

Diplomarbeit

**Einfluss der Trinkmenge auf die im Zentrifugat von Eigenblut
enthaltene Fibrinmatrix - Platelet-Rich-Fibrin**

eingereicht von

Lukas Clemens Schneeberger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnmedizin

(Dr. med. dent.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit

unter der Anleitung von

Univ. FÄ Priv-Doz. DDr. Petra Rugani

und

Assoz. Prof. Priv-Doz. DDr. Michael Payer

Graz, 22.04.2024

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 22.04.2024

Lukas Clemens Schneeberger eh.

Danksagung

Vorab möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin Frau Priv-Doz. DDr. Petra Rugani für die Bereitstellung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Pilotstudie sowie Abfassung der Arbeit recht herzlich bedanken. Danke für die Beantwortung aller offenen Fragen und dafür, dass Sie stets eine Unterstützung für mich sind.

Ein großes Dankeschön gilt auch Herrn Assoz. Prof. Priv-Doz. DDr. Michael Payer für die Zweitbetreuung meiner Arbeit sowie Frau DI Irene Mischak für die rasche und unkomplizierte statistische Auswertung der Studiendaten.

Ebenso möchte ich mich bei allen Studienteilnehmer*innen für die Compliance und den reibungslosen Ablauf der Studie bedanken.

Mein größter Dank gilt meiner Verlobten Ursula, meinen Eltern Roswitha und Harry, meinem Bruder Fabian sowie meinem Mentor Bernd. Danke, dass ihr mich in allen Lebenslagen bedingungslos unterstützt und stets ein offenes Ohr für mich habt. Ich bin sehr froh, euch an meiner Seite zu haben. In perpetuum!

Schlussendlich möchte ich mich bei meinen Studienkolleg*innen für die tolle Studienzeit bedanken und auch meinen Freunden den Dank aussprechen, dass ihr immer für mich da seid.

Zusammenfassung

Einführung:

Platelet Rich Fibrin, kurz PRF, ist ein autologes Produkt, dass aus körpereigenem Blut gewonnen und zur Förderung der Gewebsregeneration und Wundheilung verwendet wird. Die Popularität von PRF beruht unter anderem auf der Einfachheit der Herstellung, indem das peripher entnommene Blut einmalig zentrifugiert wird und so je nach Zentrifugationsprotokoll flüssiges oder festes, respektives solides PRF hergestellt werden kann. Das resultierende PRF besteht hauptsächlich aus einer Fibrinmatrix, in welcher Wachstumsfaktoren, Blutplättchen sowie andere Zellen eingebettet sind. Keine Evidenz gibt es bezüglich des Einflusses der Hydratation auf die quantitative Menge bei der Herstellung von PRF. Ziel dieser Pilotstudie war es, den Einfluss des Trinkverhaltens auf die Quantität des durch Zentrifugation von Eigenblut gewonnenen PRF zu untersuchen.

Material und Methoden:

Im Zuge der Pilotstudie wurde 26 Studienteilnehmer*innen zweimal Blut abgenommen, einmal unter der Reduktion der habituellen Trinkmenge sowie einmal unter Einhaltung eines vordefinierten Trinkprotokolls zur Euhydration. Nach der Zentrifugation wurde das flüssige PRF mit einer Einmalspritze abgezogen und quantitativ erfasst. Die Hauptzielgröße war die Menge des zentrifugierten Blutplasmas in einer Probe von 10 ml Eigenblut bei der autologen Herstellung von PRF. Anhand der ausführlichen Protokollierung und statistischen Erhebung der Studiendaten konnte eine potenzielle Beziehung, respektive Wechselwirkung, der Einflussgröße Trinkmenge auf die Zielgröße bestimmt werden.

Resultate:

Die Auswertung der Pilotstudie ergab, dass durch die Anwendung eines standardisierten Trinkprotokolls, eine signifikante Steigerung der quantitativen PRF-Menge resultierte. Im Mittel konnte eine Steigerung von 14,08% erzielt werden.

Konklusion:

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen, dass durch die Anwendung eines standardisierten Trinkprotokolls signifikant mehr PRF gewonnen werden kann. Die primären Vorteile von PRF liegen in seinem autologen Ursprung sowie seiner Fähigkeit die Wundheilung und Geweberegeneration zu verbessern. Für zukünftige Arbeiten ist es wertvoll herauszufinden, ob die quantitative Steigerung auch eine Verbesserung der Zellverteilung sowie eine Zunahme an Wachstumsfaktoren bedeutet.

Abstract

Introduction:

Platelet Rich Fibrin, or PRF, is an autologous product that is derived from the body's own blood and used to promote tissue regeneration and wound healing. The popularity of PRF is due in part to the simplicity of its production, in that peripherally collected blood is centrifuged once, allowing liquid or solid, respectively, PRF to be produced, depending on the centrifugation protocol. The resulting PRF then consists mainly of a fibrin matrix in which growth factors, platelets, and other cells are embedded. No evidence exists regarding the influence of hydration on the quantitative amount in the preparation of PRF. The aim of this pilot study was to investigate the influence of hydration on the quantity of PRF obtained by centrifugation of autologous blood.

Material and Methods:

In the course of the pilot study, blood was drawn twice from 26 study participants, once under the reduction of habitual drinking quantity and once under adherence to a predefined drinking protocol to reach the status of euhydration. After centrifugation, the liquid PRF was withdrawn with a disposable syringe and quantified. The main target variable was the amount of centrifuged blood plasma in a sample of 10 ml of autologous blood during autologous preparation of PRF. Based on the detailed logging and statistical collection of the study data, it was possible to determine a potential relationship, or rather interaction, of the influencing variable drinking quantity on the target variable.

Results:

The evaluation of the pilot study concluded that through the application of the standardized drinking protocol, a significant increase in the quantitative PRF amount resulted. On average the increase was 14.08%.

Conclusion:

The results of this pilot study show that significantly more PRF can be obtained by using a drinking protocol. The primary advantages of PRF are its autologous nature and its ability to enhance wound healing and tissue regeneration. For future work, it will be valuable to find out whether the quantitative increase also means an improvement in cell distribution as well as an increase in growth factors.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	iii
Zusammenfassung.....	iv
Abstract	vi
Abkürzungen	x
Abbildungsverzeichnis.....	xi
Tabellenverzeichnis.....	xii
1 Einleitung.....	1
2 Historie der Plättchenkonzentrate	3
2.1 Fibrinkleber	3
2.2 Platelet-rich-plasma	4
2.3 Platelet-rich in growth factors	5
2.4 Platelet-rich fibrin	5
3 Was ist PRF?.....	7
3.1 PRF Allgemein	7
3.2 Gewinnung von PRF	9
3.3 Low Speed Centrifugation Concept (LSCC)	11
3.4 Arten von PRF.....	13
3.4.1 Solides / festes PRF.....	13
3.4.2 Flüssiges PRF.....	14
3.5 Einsatzgebiete in der Zahn - und Humanmedizin	16
3.5.1 PRF in der Zahnmedizin	16
3.5.2 PRF in der Humanmedizin	19
4 Thrombozyten, Blutgerinnung, Wundheilung und Fibrin.....	21
5 Pilotstudie – Einfluss der Trinkmenge auf die im Zentrifugat von Eigenblut enthaltene Fibrinmatrix - Platelet-Rich-Fibrin	24
5.1 Hintergrund und Kernfrage.....	24
5.2 Ziel der Studie	25
5.2.1 Hauptzielgröße	25
5.3 Material und Methoden.....	25
5.3.1 Ein - sowie Ausschlusskriterien.....	27
5.4 Auswertung.....	29
5.5 Ergebnisse	29
5.5.1 Statistische Auswertung	30
6 Diskussion	42
7 Konklusion	47

Literaturverzeichnis.....	48
8 Anhang.....	53
8.1 Studienprotokoll	53
8.2 Case Report Form.....	61
8.3 Trinkprotokoll.....	66

Abkürzungen

- ADH: antidiuretisches Hormon
- a-PRF: advanced-platelet-rich-fibrin
- a-PRF+: advanced-platelet-rich-fibrin +
- BMI: Body-Mass-Index
- cPRP: concentrated platelet-rich-plasma
- EGF: epidermal growth factor
- i-PRF: injectable platelet-rich-fibrin
- LSSC: Low Speed Centrifugation Concept
- PDGFs: platelet-derived growth factors
- PRF: platelet-rich-fibrin
- PRGF: platelet rich in growth factors
- PRP: platelet-rich-plasma
- RCF: relative-centrifugal-force
- rpm: rounds per minute
- TGF-beta: transforming growth factor beta
- VEGF: vascular endothelial growth factor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Tisseel© – Fibrinkleber (10).....	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung der drei Fraktionen nach Zentrifugation (3).....	10
Abbildung 3: Abtrennen der Erythrozytenbasis (3).....	10
Abbildung 4: Schematische Darstellung einer Zentrifuge und die Formel für die Berechnung der relativen Zentrifugalkraft (24).....	12
Abbildung 5: Zentrifugationsprotokolle gemäß des Low Speed Centrifugation Concept (39).....	13
Abbildung 6: Entnahme von i-PRF nach der Zentrifugation (24).....	15
Abbildung 7: Schlüsselfaktoren im PRF (68).....	23
Abbildung 8: Workflow der Pilotstudie A-I.....	28
Abbildung 9: Boxplots von i-PRF mit und ohne Trinkprotokoll sowie der Differenz; Ordinate: [ml]....	31
Abbildung 10: Mittelwertdiagramm mit Fehlerbalken einer einfachen Standardabweichung.....	32
Abbildung 11: links: Balkendiagramm der absoluten Veränderung nach Anwendung des Trinkprotokolls; Ordinate: Versuchsteilnehmer*innen, Abszisse: [ml]; rechts: Balkendiagramm der prozentuellen Veränderung nach Anwendung des Trinkprotokolls; Ordinate: Versuchsteilnehmer*innen, Abszisse: Veränderung in Prozent.....	33
Abbildung 12: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme von Männern und Frauen.....	35
Abbildung 13: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme von Raucher*innen und Nichtraucher*innen.....	37
Abbildung 14: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme betreffend regelmäßigem Alkoholkonsum.....	39
Abbildung 15: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme betreffend der Reduktion des Trinkverhaltens bei der 1. Visite.....	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Deskriptive statistische Auswertung; N=Fallzahl, Min=Minimum, Max=Maximum, Stabw.=Standardabweichung, TP=Trinkprotokoll, [ml]	30
Tabelle 2: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Geschlecht; Sign.p*=Signifikanzniveau	34
Tabelle 3: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Parameter Rauchen	36
Tabelle 4: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Parameter Alkoholkonsum	37
Tabelle 5: Darstellung des Zusammenhangs mit der Reduktion des Trinkverhaltens bei 1. Visite	39
Tabelle 6: Darstellung des Zusammenhangs mit den Parametern der Größe und des Gewichts	41

1 Einleitung

Der Heilungsprozess von iatrogenen Wunden, nach Verletzungen sowie nach Krankheiten ist komplex und unter anderem sind in diesen die zelluläre Organisation, chemische Signalwege sowie die extrazelluläre Matrix für die Geweberegeneration eingebunden (1). Ebendieser komplexe Prozess der Wundheilung ist noch immer nicht vollständig geklärt, jedoch ist es unumstritten, dass die Thrombozyten nicht nur in der Blutgerinnung, sondern auch in der Wundheilung eine große Rolle spielen (2). Platelet Rich Fibrin, kurz PRF, gehört zu den Thrombozytenkonzentraten, die entwickelt wurden, um die Wundheilung zu verbessern und zu beschleunigen (3). PRF ist ein rein autologes Produkt, welches auch zur Biologisierung von Ersatzmaterialien wie zum Beispiel Knochenersatzmaterialien, Membranen und Zellträgern herangezogen wird, um so in hoch konzentrierter Form die körpereigene Wundheilung und Regeneration zu akzelerieren und intensivieren (4). Da es ein körpereigenes Produkt ist, sind Unverträglichkeiten beziehungsweise Allergien nahezu ausgeschlossen. Die einfache Anwendung und Herstellung von PRF sowie der autologe Ursprung, machen es zu einem begehrten und kostengünstigen Biomaterial, welches in der Zahnmedizin immer mehr Einzug findet. Es wurde beschrieben, dass PRF vorteilhaft für die Knochen- sowie Weichgewebsregeneration ist und die Fähigkeit besitzt, das Risiko postoperativer bakterieller Infektionen zu minimieren (5). Mit einem in Frankreich erstmalig beschriebenen Herstellungsprozess, entstand eine neue Familie von Plättchenkonzentraten, welche weder eine Art Fibrinkleber noch ein klassisches Blutkonzentrat, sondern eine Weiterentwicklung ebendieser Fibrinprodukte darstellt. Dohan et al. beschrieben PRF nun genauer als eine Art Biomaterial, dass einer autologen Fibrinmatrix ähnelt. Ein weiterer Vorteil ist, dass es keine biochemische Verarbeitung benötigt und gesetzmäßige Restriktionen im Umgang mit dem abgenommenen Blut nicht schlagend werden. Weiters sind mit der aktuellen Entwicklung betreffend der Gewinnung von PRF, die enormen Fehlerquellen in den komplexen Herstellungsprotokollen früherer autologer Fibrinadhäsive ausgeschaltet worden. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass dem großen Infektionsrisiko durch synthetisch hergestellte Adhäsive, Abhilfe geschaffen werden konnte (3). Die Anwendungsgebiete von PRF in der Zahnmedizin reichen von der Sinusbodenelevation, der Rezessionsdeckung bis hin zur Deckung von

defizitärem Gewebe, um nur ein paar Beispiele in dem vielfältigen Einsatzgebiet der Biomatrix zu nennen (4).

Vor allem in der Zahnmedizin ist die Anzahl an Publikationen sowie an potenziellen Anwendungsgebieten und Anwendungsmöglichkeiten von PRF eklatant gestiegen. Somit stellt die folgende Arbeit eine Übersicht von der Entstehung bis zur Anwendung von PRF dar und beinhaltet die Ergebnisse einer im Rahmen der Diplomarbeit durchgeführten Pilotstudie an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit Graz.

2 Historie der Plättchenkonzentrate

Das regenerative Potential der Thrombozyten wurde, wie Ross et al. beschreibt, schon um 1970 entdeckt. Es wurde festgestellt, dass Thrombozyten Wachstumsfaktoren beinhalten, die unter anderem für die Steigerung der Kollagenproduktion, die vermehrte Zellteilung, das Wachstum der Blutgefäße, die Zellmigration zum Entzündungsort sowie für die Einleitung der Zelldifferenzierung verantwortlich sind. Ein möglicher Einsatz dieser Thrombozytenkonzentrate ist deren Verwendung als biokompatible chirurgische Additiva, um mit den beinhaltenden Wachstumsfaktoren, eine bessere Regenerationsfähigkeit des Gewebes erzielen zu können (6, 7).

2.1 Fibrinkleber

Eines der ersten in der Literatur beschriebenen Plättchenkonzentrate ist der Fibrinkleber (8). Fibrinkleber wird durch die Verarbeitung von hochkonzentriertem Thrombin sowie Fibrinogen gewonnen. Der Fibrinkleber besteht somit aus zwei unterschiedlichen Phasen, die meistens getrennt in zwei Spritzen aufgezogen sind (9). Abbildung eins veranschaulicht den häufig verwendeten Fibrinkleber der Firma Baxter© (10). Die erste Phase beinhaltet neben Fibrinogen auch andere Plasmaproteine wie zum Beispiel Plasminogen und Fibronektin. Eine Kombination aus bovinem Thrombin und Kalziumchlorid stellt die zweite Phase dar. Das Funktionsprinzip des Fibrinklebers ähnelt der letzten Phase der Blutgerinnung, nämlich der Konversion von Fibrinogen zu Fibrin.



Abbildung 1: Tisseel© – Fibrinkleber (10)

Dieser Mechanismus wird durch das Vermengen der beiden Phasen initiiert. Durch Wasserstoffbrückenbindungen entsteht so eine gelartige Konsistenz der Fibrinmonomere. Die Verwendung von Fibrinklebern in der Medizin ist vielseitig. In der Herzchirurgie findet der Fibrinkleber aufgrund der Gefahr von bedrohlichen Blutungen, welche zum Beispiel durch Hypothermie, Heparinisierung und Fehlfunktionen der Thrombozyten erschwert werden können, zur Blutstillung seine Anwendung. Neurochirurgen verwenden Fibrinkleber unter anderem zur Verankerung von Membranen, die zum Verschluss von Lecks in der dura mater dienen. Weiters findet der Fibrinkleber unter anderem in der Allgemeinchirurgie sowie in der plastischen Chirurgie seine Anwendung (9).

