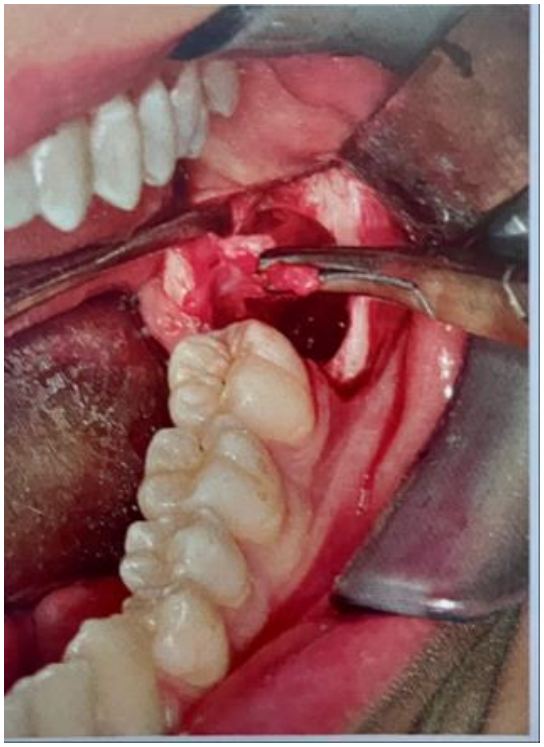


Figura 6 Foto intraoperatoria dopo estrazione ottavo

In letteratura diversi autori si sono concentrati sul confronto tra tecniche chirurgiche e comprendere quali strumenti potessero essere meno aggressivi su strutture ossee e tessuti molli. Secondo gli studi condotti, laddove l'operatore utilizzava strumenti meno aggressivi per la chirurgia di ottavi inferiori e seguiva il principio di "minor invasività" la densità ossea finale risulta maggiore, il gonfiore e il dolore post-operatorio ridotti, così come i danni da surriscaldamento ai tessuti duri e molli e i difetti parodontali[17]. Tra gli strumenti minimamente invasivi, come la chirurgia piezoelettrica, turbine inclinate di 45°, leve con punte più sottili e divaricatori di dimensioni ridotte, si riscontrava una diminuzione degli effetti avversi, incluso il riassorbimento osseo **(Fig.6)**.

Infine, i diversi tipi di suture possono influire notevolmente sulla guarigione parodontale. In particolare, il PPD e il CAL distalmente al II molare, in caso di sutura a punti staccati erano significativamente maggiori rispetto alle suture ancorate e alle suture a 8[18].

1.4 Valutazioni post-operatorie

Durante gli anni sono stati proposti numerosi interventi per favorire la guarigione parodontale **(Fig.7),** tra cui la levigatura radicolare con strumenti manuali o ultrasonici per il trattamento della superficie distale al secondo molare. La letteratura ad oggi non offre una risposta univoca, poiché alcuni

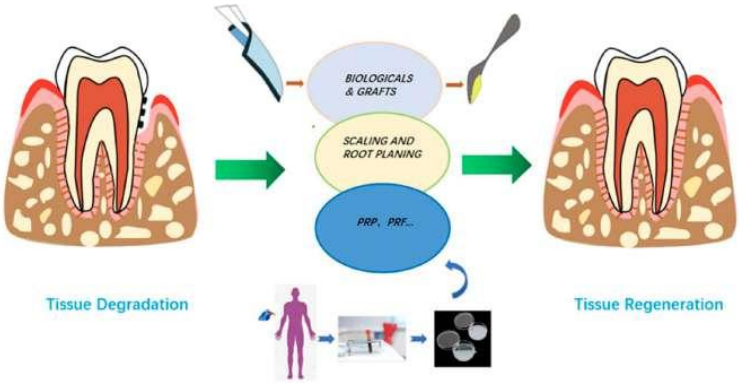


Figura 7 Tipologie di trattamenti post-estrazione di terzo molare

autori non riscontrano differenze statisticamente significative, mentre altri suggeriscono che il trattamento parodontale possa ridurre l'insorgenza di tasche o difetti ossei parodontali in seguito all'estrazione di terzi molari.

Dalla letteratura emerge che l'utilizzo di membrane, sia per innesti autologhi sia per innesti alloplastici, può evitare che l'epitelio ed il connettivo intacchino la superficie radicolare durante i processi di guarigione. Le membrane risultano in grado di stimolare la rigenerazione ossea, migliorare il livello di attacco ed il riempimento osseo.

Riempire l'alveolo post estrattivo con una spugnetta di collagene, biomateriale con struttura simile al collagene umano, si è dimostrato efficace, portando ad una perdita di osso minore rispetto ad un alveolo post estrattivo vuoto e prevenendo l'istaurarsi di un difetto e mantenere uno stato di salute parodontale[17]. In uno studio split-mouth è stato dimostrato che la spugnetta di collagene riduce le complicazioni nell'immediato post operatorio, prevenendo il collasso dei tessuti molli e minimizzando il difetto parodontale[19].

1.5 Il L-PRF

Il posizionamento di emocomponenti come il L-PRF (Leucocyte and Platelet-Rich Fibrin) nell'alveolo post-estrattivo supporta la rigenerazione tissutale, favorendo la guarigione ossea e rilasciando sul sito fattori di crescita utili[20]. Tale prodotto autologo, ottenuto dalla manipolazione con sistema a circuito chiuso di una minima quantità di sangue, consente di apportare in corrispondenza del sito chirurgico una quantità sovra-basale di fattori di crescita e piastrine[21]. Secondo il gruppo tecnico multidisciplinare coordinato dal centro nazionale sangue, tutte le indicazioni cliniche all'utilizzo di emocomponenti per uso non trasfusionale (Eunt) in odontoiatria sono basate su raccomandazioni deboli, ovvero con incerta evidenza del rapporto rischio/beneficio. L'elenco delle "Indicazioni terapeutiche sull'utilizzo degli emocomponenti per uso non trasfusionale" del giugno 2024 (III edizione) conferma quanto già descritto in letteratura precedentemente.

1.5.1 Definizione degli emocomponenti

Gli emocomponenti ad uso non trasfusionale sono prodotti autologhi ottenuti dalla centrifugazione di un campione di sangue venoso del paziente, attraverso una manipolazione con sistemi a circuito chiuso. Sono costituiti da una frazione plasmatica di sangue autologo con una concentrazione di piastrine superiore a quella basale. L'obiettivo del loro utilizzo è proprio quello di portare nel sito di interesse una quantità sopra fisiologica di piastrine e fattori di crescita. I prodotti proposti sono numerosi così come lo sono le loro tecniche di preparazione, le loro caratteristiche biologiche ed i loro usi clinici. Si distinguono per la differente centrifugazione e separazione, la presenza o meno di

anticoagulante, e la diversa attivazione. Oggi rappresentano un importante strumento della medicina rigenerativa e sono molto usati nella pratica clinica e chirurgica che prevede rigenerazione tessutale. I loro potenziali benefici includono la rigenerazione dei tessuti duri e molli, l'emostasi locale e l'accelerazione dei processi di guarigione delle ferite. Vengono infatti sfruttati come opzioni terapeutiche in differenti campi della medicina[21].

Tra i campi di applicazione ritroviamo:

- Dermatologia: trattamento di ulcere e decubiti (es: piede diabetico) e ferite cutanee difficili,
- Ortopedia: trattamento di lesioni traumatiche dei tendini e legamenti ma anche di patologie articolari infiammatorie e degenerative (artriti e artrosi). A livello articolare iniezioni di PRP sono state utilizzate anche nel trattamento di infiammazioni acute dell'ATM;
- Medicina estetica: il PRP in particolare, ha trovato applicazioni associato a cellule adipose nei filler, o per il trattamento di inestetismi cutanei.
- Oculistica: gli emocomponenti sono stati recentemente utilizzati per il trattamento di ulcere corneali e delle "dry eye syndrome" sotto forma di colliri.
- Neurologia: sono in corso sperimentazioni su modelli animali che valutano la possibile rigenerazione neuronale utilizzando gli emocomponenti[22,23].

Il precursore dei moderni derivati piastrinici risale al 1970 quando un prodotto noto come "colla di fibrina" fu introdotto da Helene Matras; sistema a due componenti che riproducono le ultime fasi della cascata della coagulazione, formando una matrice tridimensionale bioattiva simile a un coagulo naturale. Nel 1998 Marx introdusse il termine PRP, Platelet Riched Plasma, per definire una sorgente autologa di fattori di crescita derivati da piastrine, e iniziò ad utilizzarla routinariamente in chirurgia maxillo-facciale[24]. Il PRP è formato per il 95% da piastrine, attive nella secrezione di fattori di crescita responsabili della guarigione tissutale[25].

A seguire, nel 1999 il Dr. Eduardo Anitua sviluppò un metodo di preparazione single spin che richiedeva soltanto da 5 a 9 ml di sangue, e ottenne un emoderivato ricco di piastrine chiamato PRGF, Plasma Rich in Growth Factors. In questa tecnica l'attivatore utilizzato è a base di cloruro calcio e non di trombina bovina, portando ad un composto più sicuro e biocompatibile. La tecnologia attuale del PRGF, "PRGF-endoret", è un'evoluzione della tecnica sviluppata da Anitua che promuove la rigenerazione ossea e dei tessuti molli, ottenendo uno scaffold di fibrina su cui trattenere piastrine nel sito da trattare, semplicemente seguendo un protocollo specifico di centrifugazione del sangue[26].

Nel 2000, una seconda generazione di derivati piastrinici fu introdotta da Choukroun in Francia e chiamata Platelet- rich fibrin, PRF[24].

Questo preparato piastrinico, completamente autologo, era stato creato ad uso specifico per la Chirurgia Maxillo Facciale. Nel 2006 Sacco introdusse il concetto di CGF: concentrate growth factors, definendo una categoria di emoderivati ottenuti con prelievo di sangue venoso centrifugato a 2400- 2700 rpm. Il risultato sono membrane di fibrina più spesse, dense e ricche di contenuto, dotate di ottima viscosità e capacità di adesione, oltre ad una ottima resistenza alla trazione. A seguire, nel 2008 e nel 2014 sempre Choukroun introdusse L- PRF (leucocyte PRF) e A PRF (advanced PRF): ottenuti con modalità di centrifugazione diverse, presentano una maggiore quantità di fattori di crescita e leucociti. Infine, nel 2015, Mourão e colleghi prepararono per la prima volta i- PRF (PRF iniettabile), che differisce dai suoi predecessori per la sua natura liquida[27].

Tra gli emocomponenti, il L-PRF è il più utilizzato in odontoiatria per la sua capacità di preservare dimensioni ossee e migliorare il processo di guarigione. A differenza di altri emocomponenti ottenuti con diversi processi di centrifugazione, separazione e conservazione, L-PRF presenta uno scaffold tridimensionale di fibrina, la presenza di leucociti e il rilascio lento di fattori, oltre che l'assenza di anticoagulanti, caratteristiche ideali per l'applicazione in ambito chirurgico[28]. Sebbene manchino protocolli standardizzati, studi clinici e preclinici ne confermano i benefici sia sui tessuti molli sia su quelli duri.

L-PRF migliora il decorso post-operatorio, riducendo il dolore, gonfiore, trisma e consumo di analgesici, oltre a una minore incidenza di alveolite post-estrattiva[29,30]. Per quanto riguarda i tessuti duri, il L-PRF contribuisce al mantenimento delle dimensioni e della densità ossea[31]. Secondo alcuni autori è possibile riscontrare una rigenerazione ossea più rapida nei pazienti trattati con L-PRF rispetto a quelli non trattati[32]

La letteratura scientifica conferma gli effetti benefici di L-PRF anche su dolore, gonfiore specialmente nei primi tre giorni e guarigione ossea[33]. In uno studio split-mouth su 18 pazienti, il L-PRF ha ridotto la profondità di tasca parodontale e migliorato la guarigione dei tessuti molli[34]. Tuttavia, non tutti gli studi concordano. Una revisione sottolinea l'assenza di prove definitive sull'efficacia del L-PRF nella rigenerazione ossea, evidenziando la difficoltà di standardizzare i metodi di ricerca e i protocolli chirurgici[35].

