

Artigo Original de Pesquisa
Original Research Article

Análise de um protocolo de única centrifugação para o preparo do plasma rico em plaquetas (PRP) — estudo em coelhos

Analysis of a single-centrifugation protocol to prepare platelet-rich plasma (PRP) — a study in rabbits

Michel Reis MESSORA*

Maria José Hitomi NAGATA**

Luiz Gustavo Nascimento de MELO***

Flávia Aparecida Chaves FURLANETO****

Tatiana Miranda DELIBERADOR*****

Valdir Gouveia GARCIA*****

Alvaro Francisco BOSCO**

Endereço para correspondência:

Address for correspondence:

Michel Reis Messoria

Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – Disciplina de Periodontia

Rua José Bonifácio, 1.193 – Vila Mendonça

CEP 16015-050 – Araçatuba – SP

E-mail: michel_messoria@terra.com.br

* Aluno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Doutorado), área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia do campus de Araçatuba – UNESP.

** Professores adjuntos do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada (disciplina de Periodontia) da Faculdade de Odontologia do campus de Araçatuba – UNESP.

*** Doutores em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia do campus de Araçatuba – UNESP.

**** Professora do Mestrado em Odontologia Clínica da Universidade Positivo. Doutora em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia do campus de Araçatuba – UNESP.

***** Professor titular do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada (disciplina de Periodontia) da Faculdade de Odontologia do campus de Araçatuba – UNESP.

Recebido em 19/7/08. Aceito em 19/8/08.

Received on July 19, 2008. Accepted on August 19, 2008.

Palavras-chave:

plasma rico em plaquetas; contagem de plaquetas; centrifugação.

Keywords:

platelet-rich plasma; platelet count; centrifugation.

Resumo

Introdução e objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar um protocolo de única centrifugação para o preparo do plasma rico em plaquetas (PRP). **Material e métodos:** Foram utilizados 10 coelhos (White New Zealand) machos, adultos, com peso entre 2,8 e 4 kg. Após anestesia geral, foi realizada punção cardíaca, obtendo-se 10 mL de sangue de cada animal. Cada amostra de sangue foi centrifugada de acordo com um protocolo de única centrifugação para o preparo do PRP. Foi feita, então, a contagem manual de plaquetas do sangue periférico (total) coletado de cada animal e das amostras de PRP. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística. **Resultados:** A normalidade dos dados foi comprovada e o teste t de Student foi utilizado ($p < 0,05$). As amostras de PRP apresentaram uma quantidade média de plaquetas significativamente maior que a do sangue periférico (781875 ± 217693 e 446389 ± 181538 , respectivamente). A concentração média de plaquetas das amostras de PRP em relação às amostras de sangue periférico foi de $180,73\% \pm 31,01$. **Conclusão:** Dentro dos limites deste estudo, pôde-se concluir que o protocolo de única centrifugação para o preparo do PRP foi capaz de concentrar plaquetas em níveis menores do que o dobro da quantidade presente no sangue periférico. Futuros estudos são necessários para avaliar os reais efeitos biológicos de amostras de PRP preparadas de acordo com esse protocolo.

Abstract

Introduction and objective: The purpose of this study was to evaluate a single-centrifugation protocol to prepare platelet-rich plasma (PRP). **Material and methods:** Ten white adult male (New Zealand) rabbits weighing 2.8 to 4 kg were used. After general anesthesia, 10 ml of blood were drawn from each animal via cardiac puncture. Each blood sample was centrifuged according to a single-centrifugation protocol to prepare PRP. The platelets in the whole blood and PRP samples from each animal were counted manually. Data were submitted to statistical analysis. **Results:** The normality of the data was confirmed and the Student's t test was applied ($p < 0.05$). PRP samples presented an average platelet count significantly higher than that of whole blood (781.875 ± 217.693 and 446.389 ± 181.538 , respectively). The average percentage increase in PRP platelet count in relation to the whole blood was $180.73\% \pm 31.01$. **Conclusion:** Within the limits of this study, it can be concluded that the single-centrifugation protocol achieved lower platelet concentrations than the double amount of platelets presented in the whole blood. Further studies are required to evaluate the biological effects of PRP samples prepared according to this protocol.