2.2 Platelet-rich-plasma

Durch weitere Entwicklung und Forschung wurde schließlich die nächste Generation von Thrombozytenkonzentraten konzipiert, nämlich das konzentrierte plättchenreiche Plasma, kurz cPRP (11). Whitman et al. war einer der ersten, welcher die Verwendung von Platelet-Rich-Plasma in der oralen Chirurgie beschrieb (8). Unter cPRP versteht man eine Modifikation von Fibrinkleber, welche durch eine zweifache Zentrifugation von Eigenblut, der Beimengung von Antikoagulantien sowie Methoden der Konzentration von Thrombozyten, gewonnen wird. Das Ergebnis des aufwendigen Isolierprotokolls stellt ein plättchenreiches Plasmakonzentrat dar, in welchem die Leukozyten, gezielt eliminiert werden. Aufgrund der Verwendung von bovinem Thrombin als Antikoagulanz ist die Anwendung von cPRP auch mit den Risiken allergischer Reaktionen sowie Koagulopathien behaftet (6, 12). In den 1970-Jahren wurde PRP, aufgrund der hohen Dichte respektive Anzahl an Thrombozyten, ursprünglich in der Hämatologie zur Behandlung von Thrombozytopenien verwendet (13). Die Einsatzgebiete von cPRP heutzutage sind sehr weitreichend und beschränken sich nicht nur auf die orale Chirurgie, sondern es findet auch in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, der ästhetischen Chirurgie sowie in der Orthopädie Anwendung (14, 15). Jakse et al. erforschten den Einfluss der Beimengung von PRP auf autologe Transplantate zum Sinuslift und kam zum Schluss, dass PRP eine niedrige regenerative Kapazität

besitzt (16). Ebenso wird PRP heutzutage in der Dermatologie im Zuge von Haartransplantationen sowie zur Behandlung von Akne angewandt (17).

2.3 Platelet-rich in growth factors

Etwa zur gleichen Zeit, in den 1990er Jahren, beschrieb Anitua et al. ebenfalls ein Plättchenkonzentrat namens plättchenreicher Wachstumsfaktoren, kurz PRGF (platelet rich in growth factors). PRGF verwendet ebenfalls Antikoagulanzen und ist damit nicht zu hundert Prozent autologen Ursprungs (18). Durch die Beimengung von biologischen Aktivatoren, welche die Wachstumsfaktoren aus den Thrombozyten freisetzen, versteht sich PRGF als Endprodukt von PRP. PRGF enthält keine Leukozyten sowie keine inflammatorischen Zytokine, sondern besteht rein aus einer spezifischen Menge an Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die es im Vergleich zu PRP effektiver und nebenwirkungsärmer machen (19, 20). Die Hauptanwendungsgebiete von PRGF in der Zahnmedizin sind die orale Chirurgie und die Parodontologie (18).

2.4 Platelet-rich fibrin

Im Jahre 2001 wurde von Choukroun eine neue Art, respektive Generation von Plättchenkonzentraten, namens PRF entwickelt. Platelet Rich Fibrin, auch genannt Choukroun's PRF, eine thrombozyten- und leukozytenreiche Fibrinmatrix, versteht sich nunmehr nicht nur als Fibrinkleber oder reines Thrombozytenkonzentrat, sondern als zweite Generation der Plättchenkonzentrate. Ihr Einsatz trägt zur Verbesserung der Hart- sowie Weichgewebsheilung bei (11, 21-23). Besonders ist, dass ebendiese zweite Generation der Thrombozytenkonzentrate erstmalig ein rein autologes Produkt ist, bei dem bewusst auf jegliche Art externer Additiva verzichtet wird (24). Das peripher entnommene Blut, gebündelt in Entnahmeröhrchen ohne Zusätze, wird einmalig zentrifugiert. Mithilfe der Zentrifugation werden die Erythrozyten am Boden des Zentrifugats isoliert und die restlichen Bestandteile des Blutes in die Fibrinmatrix eingegliedert (25). Die hierbei gewonnene Fibrinmatrix beinhaltet im Gegenteil zu den Blutkonzentraten der ersten Generation ebenfalls eine bestimmte Menge an Leukozyten (26). Die Leukozyten spielen neben den

Thrombozyten in der Wundheilung eine immens wichtige Rolle (27). Aufgrund der standardisierten Zentrifugationsprotokolle kann sowohl eine feste PRF-Matrix, als auch ein flüssiges PRF hergestellt werden (28). Das einfache Herstellungsverfahren sowie der minimale Kostenaufwand sind nur zwei der vielen Vorteile, welche zur Ablösung des reinen Thrombozytenkonzentrats cPRP durch Choukroun's PRF führte. Weiters reduziert sich durch die Abwesenheit von homologen Antikoagulantien das Risiko von allergischen Reaktionen sowie Koagulopathien (6, 29). Der wohl entscheidende und wichtigste Vorteil von PRF gegenüber cPRP ist jener, dass PRF durch sein homogenes dreidimensionales Fibrinnetzwerk die Zytokine und Wachstumsfaktoren kontinuierlich und langsam freisetzt und so die positive Auswirkung auf die Wundheilung verlängert (29).

3 Was ist PRF?

Die orale Chirurgie sucht schon seit Jahren nach zuverlässigen und vorhersagbaren Methoden, um den postoperativen Wundheilungsprozess maximal zu verbessern (11). Choukroun et al. beschreiben PRF als lebendiges autologes Biomaterial zweiter Generation der Plättchenkonzentrate (21). Die Entwicklung von bioaktiven chirurgischen Additiven, welche einerseits die Entzündung regulieren, respektive in Schach halten und andererseits den Prozess der Wundheilung fördern sollen, stellt in der klinischen Forschung schon lange eine große Herausforderung dar. Auch wenn chirurgische Techniken immer minimalinvasiver und antihämorrhagischer wurden, blieb die Suche nach autologen hämostatischen Agenzien weiterhin ein großes Problem. Derzeit gibt es eine große Palette an Fibrinadhäsiven, wie zum Beispiel Kollagenschwämmchen und oxidierte Zellulose. Diese Art von Hämostyptika unterliegt jedoch seit jeher dem Kritikpunkt, dass es aus allogenen Blut gewonnene Produkte sind, folgend durch pharmazeutische Unternehmen weiterverarbeitet werden und somit dem Risiko einer (viralen) Verunreinigung unterliegen (3, 8, 30).

3.1 PRF Allgemein

Choukroun et al. definieren Platelet-Rich-Fibrin als autologe Fibrinmatrix, welche Thrombozyten, Zytokine sowie weiße Blutzellen beinhaltet. Diese Bestandteile der Fibrinmatrix, das heißt die Wachstumsfaktoren, können nach einer gewissen Zeit freigesetzt werden und so unter anderem die Wundheilung verbessern. Eine weitere wichtige Eigenschaft ist, dass die Matrix als bioresorbierbare Membran, in welcher nun alle oben genannten Bestandteile gespeichert sind, eingesetzt werden kann (31). Aus diesem Grund wird, um Missverständnissen vorzubeugen, Platelet-Rich-Fibrin, welche als leukozyten- und thrombozytenreiche Matrix verstanden wird, oft nach seinem Erfinder Choukroun, als Choukroun's PRF bezeichnet. Diese Namensgebung dient einzig der Prävention von Verwechslung mit anderen Herstellungstechniken, welche eine ähnliche Namensgebung haben, um mit dem dänischem Vivostat PRF nur eine zu nennen (22, 23). Entscheidende Vorteile von PRF sind folglich die minimierte Blutmanipulation sowie keine Notwendigkeit der

Beisetzung von Thrombin und das damit verbundene geringere Risiko einer Immunreaktion (3, 32). Das Vorhandensein des natürlichen Fibrinnetzwerks, welches viele Wachstumsfaktoren in sich trägt, die für eine effiziente Geweberegeneration essenziell sind, stellt einen weiteren großen Pluspunkt für die Anwendung von PRF dar (33). Mögliche Nachteile erwachsen aus der autologen Natur des PRF, beziehungsweise dessen unmittelbarer Herstellung durch den Anwender. Der Hauptnachteil ist, dass die Menge von verfügbarem PRF, aufgrund seines autologen Ursprungs limitiert ist (34). Ein weiterer Nachteil ist, dass der Erfolg des PRF-Protokolls direkt mit dem Handling und der Erfahrung des Behandlers sowie mit der Transferzeit der Probe in die Zentrifuge korreliert (3).

Für die Herstellung von PRF-Matrizen benötigt man eine geringe Menge an abgenommenem venösem Blut. Es werden Blutentnahmeröhrchen ohne zusätzliche Antikoagulantien verwendet und anschließend einmalig zentrifugiert. Durch die Zentrifugalkraft trennen sich die festen und flüssigen Blutbestandteile und es entsteht eine Matrix. Sie setzt sich aus einem Fibringerüst, in welches Blutplättchen, Leukozyten sowie ihre Untergruppen eingelagert sind, zusammen. Innerhalb der Fibrinmatrix sind nun die Bestandteile sehr homogen verteilt und so offerieren sie Bindungsstellen für Wachstumsfaktoren und lokoregionäre Zellen (25, 35). Wie bereits beschrieben entsteht nach der Zentrifugation, welche den Koagulationsprozess initiiert, ein dreidimensionales Fibrinnetzwerk, welches nun die für die Heilung essenziellen Wachstumsfaktoren, Blutplättchen, B- und T-Lymphozyten, Monozyten, Stammzellen sowie neutrophile Granulozyten beinhaltet. Rund fünf bis zehn Minuten nach der Koagulation des PRF-Gerinnseis werden aus diesem die Wachstumsfaktoren freigesetzt, was rund 60 bis 300 Minuten andauert (36-38). Insbesondere die Anwesenheit von Monozyten und die sich aus ihnen entwickelnden Makrophagen sowie der Wachstumsfaktoren, scheinen die Regeneration des Knochens und Weichgewebes äußerst positiv zu beeinflussen (25). Ebendiese Zellen verfügen über ein großes Vermögen an Phagozytose, um nekrotisches Gewebe, respektive Wundbereiche, Fremdmaterial oder Bakterien zu eliminieren (27). Darüber hinaus soll die PRF-Matrix als temporäre Barriere dienen, um den Gewebedefekt abzuschirmen, die Regeneration zu fördern und die Vaskularisation im neuen Gewebe sicherzustellen. Auf diese Weise wird der Zu- und Abtransport von lebenswichtigen Stoffen gewährleistet (25).

Weiters schreiben Dohan et al. der PRF-Matrix eine antibiotische Wirkung zu. Dieser Effekt ist jedoch nur bei einer hohen Anzahl an weißen Blutkörperchen, den Leukozyten, in der Probe zu erreichen und kann so das Infektionsrisiko wesentlich reduzieren (3, 39).

Wie schon oben erwähnt, stellt PRF ein rein autologes Produkt dar. Aus diesem Grund können die unerwünschten Nebenwirkungen minimiert werden. Weitere Vorteile eines autologen Produkts sind, dass es folglich als Trigger wie auch zur Induktion der körpereigenen Regenerationskapazität verwendet werden kann. Weiters erlaubt es den Prozess der Wundheilung und Regeneration bestmöglich zu unterstützen und zu akzelerieren (4).

3.2 Gewinnung von PRF

Für die Herstellung von PRF wird im ersten Schritt ein peripheres venöses Eigenblut benötigt (28). Das abgenommene Blut wird in Entnahmeröhrchen ohne Zusätze von Antikoagulantien akkumuliert. Sobald das Blut abgenommen ist, muss es rasch zentrifugiert werden, da ansonsten aufgrund der Abwesenheit von Antikoagulantien, sofort die Blutgerinnung einsetzt (5). Je nach Zentrifugationsprotokoll entsteht ein festes oder flüssiges PRF (28). Weiters kann auch noch zwischen einer horizontalen und vertikalen Zentrifugationsrichtung unterschieden werden. Schon Lourenço et. al haben diese unterschiedlichen Zentrifugationstechniken, in Bezug auf das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren, Leukozyten sowie Thrombozyten und wichtigen Zytokinen in den Zentrifugaten untersucht. Ihre Untersuchungen ergaben, dass beide Zentrifugationstechniken zu brauchbaren PRF-Membranen mit ähnlicher Struktur und zellulärer Zusammensetzung führen, die horizontale Zentrifugation jedoch eine höhere Freisetzung von Wachstumsfaktoren induziert (40).

Das Standardprotokoll zur Zentrifugation von festem PRF ist simpel. Man nimmt 10ml Eigenblut ohne Antikoagulantien und zentrifugiert dieses für rund zehn Minuten bei einer Umdrehungszahl von 3.000 Umdrehungen pro Minute. Durch die Abwesenheit von Antikoagulantien werden die Thrombozyten aufgrund des Kontakts mit der Röhrchenwand nach ein paar Minuten aktiviert. Somit wird die Gerinnungskaskade nach kurzer Zeit initiiert. Das im Plasma zirkulierende Thrombin

gibt den Startimpuls für diesen Prozess. Anfänglich zirkuliert Fibrinogen, die Vorstufe des Fibrins, in der obersten Schicht des Röhrchens, bevor es nun durch Thrombin zu Fibrin gespalten wird. Das daraus entstehende Fibrinkomplott lagert sich nun in der Mitte der Probe an. Das gelbliche, gallertartige Gebilde in der Mitte nennt man PRF. Am Boden des Röhrchens organisieren sich die Erythrozyten und wie nachstehend in Abbildung zwei dargestellt, bildet die oberste Schicht das azelluläre Plasma (3).

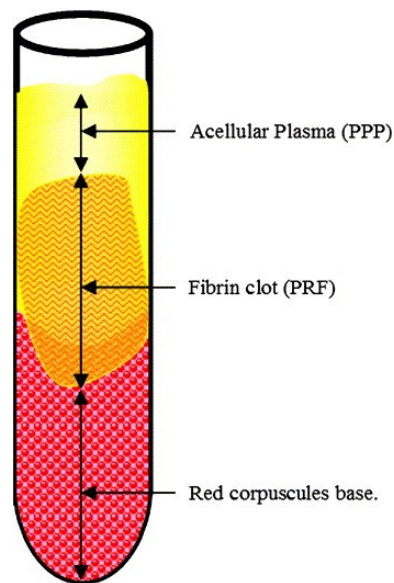


Abbildung 2: Schematische Darstellung der drei Fraktionen nach Zentrifugation (3)

Um das entstandene solide, respektive feste PRF nutzen zu können, muss man dieses noch mit einer Schere, wie in Abbildung drei verdeutlicht, von den Erythrozyten an der Basis abtrennen (3).



Abbildung 3: Abtrennen der Erythrozytenbasis (3)

Aus diesem PRF-Propf kann nun schonend der Serumanteil zur Entstehung flacher PRF-Membranen herausgepresst werden. Diese horizontal gepressten Membranen können für die unterschiedlichsten Indikationen in dem Wundgebiet verwendet werden. Weiters kann man den PRF-Propf vertikal pressen. Diese vertikal gepressten zylinderförmigen PRF-Plugs finden zum Beispiel in der Socket-Preservation ihre Anwendung (4).

Der Erfolg dieser Herstellungsmethode von PRF hängt in hohem Maße von der Zeitspanne ab, wie schnell das abgenommene Blut zentrifugiert wird. Grundsätzlich würde die Gerinnung durch die Abwesenheit von Antikoagulantien unmittelbar nach dem Kontakt mit dem Proberöhrchen beginnen. Wenn die Zeit zwischen Abnahme und Zentrifugation jedoch zu lange ist, werden insuffiziente Ergebnisse erzielt. Aus diesem Grund ist das schnelle Handling der wichtigste Parameter, um klinisch verwendbares PRF zu generieren (3).