Nonostante il crescente numero di studi a favore del L-PRF, rimangono limiti metodologici, come l'assenza di protocolli standard per la quantità di membrane utilizzate e le tecniche chirurgiche applicate. Tuttavia, il consenso generale è positivo: L-PRF riduce il dolore, gonfiore e alveoliti post-estrattive e accelera la guarigione ossea, rappresentando una soluzione efficace nella gestione degli alveoli post-estrattivi, anche se possono persistere tasche residue[36].

1.5.2 Dalla biologia alla clinica

In odontoiatria i concentrati piastrinici vengono utilizzati in situazioni in cui sia richiesta una rigenerazione tessutale, con l'obiettivo di ripristinare e rigenerare in tempi più brevi i tessuti alterati o distrutti da patologie o dal trauma chirurgico. In odontoiatria e chirurgia orale sono state introdotte procedure rigenerative che prevedevano l'utilizzo di biomateriali quali membrane, e materiali da innesto (autologhi, omologhi, eterologhi o alloplastici). Sono stati utilizzati anche materiali bioattivi, come le proteine morfogenetiche dell'osso (BMPs) e matrice di smalto (EMD). Solo negli ultimi decenni sono state proposte tecniche basate sull'utilizzo di emocomponenti formati dalla centrifugazione del sangue periferico del paziente stesso come scaffold tridimensionali e quindi come sostegno, ma anche come sorgente di piastrine e di fattori di crescita[25].

La tecnologia di L- PRF è semplice ed economica: prevede la centrifugazione di 9 ml di sangue venoso in provetta dedicata, senza anticoagulanti a 2700 rpm per 12 minuti; alla fine del processo otteniamo un grande coagulo nel mezzo della provetta che può essere utilizzato direttamente per riempire una cavità, mescolato ad altro biomateriale/osso autologo, oppure schiacciato a membrane o a cilindri di fibrina utilizzando l'apposito "surgical box" che permette di manovrare i coaguli senza danneggiarli[37].

Esso differisce dai suoi predecessori per diverse caratteristiche che lo rendono unico e particolarmente adatto all'utilizzo in campo odontoiatrico. Tra queste ritroviamo: semplicità e miglioramento della preparazione rispetto ai suoi predecessori: il tempo e il costo di ottenimento sono molto minori poiché non necessita di attivazione con fattori come la trombina bovina o anticoagulanti. Assenza di anticoagulanti: permette l'immediata formazione di un coagulo, quindi l'attivazione delle piastrine per la degranulazione dei loro granuli α, e la formazione di una matrice di fibrina. Il metodo di preparazione dell'L- PRF infatti è breve e standardizzato per cui è altamente riproducibile; permette di ottenere coaguli facili da manovrare perché elastici e resistenti. L'unico accorgimento di cui questa tecnica necessita, è una certa rapidità nell'eseguire il prelievo e nel centrifugare il sangue distribuendo le provette in modo bilanciato all'interno della centrifuga. In caso contrario il sangue prelevato potrebbe iniziare a coagulare non essendo presente anticoagulante. Struttura fibrosa: permette di trattenere un numero maggiore di citochine e fattori di crescita in uno scaffold 3d che favorisce la migrazione cellulare. Inoltre, lo scaffold si dissolve molto lentamente formando una matrice di fibrina solida che si rimodella nel tempo ed in cui piastrine e citochine vengono trattenute e rilasciate gradualmente. Presenza di leucociti a concentrazioni maggiori rispetto a PRP e PRGF. Tra questi le cellule della linea monocito- macrofagica, note come "super cells for bone regeneration", contengono il recettore BMP-2, per le proteine morfogenetiche dell'osso promuovendo la differenziazione delle

cellule mesenchimali in osteoblasti. BMP-2 è un'importante molecola che appartiene alla famiglia del TGF-β, famiglia di proteine che ha un importante ruolo nello sviluppo osseo; il suo rilascio dalla membrana di L-PRF probabilmente contribuisce alla stimolazione della proliferazione delle cellule dell'osso ed alla loro differenziazione (osservata in vitro), con effetti clinici positivi sulla rigenerazione ossea. È difficile identificare l'esatta origine di BMP-2 nell'L-PRF: essendo una molecola osseo- specifica e non essendo essa rilasciata dalle piastrine, si pensa appunto che siano i leucociti residenti nel coagulo a rilasciarla gradualmente nel sito[37]. Due recenti studi del 2020 hanno dimostrato che PRF inibisce l'osteoclastogenesi in colture di midollo osseo e che sarebbe in grado di indurre la polarizzazione dei macrofagi verso un fenotipo che svolge attività di riparazione anziché proinfiammatoria[38].

I linfociti neutrofili esplicano, oltre alla funzione proteolitica per la degradazione della matrice di fibrina, un'attività batteriostatica con conseguente riduzione di batteri e patogeni[25]. Lento rilascio di fattori di crescita e citochine: grazie a questa densa architettura L-PRF è una fonte di fattori di crescita che vengono rilasciati gradualmente in vitro fino a 7 giorni. Confrontandolo con gli altri concentrati piastrinici, questa è una caratteristica unica di L-PRF e può essere considerata la sua firma biologica. Sono queste le caratteristiche da cui è necessario partire per spiegare completamente il ruolo di L-PRF nella guarigione. In vitro infatti, L- PRF ha effetti importanti sulla stimolazione di molte tipologie cellulari: fibroblasti, cheratinociti, pre-adipociti, osteoblasti, cellule ossee mesenchimali e sulla differenziazione di cellule ossee[37].

Anche se i leucociti e le piastrine giocano un ruolo fondamentale nella capacità di guarigione, sembrerebbe essere la matrice di fibrina che supporta questi elementi cellulari e non, ad essere veramente responsabile del suo potere terapeutico. La chiave per la rigenerazione, infatti, sta nel potere angiogenetico, nel controllo del sistema immunitario, nella capacità di reclutare cellule staminali circolanti e nella sua abilità di favorire la chiusura e la guarigione dei tessuti epiteliali. Le proprietà di neoangiogenesi possono essere quindi spiegate dalla struttura 3d della matrice di fibrina che contiene fattori di crescita e citochine liberati con la degranulazione piastrinica.

Tra queste ricordiamo principalmente:

- PDGF (Platelet Derived Growth Factor): crescita cellulare, generazione e riparazione di vasi sanguigni, stimola la produzione di collagene.
- VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor): favorisce la crescita e la rigenerazione delle cellule endoteliali dei vasi sanguigni.

- TGF-β (Transforming Growth Factor β): stimola la crescita delle cellule epiteliali ed endoteliali promuovendo la guarigione tissutale.
- KGF (Keratinocyte Growth Factor): crescita e neo-generazione dei cheratinociti.
- FGF (Fibroblast Growth Factor): riparazione tissutale, crescita cellulare e produzione di collagene.
- EGF (Epidermal Growth Factor): promuove la crescita degli epiteli, la neoangiogenesi e la guarigione delle ferite.
- IL-1, IL-4, IL-6, IL-1β (interleuchine): modulano la crescita e la riparazione tissutale quindi i processi di riparazione e rimodellamento dei tessuti[21].

La matrice di fibrina stimola la produzione di integrina avb3 che permette alle cellule di legarsi alla fibrina, alla fibronectina e alla vitronectina, con conseguente impulso alla neoangiogenesi ed ai meccanismi riparativi. Questa cascata di eventi è fondamentale nell'iniziare il processo di angiogenesi e quindi di guarigione tissutale. Inoltre, la degradazione di fibrina prodotta stimolerebbe direttamente la migrazione dei granulociti neutrofili e faciliterebbe la loro trasmigrazione nell'epitelio vascolare; l'attivazione dei neutrofili contribuisce alla degradazione del coagulo di fibrina stesso e causa la secrezione di proteasi che facilitano la loro penetrazione nelle membrane basali dei vasi. I neutrofili intrappolati nel coagulo di fibrina, eliminano i batteri e i patogeni dal sito tramite fagocitosi e tramite la produzione di radicali liberi e di enzimi digestivi. Questo contribuirebbe alla prevenzione della contaminazione batterica. Il PRF contiene inoltre macrofagi che sono coinvolti nella guarigione e nei processi di riparazione giocando un ruolo importante nella transizione tra infiammazione e riparazione[25].

Le cellule della linea monocito macrofagica, infatti sono responsabili del "debridement" della ferita e, direttamente o indirettamente, dell'attivazione/proliferazione dei fibroblasti, ma hanno anche un ruolo nella rigenerazione ossea. Da studi in vitro eseguiti da Batoon et al nel 2017 emerge che i macrofagi CD169+, simili agli osteoclasti se non per l'espressione di questo marker, lavorano in modo completamente indipendente rispetto agli osteoclasti stessi e determinano un supporto "pro-anabolico" agli osteoblasti durante i processi riparativi e per il mantenimento dell'omeostasi ossea. In questi processi di riparazione di osso e ferite, la polarizzazione dei macrofagi varia da un fenotipo M1 pro-infiammatorio che appare nelle fasi di danno tessutale causando infiammazione, ad un fenotipo M2 "pro riparazione", che entra in gioco nei processi di riparazione cellulare, di rimodellamento e che favorisce la risoluzione dei processi infiammatori stessi. Da un recente studio in vitro condotto nel 2020 sembra che PRF sia in grado di modulare questo switch dei macrofagi ad un fenotipo M2; questo fenomeno può essere favorito dalla grande quantità di TGF-β nel PRF

(quest'ultimo mediatore è noto per modulare la polarizzazione da M1 a M2) e dalla capacità di PRF di aumentare l'espressione di tre lipossigenasi, anch'esse modulatrici della transizione dei macrofagi[39].

Successivamente all'azione dei macrofagi sappiamo che anche i fibroblasti giocano un ruolo fondamentale nei processi riparativi, a partire dalla creazione di nuovi vasi. I fibroblasti vengono attivati solo dopo che l'attività macrofagica è in corso e giocano un ruolo fondamentale nei processi riparativi: i fibroblasti gengivali e quelli del legamento parodontale hanno un ruolo vitale nel mantenimento dello stato di salute parodontale, e nella guarigione dalle ferite chirurgiche e non. La proliferazione dei fibroblasti può aiutare in termini di rigenerazione più rapida delle strutture gengivali e parodontali[40].

Inoltre, i fibroblasti gengivali sono spesso il target principale proprio dei fattori di crescita rilasciati dalle membrane di L-PRF che quindi reagiscono ad essi in modo molto positivo. Da studi in vitro, infatti, si evince che i fibroblasti gengivali umani reagiscono a L-PRF con un attivazione dei geni che stimolano la neaongiogenesi, coinvolti negli stadi precoci di guarigione e nella stimolazione dell'espressione di MMPs (geni coinvolti nella degradazione della matrice extracellulare e nella regolazione dell'infiammazione). I cambiamenti che avvengono sono simili ai primi stadi della normale guarigione delle ferite[41].

Questi risultati sono supportati anche da un altro studio in vitro condotto da Goel et al. nel 2020 sulla risposta dei fibroblasti gengivali e del legamento parodontale a PRF: sia l'essudato che le membrane di PRF favoriscono la proliferazione dei fibroblasti gengivali e parodontali in pazienti sani e con parodontite, con una proliferazione molto significativa al terzo giorno. Inoltre, PRF sembra ridurre una migrazione più rapide dei fibroblasti nelle ferite artificiali create in laboratorio[40].

Stessi risultati promettenti sulla proliferazione dei fibroblasti sono stati ottenuti da Pitzurra et al. nel 2019, che affermano come L-PRF sia in grado di stimolare la proliferazione dei 10 fibroblasti gengivali per un 22,9% in più rispetto al fibroblast growth factor II (FGF). L- PRF sembrerebbe stimolare maggiormente anche la migrazione dei fibroblasti rispetto a FGF, sempre in vitro su ferite artificiali. Questi risultati in vitro sicuramente possono fungere da supporto e validazione per le applicazioni cliniche di L-PRF[42].