Introdução

Os fatores de crescimento representam uma classe de mediadores biológicos que regulam a proliferação, a quimiotaxia e a diferenciação celular [12]. A aplicação terapêutica desses fatores, objetivando a regeneração de um determinado tecido, fundamenta-se na tentativa de mimetizar

os eventos biológicos responsáveis pela formação (estágio embrionário) e manutenção (estágio pós-natal) desse tecido [18].

Uma técnica viável para a obtenção de uma alta concentração de fatores de crescimento foi sugerida por Marx et al. (1998) [13], mediante preparação do plasma rico em plaquetas (PRP) autólogo. Segundo Marx (2001) [15], o PRP representa um volume de

plasma autólogo que possui uma concentração de plaquetas acima da normalmente encontrada no sangue. O número aumentado de plaquetas concentra, em seus grânulos α , uma grande quantidade de fatores de crescimento, principalmente o fator de crescimento derivado da plaqueta (PDGF) e o fator de crescimento transformador- β (TGF- β).

A técnica inicialmente descrita para obtenção do PRP foi proposta por meio do método de separação celular descontínua, que normalmente utiliza uma grande quantidade de sangue (450 mL) [13, 27]. Esse método, porém, é limitado pela tecnologia empregada e pelo volume de sangue necessário, ficando restrito a institutos de transfusão de sangue ou a ambientes hospitalares [22, 24].

Recentemente alguns protocolos simplificados têm sido sugeridos para a produção de pequenas quantidades de PRP com o uso de centrífugas de bancada [1, 10, 20]. Tais protocolos representam uma evolução da técnica proposta no início, em função do baixo custo de produção envolvido e da possibilidade de execução em ambiente ambulatorial [25]. Além disso, esses métodos são mais bem aceitos pelo paciente porque produzem menos estresse no sistema cardiovascular e podem ser realizados em poucos minutos.

Os protocolos e as técnicas cirúrgicas utilizados no preparo e na administração do PRP diferem-se amplamente [17, 26], causando variações em uma propriedade fundamental do PRP, ou seja, a concentração de plaquetas, o que pode influenciar marcadamente o efeito biológico do PRP [2]. Portanto, o uso de protocolos simplificados para o preparo do PRP tem de ser feito com cuidado, e muitos detalhes precisam ser levados em consideração. O processo de centrifugação para o preparo do PRP deve, por exemplo, ser estéril, capaz de separar as plaquetas das células vermelhas do sangue e promover o sequestro delas sem nenhum tipo de dano ou lise que possa ativar a secreção antecipada dos fatores de crescimento. Segundo Marx (2001) [15], o PRP precisa possuir um aumento de 300 a 400% de plaquetas em relação à quantidade presente no sangue periférico para que ele seja capaz, de fato, de acelerar o processo de cicatrização.

Marx et al. (1998) [13] afirmaram que um protocolo de dupla centrifugação é essencial para que se possa, verdadeiramente, concentrar as plaquetas durante o preparo do PRP. Por outro lado, Anitua (1999) [1] preconiza um protocolo de única centrifugação, embora a concentração de plaquetas obtida com esse procedimento não tenha sido demonstrada. Grandes variações nas concentrações de plaquetas são encontradas nos

protocolos de única [4] ou dupla centrifugação [10, 20], sendo necessárias melhores reprodução e investigação deles. Nesse contexto, a aplicação clínica controlada de determinado protocolo de preparo do PRP ou o estudo deste em modelos animais são de fundamental importância para que se consiga, concretamente, mensurar e compreender seus verdadeiros benefícios biológicos no processo de regeneração tecidual [26].

O objetivo deste estudo foi avaliar um protocolo de única centrifugação para o preparo do plasma rico em plaquetas (PRP).