3.3 Low Speed Centrifugation Concept (LSCC)

Im Laufe der Zeit kamen neben der Entwicklung von unterschiedlichen Blutkonzentraten, auch einige nicht standardisierte Zentrifugationsprotokolle auf. Die nicht evidenzbasierten und nicht standardisierten Protokolle, führten dazu, dass die klinische, respektive praktische Anwendung und Resultate in der PRF-Herstellung, mehrfach nicht nachahmbar waren. Um mehr Reproduzierbarkeit und Konkretheit über die Parameter der Zentrifugation zu bekommen, wurde aufbauend auf Studienergebnissen, das sogenannte Low Speed Centrifugation Concept, kurz LSCC, entwickelt. Weiters konnte mittels Studien belegt werden, dass die applizierte Zentrifugalkraft die Zusammensetzung der PRF-Matrix direkt beeinflusst (41). Bagdadi et al. konnten belegen, dass eine vermindert angewandte relative Zentrifugalkraft, zu einer homogeneren und erhöhten Anreicherung zellulärer Bestandteile der Matrix führt. Darüber hinaus kann die Freisetzung der Wachstumsfaktoren in den festen PRF-Matrizen erhöht werden (42). Generell funktioniert die Trennung in drei Fraktionen rein durch die Einwirkung der Zentrifugalkraft. Durch diese Kraft werden die festen Blutbestandteile, zu welchen hauptsächlich die Blutzellen zählen, von der flüssigen Phase, in welcher die Plasmaproteine und Gerinnungsfaktoren zu nennen sind, getrennt (28). Je nach

unterschiedlicher Größe und Form sowie unterschiedlichem Gewicht verhalten sich die verschiedenen Bestandteile während der Zentrifugation different. Aufgrund des relativ hohen Gewichts der Erythrozyten, welches durch den erhöhten Eisengehalt zustande kommt, setzen sich zum Beispiel die roten Blutkörperchen während der Zentrifugation ab (43).

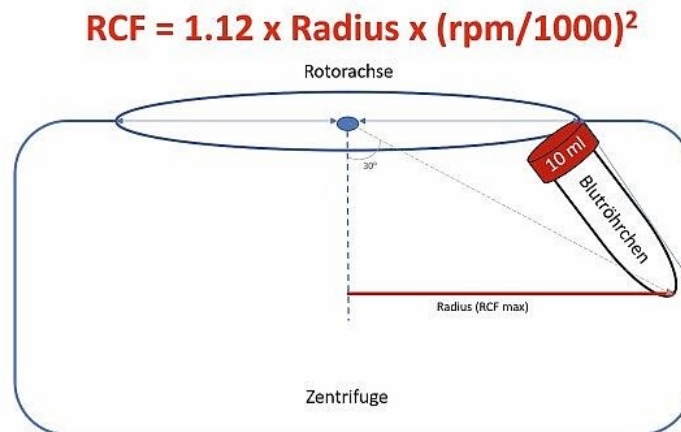


Abbildung 4: Schematische Darstellung einer Zentrifuge und die Formel für die Berechnung der relativen Zentrifugalkraft (24)

Leider lässt sich der entscheidende Parameter der Zentrifugalkraft, im Vergleich zur einstellbaren Umdrehungszahl pro Minute, kurz rpm, meist nicht direkt an der Zentrifuge einstellen. Um die unten folgenden Zentrifugationsprotokolle des LSCC auf unterschiedliche Zentrifugen übertragen zu können, muss die relative Zentrifugalkraft, RCF, in die auf der Zentrifuge einstellbare rpm umgerechnet werden. Die Grundvoraussetzung für die Umrechnung mithilfe der Formel ist jene, dass der Zentrifugenradius bekannt ist. Die Formel für die Umrechnung der RCF sowie die schematische Darstellung einer Zentrifuge ist in Abbildung vier zu sehen und lautet: $RCF = 1,12 \times \text{Radius} \times (\text{rpm}/1.000)^2$ (28).

In den oben genannten aufbauenden systematischen Studien, auf welchen das LSCC beruht, konnte nun reproduzierbar gezeigt werden, dass durch die Reduktion der applizierten relativen Zentrifugalkraft, mehr Wachstumsfaktoren sowie Thrombozyten und Leukozyten in den Blutkonzentraten angereichert werden können (41). Durch eine weitere exakte Abstimmung der Zentrifugationszeit und der angewandten relativen Zentrifugalkraft, konnten standardisierte Protokolle definiert werden. Anhand dieser in Abbildung fünf gezeigten standardisierten Zentrifugationsprotokolle können feste, respektive solide PRF-Matrizen sowie

flüssiges PRF, hergestellt werden (28). Die Herstellung von flüssigem injizierbarem PRF geschieht mit niedrigen relativen Zentrifugalkräften sowie niedrigen Umdrehungszahlen und Zentrifugationszeiten (44). Durch den Einsatz von längeren Zentrifugationszeiten, zum Beispiel von rund 10 Minuten, können feste PRF-Matrizen erstellt werden (3).

Protocol	RPM	Time (min)	G-force (xg)
High RCF	2400	8	710
Medium RCF	1200	8	177
Low RCF	600	8	44

Abbildung 5: Zentrifugationsprotokolle gemäß des Low Speed Centrifugation Concept (39)

3.4 Arten von PRF

Wie oben beschrieben wird in der Literatur zwischen einer festen und einer flüssigen Form von PRF unterschieden. Je nach unterschiedlichen Zentrifugationsprotokollen entsteht eine der oben genannten Formen (28).

3.4.1 Solides / festes PRF

Solide, respektive feste Formen des PRF, werden je nach Autor unterschiedlich bezeichnet. Die in der Literatur beschriebenen festen Formen werden als PRF, advanced PRF (a-PRF) sowie advanced PRF+ (a-PRF+) bezeichnet. Unterschiedliche Zentrifugationsprotokolle führen zur Generierung solider PRF-Formen. Für die Herstellung des Standard PRF's werden laut einer Quelle 10ml für rund 12 Minuten, bei 2.400 Umdrehungen pro Minute, mit einer relativen Zentrifugalkraft von 708g zentrifugiert. Advanced PRF sowie advanced PRF+ werden jeweils bei einer verminderten relativen Zentrifugalkraft von 208g sowie jeweils bei 1.300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der einzige Unterschied

zwischen den beiden advanced Formen ist jener, dass a-PRF im Vergleich zu a-PRF+, für 14 anstatt 8 Minuten zentrifugiert wird (42).

Generell werden für die Herstellung von festen PRF-Matrizen spezielle Glas- oder Kunststoffröhrchen mit Silikatbeschichtung verwendet. Glas wird deshalb als Röhrchenmaterial verwendet, da es als Koagulationsbeschleuniger wirkt, und somit eine frühzeitige Clot-Bildung erreicht wird (11). Nach einmaliger Zentrifugation entsteht durch Trennung der festen von den flüssigen Blutbestandteilen eine solide PRF-Matrix. In dieser Matrix, welche durch das Fibringerüst stabilisiert ist, sind Thrombozyten, Leukozyten sowie Wachstumsfaktoren eingebettet (25). Diese daraus entstehenden PRF-Matrizen können horizontal oder vertikal gepresst und sehr vielfältig angewandt werden (28).

3.4.2 Flüssiges PRF

Die zweite mögliche Herstellungsform stellt das flüssige i-PRF, kurz injectable platelet-rich-fibrin dar (44). Für die Herstellung von i-PRF werden unbeschichtete Kunststoffröhrchen verwendet (11). Durch die Abwesenheit von Antikoagulantien und der Beschaffenheit der Plastikoberfläche der Blutentnahmeröhrchen, wird die Gerinnungskaskade des Blutes verlangsamt, jedoch nicht gehemmt (45). Weiters wird ein differentes Zentrifugationsprotokoll benötigt, um eine flüssige Form herstellen zu können. Miron et al. verwendet hierzu eine niedrigere Zentrifugationszeit von rund 3 Minuten bei 700 rpm. Die daraus entstehende relative Zentrifugalkraft kann mit rund 60g beziffert werden (44). Diese ist laut dem LSCC als sogenannte „low RCF“ einzustufen (43). Durch die zentrifugale Krafteinwirkung während des Zentrifugationsprozesses, wird das Blut in zwei Phasen aufgetrennt. Die Erythrozyten bilden hauptsächlich die untere Phase (45). Der nun entstandene flüssige obere Anteil des Zentrifugats, wird als i-PRF bezeichnet (44). Die Bestandteile des i-PRF sind eine Art Suspension aus Blutplättchen, weißen Blutkörperchen und deren Subgruppen, Plasmaproteinen sowie Wachstumsfaktoren. Anschließend kann das gewonnene flüssige PRF mit einer konventionellen Spritze, wie folgend abgebildet, aufgezogen und für jegliche Indikation in flüssiger Form appliziert werden (28). Da das i-PRF nicht antikoaguliert ist, bildet sich erst nach rund einer viertel Stunde eine solide PRF-Matrix (45).



Abbildung 6: Entnahme von i-PRF nach der Zentrifugation (24)

Ein wichtiger Anwendungspunkt von i-PRF ist die Biologisierung von Ersatzmaterialien wie zum Beispiel Knochenersatzmaterialien, sowie die Anwendung als Membran. Mit der Entwicklung des flüssigen PRF, konnte ein klinisch einfach anwendbares System zur Biologisierung von Ersatzmaterialien geschaffen werden. Mithilfe von i-PRF ist es möglich, innerhalb kurzer Zeit, Biomaterialien mit einem komplexen autologen Zell-Netzwerk zu beladen und dadurch die Bioaktivität der Materialien zu verbessern (45). Weiters beschreiben Miron et al., dass i-PRF im Vergleich zu anderen Plättchenkonzentraten die Fähigkeit besitzt, die höchste Konzentration an verschiedenen Wachstumsfaktoren freizusetzen, die höchste Migration von Fibroblasten initiiert sowie über die höchste Expression an PDGFs verfügt (44). Die Grundlage für die Herstellung von i-PRF stellt jedoch das oben beschriebene Low Speed Centrifugation Concept dar. Erst das LSCC erlaubt es, ein flüssiges PRF herzustellen, wo Fibrinogen und Thrombin noch in liquider Form im Plasma sind, bevor Fibrinogen zu festem Fibrin konvertiert (45).

3.5 Einsatzgebiete in der Zahn - und Humanmedizin

Die in der Literatur beschriebenen Anwendungsgebiete von PRF in der Medizin sind sehr vielfältig. Vor allem in der regenerativen Medizin findet PRF bei unterschiedlichen Indikationen seine Anwendung (46). Aufgrund des geringen Aufwands und der einfachen Herstellungsform, der positiven Aspekte in der Wundheilung und des geringen Nebenwirkungsprofils, lässt sich PRF berechnet in den klinischen Alltag implementieren, um so das Outcome der Patient*innen zu verbessern (4).

3.5.1 PRF in der Zahnmedizin

In der Parodontologie, Implantologie, Endodontie sowie in der oralen Chirurgie wird PRF für die Knochen - und Weichteilregeneration eingesetzt (46). Vor allem im Teilbereich der regenerativen Zahnmedizin, welche sich mit dem Ersatz und der Regeneration von Gewebedefiziten in der Mundhöhle als Folge von Trauma oder Krankheit beschäftigt, wird PRF in vielen Indikationsbereichen eingesetzt. Erschwert werden regenerative Behandlungen durch die Komplexität der in der Mundhöhle vorherrschenden Gewebe. Hierzu zählen einerseits mineralisiertes Gewebe wie Schmelz, Dentin und Alveolarknochen und andererseits Ligamente und Weichgewebe. Diese Komplexität verdeutlicht sich noch mehr im Hinblick auf die unterschiedlichen Gewebeansprünge. Die Zellpopulationen der oralen Gewebe haben einen mesodermalen und ektodermalen embryonalen Ursprung (5).

3.5.1.1 Orale Chirurgie

In der oralen Chirurgie findet PRF eine vielfältige Anwendung. Die Einsatzgebiete in der oralen Chirurgie reichen von der socket preservation, der Sinusbodenelevation (28), dem Auffüllen periimplantärer Knochendefekte bis hin zu dessen Einsatz im Rahmen der Behandlungen von Knochenresorptionen im Unter- sowie Oberkiefer (46). Im Bereich der Implantologie konnten Studien zeigen, dass durch die Anwendung von PRF im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne PRF, die Sekundärstabilität, gemessen vier Wochen postoperativ, konsequent verbessert

werden kann. Öncü et al. reüssierten, dass durch die perioperative Applikation von PRF im Implantatbett, die Implantatstabilität in der frühen Heilungsperiode verbessert werden kann (47). Weiters konnten Boora et al. verdeutlichen, dass der krestale Knochenzuwachs im Zuge einer Implantation mit Anwendung von PRF, im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne PRF, signifikant gesteigert werden kann (48). Darüber hinaus schreiben viele Studien der Anwendung von PRF nach Weisheitszahnentfernungen eine positive Rolle zu. In einer Übersichtsarbeit untersuchten Bao et al. wie sich der Einsatz von PRF bei der Weisheitszahnentfernung auf die Linderung postoperativer Komplikation auswirkt. Die Gruppe konnte zeigen, dass durch die Anwendung von PRF die postoperativen Schmerzen sowie die Schwellung post extraktionem signifikant reduziert werden können (49). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Behandlung von fehlendem Knochen nach Extraktion mit PRF, zu einem schnelleren Weichgewebsverschluss der Extraktionsalveole führt und so die Knochenneubildung rascher vorangeht (50). Eine weitere Möglichkeit PRF in der oralen Chirurgie einzusetzen, stellt die Behandlung von zystischen Läsionen dar (46). Dar et al. untersuchten hierzu radiologisch die Heilung der enukleierten zystischen Läsionen aufgefüllt mit PRF. Die Forschungsgruppe kam zu dem Ergebnis, dass der nach Zystektomie entstandene Knochendefekt, aufgefüllt mit PRF, eine schnellere knöcherne Regeneration zeigt (51).

3.5.1.2 Endodontie

PRF wird im klinischen Bereich der Endodontie zum Beispiel zur Behandlung von akuten und chronischen apikalen Parodontitiden sowie zur Behandlung von unreifen Zähnen mit nekrotischen Pulpen verwendet (46). Geeta et al. erforschten hierzu die Behandlung von periapikalen Abszessen mit PRF. Den Patient*innen die mit PRF behandelt wurden, applizierte man platelet-rich-fibrin im Bereich der Wurzelkanäle der nicht vitalen Zähne sowie in die periradikuläre Läsionen. Diese Studie kam zum Ergebnis, dass die Behandlung mit PRF zu einer schnelleren Heilung der periapikalen Läsion führt (52). Generell gibt es im Bereich der Endodontie zu wenige Forschungsergebnisse hinsichtlich PRF, weswegen die

einschlägige wissenschaftliche Evidenz in diesem Bereich als eher gering anzusehen ist (46).

3.5.1.3 Parodontologie

Im Bereich der Parodontologie untersuchten viele Studien unter anderem die Anwendung von PRF in der Behandlung von chronischen Parodontitiden sowie Augmentationen von parodontalen Defekten (28). In einer Studiengruppe wurde die alleinige Behandlung der parodontalen Defekte mit PRF erprobt, während in der Kontrollgruppe die konventionellen, respektive herkömmlichen chirurgischen Behandlungskonzepte, wie zum Beispiel das open flap debridement oder ein Bindegewebstransplantat angewandt wurden. Der Großteil der Studien konnte eine gleichartige Regeneration, respektive Heilung, in Bezug auf die klinischen Parameter der Sondierungstiefe sowie des klinischen Attachmentverlusts herausfinden (46). Weiters stellt die Deckung von freiliegenden Wurzeloberflächen durch Zahnfleischrückgang eine große Herausforderung in der chirurgischen Parodontologie dar. Padma et al. eruierten den Unterschied zwischen der chirurgischen Rezessionsdeckung mittels koronaren Verschiebelappens und dem koronaren Verschiebelappen kombiniert mit PRF. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass es bei allen Patient*innen, welche die Kombinationsbehandlung mit PRF durchlaufen hatten, zu einer signifikant besseren Rezessionsdeckung gekommen ist (53). Im Vergleich dazu fanden andere Studien keine Unterschiede, respektive Verbesserungen in der Kombinationsbehandlung (5). Eine weitere Autorengruppe um Keceli et al. erforschten unterschiedliche Methoden der Rezessionsdeckung. Sie verglichen die Deckung durch einen koronaren Verschiebelappen kombiniert mit einem freien Bindegewebstransplantat sowie einer zusätzlichen Applikation von PRF mit der Rezessionsdeckung alleinig durch die Verbindung von einem koronaren Verschiebelappen mit einem freien Bindegewebstransplantat. In beiden Studiengruppen gab es eine signifikante Verbesserung der Messparameter, wie zum Beispiel des klinischen Attachment Levels oder der Breite der keratinisierten Gingiva, was durch ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$ beziffert wurde. Zusätzlich konnten die Autoren in der Studiengruppe mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ zeigen, dass es durch die

Applikation von PRF zu einer signifikanten Steigerung des Attachmentgewinns sowie der Wurzeldeckung kommt. Keceli et al. räumen jedoch in ihrem Resümee ein, dass der Outcome durch die zusätzliche Applikation von PRF zu keiner nennenswerten klinischen Verbesserung der Ausgangssituation führte (54). Konkludierend muss man feststellen, dass die kombinierte Anwendung von PRF zur Behandlung von Rezessionsdeckungen, eher als begrenzt einzustufen ist (5).