Un'altra linea cellulare su cui la ricerca si è recentemente concentrata sono gli osteoclasti; PRF, infatti, sembra inibire in vitro l'osteoclastogenesi[43]. Biologicamente, possiamo considerare L-PRF come un "coagulo naturale estremamente potenziato".

1.5.3 Metodo di preparazione

Il protocollo di preparazione degli emocomponenti influenza notevolmente l'outcome: le caratteristiche della centrifuga ed il protocollo di centrifugazione hanno un impatto molto significativo sulla quantità di cellule, fattori di crescita, architettura della fibrina all'interno del coagulo e delle membrane. Ogni modifica nei materiali e nei metodi utilizzati per ottenere il coagulo dovrebbe essere attentamente valutata per evitare confusione e risultati non accurati[37].

Lo studio di Pinto et al condotto nel 2020 è stato il primo studio a comparare in modo scientifico le caratteristiche di varie centrifughe per produrre i concentrati piastrinici. È stato valutato l'impatto del tipo di centrifuga (diverse tipologie di centrifuga e stesso protocollo) e delle diverse metodologie di centrifugazione (stessa centrifuga, protocolli diversi) sulle caratteristiche della membrana ottenuta, (dimensione, peso, architettura della fibrina, presenza, rilascio e contenuto di fattori di crescita). Sono state eseguite analisi macroscopiche e microscopiche (SEM).

Sono state analizzate 4 diverse centrifughe con lo stesso metodo di centrifugazione valutando le accelerazioni (radiale e verticale) presenti all'interno delle centrifughe stesse. Applicando lo stesso protocollo nelle diverse macchine sono state rilevate vibrazioni diverse e sempre maggiori rispetto a quelle della centrifuga Intra-Spin Intra-Lock. Questo ha determinato membrane con diverso contenuto cellulare (per danno o distruzione delle cellule stesse). Questo ha determinato anche un rilascio diverso nel tempo dei fattori di crescita (per tempi minori).

I devices che si trovano sul mercato, quindi, hanno importanti differenze in termini di vibrazione e tutte le centrifughe testate **(Fig.8)** presentano vibrazioni molto più intense rispetto all'originale Intra-Spin.



Figura 8 Quattro delle tipologie di centrifughe in commercio

Caso a parte, la centrifuga per A-PRF che viene utilizzata a velocità bassa, 1300 rpm/10 ml di sangue per 14 minuti per produrre un coagulo particolare chiamato appunto A-PRF; questa centrifugazione

lenta, permette di ottenere un coagulo più piccolo del 30% rispetto a L-PRF, con struttura più debole e meno stabilità (3 giorni rispetto ai 7 di L-PRF). Un cambiamento dei giri e della forza di centrifugazione determina quindi un cambiamento delle membrane ottenute.

In teoria, prendendo come esempio la centrifuga Intra- Spin di Intra-Lock, la velocità di 2700 rpm dovrebbe essere associata a una forza di centrifugazione di 400 G, fondamentale per un'adeguata separazione cellulare, per evitare vibrazioni parassite e proteggere il contenuto cellulare. In letteratura molti studi non utilizzano lo stesso hardware (centrifuga e provette) e non ottengono quindi lo stesso prodotto anche se il protocollo appare identico con stessa velocità e stessa forza G applicata. Le differenze si ritrovano poi nel peso e nel volume del coagulo, nell'architettura della fibrina e nel contenuto cellulare. Le caratteristiche della centrifuga e del processo di centrifugazione hanno quindi un impatto importante sulle cellule, sul rilascio di fattori di crescita, sull'architettura di fibrina e ogni modifica dal protocollo originale dovrebbe essere segnalata in letteratura, per evitare risultati falsati[37].

Nella centrifuga Intra- Spin, la forza di centrifugazione di 400 G corrisponde a 2700 rpm risultando in un'accelerazione" parassita" (vibrazione) di 0,75 ms-2, ben inferiore al limite soglia di 1. Ad oggi, il metodo IntraSpinTM di Intra-Lock è l'unico sistema a norma in quanto certificato FDA e CE MEDICAL DEVICE in ogni suo componente (centrifuga, provette, blood 12 collection Kit), come prescritto dal recente decreto ministeriale del 02-11-2015 (Gazzetta Ufficiale n. 300 del 28.12.15, Supplemento ordinario n. 69). Il sistema chiuso IntraSpinTM, oltre a soddisfare ai requisiti previsti dalla legge, è in grado di certificare la firma biologica di L-PRF ovvero una centrifugazione a giri costanti, in sinergia con una forza G e un tempo costante: ciò permette di produrre un prodotto biologico e predicibile a lento rilascio (slow release) di fattori di crescita richiesti per un periodo non inferiore a 14 giorni favorendo un rapido processo di guarigione dei tessuti duri e molli.

1.5.4 L-PRF in chirurgia orale

Dalla prima descrizione di Choukroun nel 2008, L-PRF è diventato un potenziale adiuvante nelle procedure di chirurgia orale con conseguente aumento delle pubblicazioni e degli studi inerenti il suo utilizzo[44]. Il notevole fermento che questo biomateriale ha suscitato è sicuramente dovuto al potenziale effetto positivo nel rigenerare sia i tessuti molli che duri, favorendo neoangiogenesi e neoformazione tissutale[44].

In parziale contrasto con quanto emerge dagli studi in vitro però, in vivo le evidenze sull'effetto di L-PRF sulla rigenerazione ossea e più in generale sulla guarigione tissutale, sono ancora controversi. In

alcuni studi L PRF non mostra effetti positivi sulla guarigione ossea dopo un'estrazione, mentre altri al contrario ne sostengono un effetto benefico[45].

Oggi, in odontoiatria, le raccomandazioni sono per lo più rivolte a procedure chirurgiche, e sono:

- la chirurgia del terzo molare
- la preservazione alveolare
- parodontologia: trattamento dei difetti ossei, forcazioni e delle recessioni gengivali
- alloggiamento di impianti
- rialzo di seno mascellare
- trattamento delle comunicazioni oro sinusali
- il trattamento delle MRONJ (medication related osteonecrosis of the jaw)[44].

L'estrazione dei terzi molari inferiori è l'intervento più comune eseguito nell'ambito della chirurgia orale e maxillo-facciale. Nella maggior parte dei casi è accompagnato da una certa morbilità post-intervento come gonfiore, dolore, trisma, possibilità di infezione e rialzo febbrile. Le estrazioni dei terzi molari spesso richiedono l'elevazione di un lembo mucoperiosteo, l'esecuzione di osteotomia e di odontotomia; una volta eseguita l'estrazione e il debridement dell'alveolo si procede all'applicazione delle suture chirurgiche per la chiusura o l'avvicinamento dei lembi mucosi[47].

Vista la notevole morbilità che un intervento come questo può arrecare al paziente ci si è mossi verso la ricerca di materiali che potessero migliorare la guarigione, non solo del tessuto osseo a lungo termine ma anche dei tessuti molli, per migliorare la qualità di vita del paziente nell'immediato post-operatorio. L'utilizzo di L-PRF nella chirurgia dei III molari inferiori è stato ampiamente studiato, e ha dimostrato la sua efficacia nel prevenire le alveoliti post estrattive entro i primi 7 giorni post-operatori, con un rischio che diminuisce del 62% rispetto ad un alveolo non trattato. La forte architettura di fibrina di L-PRF, infatti, lo rende meno suscettibile alla lisi completa o parziale in seguito all'attività delle chinasi rilasciate durante il processo infiammatorio. In questo lasso di tempo in cui rimane inalterato, oltre a rilasciare citochine, può rilasciare anche linfociti e macrofagi, cellule di cui è ricco, esplicando il suo potere antimicrobico e contribuendo alla riduzione dell'incidenza di infezioni post-operatorie[38].

Lo studio di Hoaglin et al del 2013 ha riportato che l'utilizzo di PRF riduce di 10 volte la possibilità di osteomieliti infettive rispetto alla guarigione naturale, in uno studio condotto su 200 pazienti e quindi di grande evidenza scientifica per valutare l'incidenza di complicanze infettive nei terzi molari in caso di utilizzo di L-PRF[25].

L'analisi del controllo del dolore ha prodotto risultati promettenti anche se l'outcome dovrebbe essere valutato con cautela vista la notevole eterogeneità degli studi presenti e le grosse possibilità di bias. Il dolore, infatti, può essere percepito diversamente in base a sesso, etnia, tipo di analgesico somministrato, e per la natura soggettiva e multisfaccettata del dolore stesso. In ogni caso, dalla review di Canellas, PRF sembra determinare una riduzione del dolore post-operatorio soprattutto al terzo giorno post estrazione ma anche durante la prima settimana post estrazione. In questo studio è stata condotta anche una metanalisi sul gonfiore, partendo dalla valutazione di sei studi abbastanza omogenei tra loro e concludendo un effetto positivo anche sul gonfiore al terzo giorno post-operatorio.

Non è stato possibile condurre però una metanalisi per quanto riguarda l'effetto del PRF sulla guarigione ossea, ma dal punto di vista qualitativo, quattro su sette degli studi considerati affermano un effetto significativo nel migliorare la rigenerazione ossea[44].

Nel 2018 su Ann of maxillofacial surgery viene pubblicato uno studio su 60 pazienti in seguito all'estrazione di III molari inferiori: i pazienti trattati con L-PRF avrebbero riportato una riduzione del dolore, del gonfiore e del trisma ed un miglior recupero parodontale distalmente al II molare rispetto ai casi controllo. In questo studio è stata anche osservata una rigenerazione ossea più rapida in termini di densità e di trabecolatura ossea a 8 settimane valutata con Rx endorali[47]. Stessi incoraggianti risultati sulla guarigione ossea sono riportati in uno studio di Varghese et al. che analizza sempre con Rx endorali la guarigione post-operatoria per 30 pazienti in seguito all'estrazione di III molari bilaterali. Le rx endorali eseguite a 4 e 16 settimane dimostrano un'ossificazione più rapida nei pazienti trattati con L-PRF, dimostrando che L-PRF stimolerebbe la neoformazione di osso[49].

Questi risultati sono in contrasto con quelli di Del Fabbro, nella sua review dell'ormai lontano 2011, dove l'autore non rileva nessuna accelerazione della guarigione ossea negli alveoli post estrattivi trattati con L-PRF[50]. L'autore sostiene che queste conclusioni siano in parte dovute alla notevole varietà degli studi presenti e dei protocolli analizzati.

Della stessa opinione Al Hamed et al, J of Maxillofacial surgery: nonostante vengano utilizzati metodi e parametri diversi per valutare la guarigione ossea, in nessuno studio analizzato da questa review è veramente presente evidenza di un effetto benefico di L-PRF sui tessuti duri, né dal punto di vista qualitativo né quantitativo. In questo studio vengono sollevati altri due problemi che concorrono alla mancanza di dati certi:

1. la rimozione di osso effettuata durante l'osteotomia: variabile e non quantificata

2. la chiusura per prima intenzione, che viene adottata in molti studi, nonostante essa causi maggiore gonfiore e dolore nel post-operatorio
3. il volume di sangue prelevato per la preparazione di L-PRF: maggiore, infatti, è il numero di membrane inserite nell'alveolo post estrattivo, maggiore è la quantità di fattori di crescita che vengono prodotti.

In letteratura in realtà al momento non è chiaro se la quantità di sangue prelevato condizioni effettivamente i processi di guarigione[50].