Material e métodos

Modelo experimental

Foram utilizados 10 coelhos (White New Zealand) machos, adultos, com peso variando de 2,8 a 4 kg, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus de Botucatu, São Paulo. Os animais foram mantidos em gaiolas unitárias sob temperatura ambiente, alimentados com ração sólida e água ad libitum, durante todo o procedimento experimental. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da UNESP, campus de Araçatuba.

Anestesia

Para a realização de todos os procedimentos experimentais, os animais foram anestesiados por injeção intramuscular de xilazina (0,25 mL/kg de peso corporal) associada a quetamina (0,35 mL/kg de peso corporal).

Preparo do PRP

1. Punção cardíaca e coleta do sangue: Por meio de punção cardíaca, 10 mL de sangue foram coletados de cada animal, com auxílio de agulha e seringa. O volume sanguíneo coletado de cada animal foi distribuído e armazenado em tubos a vácuo contendo citrato de sódio como anticoagulante. De cada tubo, 0,5 mL de sangue foi removido para a contagem de plaquetas. Os tubos foram, então, submetidos a centrifugação.

2. Centrifugação do sangue (adaptação do protocolo de Anitua [1]): A separação celular dos elementos do sangue coletado foi feita por centrifugação, utilizando-se uma centrífuga laboratorial refrigerada (Beckman J-6M Induction

Drive Centrifuge, Beckman Instruments Inc., Palo Alto, CA, EUA). Os tubos foram centrifugados a 160 G (760 rpm) por 6 minutos, à temperatura ambiente, resultando em três componentes básicos: células vermelhas do sangue (fundo do tubo), PRP (meio do tubo) e plasma pobre em plaquetas (PPP) (parte superior do tubo). Efetuaram-se, assim, a pipetagem e o descarte de 1 mL de PPP. Um ponto foi marcado 2 mm aquém da linha que separava o componente superior e o componente inferior do tubo. Todo o conteúdo acima desse ponto, de aproximadamente 1,2 mL, foi pipetado. Esse volume de plasma correspondeu ao PRP (figura 1).

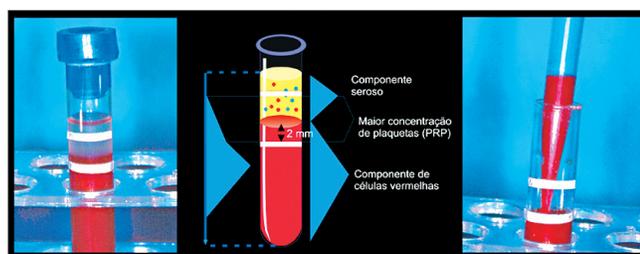


Figura 1 — Separação do PRP após a centrifugação do sangue

Contagem de plaquetas

O líquido de Brecher foi usado para lisar os eritrócitos e diluir as amostras de sangue periférico e de PRP. As plaquetas nas amostras diluídas foram, então, contadas manualmente em uma câmara de Neubauer. Além disso, esfregaços de sangue periférico foram corados com Panótico Rápido LB (LaborClin, Pinhais, PR, Brasil) para verificar a morfologia das plaquetas.

Análise estatística

A normalidade dos dados foi comprovada e a significância das diferenças entre a quantidade de plaquetas presentes no sangue periférico e no PRP foi analisada pelo teste t de Student. A relação entre a quantidade de plaquetas presentes no PRP e no sangue periférico foi avaliada pelo teste de correlação

de Pearson. Para todos os testes, foi adotado o nível de 5% de significância.

Resultados

Dois animais foram excluídos após a centrifugação do sangue para o preparo do PRP. O baixo volume de PPP obtido nas amostras centrifugadas deles não permitiu o preparo do PRP conforme o protocolo de única centrifugação.

Os esfregaços de PRP apresentaram maiores concentrações de plaquetas do que os de sangue periférico. Em ambos os esfregaços, as plaquetas apresentavam morfologia normal (figura 2).