3.5.2 PRF in der Humanmedizin

In der Humanmedizin wird PRF neben der Orthopädie und plastischen Chirurgie (4) seit der letzten Dekade, insbesondere in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie für verschiedene Indikationsbereiche eingesetzt (46). Seit geraumer Zeit wird PRF in der Humanmedizin sogar zur Rekonstruktion großer Knochendefekte bei onkologischen Patient*innen verwendet (55). Weiters kann PRF in seiner Membranform für kleinere otologische Operationen nützlich sein (56, 57).

3.5.2.1 Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie

Im Bereich der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie wird PRF hauptsächlich in der Behandlung von ausgedehnten Nekrosen des Kiefers, sowie bei ausgedehnten Kieferkammaugmentationen mit autologen Transplantaten eingesetzt (46). Norholt et al. führten eine Studie mit Patient*innen durch, welche unter einer medikamentenassoziierten Kiefernekrose Grad 2 oder 3 litten. Sie operierten alle Patient*innen unter vorherrschender antibiotischer Abschirmung. Nach der Präparation sowie Mobilisierung eines Mukoperiostlappens entfernten sie das nekrotische Gewebe mittels Piezotom und glätteten die scharfen Knochenkanten. Anschließend platzierten sie PRF-Membranen auf die Knochenoberflächen und verschlossen die Wunden spannungsfrei. Die Autoren konnten mit ihrer Behandlungsmethode 93% der Patient*innen im Sinne einer physiologischen Hart- sowie Weichgewebsbildung heilen (58). Asaka et al. erforschten eine ebenso positive Eigenschaft von PRF im Zusammenhang mit einem Patientengut, welches unter der Dauermedikation von Bisphosphonaten aufgrund osteoporotischer Indikation stand. Sowohl bei der Studiengruppe als auch bei der Kontrollgruppe war

eine Zahnextraktion durchzuführen, jedoch wurde nur bei der Studiengruppe die Alveole im Sinne einer socket preservation mit PRF gefüllt. Die Membranen wurden mit Haltnähten fixiert und nicht immer gelang ein vollständiger Wundverschluss, sodass die Alveolen teilweise offen ausgranulierten. In der PRF-Gruppe war bei allen Patient*innen eine vollständige Weichgewebsheilung, im Sinne einer Reepithelialisierung innerhalb von nur vier Wochen erkennbar, und in der Gesamtdauer des Follow-Up, entwickelte sich keine medikamentenassoziierte Kieferknochennekrose. Ebenso konnte in der Studiengruppe eine vollständige Knochenregeneration innerhalb von drei Monaten radiologisch detektiert werden. In der Kontrollgruppe kam es bei 12 % der Patient*innen zu einer verzögerten Heilung mit freiliegendem Knochen vier Wochen postoperativ. Erst acht Wochen post extractionem kam es in der Kontrollgruppe ohne Anwendung von PRF zu einer tegumenten Heilung, jedoch wurden auch hier keine Anzeichen einer Nekrose identifiziert. Diese Daten legen nahe, dass die Anwendung von PRF zur Füllung der Extraktionsalveole bei Patient*innen unter laufender Bisphosphonattherapie ein signifikant geringeres Risiko einer verzögerten Ausheilung mit sich bringt (59). Diese Ergebnisse könnten zum einen auf die gute Bioaktivität von PRF sowie auf seine Fähigkeit vascular endothelial growth factor, kurz VEG, sowie epidermal growth factor, kurz EGF, freizusetzen, zurückzuführen sein (42). Diese Wachstumsfaktoren tragen in erster Linie zur Neoangionese und Reepithelialisierung bei. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen bietet sich PRF auch als Behandlungsoption bei multimorbiden Patient*innen an, denn dieses Krankheitsbild ist stark mit gestörter Vaskularisation und Wundheilung assoziiert (60). Eine weitere Studie untersuchte die Vorteilhaftigkeit von der Applikation von PRF bei Kieferkammaufbauten mit autologen Transplantaten aus dem Beckenkamm. Es konnte gezeigt werden, dass es nach Augmentation zur Kieferkammrekonstruktion mit einem Beckenkammtransplantat in Kombination mit PRF, zu einer signifikant verbesserten Knochenneubildung im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne PRF kommt (61).

4 Thrombozyten, Blutgerinnung, Wundheilung und Fibrin

Grundlage des Wundheilungsprozesses von Hart- und Weichgewebe sind konzertierte Interaktionen von intra- und extrazellulären Abläufen, mediiert durch Signalproteine (62). Der Wundheilungsprozess wird durch vier spezifische Aspekte determiniert: die Angiogeneese, die Immunkontrolle, die epitheliale Schutzschicht sowie die Nutzbarmachung von zirkulierenden Stammzellen. Diese Eigenschaften sind der Schlüssel zur Weichgewebsheilung und PRF Membranen sind in der Lage die Aspekte zu unterstützen (34). Die unter anderem in PRF enthaltenen Thrombozyten tragen durch Agglutination und Ausschüttung von Wachstumsfaktoren zur Wundheilung bei (62). Thrombozyten, auch Blutplättchen oder nur Plättchen genannt, stellen den zweitgrößten Anteil der Blutbestandteile dar (63). Sie entstehen im Knochenmark aus Megakaryozyten und besitzen keinen Zellkern (39). Thrombozyten haben eine Lebenszeit von rund sieben bis zehn Tagen und in ihrem inaktiviertem Zustand haben sie eine bikonvexe linsenartige Form (64). Die Zellmembran der Thrombozyten besteht aus einer Phospholipiddoppelschicht, in welche Rezeptoren für Thrombin und Kollagen sowie viele weitere Moleküle eingebettet sind. In ihrem Zytoplasma enthalten die Thrombozyten eine Vielzahl an Granula, deren Inhaltsstoffe erst im aktivierten Zustand der Thrombozyten freigesetzt werden. Eine Gruppe der Granula stellt die alpha-Granula dar, welche spezifische- und nicht spezifische Thrombozytenproteine beinhaltet. Fibronektin, Fibrinogen, Wachstumsfaktoren sowie andere für die Gerinnungskaskade wichtige Bestandteile zählen unter anderem zu den nicht spezifischen Plättchenproteinen (39). Mitunter den wichtigsten Bestandteil der Thrombozyten stellen die Wachstumsfaktoren dar (65). Wachstumsfaktoren stimulieren Stammzellen und führen diese zum Wundgebiet. Ebendort fördern sie eine vermehrte Zellteilung und induzieren die Angiogenese sowie die Osteogenese (66). Gassling et al. erforschte zudem, dass ebendiese Wachstumsfaktoren die Zellteilung von Periostzellen stimulieren und so die Knochenheilung maßgeblich verbessern (67).

Der entscheidende erste Schritt in der Wundheilung beginnt mit der Aktivierung der Thrombozyten. Die Aktivierung ist fundamental, um die Gerinnungskaskade in Gang zu setzen. In ihrer aktivierten Form setzen Thrombozyten Zytokine frei, welche die

Zellmigration und Zellproliferation anregen. Die wichtigsten freigesetzten Zytokine sind transforming growth factor beta (TGF-beta) und platelet derived-growth factors (PDGFs). TGF-beta veranlasst die Kollagensynthese sowie die Produktion von Fibronectin durch Osteoblasten und Fibroblasten. Die essenziellen Regulatoren für die Zellmigration und Zellproliferation sind PDGFs (11, 39). Darüber hinaus wurden durch eine Studie von Zwitter et al. die vorherrschenden Daten in der Literatur bestätigt, dass ebendiese Freisetzung von Wachstumsfaktoren ihren Höhepunkt am rund siebten Tag hat und sich dann die kontinuierliche Freisetzung stark reduziert (68). Durch oben genannte Mechanismen, ist nun die Wundheilung in ihren ersten Schritten gestartet.

Ein ebenso elementarer Bestandteil der Gerinnungskaskade und damit des folgenden Heilungsprozesses ist Fibrin. Unter Fibrin versteht man die aktivierte Form des Plasmaproteins Fibrinogen. Fibrin ist nicht nur Bestandteil des Blutplasmas, sondern kommt auch in den alpha-Granula der Thrombozyten vor. Eine entscheidende Rolle spielt Fibrin während der Blutgerinnung, indem es durch die Aggregation der Thrombozyten zur Hämostase beiträgt. Während dieses Prozesses dient Fibrin als eine Art biologischer Kleber, welcher so die initiale Anhäufung der Thrombozyten stabilisiert. Diese Gruppierung der Thrombozyten bildet während der Hämostase eine schützende Schicht gegen das geschädigte Endothel. (69-72).

Viele der oben genannten Faktoren, welche für die Wundheilung und Regeneration essenziell sind, sind in platelet rich fibrin enthalten. Ghanaati und Heslich konkludieren in ihrem aktuellen Artikel die Schlüsselfaktoren für PRF sehr zieltreffend. Ebendiese Schlüsselfaktoren sind in Abbildung sieben dargestellt und Ghanaati und Heslich bezeichnen PRF als natürlich vorkommendes Drug Delivery System welches für ein komplexes Tissue Engineering steht (73).

Schlüsselfaktoren im PRF

Thrombozyten	Freisetzung von Wachstumsfaktoren erfolgt nach der Aggregation der Thrombozyten
Plasmaproteine	Fibrin, Fibronectin und Vitronectin fungieren als provisorische Extrazelluläre Matrix (ECM)
Fibrinogen	Fibrinogen erhöht die Produktion von Wachstumsfaktoren für die Knochenregeneration und Angiogenese , die von den Monozyten und Macrophagen ausgeschüttet werden
Immunzellen	Immunzellen sind die Quelle und das Ziel von angiogenen und lymphangiogenen Faktoren
Monozyten	Monozyten kommunizieren über pro-osteogene Signale mit den Vorläuferzellen, stimulieren so die osteogene Genexpression der mesenchymalen Stammzellen und die Produktion von BMP-2 (<i>bone morphogenetic protein - 2</i>)
Neutrophile	Neutrophile sekretieren Zytokine , die an der Angiogenese beteiligt sind

PRF

PRF stellt durch seine Schlüsselfaktoren ein ideales „**natürliches Drug Delivery System**“ für komplexes Tissue Engineering mit Thrombozyten, Fibrin, Leukozyten, Plasmaproteinen und Wachstumsfaktoren dar

Abbildung 7: Schlüsselfaktoren im PRF (68)

5 Pilotstudie – Einfluss der Trinkmenge auf die im Zentrifugat von Eigenblut enthaltene Fibrinmatrix - Platelet-Rich-Fibrin

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde eine Pilotstudie an der Grazer Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheits durchgeföhrt, welche den Einfluss der Trinkmenge beziehungsweise des Trinkverhaltens auf die autologe Herstellung von PRF untersuchte. Zu dieser möglichen Steuergröße auf die körpereigene Matrix gibt es derzeit keine Evidenz. Aufgrund der vielfältigen Einsatzmöglichkeiten der leukozyten -und thrombozytenreichen Fibrinfraktion, ist es wünschenswert, aus der Blutprobe das quantitative Maximum an PRF zu gewinnen. Die Frage, die sich hier stellt, ist , ob die Trinkmenge eine potenzielle Steuergröße darstellt, um ein vermehrtes Vorhandensein der Fibrinmatrix aus der Blutprobe erzielen zu können. Die Studienteilnehmer*innen wurden mit einem Trinkprotokoll ausgestattet, gegen welches eine Kontrollmessung mit reduzierter habitueller Trinkmenge von natürlichem Trinkwasser erfolgte. Ebendiese mögliche positive Auswirkung, respektive Proportionalität der Trinkmenge auf quantitativ erhöhtes PRF im Zentrifugat, kann in Zukunft eine Steuergröße ergeben, mit welcher es möglich ist, eine verbesserte Wundheilung, respektive Hart- und Weichgewebsregeneration erlangen zu können. Die geplante Pilotstudie wurde durch die zuständige Ethikkommission geprüft und mit dem positiven Ethikvotum vom 14.10.2022 (EK-Votum 34-508 ex 21/22) zustimmend bewertet.

5.1 Hintergrund und Kernfrage

Die Kernfrage dieser Pilotstudie ist, ob die Trinkmenge einen Einfluss auf das Volumen von autolog hergestelltem PRF ausübt.

Ein Hauptnachteil von PRF ist jener, dass die verfügbare quantitative Menge im Zuge der PRF- Herstellung aufgrund des hämatogenen Ursprungs, limitiert ist (34).

Die Dehydratation beeinflusst den Organismus dahingehend, dass sie zu einem reduzierten totalen Plasmavolumen führt und somit den Hämatokrit, welcher als zellulärer Anteil der Blutbestandteile des Vollblutes definiert wird, steigert (74). Schlussfolgernd könnte bei dehydrierten Menschen auch die Quantität an PRF

minimiert sein. Vice versa ist ein positiver Einfluss der Trinkmenge, beziehungsweise des richtigen Trinkverhaltens, auf das vermehrte Vorhandensein der leukozyten- und thrombozytenreichen Fibrinfraktion in Blutproben zu erwarten.

Grundsätzlich kann die Euhydration mit der Plasmaosmolalität, den Änderungen des Plasmavolumens sowie dem Gehalt von antidiuretischem Hormon, kurz ADH, im Blutplasma ermittelt werden. Euhydration ist durch eine ADH-Plasmakonzentration von 2 pg/ml definiert, was äquivalent einer täglichen Wasseraufnahme von 1,8 L/24h ist (75-77). Dieser Gegebenheit folgend wurde das Trinkprotokoll gestaltet.

5.2 Ziel der Studie

Ziel dieser Studie ist es eine Aussage bezüglich des Einflusses der Trinkmenge bzw. des Trinkverhaltens auf das Zentrifugat von Eigenblut zu erlangen. Möglicherweise besteht eine positive Auswirkung/Proportionalität der Trinkmenge bzw. des richtigen Trinkverhaltens auf das vermehrte Vorhandensein der leukozyten- und thrombozytenreichen Fibrinfraktion in Blutproben.

5.2.1 Hauptzielgröße

Die Hauptzielgröße stellte die Menge des zentrifugierten Blutplasmas in einer Probe von 10 ml Eigenblut bei der autologen Herstellung von PRF dar.

5.3 Material und Methoden

Die Pilotstudie wurde an der Grazer Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheits durchgeföhrt. Die Dauer der Teilnahme der einzelnen Prüfungsteilnehmer*innen betrug rund drei Wochen, wobei die Gesamtdauer der Pilotstudie sechs Monate nicht überschritt. Da es bezüglich dieser Fragestellung keine vergleichbare Literatur, beziehungsweise vergleichbare Studien gibt, wurde eine Zwischenauswertung durchgeföhrt. Nach einem Testlauf mit vier Proband*innen konnte ein positives Resümee gezogen werden. Anschließend

wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt und es ergab sich bei einem Mittelwertunterschied von 0,29 und einer Power von 80% eine Fallzahl von 18 Proband*innen. Nach der Rekrutierung der Proband*innen konnte die Pilotstudie mit mehr als der errechneten Fallzahl ausgeführt werden. Das Patient*innenkollektiv der Pilotstudie umfasste 26 Proband*innen. Die Teilnehmer*innen wurden primär aus der Kohorte der Studierenden der Zahnmedizin mittels Aushang, um einem Abhängigkeitsverhältnis Abhilfe zu schaffen, sowie persönlicher Ansprache rekrutiert. Weiters beinhaltete die Studie keinen Recall des teilnehmenden Patient*innenkollektivs. Die drop-out Rate war mit 3,85% sehr niedrig und so konnten 25 Studienteilnehmer*innen die Pilotstudie erfolgreich abschließen.