Anche l'aspetto parodontale nella chirurgia dei terzi molari rappresenta un challenge per il chirurgo orale; un terzo molare in disodontiasi può infatti causare un difetto parodontale distale al secondo molare, già presente prima del trattamento chirurgico. Le ipotesi di trattamento proposte sono molte, tra cui debridement della superficie distale della radice del II molare, disegni particolari del lembo, suture specifiche, procedure rigenerative ed innesti ossei. Molti autori hanno proposto gli APC nel trattamento di questi difetti, per promuovere la guarigione dell'alveolo post estrattivo. Gasparro et al, nel 2020 hanno eseguito uno studio splith mouth su 18 pazienti che necessitassero di estrazioni di III molari inferiori bilaterali trattandoli con L-PRF e con coagulo naturale. A 6 mesi sono stati valutati tramite sondaggio PD e CAL: nei pazienti trattati con L-PRF è stato possibile osservare un guadagno di CAL ma la permanenza di una tasca residua di 5,18 mm (sondaggio di partenza sempre > 6 mm). La permanenza di una tasca residua può essere dovuta in parte alla tecnica chirurgica utilizzata che non è stato possibile standardizzare (quantità di osso rimossa durante l'osteotomia, tecniche di separazione del dente ecc..). Negli studi di Kugelberg et al le tasche residue nei pazienti trattati per estrazione del III molare in disodontiasi sono di 7 mm e i difetti infraossei distali al II molare > 4 mm nel 43,3% dei casi. La presenza di tasche residue nel caso dell'utilizzo di emocomponenti può anche essere spiegata con l'assenza di recessione gengivale: L-PRF induce infatti la neoformazione di tessuto molle evitando recessioni gengivali ma lasciando una minima quota di tasca residua. Questi risultati sono in contraddizione con quelli di Camargo et al (2002) e Sammartino et al (2009) che riportano un guadagno di CAL e riduzione del PD a 12 e 18 settimane in pazienti trattati con PRP e membrane di collagene, rispetto a pazienti lasciati a guarigione spontanea[51].

1.5.5 Preservazione alveolare

Un'estrazione dentaria determina non solo la perdita di un elemento dentario e della sua funzione, ma anche una notevole alterazione dell'architettura dei tessuti duri e molli con delle possibili rilevanti implicazioni per la futura riabilitazione dell'area edentula. La preservazione alveolare è una procedura chirurgica che si pone come obiettivo di conservare il più possibile l'osso alveolare e quindi di eliminare o ridurre la necessità di procedure chirurgiche future di aumento di osso a fini implanto-

protesici, diventando perciò fondamentale per permettere l'alloggiamento di impianti e quindi il ripristino morfo funzionale ed estetico in caso di perdita di elementi dentari. A seguito di un'estrazione insieme alla perdita del bundle bone, si possono osservare cambiamenti dimensionali dell'osso alveolare, e rimodellamento dei tessuti molli. I cambiamenti maggiori avvengono nei primi 3 mesi dopo un'estrazione, e maggiormente a livello dell'aspetto vestibolare dell'alveolo, generalmente più sottile[52].

Gli studi di Tan et al, in una revisione sistematica della letteratura riportano che senza preservazione alveolare, si verifica una perdita media orizzontale di osso di 3,8 mm e verticale di 1,2 mm entro i primi 6 mesi. Per eliminare o ridurre questi cambiamenti, sono state descritte numerose tecniche di preservazione alveolare, che prevedono l'utilizzo di innesti autologhi, eterologhi, o alloplastici combinati o meno con membrane riassorbibili e non.

Anche se questi materiali possono ridurre il riassorbimento osseo, alcuni problemi possono comunque insorgere:

- esposizione delle membrane e fallimento
- diverso tempo di riassorbimento dei materiali
- natura avascolare dei materiali da innesto
- presenza di elevate concentrazioni di materiale al momento dell'alloggiamento dell'impianto che può determinare riduzione delle BIC (Bone Implant Contact)
- costi elevati dei materiali
- nel caso di innesti autologhi, l'ottima qualità dell'osso ottenibile è da bilanciare con la maggiore morbilità del paziente[53]

Con il progresso delle biotecnologie ed il miglioramento delle conoscenze sulla rigenerazione ossea, sono state sviluppate metodologie biologicamente attive per superare i difetti dei materiali da innesto. La seconda generazione di concentrati piastrinici che comprende L- PRF, sono biomateriali che possono essere sfruttati nella preservazione alveolare, considerando le loro caratteristiche biologiche, la semplicità di raccolta e il loro basso costo economico; L-PRF è stato infatti studiato abbondantemente nell'ambito della preservazione alveolare.

Recentemente la letteratura scientifica si è effettivamente chiesta se L-PRF utilizzato come materiale riempitivo all'interno degli alveoli post estrattivi, possa realmente ridurre il riassorbimento dell'osso alveolare rispetto ad una guarigione naturale.

Pinto et al. sul J. of Parodontology nel 2016 si pongono proprio questo obiettivo, valutando con uno studio split mouth, controllato, randomizzato la guarigione di 44 siti (con 22 pazienti (premolari Vs

premolari o incisivi Vs incisivi) trattati con L-PRF o con guarigione naturale. Chirurgicamente, l'estrazione veniva eseguita flapless in modo atraumatico; nei casi test venivano inserite da 2 a 5 membrane di L-PRF schiacciate dentro l'alveolo ricoperte poi con 2/3 membrane prima della sutura. Sutura a materassaio orizzontale e punto singolo per maggiore stabilizzazione. Subito dopo l'estrazione veniva eseguita una CBCT, ripetuta poi a 3 mesi.

Gli aspetti valutati:

- spessore dell'osso vestibolare a 1, 3 ,5 mm sotto la corticale
- spessore orizzontale: 1,3,5 mm sotto la parte più coronale della corticale
- riassorbimento verticale su aspetti P e V
- mineralizzazione dell'alveolo post estrattivo.

I risultati ottenuti hanno permesso di rilevare una migliore guarigione rispetto alla guarigione naturale dell'alveolo post estrattivo nei casi trattati con L-PRF[54].

Analogamente gli stessi autori hanno condotto sempre nello stesso anno un altro studio splith mouth molto simile al precedente, valutando sempre con CBCT a tempo 0 e a 4 mesi la guarigione ossea ottenendo stessi livelli di riassorbimento di altri sostituti ossei, senza gli svantaggi delle particelle non riassorbite e dei costi elevati[53].

Nella revisione della letteratura di Annunziata et al 2018 vengono considerati 7 articoli (dai 150 iniziali) per valutare i diversi concentrati piastrinici, PRP, PRGF e PRF e il loro effetto su tessuti duri e molli. A tempo di osservazione 3 mesi (adottato dalla maggior parte degli studi), qualitativamente non è stata rilevata grande differenza nei casi trattati con concentrati piastrinici ed in quelli guariti invece naturalmente; quantitativamente, in due studi è stata rilevata una riduzione del riassorbimento orizzontale nei pazienti trattati con L-PRF, mentre in senso verticale i risultati non sono concordi. Inoltre, i metodi di valutazione negli studi valutati sono molto eterogenei e non sempre sovrapponibili: soltanto due studi su 7 avevano eseguito CBCT per le valutazioni ossee, mentre gli altri soltanto Rx periapicali[52].

Nel 2020 Castro et al. eseguivano uno studio split mouth su 21 pazienti per un totale di 60 estrazioni per confrontare gli effetti di L-PRF e A-PRF rispetto alla guarigione spontanea. Come negli studi precedentemente citati, al momento dell'estrazione e a 3 mesi è stata eseguita una CBCT di controllo per la valutazione della guarigione ossea e in 5 pazienti è stata eseguita anche una biopsia al momento dell'inserimento dell'impianto. Non sono state rilevate differenze statisticamente significative per quanto riguarda lo spessore del piatto vestibolare, e l'entità del riassorbimento verticale e orizzontale; soltanto la percentuale di riempimento osseo è risultata significativamente maggiore a 3 mesi per gli

alveoli riempiti con L-PRF ed A- PRF. Istologicamente, la maggiore differenza è stata individuata nella porzione più coronale degli alveoli, dove le zone test erano ancora ricche di tessuto connettivo non mineralizzato, compatibile con la porzione organica della matrice ossea. Al contrario un tessuto mineralizzato trabecolare è stato osservato nei gruppi trattati con L- PRF ed A- PRF[55].

Questi risultati sono clinicamente lo specchio di quanto rilevato in vitro, quindi l'attività di inibizione dell'osteoclastogenesi da parte di PRF e la polarizzazione dei macrofagi verso un fenotipo ad attività di riparazione anziché proinfiammatoria.

L-PRF riduce i tempi di guarigione ed il riassorbimento del piatto vestibolare; molti studi però utilizzano coaguli o membrane in numero diseguale e senza una regola precisa: questo li rende difficilmente confrontabili. Inoltre, sorge spontanea la domanda se un solo coagulo o membrana sia sufficiente per riempire completamente l'alveolo e per creare un ambiente adeguato alla stimolazione della migrazione degli osteoblasti e delle cellule endoteliali. Infatti, l'utilizzo di una membrana di L-PRF sulla superficie dell'alveolo, per chiuderlo, potrebbe avere un'influenza importante sul risultato finale[56].

Nella systematic review di Canellas et al del 2019, PRF riduce il riassorbimento alveolare se utilizzato da solo o in combinazione con altri biomateriali, risultati assimilabili ai precedenti studi; la migliore guarigione ossea si accompagna ad un'accelerata guarigione dei tessuti molli nelle prime 4 settimane. Nello specifico, la densità ossea non appariva significativamente migliorata tra gruppo test e controllo, ma i gruppi trattati con PRF erano superiori nel mantenimento della larghezza della cresta ossea. A causa, comunque, dell'eterogeneità degli studi non è stato possibile condurre una metanalisi.

Hauser et al nel loro studio invece dimostrano che l'effetto benefico di PRF scomparirebbe in seguito ad una chirurgia più invasiva, per questo dovrebbe essere evitato lo scollamento di un lembo mucoperiosteo se l'intenzione è quella di utilizzare poi L-PRF.

Essendo gli studi difficilmente confrontabili, ed alcuni a grosso rischio di bias, le evidenze non sono ancora forti ma la letteratura ci suggerisce che L-PRF sia effettivamente un fattore favorente la rigenerazione tissutale e la guarigione di osso e tessuti molli[56].

1.6 Scopo dello studio

Valutare clinicamente e radiograficamente la guarigione di siti post estrattivi in sede terzo molare, definendo l'efficacia dell'impiego di LPRF a confronto con l'impiego di spugnette di collagene.

La valutazione prevede l'analisi di variabili quali:

- Dolore post-operatorio e impiego di analgesici,
- Guarigione dei tessuti molli sia extra-orali che intra-orali (gonfiore, trisma, deiscenza della ferita),
- Guarigione dei tessuti duri in termini clinici e radiografici di profondità di sondaggio distale al settimo e picco osseo radiografico.

CAPITOLO 2 - MATERIALI E METODI

2.1 Disegno dello studio

Lo studio è stato realizzato nella seguente modalità:

- Splith mouth
- Sono stati raccolti presso la Struttura Complessa di Odontoiatria e Chirurgia Oro Maxillo-Facciale del Policlinico di Modena casi di pazienti che necessitassero di estrazione di terzi molari inferiori bilaterali, 3.8 e 4.8
- Le estrazioni sono state eseguite dallo stesso operatore e con lo stesso approccio chirurgico
- Prima di procedere all'estrazione è stato assegnato quale sito riceverà il L-PRF (test) e quale sito riceverà la spugnetta di collagene (controllo positivo).

2.2 Scelta del campione

I pazienti sono reclutati presso la struttura complessa di Odontoiatria e Chirurgia maxillo-facciale del Policlinico di Modena.

Il reclutamento:

Il campione selezionato conta di un totale di 14 pazienti maschi e 23 femmine maggiorenni in uno stato di buona salute generale con evidenza clinica o radiografica di indicazione all'estrazione di terzi molari in disodontiasi o cariati.
Sono stati inclusi nello studio coloro che hanno espresso la volontà di leggere e firmare una copia del Modulo di Consenso Informato dopo aver visionato il Foglio Informativo per il Paziente e aver compreso la spiegazione in merito alla natura dello studio.

Le estrazioni sono state eseguite dallo stesso operatore, assegnando a ciascun sito l'appartenenza al gruppo dell'L-PRF (test) o del collagene (controllo positivo).