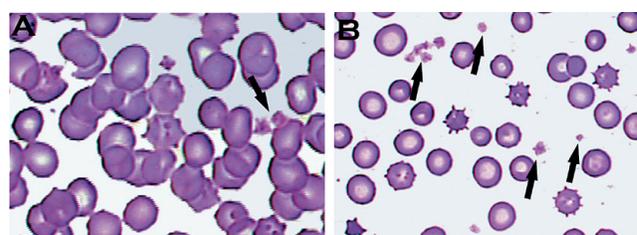


Figura 2 — Esfregaço de PRP (B) mostrando maior concentração de plaquetas (setas) do que o esfregaço de sangue periférico (A)

A quantidade média de plaquetas nas amostras de PRP e sangue periférico, o aumento percentual médio obtido e as variações em cada animal estão apresentados na figura 3 e na tabela I.

Uma significativa correlação foi observada entre a quantidade de plaquetas do sangue periférico e do PRP ($r_p = 0,93$, $p = 0,002$).



Figura 3 — Quantidade de plaquetas por microlitros nas amostras de sangue periférico e de PRP de cada animal

Tabela I – Quantidade de plaquetas e desvios-padrão nas amostras de PRP e de sangue periférico

Amostras	n	Número médio de plaquetas	Desvio-padrão	Aumento percentual médio (%)	Desvio-padrão (%)
Sangue periférico	8	446389 ^a	±181538	-	-
PRP	8	781875 ^b	±217693	180,73	±31,01

* Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Discussão

Diferentes protocolos para o preparo do PRP podem proporcionar maior ou menor concentração de plaquetas e, conseqüentemente, diferentes efeitos biológicos após o uso clínico dele. Assim, Grageda (2004) [6] sugeriu a observância da quantidade de plaquetas como um dos fatores primordiais para a padronização metodológica dos estudos que buscam avaliar a capacidade regenerativa do PRP.

Um PRP capaz de favorecer a regeneração de tecidos duros e moles, chamado por Marx (2004) [14] de “PRP terapêutico”, foi definido como aquele que possui uma quantidade de plaquetas 3 a 4 vezes maior que a do sangue periférico, em humanos. Haynesworth et al. (2002) [7] demonstraram que a proliferação e a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas estão diretamente relacionadas à concentração de plaquetas. Esses autores mostraram, em humanos, uma curva dose-resposta, que indicou uma suficiente resposta celular quando um aumento em torno de 400 ou 500% de plaquetas em relação ao sangue periférico foi obtido. Estudos em cães e coelhos também demonstraram que essa concentração de plaquetas foi efetiva para acelerar a cicatrização óssea [8, 23]. No presente trabalho, os animais apresentaram uma quantidade média de plaquetas no sangue periférico em torno de 446.389 plaquetas/ μ L. Essa quantidade está de acordo com os parâmetros normais para a espécie animal estudada [3]. Com relação à concentração de plaquetas nas amostras de PRP, o protocolo de única centrifugação utilizado neste estudo não foi capaz de produzir um “PRP terapêutico”.

A baixa concentração de plaquetas obtida com o protocolo de única centrifugação poderia ser justificada pelo número de centrifugações realizadas. Segundo Marx (2001) [15], os protocolos de única centrifugação não produzem PRP, mas sim uma mistura de PPP e PRP. Ainda de acordo com Marx (2001) [15], para que seja possível verdadeiramente concentrar plaquetas do sangue periférico, o protocolo deve utilizar uma técnica de dupla centrifugação. A primeira (chamada também de centrifugação pesada) separará as células vermelhas do plasma, o qual contém plaquetas, leucócitos e fatores de coagulação. A segunda (chamada de centrifugação leve) refina a amostra, separando as plaquetas do plasma, juntamente com leucócitos e uma pequena quantidade de células vermelhas. Essa segunda centrifugação, livre da obstrução ocasionada por um grande número de células vermelhas no momento da primeira centrifugação, produz o PRP e o separa do PPP.