Die Durchführung der klinischen Studie erfolgte zu drei Zeitpunkten. Nach der Rekrutierung der Proband*innen und der Unterzeichnung des informed consent zum Zeitpunkt 1, erfolgte die Ausgabe der Trinkprotokolle und die Einladung zu zwei Studienvisiten zu den Zeitpunkten 2 und 3. Bei Visite 1 zum Zeitpunkt 2, hatten die Proband*innen 1 Tag vor der Studienvisite ihr Trinkverhalten reduziert. Bei der Visite 1 erfolgte schließlich die Abnahme und anschließende Zentrifugation von 10 ml Eigenblut. Direkt im Anschluss wurde die Menge der gewonnenen Plasmafraktion in ml ermittelt. Zum Zeitpunkt 3 bei der Visite 2 erfolgte abermals die Abnahme und Zentrifugation derselben Menge Eigenblut (10ml), wobei die Proband*innen am Tag zuvor ein vorgegebenes Trinkprotokoll eingehalten hatten.

Das Trinkprotokoll wurde im Hinblick auf die näherungsweise Euhydration der Proband*innen, erreicht durch eine angepasste Trinkmenge, angefertigt. Das ausgehändigte Trinkprotokoll wurde folglich auf einen regelrechten Hydrationsstatus erstellt und die einzig zulässige Flüssigkeit war reines Trinkwasser.

Zusätzlich durften die Studienteilnehmer*innen pro 15 Minuten nicht mehr als 350ml Wasser trinken, da der Körper dies sonst nicht rückresorbieren kann (75-77).

Jedem der Teilnehmer*innen wurden zweimal im Abstand von zumindest zwei Wochen 10ml Blut abgenommen. Die Teilnehmer*innen wurden angewiesen einen Tag vor der ersten Blutabnahme ihre habituelle Trinkmenge zu reduzieren. Vor der zweiten Blutabnahme war ein definiertes Trinkprotokoll einzuhalten. Die Versuchsteilnehmer*innen wurden bezüglich der Einhaltung des Protokolls direkt vor der zweiten Blutabnahme befragt. Bei beiden Visiten wurde mithilfe einer

Flügelkanüle, umgangssprachlich besser bekannt als Schmetterlingsnadel oder „butterfly“, und einer 12 Milliliter fassenden Einmalspritze, 10 ml venöses Eigenblut aus der Armbeuge entnommen. Exakt 5 ml wurden in jedes Probenröhrchen (5ml Premium Serumröhrchen CAT, Vacuette®) transferiert. Danach wurden die beiden Probenröhrchen gegenüberliegend in die Zentrifuge (PRF Duo, Process for PRF®) geladen. Darauf folgte die Zentrifugation aller Kunststoffröhrchen mit 1200 rpm bei einer Laufzeit von acht Minuten. Anschließend wurde der flüssige obere Anteil des Zentrifugats, das i-PRF, mit einer Spritze aufgezogen und quantitativ in Milliliter erfasst. Der gesamte Workflow der Pilotstudie ist in unten stehender Abbildung acht chronologisch dargestellt. Anhand der ausführlichen Protokollierung der Trinkmengen und der anschließend gewonnenen Blutplasma konnte nun eine potenzielle Beziehung, respektive Wechselwirkung, der Einflussgröße auf die Zielgröße bestimmt werden. Schlussendlich wurden die Daten pseudoanonymisiert in eine Excel-Tabelle übertragen und statistisch ausgewertet.

5.3.1 Ein - sowie Ausschlusskriterien

Folgende Ein-sowie Ausschlusskriterien wurden für diese Pilotstudie definiert. Personen aller Geschlechter zwischen 18 und 70 Jahren waren in der Pilotstudie inkludiert und somit teilnahmeberechtigt. Weiters waren gebärfähige Frauen an der Teilnahme berechtigt. Als Ausschlusskriterien galten Gerinnungsstörungen, die Therapie mit Antikoagulantien sowie akute Erkrankungen.



A: PRF Duo Zentrifuge



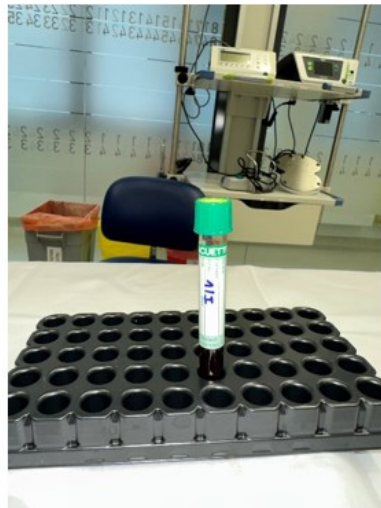
B: Studienmaterial und Hilfsmittel



C: Konnektierter Butterfly mit Spritze



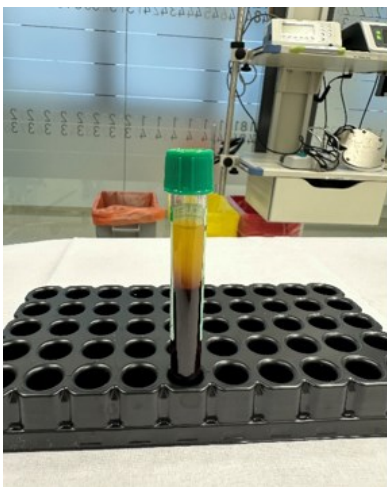
D: 10 ml abgenommenes Blut



E: 5ml Blut im Probenröhrchen



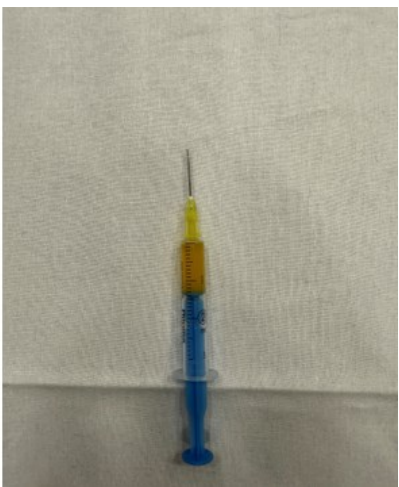
F: Beladene Zentrifuge



G: 8 Minuten zentrifugiertes Blut



H: Aufziehen von i-PRF



I: Fertiggestelltes i-PRF

Abbildung 8: Workflow der Pilotstudie A-I

5.4 Auswertung

Die Studiendaten wurden mit einem t-Test für unabhängige Stichproben ausgewertet. Für eine Subgruppe wurde aufgrund numerischer Datenpaare ein Pearson-Korrelationskoeffizient berechnet. Um herauszufinden, wieweit sich die Volumina mit und ohne Anwendung des Trinkprotokoll statistisch voneinander unterscheiden, wurde ein Signifikanzniveau von 0,05 festgelegt. Die Nullhypothese war, dass ein optimiertes Trinkprotokoll, keinen Einfluss auf die gewonnene Blutplasma-Menge hat. Im Zuge der Datengeneration wurden aus datenschutzrechtlichen Gründen alle Proband*innen im Rahmen der Pilotstudie mit einer fortlaufenden Nummer codiert, respektive pseudonymisiert. Zu keinem Zeitpunkt hatten nicht autorisierte Personen oder Dritte Zugang zu den Originaldaten.

5.5 Ergebnisse

Die Studienergebnisse wurden graphisch sowie tabellarisch dargestellt.

Die Stichprobe, primär aus der Kohorte von Zahnmedizinstudent*innen rekrutiert, ergab eine exakte Fallzahl von $N = 26$ Proband*innen. Unter diesen 26 Proband*innen befanden sich 15 Frauen sowie elf Männer. Alle rekrutierten Studienteilnehmer*innen konnten aufgrund fehlender Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen werden und somit an dieser teilnehmen. Bis auf eine Probandin, bei der die zweite Probenabnahme nicht durchgeführt werden konnte, schlossen alle Studienteilnehmer*innen die Studie regelrecht ab.

5.5.1 Statistische Auswertung

Parameter	N	Min	Max	Mittelwert	Stabw.
Mittelwert ohne TP	26	1,05	2,20	1,60	0,32
Mittelwert mit TP	25	1,23	2,48	1,80	0,32
Differenz	25	-0,03	0,88	0,20	0,19
Prozentuelle Veränderung (%)	25	-1,85	72,92	14,08	15,19

Tabelle 1: Deskriptive statistische Auswertung; N=Fallzahl, Min=Minimum, Max=Maximum, Stabw.=Standardabweichung, TP=Trinkprotokoll, [ml]

Die primäre Fragestellung dieser Studie war, ob ein standardisiertes Trinkprotokoll einen positiven Einfluss auf die autologe Herstellung von i-PRF hat.

Die beiden Studiengruppen, Blutplasma-Volumina mit und ohne Trinkprotokoll, wurden tabellarisch mit unterschiedlichen Parametern erfasst. Die unterschiedliche Fallzahl von N = 26 in der Gruppe ohne Trinkprotokoll und N = 25 in der Gruppe mit Trinkprotokoll in der Tabelle 1 ist dem Umstand geschuldet, dass bei einer Versuchsteilnehmerin die zweite Blutabnahme nicht vollzogen werden konnte. Der Mittelwert der Proband*innen ohne Trinkprotokoll betrug 1,6 Milliliter i-PRF, sowie mit angewandtem Trinkprotokoll 1,8 ml. Die absolute Differenz der beiden Mittelwerte war mit 0,2 ml zu beziffern. Prozentuell konnten die Proband*innen ihre autologe i-PRF-Produktion von der ersten zur zweiten Blutabnahme im Mittel um 14,08% steigern. Die Auswertungen der erhobenen Studiendaten zeigte auch, dass die Standardabweichung und die damit verbundene Abweichung vom Mittelwert, in allen Parametern niedrig ist. Die Berechnung mittels t-Test für unabhängige Stichproben zeigte, dass der Unterschied in der Anwendung oder Nichtanwendung eines Trinkprotokolls signifikant war. Die Irrtumswahrscheinlichkeit in der Anwendung eines Trinkprotokolls entsprach $p = 0,001$. Das heißt, dass unter Anwendung eines Trinkprotokolls quantitativ mehr autologes i-PRF produziert wurde als ohne Anwendung des Trinkprotokolls und so dem Behandelnden mehr autologes Ausgangsmaterial zur Verfügung stand.

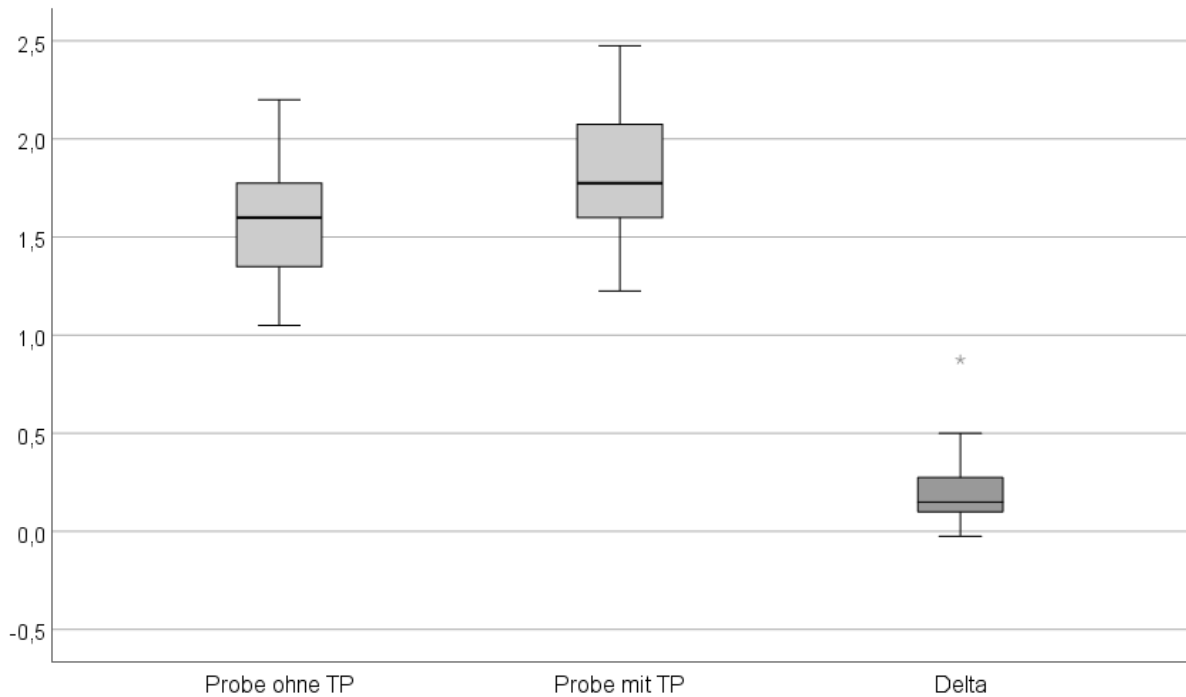


Abbildung 9: Boxplots von i-PRF mit und ohne Trinkprotokoll sowie der Differenz; Ordinate: [ml]

Abbildung 9 zeigt verschiedene Boxplots mit und ohne Anwendung des vordefinierten Trinkprotokolls sowie der absoluten Differenz Delta, welche den Unterschied in Milliliter zwischen der ersten und zweiten Blutabnahme widerspiegelt. In dem Boxplot mit den i-PRF-Volumina ohne Trinkprotokoll ist zu sehen, dass der Median 1,6ml ist. Der Median der i-PRF- Volumina unter Anwendung des standardisierten Trinkprotokolls ist mit 1,78ml zu beziffern. Beide Mediane liegen annähernd in der Mitte der Box was bedeutet, dass die Werte des Datensatzes annähernd symmetrisch verteilt sind. Die Box der Differenzen zeigt einen Median welcher rechtssteil ist. Dies bedeutet, dass die Messwerte zwischen dem unteren Quartil und dem Median recht dicht verteilt sind. Die oberen 25% der Box hingegen sind relativ weit verteilt. Auch die Breite der Boxen ist nicht übermäßig ausgeprägt und so deutet ein kleiner Interquartilsbereich darauf hin, dass alle Versuchsteilnehmer*innen quantitativ recht ähnliche i-PRF Volumina erzielten. Der einzige Ausreißer der Messdaten ist im Boxplot der Differenzen zu sehen. Der mit einem Stern markierte Messwert, respektive positive Ausreißer, stellt eine übermäßig hohe erreichte absolute Differenz zwischen der ersten und zweiten Blutabnahme dar.