Sono stati scelti pazienti sani che necessitassero dell'estrazione dei terzi molari inferiori perché in disodontiasi o cariati:

- Esecuzione di un trattamento di chirurgia estrattiva a carico di un terzo molare inferiore, con presenza del secondo molare, che possa essere controllato almeno 12 mesi dopo l'estrazione;
- Età ≥ 18 anni
- Assenza di gravidanza o allattamento
- Assenza di patologie sistemiche in grado di influenzare la guarigione parodontale
- Disponibilità di una radiografia panoramica (OPT) leggibile eseguita non prima di un anno dall'atto chirurgico.
- Nessuna assunzione di farmaci che possono indurre iperplasia gengivale (fenitoina, ciclosporina, nifedipina ecc.) al momento del controllo oggetto dello studio.

Sono stati esclusi pazienti con:

- patologie sistemiche (diabete, patologie delle paratiroidi, epatopatie, cardiopatie, HIV, HBV/HCV, etc)
- pazienti in terapia antiaggregante / anticoagulante pazienti con pericoronarite in atto o ricorrente, infezioni periapicali o lesioni osteolitiche associate all'elemento da estrarre pazienti con parodontopatia cronica
- pazienti alcolisti e fumatori
- donne in gravidanza, allattamento o in contraccezione orale

2.3 Variabili valutate

Tessuti molli e qualità della vita

VARIABILI VALUTATE	TIMING		METODO DI VALUTAZIONE
dolore	per i 7 giorni post operatori		questionario dedicato
gonfiore	48 h	7 giorni	misurazioni
trisma	48 h	7 giorni	misurazioni
consumo di analgesici	per i 7 giorni post operatori		questionario dedicato
deiscenza della ferita	7 giorni		fotografie intraorali

- Dolore: mediante scala VAS il paziente per i 7 gg successivi all'estrazione ha indicato il dolore percepito alle ore 20.00.
- Gonfiore: mediante valutazioni extraorali misurate nel pre-operatorio a 48 h e a 7 gg (angolo occhio-angolo mandibola(1), trago- commessura(2), trago-pogonion(3))(**Fig.9)**
- Trisma. Mediante misurazione distanza margine incisivo superiore e margine incisivo inferiore in massima apertura.
- Consumo di analgesici: mediante questionario il paziente per i 7 gg successivi all'estrazione ha indicato l'antidolorifico assunto e l'orario.
- Deiscenza della ferita: mediante foto intraorali a 7 gg da estrazione **(fig.10)**.



Figura 9 Misurazioni della variabile "Gonfiore" mediante (1) distanza angolo occhio-angolo mandibola, (2) distanza trago- commessura, (3) distanza trago-pogonion

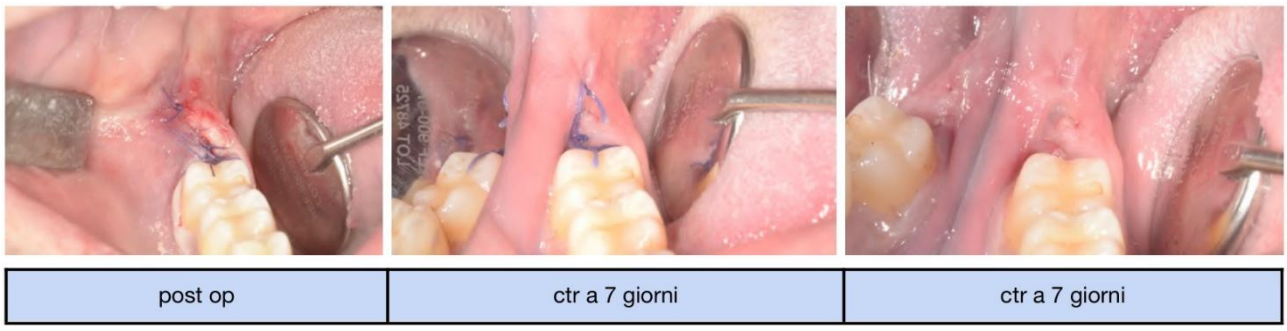


Figura 10

Tessuti duri

VARIABILI VALUTATE		TIMING			METODO DI VALUTAZIONE
parametri clinici					
	profondità di sondaggio distale al II molare	T0	3 mesi	6 mesi	profondità di tasca
	spessore della cresta alveolare	T0	3 mesi	6 mesi	calibro
parametri radiografici					
	sondaggio radiografico	T0	3 mesi	6 mesi	radiografia endorale

Le variabili in riferimento ai tessuti duri sono state:

- **valutazione clinica**: è stato eseguito un sondaggio parodontale distale al II molare con sonda parodontale e la valutazione dello spessore di cresta con calibro.

Tale misurazione è avvenuta:

- al momento dell'estrazione,
- a 6 mesi dall'estrazione
- a 12 mesi dall'estrazione

- **valutazione radiografica**: le rx endorali sono state eseguite mediante una chiave in silicone ad appoggio dentale e collocata sul centratore di Rinn al fine di standardizzare il più possibile le immagini ottenute **(Fig.11)**.

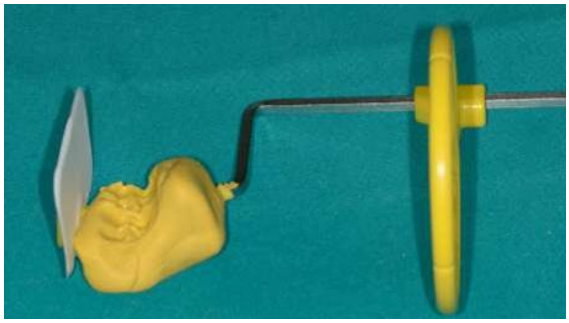


Figura 11 Masticone customizzato impiegato per le radiografie pre, post a 6 e 12 mesi

Su ciascuna radiografia è stata eseguita la misurazione del picco osseo distale al settimo con sonda parodontale.

Tale misurazione è avvenuta **(fig.12)**:

- al momento dell'estrazione pre-estrattivo
- dopo l'estrazione, post-estrattiva
- a 6 mesi dall'estrazione
- 12 mesi dall'estrazione

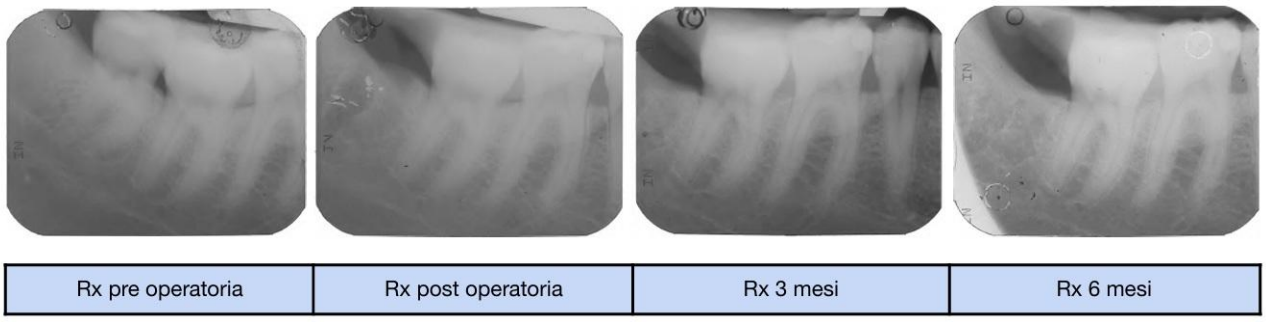


Figura 12

Riassumendo, i dati sono stati raccolti a:

- T0 (momento dell'intervento): gonfiore, trisma, Rx endorale, sondaggio e spessore cresta alveolare
- 48h: gonfiore e trisma
- 7 giorni: dolore, consumo di analgesici, gonfiore, trisma e deiscenza della ferita (valutazione tramite fotografia della zona di mucosa in via di guarigione)
- 3 mesi: Rx endorale, sondaggio e spessore della cresta alveolare
- 6 mesi: Rx endorale, sondaggio e spessore della cresta alveolare.

2.4 Visite dello studio

2.4.1 I° Visita – Baseline ed intervento chirurgico

Fase pre-estrattiva

Una volta selezionato il paziente e dopo raccolto il suo consenso, vengono raccolti i dati precedentemente indicati:

- Misure extra-orali e di massima apertura per valutazione gonfione
- Misure intra-orali: PD, spessore cresta alveolare
- Misure radiografiche: rx preoperatoria con misurazione sondaggio radiografico

Preparazione di L-PRF

Per la preparazione di L- PRF è stato adottato il sistema INTRA- SPIN by INTRA-LOCK IntraSpinTM di Intra-Lock che è, ad oggi, l'unico sistema a norma in quanto certificato FDA e CE MEDICAL DEVICE in ogni suo componente (centrifuga, provette, blood collection Kit), come prescritto dal recente decreto ministeriale del 02-11-2015 (Gazzetta Ufficiale n. 300 del 28.12.15, Supplemento ordinario n. 69).

- Prima di procedere all'estrazione è stato preparato L-PRF seguendo il seguente protocollo: prelievo di sangue venoso con ago fly 21 g, raccolti fino a 9 ml di sangue venoso con provette con tappo rosso
- centrifugazione a 2700 giri (408 G) per 12 minuti. Sono state raccolte due provette per ogni paziente, adottando come accorgimento quello di muovere la prima provetta durante il prelievo della seconda per evitare la formazione di coaguli
- inserimento delle provette in posizione bilanciata nella centrifuga

- dopo 12 minuti di centrifugazione le provette sono state prelevate
- Sull'apposita piastra sterile, Xpression Box, con gli strumenti dedicati (forbici e pinzette) è stato separato il coagulo vero e proprio dal resto del contenuto ematico. All'interno della provetta distinguiamo infatti 3 strati: PPP (plasma puro) nella parte alta, coagulo di fibrina al centro e cellule rosse (RBCs) nella parte più bassa. Il coagulo di fibrina è stato quindi rimosso dalla provetta e posizionato nell'apposita piastra sterile **(Fig.12)**
- Un ulteriore accorgimento che è stato adottato è stato quello di prelevare 1 mm circa della parte più superficiale dello strato di RBCs, il cosiddetto "Buffy coat" che contiene molti fattori di crescita
- Dopo 5 minuti L-PRF è pronto all'uso (rimanendo stabile, la sua fruibilità va dalle 2,5 h alle 3 h, sempre che vengano reidratate con essudato)



Figura 13 Varie fasi della preparazione del L-PRF

Fase estrattiva

Le estrazioni sono state eseguite sempre dallo stesso operatore con le modalità più standard possibile:

- anestesia tronculare con mepivacaina senza vasocostrittore ed anestesia al nervo buccinatore con mepivacaina con vasocostrittore (1:100.000). È stata poi eseguita un'anestesia plessica nelle zone dell'estrazione.
- incisione e scollamento di lembo mucoperiosteo a busta con scarico distale, esteso quindi dal trigono retromolare al II molare. Se necessario per questioni di visibilità, è stata eseguita anche un'incisione di rilascio scollando la papilla tra primo e secondo molare inferiore.
- osteotomia vestibolare
- odontotomia
- lussazione ed estrazione
- revisione alveolare
- eventuale rimozione del tessuto di granulazione
- lavaggio con fisiologica sterile
- inserimento di n. 2 membrane di L-PRF (gruppo test) o di una spugnetta di collagene ANTEMA (gruppo controllo)
- sutura a punti staccati con vicryl 4-0. In fase di sutura il tentativo è stato quello di ottenere una chiusura per prima intenzione, accostando il più possibile i lembi; ho scelto di non eseguire rilasci periostali o incisioni di svincolo verticali nel lembo, poichè queste avrebbero potuto influire negativamente su gonfiore post-operatorio, dolore, sanguinamento **(Fig.14)**