Além da baixa concentração de plaquetas, o protocolo empregado na presente pesquisa não considera a possibilidade de variações no hematócrito dos indivíduos, recomendando um valor fixo (em torno de 1 mL) para pipetagem do PPP após o processo de centrifugação. Preconiza-se, ainda, que o plasma restante, incluindo 1 a 2 mm da porção superior de células vermelhas, deve totalizar um volume de 1,2 mL por tubo para constituir o PRP. Neste estudo, tais restrições tornaram o referido protocolo inapropriado para alguns animais que apresentaram a quantidade total de plasma inferior a 1 mL após o processo de centrifugação. Esse volume plasmático não representa um parâmetro de anormalidade, mas apenas caracteriza variações no hematócrito, cuja ocorrência foi também relatada no estudo de Efeoglu et al. (2004) [5].

Não só o número de centrifugações é importante no preparo do PRP, mas ainda a força de rotação selecionada. Um aumento desta pode garantir maior concentração de plaquetas [3]. Entretanto é preciso considerar que forças mecânicas demasiadamente elevadas para o preparo do PRP são capazes, também, de ativar precocemente as plaquetas, levando à liberação dos fatores de crescimento e, conseqüentemente, à perda deles no plasma sobrenadante durante o processo de centrifugação, comprometendo a eficiência terapêutica do PRP [3]. No presente trabalho, embora a centrifugação do sangue a 160 G não tenha proporcionado uma concentração adequada de plaquetas nas amostras de PRP, a morfologia das plaquetas não foi afetada, o que sugere ausência de ativação plaquetária. Esse aspecto favorável reflete uma vantagem do protocolo de única centrifugação utilizado no presente estudo. Menos pipetagem e menor manipulação da amostra, fatores inerentes a tal protocolo, evitam a ativação precoce das plaquetas [19]. É importante destacar ainda que a menor manipulação das amostras torna-se um fator crítico quando não é realizada em ambiente com fluxo laminar. Como as clínicas e os centros cirúrgicos comuns não são normalmente equipados com filtros de ar com fluxo laminar, é grande a possibilidade de contaminação do material exposto, pela deposição de partículas suspensas no ar.

Do ponto de vista clínico, é importante enfatizar que a quantidade de plaquetas das amostras de PRP preparadas neste estudo pode ser estimada tomando-se como referência a quantidade de plaquetas no sangue periférico. Isso significa que o protocolo de única centrifugação deste trabalho mostrou-se altamente previsível na concentração de plaquetas ($r_p = 0,93$, $p = 0,002$), sendo essa uma

característica de suma importância para a utilização de qualquer protocolo para preparo do PRP nos procedimentos clínicos médicos e odontológicos.

Consideração especial deve ser dada ao método manual de contagem de células utilizado nesta pesquisa. A contagem de plaquetas constitui um parâmetro hematológico passível de erro, e não há nenhum procedimento ideal para quantificar esse elemento. Questionamentos têm sido levantados não apenas em relação à metodologia em si, como também sobre o grau de concordância entre os métodos manual e automatizado [9, 11, 16, 21]. Apesar de alguns autores mostrarem vantagens da contagem automática de plaquetas [28], outros concordam que ela reflete menos confiabilidade do que a contagem manual, principalmente em casos de trombocitopenia [9, 11].

A precisão e a reprodutibilidade são características fundamentais do método científico. O desenvolvimento e a eventual aplicação clínica de dispositivos e materiais biomédicos requerem uma aderência estrita à metodologia científica. O desenvolvimento de novos biomateriais para o uso na reconstrução de tecidos perdidos não é uma exceção a tal regra. Dessa forma, a escolha de um modelo animal adequado é essencial para que as avaliações obtidas sejam confiáveis e mimetizem, com profundidade científica, o seu uso em seres humanos e, em um espectro maior, em uma população específica. Esses argumentos reforçam a escolha do modelo animal adotado neste trabalho – um roedor, o coelho (*White New Zealand*). Os coelhos, embora sejam animais pertencentes a uma escala filogenética distante da do homem, apresentam algumas vantagens como modelo experimental para estudos do PRP. Por serem animais de médio porte, tornam possível a coleta de um volume de sangue suficiente para o preparo de um PRP autógeno, mantendo o animal com todos os seus sinais vitais preservados e sem nenhum tipo de comprometimento sistêmico [5]. Além disso, destacam-se também o baixo custo e a facilidade de obtenção, manuseio e manutenção.