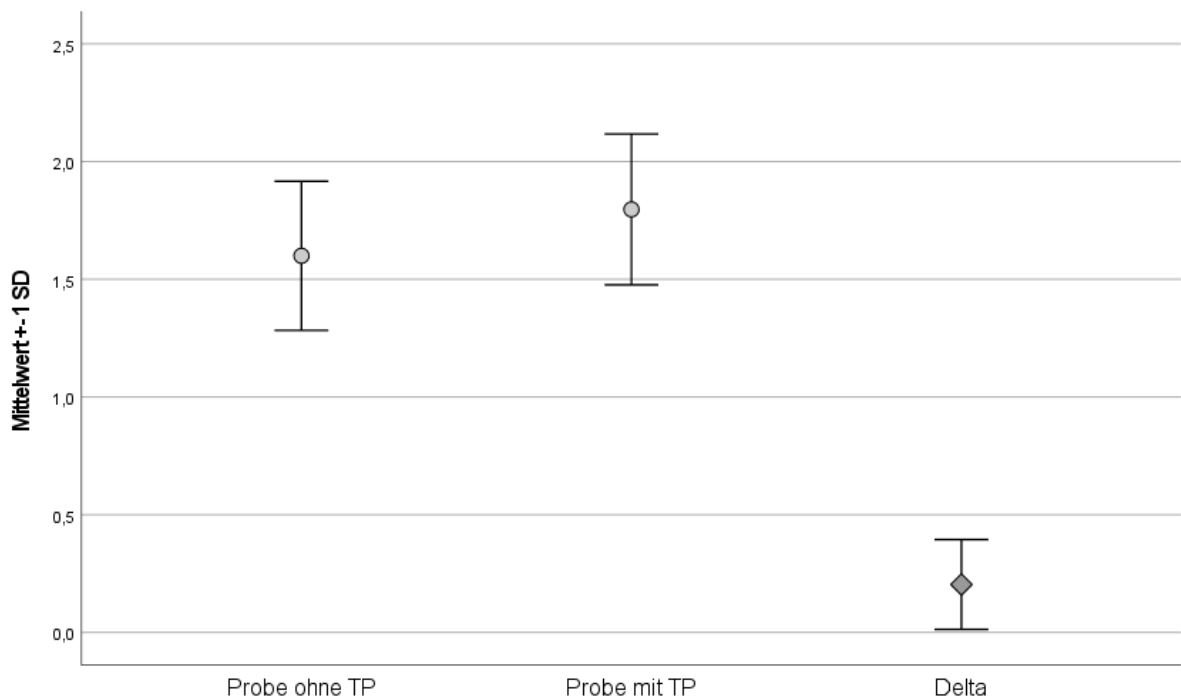


Abbildung 10: Mittelwertdiagramm mit Fehlerbalken einer einfachen Standardabweichung

Dieses Mittelwertdiagramm in Abbildung 10 veranschaulicht den Unterschied zwischen den i-PRF-Volumina ohne sowie mit Anwendung des standardisierten Trinkprotokolls. Die zentralen Punkte definieren die Mittelwerte von 1,60 ml ohne Anwendung des vordefinierten Trinkprotokolls, 1,80 ml nach Durchführung des Trinkprotokolls sowie 0,20 ml als absolute mittlere Differenz zwischen erster und zweiter Blutabnahme. In Abbildung 10 ist erkennbar, dass die Proband*innen durch die Anwendung des Trinkprotokolls ihre autologe Produktion von i-PRF steigern konnten. Die Effektivität des Trinkprotokolls wird in obiger Darstellung auch durch die ausschließlich positiven Delta-Werte zwischen der ersten und zweiten Visite unterstrichen.

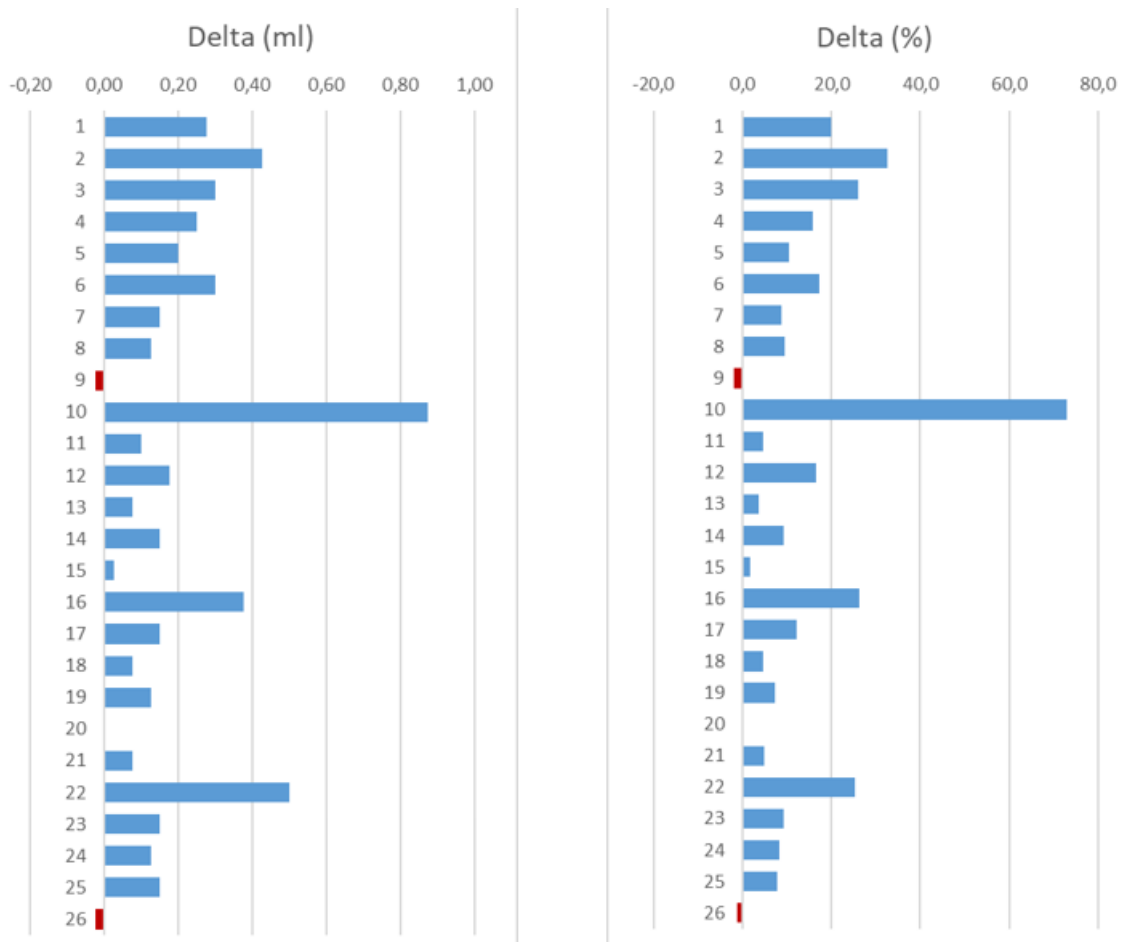


Abbildung 11: links: Balkendiagramm der absoluten Veränderung nach Anwendung des Trinkprotokolls; Ordinate: Versuchsteilnehmer*innen, Abszisse: [ml]; rechts: Balkendiagramm der prozentuellen Veränderung nach Anwendung des Trinkprotokolls; Ordinate: Versuchsteilnehmer*innen, Abszisse: Veränderung in Prozent

In beiden Diagrammen der Abbildung 11 ist zu erkennen, dass alle bis auf drei Versuchsteilnehmer*innen ihre Volumina steigern konnten. Proband*in neun und Proband*in 26 erzielten durch die Anwendung des Trinkprotokolls eine Reduktion der Plasmavolumina, was an dem roten Balken ersichtlich ist. Bei Proband*in 20 ist zu sehen, dass die Plasmavolumina zwischen erster und zweiter Blutabnahme äquivalent waren. Aus diesem Grund ist bei Proband*in 20 das Delta beider Blutabnahmen mit Null zu beziffern, was durch den fehlenden blauen Balken dargestellt wird. Weiters ist in der Darstellung zu sehen, dass im Schnitt bis auf drei Ausreißer, alle Studienteilnehmer*innen sowohl absolut auch als prozentuell betrachtet, eine ähnliche Steigerung erzielten. Proband*in zehn konnte ihre autologe i-PRF Produktion um über 0,80 ml steigern, was weit über dem Durchschnitt von 0,20 ml liegt. Auch prozentuell betrachtet hat Proband*in zehn die

i-PRF-Produktion um über 70% anheben können, was ebenfalls signifikant über dem Mittel liegt.

5.5.1.1 Statistische Auswertung weiterer Parameter

Um einen eventuellen Zusammenhang zwischen den Daten mit sowie ohne Trinkprotokoll und anderen miterhobenen Parametern zu ermitteln, wurden neuerliche statistische Tests gerechnet. Da die Parameter unterschiedlich codiert sind, wurden verschiedene Tests, im Speziellen der t-Test für unabhängige Stichproben und der Pearson Korrelationskoeffizient angewandt. Mithilfe der erhobenen Studiendaten erfolgte nun die parameterspezifische Berechnung der Differenzen beziehungsweise prozentuellen Veränderungen zwischen der zweiten und dritten Visite, das heißt der absoluten und prozentuellen Veränderung des quantitativ ermittelten i-PRF mit sowie ohne Anwendung des Trinkprotokolls.

Geschlecht:

Geschlecht	männlich (n=14)		weiblich (n=11)		Sign. p*
	Mittelwert	Stabw.	Mittelwert	Stabw.	
Differenz	0,18	0,13	0,24	0,25	p = 0,403
Prozentuelle Veränderung (%)	12,79	9,84	15,72	20,55	p = 0,642

Tabelle 2: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Geschlecht; Sign.p*=Signifikanzniveau

Der potenzielle Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Differenz sowie den Prozenten wurde mittels t-Test für unabhängige Stichproben berechnet. In obiger Tabelle sind 25 Proband*innen, nämlich 14 männliche und elf weibliche Teilnehmer zu finden. Der Umstand, dass eine weibliche Teilnehmerin fehlt, ist oben beschriebenem Sachverhalt geschuldet, dass bei Teilnehmerin 20 die zweite Blutabnahme fehlschlug. In Abbildung 12 ist zu erkennen, dass männliche Probanden durchschnittlich eine absolute Veränderung zwischen den beiden Blutabnahmen von 0,18 ml hatten. Weiters wiesen sie eine prozentuelle Änderung von 12,79% auf. Wie aus Tabelle 2 zu entnehmen, haben die weiblichen Teilnehmerinnen im Vergleich zwischen der ersten und zweiten Visite eine

durchschnittliche Veränderung von 0,24 ml sowie prozentuell von 15,72% erreicht. Trotz der durchschnittlichen prozentuellen Änderung von 14,08% über alle Versuchsgruppen, konnte mittels statistischer Tests kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Differenz sowie der Prozente und dem Geschlecht der Proband*innen errechnet werden. Sowohl die Irrtumswahrscheinlichkeit der Differenz von $p = 0,403$ als auch die Signifikanz der prozentuellen Veränderung von $p = 0,642$ liegen klar außerhalb der fünf Prozent und ergeben somit keine Signifikanz der beiden Parameter.

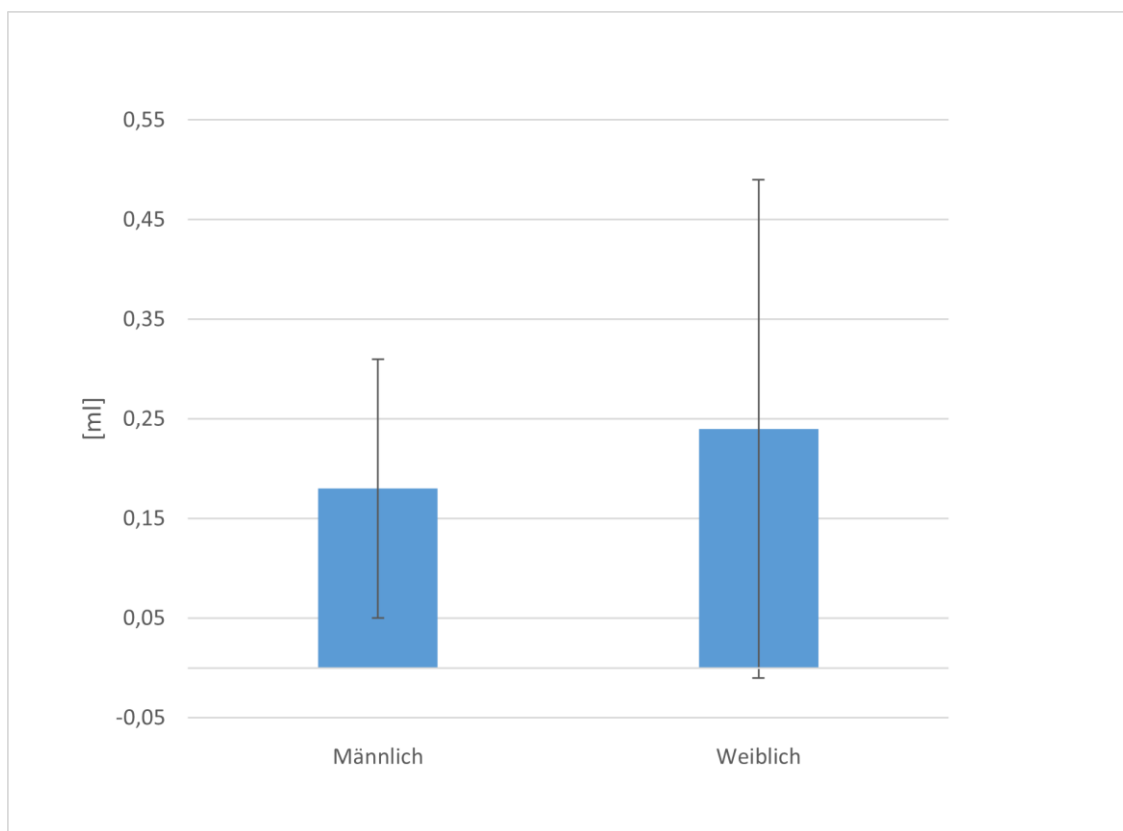


Abbildung 12: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme von Männern und Frauen

Rauchen:

Raucher:	gelegentlich+ja (n=4)		nein (n=21)		Sign. p*
	Mittelwert	Stabw.	Mittelwert	Stabw.	
Differenz	0,14	0,17	0,22	0,20	p = 0,502
Prozentuelle Veränderung (%)	9,32	12,20	14,99	15,78	p = 0,505

Tabelle 3: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Parameter Rauchen

Mittels der Datenerhebung wurden zwei Versuchsteilnehmer*innen als Raucher*innen, sowie zwei weitere als gelegentliche Raucher*innen identifiziert. 21 Proband*innen definierten sich als Nichtraucher, was somit mit rund 85%, die absolute Mehrheit aller Studienteilnehmer*innen darstellte. Aufgrund der geringen Fallzahl in der Gruppe „Raucher*innen“ wurden für die Berechnung der statistischen Tests, gelegentliche Raucher*innen und Raucher*innen in eine Kohorte zusammengefasst (Tabelle drei). Für die statistische Auswertung wurde in diesem Fall ebenso ein t-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Die absolute Änderung in der Gruppe der Raucher*innen, war von der ersten zur zweiten Blutprobe im Mittel 0,14 ml, was in Abbildung 13 ersichtlich ist. Im Vergleich zur gesamten Studienkohorte liegen diese quantitativen Werte an i-PRF um 0,06 ml unter der mittleren Differenz von 0,20 ml. Aus Tabelle drei ist zu entnehmen, dass die Nichtraucher*innen eine absolute Veränderung von der ersten zur zweiten Visite von durchschnittlich 0,22 ml erzielten. Damit liegen die Nichtraucher*innen minimal über dem Mittel aller Kohorten. Obwohl die Raucher*innen auf den ersten Blick ein deutlich niedrigeres quantitatives Level an i-PRF erzielen konnten als die Nichtraucher*innen, war die Signifikanz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,502$ nicht gegeben. Die prozentuelle Änderung in dieser Kohorte ergab ähnliche Werte. Im Mittel erreichten die Raucher*innen eine Steigerung von der ersten zur zweiten Visite von 9,32%. Die Nichtraucher*innen hingegen schlossen die Studie relativ gesehen deutlich besser ab und erreichten im Mittel einen Anstieg durch die Anwendung des Trinkprotokolls von 14,99%. Im Vergleich zu den Rauchern*innen konnten die Nichtraucher*innen auch in der prozentuellen Veränderung während den Studienvisiten deutlich besser abschneiden, jedoch ergab sich auch hierbei in der statistischen Berechnung mit einem $p = 0,505$ keine Signifikanz. Somit gibt es keinen statistischen Zusammenhang zwischen der Differenz und den Prozentzahlen während der beiden Studienvisiten und dem Rauchen.