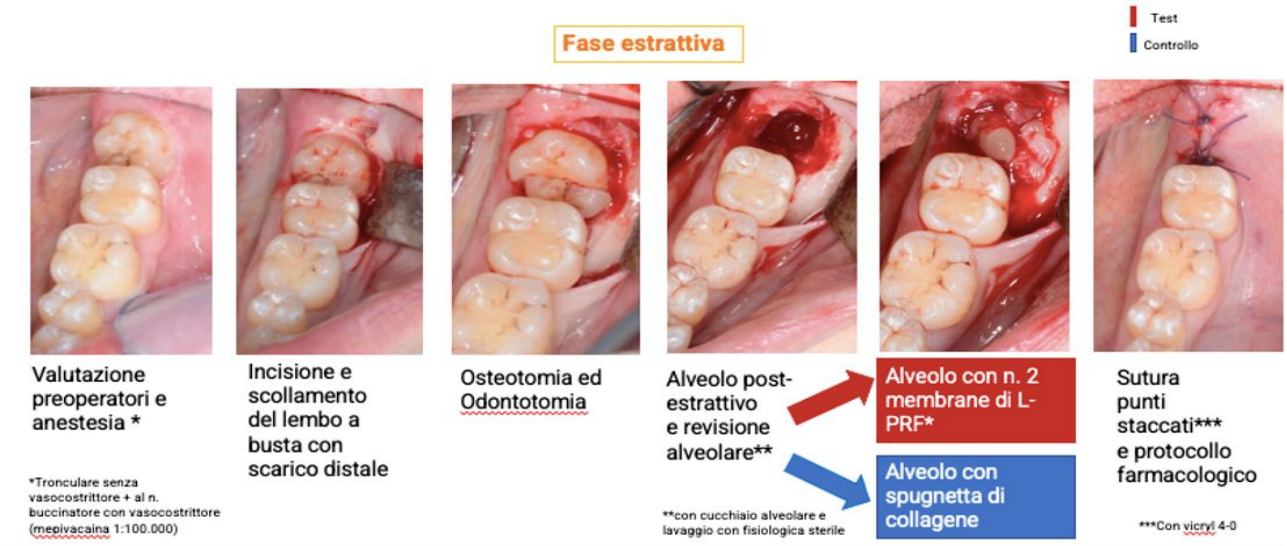


Figura 14 Varie fasi della procedura estrattiva

Fase post-estrattiva

Tutti i pazienti hanno poi ricevuto un protocollo farmacologico standard con precise istruzioni post-operatorie da seguire:

- terapia antibiotica standard: Amoxicillina + ac. clavulanico 1 g ogni 8 h per 5 giorni. Il protocollo antibiotico applicato in caso di allergia alle penicilline è invece stato: Azitromicina 500 mg cpr, 1 cpr al giorno per 3 giorni
- terapia antinfiammatoria: Ibuprofene 600 mg al bisogno, massimo 3 al giorno
- Terapia antisettica topica: è stato prescritto inoltre a tutti i pazienti collutorio alla clorexidina digluconato 0,12%, 2 volte al giorno per 7 giorni (fino alla rimozione delle suture chirurgiche).

Dopo l'estrazione si eseguono ulteriori misurazioni:

- misurazioni intraorali: PD
- misurazioni radiografiche: rx post estrattiva con misurazione sondaggio radiografico
- Misurazioni qualità vita come dolore con scala VAS
- È stato inoltre consegnato a ciascun paziente un questionario con scala vas del dolore e orario antidolorifici per ogni giorno.

2.4.2 II° Visita – Controllo post-operatorio (a 48h da I° Visita)

A 48h dall'intervento il paziente viene sottoposto a controllo per eseguire:

- -Misurazioni extraorali: gonfiore e trisma

2.4.3 III° Visita - follow up a 7 gg dall'intervento

A 7 gg dall'intervento il paziente viene sottoposto a controllo per eseguire:

- Misurazioni extra-orali: gonfiore e trisma
- Foto intra orali pre e post rimozione suture per verificare deiscenza della ferita
- Consegna dei questionari eseguiti nella settimana intercorsa dall'intervento

2.4.4 IV° Visita – follow up a 6 mesi dall'intervento

A 6 mesi dall'intervento previo contatto telefonico il paziente viene sottoposto a misurazioni:

- Misurazioni intraorali: pd, spessore di cresta
- Misurazioni radiografiche: rx con misurazione sondaggio radiografico

2.4.5 V° Visita – follow up a 12 mesi dall'intervento

A 12 mesi dall'intervento previo contatto telefonico il paziente viene sottoposto a misurazioni:

- Misurazioni intraorali: PD, spessore di cresta
- Misurazioni radiografiche: rx con misurazione sondaggio radiografico

2.5 Outcomes e analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software STATA® versione 17 (StataCorp. 2021. Stata Statistical Software: Release 17. College Station, TX: StataCorp LLC.).

Sono state presentate statistiche descrittive per le caratteristiche cliniche demografiche di base dell'intero gruppo, nonché per l'esito.

Le variabili continue sono state presentate come media, deviazione standard (DS), minimo (min) e massimo (max) e confrontate tra i sottogruppi utilizzando il test t di Student non accoppiato.

È stata utilizzata l'analisi della varianza (ANOVA) per valutare le differenze dei parametri in esame nel tempo utilizzando margins (analisi delle medie marginali) per rappresentarli graficamente; mentre le variabili categoriali sono state presentate come frequenza (N, percentuale [%]) e confrontate utilizzando il test del chi quadrato di Pearson.

Un valore $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

CAPITOLO 3 - RISULTATI

3.1 Caratteristiche del campione al baseline

Nello studio sono stati arruolati complessivamente 40 pazienti, 20 assegnati al gruppo L-PRF (test) e 20 al gruppo collagene (controllo). I due gruppi sono risultati comparabili al baseline per età, sesso, classificazione di Pell e Gregory e classificazione di Winter **(Tabella 1)**. L'età media è risultata identica nei due gruppi (26,7 ± 5,6 anni; p = 1,000), così come la distribuzione per sesso (12 femmine e 8 maschi in ciascun gruppo; p = 1,000).

Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i gruppi per quanto riguarda la difficoltà chirurgica, valutata mediante la classificazione di Pell e Gregory (p = 0,785) e la classificazione di Winter (p = 0,772), né per la prevalenza di odontotomia, osteotomia, abitudine al fumo, terapia antibiotica standard ed estrazione concomitante del terzo molare mascellare (tutti p > 0,05). Anche l'incidenza di complicanze post-operatorie e di deiscenza della ferita non differiva significativamente tra i gruppi. Questi risultati confermano un'adeguata comparabilità al baseline tra

i due gruppi di trattamento, condizione necessaria per poter attribuire le eventuali differenze negli esiti all'effetto del trattamento piuttosto che a fattori confondenti.

Variabile	Collagene (n= 20)	L-PRF (n = 20)	Totale (n = 40)	valore p
Età (anni), media ± DS	26.7 ± 5.6	26.7 ± 5.6	26.7 ± 5.6	1.000
Sesso femminile, n (%)	12 (60.0)	12 (60.0)	24 (60.0)	1.000
Complicanze post-operatorie, n (%)	3 (15.0)	4 (20.0)	7 (17.5)	0.677
Deiscenza della ferita, n (%)	4 (20.0)	1 (5.0)	5 (12.5)	0.151
Terapia antibiotica standard, n (%)	18 (90.0)	17 (85.0)	35 (87.5)	0.633
Odontotomia, n (%)	16 (80.0)	14 (70.0)	30 (75.0)	0.465
Fumo, n (%)	1 (5.0)	1 (5.0)	2 (5.0)	1.000
Estrazione concomitante del terzo molare mascellare, n (%)	2 (10.0)	2 (10.0)	4 (10.0)	1.000
Osteotomia, n (%)	18 (90.0)	20 (100.0)	38 (95.0)	0.147
Classificazione di Pell & Gregory, n (%)				0.785
IA	9 (45.0)	6 (30.0)	15 (37.5)	
IB	2 (10.0)	1 (5.0)	3 (7.5)	
IIA	2 (10.0)	3 (15.0)	5 (12.5)	
IIB	6 (30.0)	9 (45.0)	15 (37.5)	
IIC	1 (5.0)	1 (5.0)	2 (5.0)	
Classificazione di Winter, n (%)				0.772
Distoangolare	1 (5.0)	1 (5.0)	2 (5.0)	
Mesioangolare	8 (40.0)	7 (35.0)	15 (37.5)	
Orizzontale	1 (5.0)	3 (15.0)	4 (10.0)	
Verticale	10 (50.0)	9 (45.0)	19 (47.5)	

Tabella 1 - Caratteristiche al baseline della popolazione dello studio. I valori sono espressi come media ± DS o n (%).

I valori p si riferiscono al confronto tra i gruppi L-PRF e collagene.

3.2 Dolore post-operatorio e consumo di analgesici

Il dolore post-operatorio medio nei 7 giorni successivi all'intervento è risultato inferiore nel gruppo L-PRF rispetto al gruppo collagene (3,62 ± 1,65 vs 4,22 ± 1,94), sebbene la differenza non abbia raggiunto la significatività statistica (differenza media = 0,60; IC 95% da −0,55 a 1,75; p = 0,299). La dimensione dell'effetto calcolata mediante il d di Cohen ha indicato un effetto da piccolo a moderato a favore dell'L-PRF (d = 0,33).

Anche il consumo totale di analgesici nei primi 7 giorni post-operatori è risultato inferiore nel gruppo L-PRF rispetto al gruppo collagene (8,45 ± 4,59 vs 10,45 ± 4,61 compresse), senza differenze statisticamente significative tra i gruppi (differenza media = 2,00; IC 95% da −0,94 a 4,94; p = 0,177).

L'analisi longitudinale mediante modelli lineari a effetti misti ha evidenziato una riduzione significativa dell'intensità del dolore nel tempo in entrambi i gruppi (effetto tempo: p < 0,001), con i punteggi VAS massimi registrati alla prima giornata post-operatoria e una progressiva riduzione nei giorni successivi. Non è stata osservata alcuna differenza complessiva significativa tra i gruppi di trattamento (effetto gruppo: p = 0,768) né un'interazione gruppo × tempo significativa (p = 0,444), a indicare andamenti temporali del dolore sovrapponibili tra i due gruppi. Analogamente, il consumo di analgesici è diminuito significativamente nel tempo in entrambi i gruppi (p < 0,001), senza un effetto gruppo (p = 0,205) o un'interazione gruppo × tempo significativi (p = 0,858).

3.3 Tumefazione facciale

La tumefazione facciale al baseline non differiva tra i gruppi (tutte le misurazioni baseline p > 0,70). A 48 ore dall'intervento la tumefazione è risultata inferiore nel gruppo L-PRF rispetto al gruppo collagene (3,89 ± 4,40 mm vs 7,37 ± 9,48 mm), con una tendenza non significativa verso una minore tumefazione nel gruppo test (differenza media = 3,47 mm; IC 95% da −1,36 a 8,31; p = 0,154) e una dimensione dell'effetto moderata (d di Cohen = 0,47). Analogamente, l'incremento della tumefazione a 7 giorni è risultato inferiore nel gruppo L-PRF (1,11 ± 3,60 mm) rispetto al gruppo collagene (2,43 ± 3,48 mm), senza differenze statisticamente significative (differenza media = 1,33 mm; IC 95% da −0,97 a 3,62; p = 0,249; d di Cohen = 0,38).

I modelli a effetti misti hanno mostrato un effetto significativo del tempo, con tumefazione massima a 48 ore e parziale risoluzione entro il settimo giorno in entrambi i gruppi (effetto tempo: p < 0,001). Non sono state osservate differenze significative tra i gruppi (effetto gruppo: p > 0,20 per tutte le misurazioni), né un'interazione gruppo × tempo significativa (tutti p > 0,14), a indicare andamenti della tumefazione simili nel tempo nei due gruppi di trattamento.

3.4 Trisma

Entrambi i gruppi hanno mostrato una riduzione significativa della massima distanza interincisale a 48 ore dall'intervento, con parziale recupero entro il settimo giorno. Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i gruppi né a 48 ore (−17,75 ± 7,74 mm nel gruppo L-PRF vs −17,45 ± 8,44 mm nel gruppo collagene; p = 0,907), né a 7 giorni (−7,65 ± 5,48 mm vs −9,20 ± 7,77 mm; p = 0,471). L'analisi longitudinale ha confermato un effetto significativo del tempo (p < 0,001), senza effetto gruppo (p = 0,840) né interazione gruppo × tempo significativa (p = 0,886), a indicare un recupero comparabile della mobilità mandibolare in entrambi i gruppi.