As controvérsias existentes a respeito dos reais benefícios do PRP como potencializador dos processos cicatriciais devem ser analisadas, principalmente à luz do protocolo escolhido para o preparo do biomaterial. Nem todos os protocolos disponíveis são eficientes no preparo do PRP.

Conclusão

Dentro dos limites desta pesquisa, pôde-se concluir que o protocolo de única centrifugação para o preparo do PRP foi capaz de concentrar plaquetas em níveis menores do que o dobro da quantidade

presente no sangue periférico. Futuros estudos são necessários para avaliar os reais efeitos biológicos de amostras de PRP preparadas de acordo com esse protocolo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Profa. Dra. Suely Regina Mogami Bomfim, da Faculdade de Medicina Veterinária do campus de Araçatuba da UNESP, o auxílio no preparo do PRP e na análise dos esfregaços.

Referências

1. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(4):529-35.
2. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol*. 2006;24(5):227-34.
3. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Kluter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31(6):615-9.
4. Eby EW. Platelet-rich plasma: harvesting with a single-spin centrifuge. *J Oral Implantol*. 2002;28(6):297-301.
5. Efeoglu C, Akcay YD, Erturk S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(11):1.403-7.
6. Grageda E. Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol. *Implant Dent*. 2004;13(4):301-9.
7. Haynesworth SE, Kadiyala S, Liang LN, Thomas T, Bruder SP. Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet release suggest a mechanism for enhancement of bone repair by platelet concentrates. 48th Meeting of the Orthopaedic Research Society. Boston, MA; 2002.
8. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002;60(9):1.018-25.

9. Kunz D. Possibilities and limitations of automated platelet counting procedures in the thrombocytopenic range. *Semin Thromb Hemost.* 2001;27(3):229-35.
10. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(3):297-300.
11. Langianni U, Limberti A, Bottari G, Ignesti C, Innocenti V. Evaluation of interferences in electronic platelet count. *Quad Sclavo Diagn.* 1988;24(1-4):197-202.
12. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN. Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest.* 1989;84(2):640-6.
13. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1998;85(6):638-46.
14. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(4):489-96.
15. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
16. Penev M, Kamenov V, Donkova O, Petkova D. Automatic and manual methods for counting the thrombocytes in the blood. *Vutr Boles.* 1987;26(2):109-12.
17. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(1):93-103.
18. Schilephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(5):469-84.
19. Schmitz G, Rothe G, Ruf A, Barlage S, Tschöpe D, Clemetson KJ et al. European Working Group on Clinical Cell Analysis: consensus protocol for the flow cytometric characterization of platelet function. *Thromb Haemost.* 1998;79(5):885-96.
20. Sonnleitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(6):879-82.
21. Sutor AH, Grohmann A, Kaufmehl K, Wundisch T. Problems with platelet counting in thrombocytopenia. A rapid manual method to measure low platelet counts. *Semin Thromb Hemost.* 2001;27(3):237-43.
22. Tozum TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(10):664.
23. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone.* 2004;34(4):665-71.
24. Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(4):437-43.
25. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(3):357-62.
26. Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma rich in growth factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(1):118-23.
27. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1.294-9.
28. Woodell-May JE, Ridderman DN, Swift MJ, Higgins J. Producing accurate platelet counts for platelet rich plasma: validation of a hematology analyzer and preparation techniques for counting. *J Craniofac Surg.* 2005;16(5):749-59.