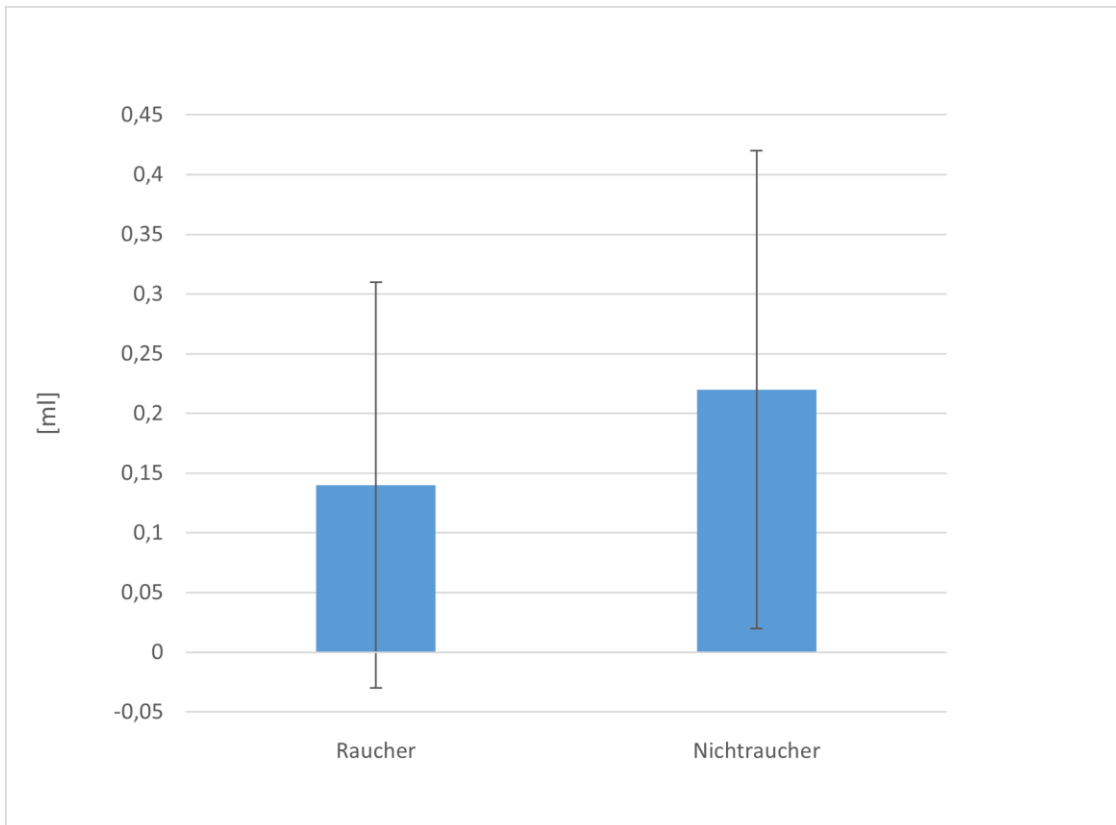


Abbildung 13: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme von Raucher*innen und Nichtraucher*innen

Alkoholkonsum:

Alkoholkonsum	ja (n=18)		nein (n=7)		Sign. p*
	Mittelwert	Stabw.	Mittelwert	Stabw.	
Differenz	0,21	0,21	0,19	0,14	p = 0,860
Prozentuelle Veränderung (%)	14,29	16,88	13,54	10,72	p = 0,914

Tabelle 4: Darstellung des Zusammenhangs mit dem Parameter Alkoholkonsum

Ein weiterer Parameter welcher in der Pilotstudie abgefragt, respektive untersucht wurde, war jener, ob regelmäßiger Alkoholkonsum einen Einfluss auf die quantitative Menge an autolog produziertem i-PRF hat. Die Frage nach dem Alkoholkonsum war relativ offen gestaltet, so war es auch hier für eine Statistik sinnvoll, Gruppen zusammenzufassen. Insgesamt gaben 18 Proband*innen an, regelmäßig Alkohol zu trinken, sowie weitere sieben Versuchsteilnehmer*innen beantworteten die Frage nach relevantem Alkoholkonsum mit einem klaren Nein. Zwei Teilnehmer*innen gaben an, ein- bis zweimal pro Woche Alkohol zu trinken. 50 Prozent, nämlich 13 Proband*innen, der Gruppe mit regelmäßigem

Alkoholkonsum, verdeutlichten einmal pro Woche Alkohol zu trinken. Die restlichen drei Studienteilnehmer*innen dieser Kohorte gaben an, nur gelegentlich Alkohol zu trinken. Die statistische Berechnung mittels t-Test für unabhängige Stichproben ist in der Tabelle vier verdeutlicht und ergab im Vergleich zu der gesamten Studienkohorte, bei den Teilnehmer*innen mit sowie ohne relevantem Alkoholkonsum, keine nennenswerten Unterschiede. Abbildung 14 veranschaulicht, dass es im Mittel über alle Gruppen gemessen, eine absolute Veränderung von der ersten zur zweiten Blutabnahme von 0,20 ml, in der Gruppe der Teilnehmer*innen mit regelmäßigem Alkoholkonsum eine Steigerung von 0,21 ml sowie bei den restlichen sieben nicht regelmäßig Alkohol konsumierenden Proband*innen sich eine Verbesserung von 0,19 ml ergab. Die Berechnung der prozentuellen Änderung der beiden Versuchsgruppen erzielte ähnliche Ergebnisse. So konnte die Gruppe der regelmäßig Alkohol konsumierenden Personen eine Steigerung von 14,29% erzielen. Die restlichen sieben Teilnehmer*innen verbesserten sich mit der Anwendung des Trinkprotokolls um 13,54%. Anhand dieser berechneten Werte lässt sich feststellen, dass auch der Parameter relevanter Alkoholkonsum, im Verlauf der Studie ähnliche Ergebnisse im Vergleich zur Gesamtkohorte, sowohl prozentuell auch als absolut gemessen, erzielte. Ebenso wurde zwischen den beiden Gruppen dieses Parameters die Irrtumswahrscheinlichkeit berechnet. Das Signifikanzniveau von 0,05 wurde sowohl mit $p = 0,860$ in der Differenz als auch in der prozentuellen Veränderung mit einem $p = 0,914$ nicht unterschritten. Aufgrund der ähnlichen Ergebnisse sowohl prozentuell als auch absolut betrachtet, ergab sich kein signifikanter Einfluss des Parameters Alkoholkonsum. Weiters ist in Abbildung 18 zu sehen, dass sich bei nicht regelmäßig Alkohol konsumierenden Versuchsteilnehmer*innen im Vergleich zu den Proband*innen mit regelmäßigem Alkoholkonsum, ausschließlich verbesserte Plasmavolumina durch die Anwendung des Trinkprotokolls einstellten.

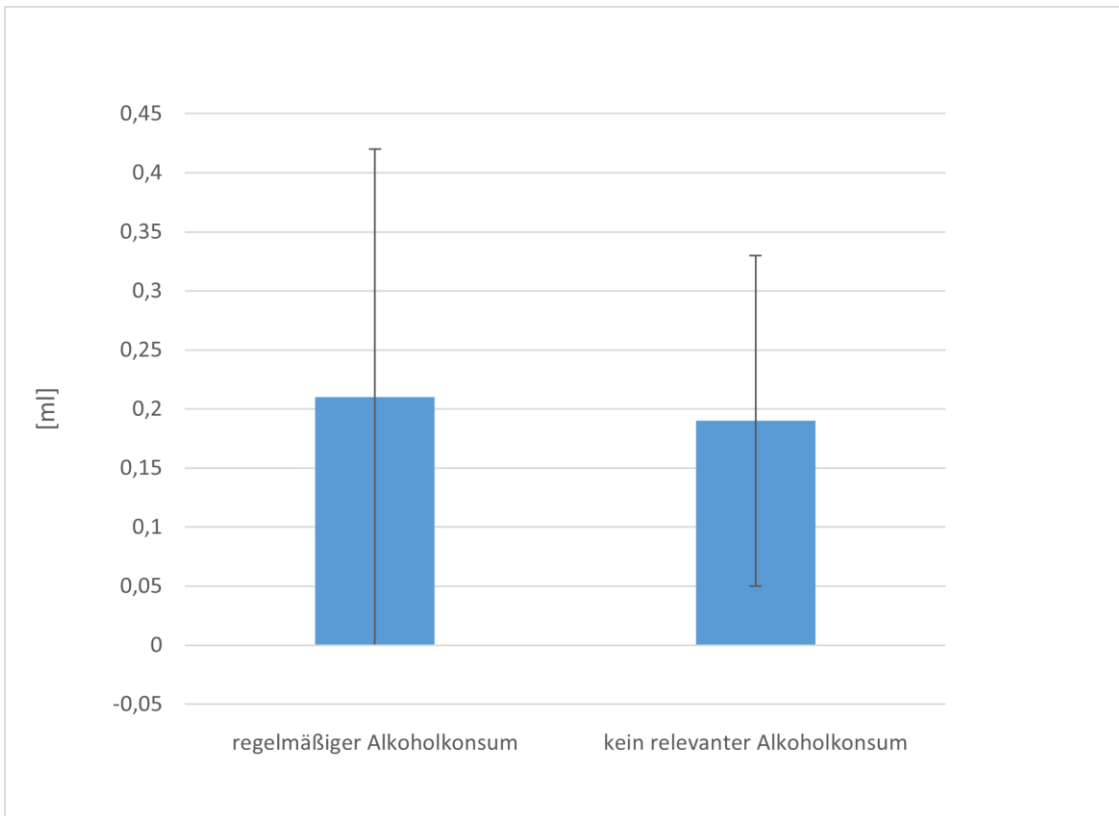


Abbildung 14: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme betreffend regelmäßigem Alkoholkonsum

Reduktion des Trinkverhaltens bei der 1. Visite:

Reduktion	ja (n=16)		nein (n=9)		Sign. p*
	Mittelwert	Stabw.	Mittelwert	Stabw.	
Differenz	0,25	0,22	0,12	0,06	p = 0,097
Prozentuelle Veränderung (%)	17,28	18,02	8,39	5,08	p = 0,165

Tabelle 5: Darstellung des Zusammenhangs mit der Reduktion des Trinkverhaltens bei 1. Visite

Das Studienprotokoll beinhaltete auch die Aufforderung, bei der ersten Visite die habituelle Trinkmenge zu reduzieren. Aus organisatorischen sowie persönlichen Gründen konnten einige Studienteilnehmer*innen dieser Vorgabe nicht nachkommen und so wurde auch dieser Punkt statistisch ausgewertet. Auch für diesen Parameter wurde ein t-Test für unabhängige Stichproben gerechnet. In Tabelle fünf ist zu sehen, dass 16 Proband*innen angaben, bei der ersten Visite ihre habituelle Trinkmenge reduziert zu haben. Bei den restlichen neun Studienteilnehmer*innen fand dies keine Beachtung. Dieser Vergleich ist ergänzend

relevant, da dadurch indirekt die Effektivität des Trinkprotokolls getestet wurde. Mittelwertig erreichten die Proband*innen mit der Reduktion des Trinkverhaltens vor der ersten Blutabnahme eine Steigerung von der ersten zur zweiten Visite von absolut 0,25 ml. Die Studienteilnehmer*innen welche ihre habituelle Trinkmenge nicht vor der ersten Visite reduziert hatten, steigerten ihre quantitative i-PRF Menge um absolut 0,12 ml, was in Abbildung 15 ersichtlich ist. Prozentuell betrachtet errechnete man die gleichen Ausmaße nämlich eine Steigerung von 17,28% bei all jenen Teilnehmer*innen, welche ihre Trinkmenge vor der ersten Blutabnahme reduzierten sowie 8,39% bei den Teilnehmer*innen welche ihre habituelle Trinkmenge vor der ersten Visite nicht reduzierten. Der p-Wert betreffend der Differenzen beträgt $p = 0,097$ und die Irrtumswahrscheinlichkeit der prozentuellen Veränderung ergab $p = 0,165$. Man erkennt zwar einen Unterschied in den Mittelwerten sowohl prozentuell als auch absolut betrachtet, jedoch ist diese Abweichung nicht signifikant. Dieser Umstand kann an der geringen Fallzahl und der damit verbundenen hohen Streuung liegen.

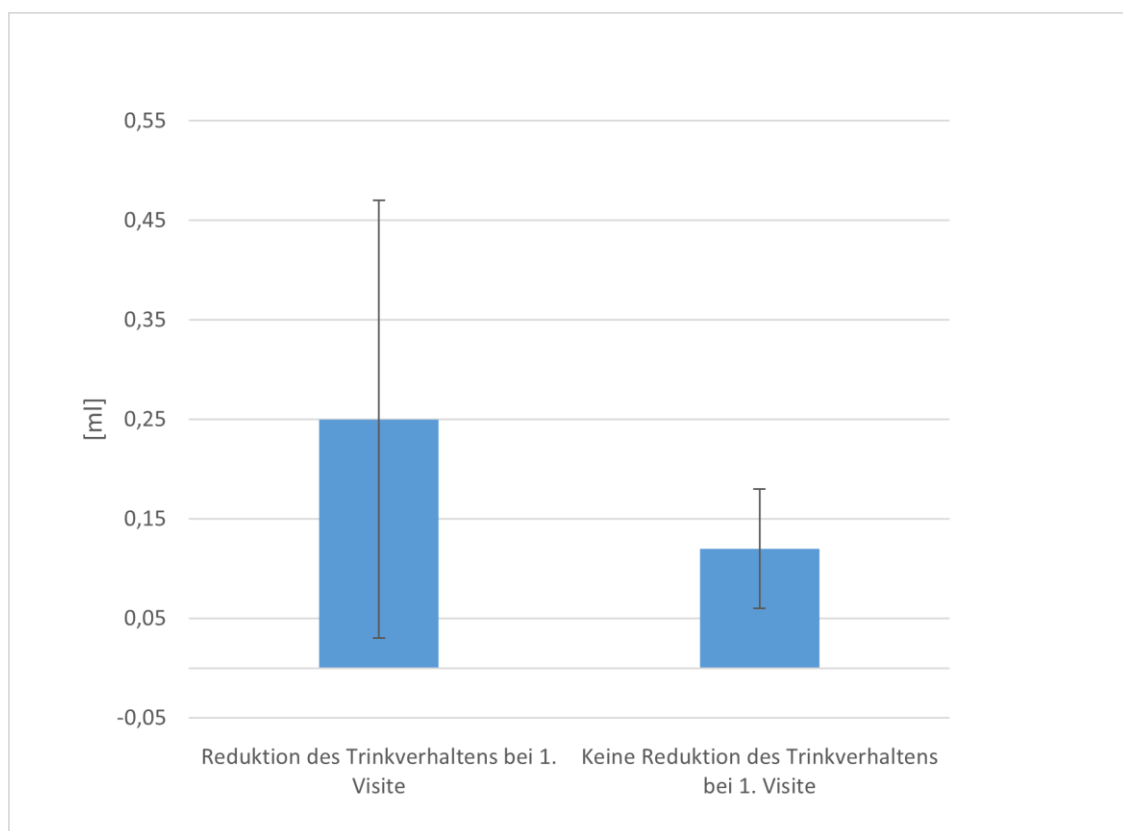


Abbildung 15: Vergleichsdiagramm der mittleren Differenzen zwischen erster und zweiter Blutabnahme betreffend der Reduktion des Trinkverhaltens bei der 1. Visite

Größe und Gewicht:

BMI und Differenz:	$r = -0,420, p = 0,037$
BMI und prozentuelle Veränderung:	$r = -0,369, p = 0,069$

Tabelle 6: Darstellung des Zusammenhangs mit den Parametern der Größe und des Gewichts

Die individuellen körperspezifischen Merkmale Größe und Gewicht sind untrennbar miteinander verbunden, weswegen zur statistischen Auswertung der Body-Mass-Index, kurz BMI, als Referenzzahl zur jeweiligen Versuchsperson ausgewertet wurde. Der BMI wird durch die Division des Körpergewichts in Kilogramm durch das Quadrat der Körpergröße in Meter berechnet. Da es sich hierbei um einen numerischen Parameter handelt, wurde für die statistische Berechnung der Pearson Korrelationskoeffizient, kurz r , herangezogen. Die erhobenen BMI-Werte verteilten sich hauptsächlich auf die Gruppe der Normalgewichtigen. 24 Versuchsteilnehmer*innen haben einen BMI zwischen 18,5 und 24,9 was als Normalgewicht interpretiert werden kann. Ein Proband hat mit einem BMI von 25,47 knapp die Schwelle des Übergewichts erreicht, wohingegen eine Probandin mit einem BMI von 17,71 als leicht untergewichtig einzustufen ist. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten zwischen dem BMI und der Differenz ergab ein $r = -0,42$ mit einer Signifikanz von $p = 0,037$. Da die Irrtumswahrscheinlichkeit unter dem Signifikanzniveau von 0,05 ist kann die Nullhypothese abgelehnt werden und es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI und der absoluten Veränderung zwischen beiden Blutabnahmen. Aufgrund der Tatsache, dass der Korrelationskoeffizient r negativ ist, bedeutet dies, dass der Zusammenhang indirekt proportional ist. Statistisch gesehen bedeutet dies, dass je höher der BMI ist, desto niedriger die absolute Differenz zwischen beiden Blutabnahmen ausfällt. Darüber hinaus wurde wie in Tabelle sechs anschaulich erkennbar, der Pearson Korrelationskoeffizient für den BMI und die prozentuelle Veränderung berechnet was ein $r = -0,369$ ergab. Im Vergleich zur absoluten Änderung, der Differenz, brachte die dazugehörige Berechnung der Signifikanz mit einem $p = 0,069$ keinen signifikanten Zusammenhang hervor.