3.5 Guarigione ossea radiografica e spessore della cresta alveolare

La guarigione ossea radiografica, misurata come variazione del picco osseo distale al secondo molare, non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i gruppi né a 6 mesi (−0,90 ± 2,59 mm nel gruppo L-PRF vs −0,44 ± 1,96 mm nel gruppo collagene; p = 0,525; d di Cohen = 0,20), né a 12 mesi (−0,84 ± 2,64 mm vs −0,46 ± 1,92 mm; p = 0,610; d di Cohen = 0,16). Analogamente, le riduzioni dello spessore della cresta alveolare a 6 mesi (−1,24 ± 1,05 mm vs −1,45 ± 1,14 mm; p = 0,549) e a 12 mesi (−1,33 ± 1,15 mm vs −1,63 ± 1,17 mm; p = 0,419) sono risultate comparabili tra i gruppi.

I modelli a effetti misti hanno evidenziato una riduzione significativa dello spessore della cresta alveolare nel tempo in entrambi i gruppi (effetto tempo: p < 0,001), senza un effetto gruppo significativo (p = 0,382) né un'interazione gruppo × tempo significativa (p = 0,495), a indicare variazioni dimensionali della cresta alveolare simili nel tempo per entrambi i trattamenti.

Le analisi non parametriche condotte come verifica di sensibilità (test di Friedman per le variazioni intra-gruppo, test U di Mann–Whitney per i confronti tra i gruppi, con correzione di Bonferroni per i confronti multipli) hanno confermato i risultati principali: variazioni temporali intra-gruppo significative per dolore, tumefazione e trisma (tutti p < 0,01), ma nessuna differenza statisticamente significativa tra i gruppi in nessun time point (tutti p > 0,05).

3.6 Sintesi dei risultati

Esito	Collagene (n=20)	L-PRF (n=20)	Differenza media	Valore p
Dolore medio VAS, 7 gg	4,22 ± 1,94	3,62 ± 1,65	0,60	0,299
Δ Tumefazione 48h (mm)	7,37 ± 9,48	3,89 ± 4,40	3,47	0,154
Δ Tumefazione 7 gg (mm)	2,43 ± 3,48	1,11 ± 3,60	1,33	0,249
Δ Trisma 48h (mm)	−17,45 ± 8,44	−17,75 ± 7,74	0,30	0,907
Δ Trisma 7 gg (mm)	−9,20 ± 7,77	−7,65 ± 5,48	−1,55	0,471
Δ Picco osseo 6 mesi (mm)	−0,44 ± 1,96	−0,90 ± 2,59	0,47	0,525
Δ Picco osseo 12 mesi (mm)	−0,46 ± 1,92	−0,84 ± 2,64	0,38	0,610
Δ Spessore cresta 6 mesi (mm)	−1,45 ± 1,14	−1,24 ± 1,05	−0,21	0,549
Δ Spessore cresta 12 mesi (mm)	−1,63 ± 1,17	−1,33 ± 1,15	−0,30	0,419

Tabella 2 - Esiti post-operatori e dimensioni dell'effetto (L-PRF vs collagene). I valori negativi indicano una riduzione rispetto al basale; le dimensioni dell'effetto sono state calcolate con il d di Cohen.

In sintesi, sebbene non siano state osservate differenze statisticamente significative per nessuno degli esiti considerati, il gruppo L-PRF ha mostrato in modo costante un dolore, una tumefazione e un consumo di analgesici post-operatori inferiori rispetto al gruppo collagene, con dimensioni dell'effetto da piccole a moderate per gli esiti post-operatori precoci. Entrambi i gruppi di trattamento hanno mostrato miglioramenti significativi nel tempo, con andamenti longitudinali di recupero comparabili e nessun effetto differenziale evidente tra L-PRF e spugna di collagene.

CAPITOLO 4 - DISCUSSIONE

4.1 Interpretazione dei risultati

Il presente studio clinico randomizzato pilota ha valutato l'efficacia dell'L-PRF, rispetto a una spugna di collagene, nel migliorare gli esiti post-operatori riferiti dal paziente e la guarigione dei tessuti duri dopo l'estrazione chirurgica del terzo molare mandibolare incluso. Sebbene nessuno degli esiti indagati abbia raggiunto la significatività statistica, l'L-PRF ha mostrato in modo costante un dolore, una tumefazione e un consumo di analgesici post-operatori inferiori rispetto alla spugna di collagene. È rilevante sottolineare come l'analisi delle dimensioni dell'effetto abbia rivelato effetti da piccoli a moderati a favore dell'L-PRF per il dolore e la tumefazione post-operatori, suggerendo un potenziale beneficio clinicamente rilevante che l'analisi della sola significatività statistica rischia di mascherare.

Questi risultati, insieme alle proprietà biologiche dell'L-PRF già ampiamente descritte in letteratura (cfr. Capitolo 1), suggeriscono che il suo principale beneficio clinico possa risiedere nella modulazione della risposta infiammatoria precoce, piuttosto che in un effetto sul rimodellamento osseo a lungo termine. Il rilascio graduale di fattori di crescita (PDGF, TGF-β, VEGF) e la rete di fibrina a lenta degradazione tipica dell'L-PRF potrebbero infatti favorire una più rapida risoluzione della fase infiammatoria acuta, con conseguente riduzione del dolore, della tumefazione e del consumo di analgesici nei primi giorni post-operatori, senza tradursi necessariamente in un vantaggio misurabile a livello di guarigione ossea radiografica nel medio-lungo termine.

Nella pratica clinica quotidiana, anche riduzioni modeste della morbidità post-operatoria possono avere un impatto rilevante sulla soddisfazione del paziente e sulla qualità della vita nei giorni immediatamente successivi all'intervento, in particolare in una fascia di popolazione, quella odontoiatrica ambulatoriale, spesso poco tollerante verso dolore e disagio prolungati. In quest'ottica, i risultati del presente studio, pur non raggiungendo la significatività statistica, appaiono coerenti con quanto riportato da altri studi presenti in letteratura e discussi nel Capitolo 1, che descrivono un beneficio dell'L-PRF principalmente a carico dei tessuti molli e della fase di guarigione precoce.

Al contrario, la guarigione ossea radiografica a 6 e 12 mesi e le variazioni dello spessore della cresta alveolare hanno mostrato dimensioni dell'effetto minime, suggerendo che gli eventuali vantaggi dell'L-PRF siano prevalentemente legati alla guarigione precoce dei tessuti molli piuttosto che a un reale effetto osteopromotore a distanza. L'assenza di differenze statisticamente significative tra i gruppi può essere in parte spiegata dalla dimensione campionaria limitata dello studio e dall'intrinseca

variabilità individuale degli esiti chirurgici dopo l'estrazione del terzo molare, legata a fattori quali il grado di inclusione, la difficoltà chirurgica e la risposta biologica individuale del paziente.

4.2 Punti di forza e limiti dello studio

Tra i principali punti di forza di questo studio si annoverano il protocollo chirurgico standardizzato, eseguito dallo stesso operatore per tutti i pazienti, l'impiego di un gruppo di controllo attivo (spugna di collagene) anziché di un semplice controllo negativo, e la valutazione combinata sia di esiti riferiti dal paziente (dolore, consumo di analgesici) sia di parametri clinici e radiografici oggettivi. Inoltre, l'analisi delle dimensioni dell'effetto, condotta accanto ai tradizionali test di significatività, ha fornito indicazioni utili sulla potenziale rilevanza clinica delle differenze osservate, anche laddove queste non abbiano raggiunto la soglia di significatività statistica convenzionale.

Il presente studio presenta tuttavia alcuni limiti. In primo luogo, la dimensione campionaria relativamente ridotta (40 pazienti, 20 per gruppo) potrebbe aver limitato la potenza statistica nel rilevare differenze significative tra i gruppi, soprattutto per esiti caratterizzati da un'ampia variabilità individuale come il dolore e la tumefazione post-operatori. Le dimensioni dell'effetto da piccole a moderate osservate suggeriscono infatti che l'assenza di significatività statistica possa essere legata a una potenza insufficiente, piuttosto che alla reale assenza di un effetto clinico. In secondo luogo, alcuni dati di follow-up a 6 e 12 mesi sono risultati mancanti a causa di drop-out dei pazienti, con una conseguente possibile riduzione della precisione delle stime a lungo termine. Infine, il disegno pilota dello studio, per sua stessa natura esplorativa, non consente di trarre conclusioni definitive sull'efficacia clinica dell'L-PRF, ma pone le basi metodologiche e le stime di effect size necessarie per il disegno di futuri studi randomizzati controllati con potenza statistica adeguata.

Sulla base della dimensione dell'effetto osservata per la tumefazione post-operatoria a 48 ore (d di Cohen $\approx$ 0,47), futuri studi randomizzati dovrebbero arruolare circa 36 pazienti per gruppo per raggiungere una potenza statistica dell'80% con un livello di significatività bilaterale di 0,05, un campione più che doppio rispetto a quello del presente studio pilota.

CAPITOLO 5 - CONCLUSIONI

Nei limiti del presente studio clinico randomizzato pilota, l'impiego dell'L-PRF non ha dimostrato vantaggi statisticamente significativi rispetto alla spugna di collagene in termini di dolore post-operatorio, tumefazione facciale, trisma, consumo di analgesici, guarigione ossea radiografica o spessore della cresta alveolare dopo l'estrazione chirurgica del terzo molare mandibolare.

Sebbene non siano state osservate differenze intergruppo statisticamente significative, il gruppo L-PRF ha mostrato in modo costante un dolore, una tumefazione e un consumo di analgesici post-operatori inferiori rispetto al gruppo collagene, con dimensioni dell'effetto da piccole a moderate per gli esiti post-operatori precoci. Queste tendenze suggeriscono un potenziale beneficio clinicamente rilevante dell'L-PRF nella riduzione della morbidità post-operatoria precoce, in particolare a carico dei tessuti molli, mentre non emerge un analogo vantaggio a carico della guarigione ossea a medio-lungo termine.

Entrambi i gruppi di trattamento hanno mostrato miglioramenti significativi nel tempo per tutti gli esiti considerati, con andamenti longitudinali di recupero comparabili tra L-PRF e collagene. Questo suggerisce che entrambi i biomateriali rappresentino opzioni cliniche valide ed efficaci per la gestione dell'alveolo post-estrattivo, senza un chiaro effetto differenziale in termini di controllo del dolore, tumefazione post-operatoria, recupero funzionale e variazioni dimensionali della cresta alveolare.

Alla luce di quanto emerso, l'L-PRF si conferma un biomateriale autologo sicuro, economico e di semplice preparazione, le cui potenzialità cliniche nella chirurgia del terzo molare meritano di essere ulteriormente indagate. Sono pertanto necessari studi controllati randomizzati più ampi, con potenza statistica adeguata (sulla base delle stime del presente lavoro, non inferiore a circa 36 pazienti per gruppo) e periodi di follow-up prolungati, al fine di confermare questi risultati preliminari e definire con maggiore precisione il ruolo clinico dell'L-PRF nella gestione post-estrattiva del terzo molare mandibolare.

BIBLIOGRAFIA

1. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, et al. 2015 ESC guidelines for the management of infective endocarditis: The task force for the management of infective endocarditis of the European society of cardiology (ESC): Endorsed by: European association for cardio-thoracic surgery (EACTS), the European . *Russ J Cardiol*. 2016;133(5):65-116. doi:10.15829/1560-4071-2016-5-65-116
2. Kugelberg CF. Periodontal healing two and four years after impacted lower third molar surgery. A comparative retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1990;19(6):341-345. doi:10.1016/S0901-5027(05)80077-3
3. Kugelberg CF, Ahlström U, Ericson S, Hugoson A, Kvint S. Periodontal healing after impacted lower third molar surgery in adolescents and adults. A prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1991;20(1):18-24. doi:10.1016/S0901-5027(05)80689-7
4. Kwok WK, Liu JKS, Lo ECM, Corbet EF, Leung WK. Residual periodontal defects distal to the mandibular second molar 6-36 months after impacted third molar extraction: A retrospective cross-sectional study of young adults. *J Clin Periodontol*. 2002;29(11):1004-1011. doi:10.1034/j.1600-051X.2002.291105.x
5. Ash, M., Costich, E. R. & Hayward R. A study of periodontal hazards of third molars. *J Periodontol*. 1962;33(209-219).
6. Matteo Chiapasco. *Manuale Illustrato Di Chirurgia Orale*. III edizio. (Era masson, ed.).; 2013.
7. Coleman M, McCormick A, Laskin DM. The incidence of periodontal defects distal to the maxillary second molar after impacted third molar extraction. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69(2):319-321. doi:10.1016/j.joms.2010.10.011
8. Kugelberg CF, Ahlström U, Ericson S, Hugoson A, Thilander H. The influence of anatomical, pathophysiological and other factors on periodontal healing after impacted lower third molar surgery A multiple regression analysis. *J Clin Periodontol*. 1991;18(1):37-43. doi:10.1111/j.1600-051X.1991.tb01117.x
9. Nunn ME, Fish MD, Garcia RI, et al. Retained Asymptomatic Third Molars and Risk for Second Molar Pathology. *J Dent Res*. 2013;92(12):1095-1099. doi:10.1177/0022034513509281
10. Fisher EL, Blakey GH, Offenbacher S, Phillips C, White RP. Mechanical debridement of subgingival biofilm in participants with asymptomatic third molars does not reduce

deeper probing depths in the molar regions of the mouth. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;71(3):467-474. doi:10.1016/j.joms.2012.10.020

11. Kunkel M, Fritz U, Pistner H, et al. Operative Entfernung von Weisheitszähnen. *Der MKG-Chirurg*. 2020;13(1):48-54. doi:10.1007/s12285-019-00237-2
12. Petsos H, Korte J, Eickholz P, Hoffmann T, Borchard R. Surgical removal of third molars and periodontal tissues of adjacent second molars. *J Clin Periodontol*. 2016;43(5):453-460. doi:10.1111/jcpe.12527
13. Passarelli PC, Lopez MA, Netti A, et al. Effects of Flap Design on the Periodontal Health of Second Lower Molars after Impacted Third Molar Extraction. *Healthc*. 2022;10(12):1-10. doi:10.3390/healthcare10122410
14. Groves BJ MJ 20(9):297-304. P 5271292. The periodontal implications of flap design in lower third molar extractions. *Dent Pr Dent Rec*. 1970;20 297-304:297-304.
15. Stephens RJ, App GR FD. Periodontal evaluation of two mucoperiosteal flaps used in removing impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg*. 1983;41:719-24.
16. Adali E, Ozden Yuce M, Işik G, Şener E, Mert A. Treatment decision for impacted mandibular third molars: Effects of cone-beam computed tomography and level of surgeons' experience. *PLoS One*. 2024;19(12):e0314883. doi:10.1371/journal.pone.0314883
17. Zhang Y, Chen X, Zhou Z, et al. Effects of impacted lower third molar extraction on periodontal tissue of the adjacent second molar. *Ther Clin Risk Manag*. 2021;17:235-247. doi:10.2147/TCRM.S298147
18. Zhang Y, Chen X, Zhou Z, et al. Effects of Impacted Lower Third Molar Extraction on Periodontal Tissue of the Adjacent Second Molar. *Ther Clin Risk Manag*. 2021;17:235-247. doi:10.2147/TCRM.S298147
19. Kim J-W, Seong T-W, Cho S, Kim S-J. Randomized controlled trial on the effectiveness of absorbable collagen sponge after extraction of impacted mandibular third molar: split-mouth design. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):77. doi:10.1186/s12903-020-1063-3
20. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2017;21(6):1913-1927. doi:10.1007/s00784-017-2133-z
21. Mortellaro C, Mozzati M. Emocomponenti a uso non trasfusionale in chirurgia orale e implantare. In: Clinica odontostomatologica. Edizioni Minerva Medica, 2015: pp. 351-362.

22. Seyed Ahmad Raeissadat, Marzieh Babaee, Seyed Mansour Rayegani, Zahra Hashemi, Amir Ali Hamidieh, Parviz Mojgani & Hossein Fouladi Vanda. An overview of platelet products (PRP, PRGF, PRF, etc) in the Iranian studies. Future Science Vol.3 No. 4
23. Eduardo Anitua, Mikel Sa´ nchez, Gorka Orive, Isabel Andı´. The Potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. Biomaterials 28 (2007) 4551- 4560
24. Roberta Gasparro, Erda Qorri, Alessandra Valletta, Michele Masucci, Pasquale Sammartino, Alessandra Amato, Gaetano Marenzi. Non- Trasfusional Hemocomponents: From Biology to the Clinic- A Literature Review. Bioengeneering 2018, 5, 27
25. Miron, RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, Fujioka-Kobayashi M Bishara M, Zhang Y, Wang HL, Fatiha Chandad F, Cleopatra Nacopoulos C, Alain Simonpieri A, Aalam AA, Felice P, Sammartino G, Ghanaati S, Maria A Hernandez MA, Choukroun J. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. Clin Oral Invest 2017
26. Eduardo Anitua, Mohammad H. Alkhraisat, Gorka Orive. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. Journal of Controlled Release 157 (2012) 29-38
27. Amit Arvind Agrawal. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. World J Clin Cases 2017 16; 5(5) 159-171
28. Bencivenni D, Bellini P, Garuti C, Consolo U. Blood components for non-transfusion use in oral surgery. *Dent Cadmos*. 2021;89(10):790-802. doi:10.19256/d.cadmos.10.2021.08
29. Siawasch SAM, Yu J, Castro AB, Temmerman A, Teughels W, Quirynen M. Autologous platelet concentrates after third molar extraction: A systematic review. *Periodontol 2000*. 2024;(June):1-22. doi:10.1111/prd.12600
30. Ribeiro ED, de Santana IHG, Viana MRM, Freire JCP, Ferreira-Júnior O, Sant'Ana E. Use of platelet- and leukocyte-rich fibrin (L-PRF) as a healing agent in the postoperative period of third molar removal surgeries: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2024;28(4). doi:10.1007/s00784-024-05641-2
31. Canellas JVDS, Fraga SRG, Santoro MF, Netto J de NS, Tinoco EMB. Intrasocket interventions to prevent alveolar osteitis after mandibular third molar surgery: A systematic review and network meta-analysis. *J cranio-maxillo-facial Surg Off Publ Eur Assoc Cranio-Maxillo-Facial Surg*. 2020;48(9):902-913. doi:10.1016/j.jcms.2020.06.012

32. Varghese MP, Manuel S, Kumar L K S. Potential for Osseous Regeneration of Platelet-Rich Fibrin-A Comparative Study in Mandibular Third Molar Impaction Sockets. *J oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2017;75(7):1322-1329. doi:10.1016/j.joms.2017.01.035
33. Canellas JVDS, Medeiros PJD, Figueredo CMDS, Fischer RG, Ritto FG. Platelet-rich fibrin in oral surgical procedures: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2019;48(3):395-414. doi:10.1016/j.ijom.2018.07.007
34. Gasparro R, Sammartino G, Mariniello M, di Lauro AE, Spagnuolo G, Marenzi G. Treatment of periodontal pockets at the distal aspect of mandibular second molar after surgical removal of impacted third molar and application of L-PRF: a split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence Int*. 2020;51(3):204-211. doi:10.3290/j.qi.a43947
35. Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S. Is autologous platelet concentrate beneficial for post-extraction socket healing? A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011;40(9):891-900. doi:10.1016/j.ijom.2011.04.009
36. J. V. dos S. Canellas, F. G. Ritto PJDM. Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: a systematic review and meta-analysis.46: 1138–1146. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2017;46:1138–1146.
37. David M. Dohan Ehrenfest, Nelson R. Pinto, Andrea Pereda, Paula Jiménez, Marco Del Corso, Byung-Soo Kang, Mauricio Nally, Nicole Lanata, Hom-Lay Wang & Marc Quirynen (2018) The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane, Platelets, 29:2, 171-184 76
38. J.V.S. Canellas et al. Intrasocket interventions to prevent alveolar osteitis after mandibular third molar surgery: A systematic review and network meta- analysis Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery 48 (2020) 902-913
39. Nasirzade J. et al. Platelet-rich fibrin elicits an anti-inflammatory response in macrophages in vitro, Journal of Periodontology 2020; 91: 244- 252.
40. Goel et al. Effects of platelet-rich fibrin on human gingival and periodontal ligament fibroblast proliferation from chronic periodontitis versus periodontally healthy subjects. Clinical and Experimental Dental Research 2020; 1-7
41. Jiarui Bi, Maria Fernanda Barona Intriago, Lari Häkkinen, Hannu Larjava. Leucocyte and platelet-rich fibrin regulates expression of genes related to early wound healing in human gingival fibroblasts. J Clin Periodontol. 2020; 47:851-862

42. Pitzurra Luciano, Ineke D. C. Jansen, Teun J. de Vries et. al. Effects of L-PRF and A-PRF+ on periodontal fibroblasts in in vitro wound healing experiments. J Periodont Res. 2020;55:287–295.
43. Zahra Kargarpour et al. Platelet-rich fibrin suppresses in vitro osteoclastogenesis. J Periodontol. 2020;91:413–421.
44. J. V. d. S. Canellas, P. J. D. Medeiros, C. M. d. S. Figueredo, R. G. Fischer, F. G. Ritto: Platelet-rich fibrin in oral surgical procedures: a systematic review and meta-analysis. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 2019; 48: 395–414.
45. Ritto FG, et al. Randomized double-blind clinical trial evaluation of bone healing after third molar surgery with the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin, Int J Oral Maxillofac Surg (2019)
46. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose- dependent way. Arch Oral Biol 2010; 55(3): 185-94
47. Priya Esther Jeyaraj and Ashish Chakranarayan. Soft Tissue Healing and Bony Regeneration of Impacted Mandibular Third Molar Extraction Sockets, Following Postoperative Incorporation of Platelet-rich Fibrin Ann Maxillofac Surg. 2018 Jan-Jun; 8(1): 10–18.
48. Varghese, Manuel, and Kumar L. K.. Potential for Osseous Regeneration of Platelet-Rich Fibrin—A Comparative Study in Mandibular Third Molar Impaction Sockets. J Oral Maxillofac. Surg. 75:1322-1329, 2017
49. Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S: Is autologous platelet concentrate beneficial for post-extraction socket healing? A systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg 40:891, 2011
50. Al-Saleh Faez Saleh Al-Hamed, Mohamed Abdel-Monem Tawfik, et al. Efficacy of platelet rich fibrin after mandibular third molar extraction: a systematic review and meta-analysis. J Oral Maxillofac Surg 75:1124-1135, 2017
51. Gasparro R., Sammartino G., Mariniello M., et al. Treatment of periodontal pockets at the distal aspect of mandibular second molar after surgical removal of impacted third molar and application of L-PRF: a split mouth randomized clinical trial. Quintessence International 2020; 51(3)

52. Marco Annunziata, Luigi Guida, Livia Nastri, Angelantonio Piccirillo, Linda Sommese, Claudio Napoli. The Role of Autologous Platelet Concentrates in Alveolar Socket Preservation: A Systematic Review. Transfus Med Hemother 2018;45:195–203
53. A. Anwandter et al. Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with Leukocyte- and Platelet Rich Fibrin: A clinical pilot study. Journal of Dentistry 52 (2016) 23-29
54. Temmerman A, Vandessel J, Castro A, Jacobs R, Teughels W, Pinto N, Quirynen M. The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2016; 43: 990–999
55. Castro et al. Effect of different platelet-rich fibrin matrices for ridge preservation in multiple tooth extractions: A split-mouth randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2021;48:984–995.
56. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation, and implant therapy. A systematic review. J Clin Periodontol 2017; 44: 225–234.