6 Diskussion

Durch den Einsatz des Trinkprotokolls kam es zu einer signifikanten Steigerung der autologen PRF-Produktion. Die der Arbeit, respektive Pilotstudie zugrunde liegende Forschungsfrage, ob die Trinkmenge einen positiven Einfluss auf das autolog produzierte PRF hat, konnte somit positiv beantwortet werden. Für die weiteren ermittelten Parameter wie das Geschlecht, den relevanten Alkoholkonsum, das Rauchverhalten sowie die Reduktion des Trinkverhaltens konnte keine Signifikanz ermittelt werden. Der einzig signifikante Zusammenhang wurde zwischen der Differenz beider Blutabnahmen und den Parametern Größe und Gewicht kalkuliert. Die Ergebnisse im Hinblick auf Größe und Gewicht zeigten, dass ein hoher BMI mit einer geringeren quantitativen Steigerung von i-PRF einhergeht. Um die Gegebenheit, dass ein hoher BMI ein niedrigeres Potential zur Zunahme des PRF-Volumens mit sich zieht besser verstehen zu können, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Aufgrund der geringen Fallzahl beim Merkmal „Rauchen“ konnte auch hier kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Rauchen und der Differenz zwischen erster und zweiter Blutabnahme berechnet werden, obwohl sich die Mittelwerte eklatant unterschieden. Hier ist eine zukünftige Studie mit größerer Fallzahl denkbar, um diesen wahrscheinlichen Unterschied zwischen Raucher*innen und Nichtrauchern*innen messbar zu machen, beziehungsweise eine Signifikanz zu erreichen. Die in der Studie erhobenen Daten decken sich nämlich mit den in der Literatur beschriebenen Effekten des Rauchens, respektive Nikotineinflusses auf das Plasmavolumen.

So kommt es durch den Einfluss von Nikotin zu einer vermehrten Einlagerung von antidiuretischem Hormon, was zu einem erhöhtem Blutvolumen, respektive gesteigertem Blutplasmavolumen führt (78). Dies konnte laut den Studiendaten auf die i-PRF-Volumina übertragen werden. Es scheint, dass die Kohorte der Raucher*innen aufgrund des oben beschriebenen Effekts schon ein höheres Ausgangsniveau des Blutplasmas hatte und daher konnten sie, durch die Anwendung des standardisierten Trinkprotokolls, ihre Volumina nicht mehr dementsprechend eklatant steigern.

Die ähnlichen Mittelwerte von Proband*innen mit beziehungsweise ohne relevantem Alkoholkonsum decken sich nicht mit dem in der Literatur beschriebenen Effekt von Alkohol auf den Wasserhaushalt. Betreffend des Effekts von Ethanol auf den Hydrationsstatus ist es evident, dass die Alkoholzufuhr zu vermehrtem Wasserverlust führt, was in einem geringeren Plasmavolumen resultiert (79). Diese Gegebenheit konnte in den erhobenen Studiendaten nicht gezeigt werden.

Darüber hinaus wird in der Literatur ein eventueller Effekt von Alkohol auf die Thrombozyten diskutiert. Einige Autoren sprechen von einer Aktivierung von Plättchen durch Alkohol, andere sprechen von einer Inaktivierung (80). Diese Konstellation kann in weiterführenden Studien betreffend die qualitativen Unterschiede der PRF-Volumina ohne sowie mit Anwendung des Trinkprotokolls untersucht werden.

In Bezug auf den Parameter Geschlecht ist es wichtig zu erwähnen, dass Frauen tendenziell ein niedrigeres Blutvolumen haben als Männer (81). Die Steigerung welche Frauen in der Pilotstudie erzielen konnten, war absolut gesehen höher, jedoch ergab sich keine Signifikanz. Dieser Umstand kann jenem Fakt geschuldet sein, dass Frauen aufgrund des niedrigeren Blutvolumens zwar absolut betrachtet mehr hydrieren können, sich jedoch durch das Trinkprotokoll lediglich in den Status der Euhydration bewegt haben. Zudem ist anzumerken, dass das Blutvolumen von Frauen während der Schwangerschaft um bis zu 50 Prozent gesteigert werden kann, was die beachtliche Adaptionsfähigkeit des weiblichen Organismus unterstreicht (81).

Für weitere Arbeiten in kommender Zeit ist es wertvoll ebenso die qualitativen Unterschiede des maximierten PRF zu untersuchen. Im Hinblick auf diese Forderung ist es interessant zu ermitteln, ob die perfekte Hydratation auch eine bessere Zellverteilung und mehr Wachstumsfaktoren generiert. Ist durch die Hydrierung eine bessere Zellverteilung zu erwarten? Lagern sich in der Matrix mehr Thrombozyten ein und stellen diese mehr Wachstumsfaktoren für eine verbesserte Wundheilung zur Verfügung? Ein möglicher physiologischer Anhaltspunkt kann durch den Effekt von ADH bei dehydrierten Personen gegeben sein.

Durch die Dehydratation kommt es zu einer Ausschüttung von ADH. Das

antidiuretische Hormon bewirkt eine vermehrte Rückresorption von Wasser in den Sammelrohren der Nieren, um den Wasserhaushalt bestmöglich zu regulieren (82). Colucci et al. erforschten dahingehend die Auswirkungen von Desmopressin, einem synthetischen Analogon von ADH, auf die in PRF enthaltenen Thrombozyten. Durch die Einwirkung von ADH kommt es zu einer verminderten Freisetzung von den in den alpha-Granula der Thrombozyten enthaltenen Wachstumsfaktoren (83). Dieses Faktum kann Grundlage für eine weitere Forschung sein, um herauszufinden, ob sich diese Gegebenheit auch in „dehydriertem“ PRF widerspiegelt.

Zentrale Themen in der Diskussion um PRF sind die noch nicht standardisierten Zentrifugationsprotokolle, die Identifikation der Patientengruppe die von dieser Behandlung am meisten profitieren kann sowie die noch nicht in allen Anwendungsbereichen nachgewiesene Vorteilhaftigkeit dieser Behandlungsmethode. Jedoch ist es wichtig zu betonen, dass die Anwendung von plättchenreichem Fibrin in der regenerativen Zahnmedizin sowie in anderen humanmedizinischen Fachrichtungen von zunehmender Relevanz ist. Der Einsatzbereich in der Zahnmedizin von i-PRF reicht von der Schmerzbehandlung über die Parodontitistherapie sowie Periimplantitistherapie bis hin zur Biologisierung von Augmentationsmaterialien. Solides PRF wird in der Zahnmedizin vor allem zur socket preservation als Füllung der Extraktionsalveole verwendet. Auch andere humanmedizinische Fächer profitieren von plättchenreichem Fibrin, um mit der plastischen Chirurgie zur Narben- sowie ästhetischen Behandlung nur eine zu nennen (73). Durch den Gebrauch von PRF wollen Kliniker eine bessere respektive schnellere Hart- sowie Weichgewebsregeneration, geringere Schmerzen, ein vermindertes Infektionsrisiko und damit verbunden weniger Entzündungen erzielen (84). Die Haupteigenschaft von PRF ist, dass es als eine Art Leitstruktur dient sowie ein natürliches Reservoir an Wachstumsfaktoren und für die Heilung wichtigen Blutzellen darstellt. Ebendiese Wachstumsfaktoren werden ständig aus der Matrix freigesetzt, weshalb sich PRF als eine Art körpereigenes „Drug-Delivery-System“ erschließt, durch welches der Wundheilungsprozess augenscheinlich beschleunigt wird. Die Herstellung von PRF erfolgt, wie in Kapitel drei erläutert, mittels einer handelsüblichen Zentrifuge. Durch die Konzeption des Low-Speed Centrifugation Concept wurde ein weiterer Meilenstein in der PRF-Erstellung gesetzt. Mithilfe der LSCC-Protokolle kann mit jeder beliebigen Zentrifuge PRF reproduzierbar

hergestellt werden. Mithilfe dieses Fortschritts ist ein Konzept geschaffen, welches PRF praxistauglich macht. Weiters wurde im Jahr 2023 eine S3-Leitlinie „Einsatz von platelet rich fibrin in der dentalen Implantologie“ veröffentlicht, die den Behandelnden als optimale Entscheidungsgrundlage im Umgang mit PRF dienen soll (73).

Grundsätzlich unterlag die Pilotstudie keinen Einschränkungen, jedoch ergeben sich denkbare Limitationen und Möglichkeiten für Fehler. Eine denkbare Fehlerquelle betrifft das ungleiche Beladen der Zentrifuge. Beim Beladen der Zentrifuge ist es sehr wichtig, dass sich die Gewichte der Röhren, die sich im Rotor gegenüberstehen, ausgleichen, sprich ident sind. Stehen sich im Rotor ungleiche Gewichte gegenüber, führt dies zu einer Unwucht, was eine fehlerhafte Zentrifugation zur Folge haben kann. In der Studie wurden jeweils 5ml mit Blut gefüllte Probenröhren gegenüberliegend platziert, die aus organisatorischen Gründen nicht abgewogen wurden. Da jeweils exakt 5ml abgenommenes Blut in die Probenröhren titriert wurden, ist die Relevanz dieses Faktors als Fehlerquelle als gering einzuschätzen.

Weiters könnten nicht beeinflussbare Konstellationen wie zum Beispiel das Nichteinhalten des Trinkprotokolls sowie Falschangaben die Studienaussagen beeinflussen. Die Qualität des Studienergebnisses ist somit auf die Compliance der Studienteilnehmer*innen angewiesen. Dessen ungeachtet zeigte die hier präsentierte Studie einen Trend, dass bei Reduktion des habituellen Trinkverhaltens, eine höhere Steigerung durch das Trinkprotokoll erreicht werden konnte. Dies könnte indirekt auch ein Hinweis darauf sein, dass ein reduziertes Trinkverhalten das Volumen des gewonnen i-PRFs reduziert hat.

Eine weitere mögliche Limitation der Studienaussage betrifft die potentielle Hyperhydratation durch die Anwendung des standardisierten Trinkprotokolls. Bezüglich einer allfälligen Hyperhydratation aufgrund der Anwendung des Trinkprotokolls gilt es kritisch anzumerken, dass es eventuell zu einem Verdünnungseffekt, welcher die Plasmaproteinkonzentration senkt, kommen kann (85).

Wie oben erwähnt, wurde diese Pilotstudie im Hinblick auf eine rein quantitative Untersuchung von PRF durchgeführt. Die Hauptzielgröße war ausschließlich die quantitative Menge an PRF und umfasste nicht die qualitative Zusammensetzung.

Dieses gesteigerte Volumen kann zum Beispiel dazu beitragen, mit weniger abgenommenen Blut, bei der Verwendung als A-PRF™ eine größere Membran zu erzielen. Aufgrund dieser Tatsache kann die fehlende qualitative Auswertung der i-PRF Volumina als mögliche Limitation dieser Pilotstudie angesehen werden.

Im Hinblick auf weiterführende Arbeiten ist es wichtig zu betonen, dass der Zusammenhang zwischen der Hydratation und der Qualität von PRF sowie seiner quantitativen Steigerung noch nicht abschließend erforscht ist und weitere Untersuchungen notwendig sind, um ebendiesen Zusammenhang besser verstehen zu können.

7 Konklusion

Die Einhaltung eines standardisierten Trinkprotokolls scheint zu einem erhöhten Volumen von i-PRF zu führen. Die klare Konzeption und stringente klinische Umsetzung des erprobten Studienkonzepts, sowie der ermittelte positive Effekt der Volumensteigerung des autologen Materials für weitere Behandlungen, legen eine Empfehlung für die Anwendung eines standardisierten Trinkprotokolls in Kombination mit der PRF-Erstellung nahe. Plättchenreiches Fibrin ist zudem ein zusatzstofffreies körpereigenes Erzeugnis und unterliegt somit bis dato fast keinen Kontraindikationen. Das breite Indikationsspektrum, die einfache Handhabung sowie die Nebenwirkungsfreiheit erlauben es, das auf evidenter Basis fußende PRF-Konzept, zunehmend in den Praxis- sowie Klinikalltag zu implementieren.

Literaturverzeichnis

1. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341(10):738-46.
2. Gassling VL, Acil Y, Springer IN, Hubert N, Wiltfang J. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(1):48-55.
3. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e37-44.
4. Zrnc TA, Metzler P, Zemmann W, Ghanaati S. PRF in dentistry - a short synopsis about implementation and workflow. *Swiss Dent J*. 2018;128(9):712-3.
5. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2017;21(6):1913-27.
6. Kiran N, Mukunda K, Tilak Raj T. Platelet concentrates: A promising innovation in dentistry. *J Dent Sci Res*. 2011;2(1):50-61.
7. Ross R, Glomset J, Kariya B, Harker L. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974;71(4):1207-10.
8. 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):1294-9.
9. Brennan M. Fibrin glue. *Blood Rev*. 1991;5(4):240-4.
10. Baxter. Fibrinkleber Tissel, <https://www.baxterat.de/medizinische-fachkraefte/surgical-care-operative-versorgung>.
11. Feigin K, Shope B. Use of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Dentistry and Oral Surgery: Introduction and Review of the Literature. *J Vet Dent*. 2019;36(2):109-23.
12. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009;37(11):2259-72.
13. Gupta S, Paliczak A, Delgado D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy. Expert review of hematology. 2021;14(1):97-108.
14. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(4):489-96.
15. Meheux CJ, McCulloch PC, Lintner DM, Varner KE, Harris JD. Efficacy of Intra-articular Platelet-Rich Plasma Injections in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review. *Arthroscopy*. 2016;32(3):495-505.
16. Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(5):578-83.
17. Emer J. Platelet-Rich Plasma (PRP): Current Applications in Dermatology. *Skin Therapy Lett*. 2019;24(5):1-6.
18. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(4):529-35.
19. Gato-Calvo L, Magalhaes J, Ruiz-Romero C, Blanco FJ, Burguera EF. Platelet-rich plasma in osteoarthritis treatment: review of current evidence. *Ther Adv Chronic Dis*. 2019;10:2040622319825567.
20. Filardo G, Di Matteo B, Di Martino A, Merli ML, Cenacchi A, Fornasari P, et al. Platelet-Rich Plasma Intra-articular Knee Injections Show No Superiority Versus Viscosupplementation: A Randomized Controlled Trial. *Am J Sports Med*. 2015;43(7):1575-82.
21. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A, editors. Une opportunit  en parodontologie: Le PRF2001.
22. Corso MD, Etienne D. Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Membranes in Periodontal Surgery: Understanding the Biomaterial or Believing in the Magic of Growth Factors? *Journal of Periodontology*. 2009;80:1694-9.
23. Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes,

- preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(3):341-52.
24. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):299-303.
 25. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol.* 2014;40(6):679-89.
 26. Dohan Ehrenfest DM. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110(3):275-8; author reply 8-80.
 27. Oncu E, Erbeyoglu AA. Enhancement of Immediate Implant Stability and Recovery Using Platelet-Rich Fibrin. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2019;39(2):e58-e63.
 28. Al-Maawi S, Ghanaati S, Sie W. Regeneratives Potenzial von Blutkonzentraten. 2021.
 29. Kawase T, Kamiya M, Kobayashi M, Tanaka T, Okuda K, Wolff LF, et al. The heat-compression technique for the conversion of platelet-rich fibrin preparation to a barrier membrane with a reduced rate of biodegradation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015;103(4):825-31.
 30. Vinazzer H. Fibrin sealing: physiologic and biochemical background. *Facial Plast Surg.* 1985;2(4):291-5.
 31. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost.* 2005;3(8):1894-904.
 32. Kang YH, Jeon SH, Park JY, Chung JH, Choung YH, Choung HW, et al. Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A.* 2011;17(3-4):349-59.
 33. Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Aust Dent J.* 2012;57(2):207-12.
 34. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e56-60.
 35. Lorenz J, Al-Maawi S, Sader R, Ghanaati S. Individualized Titanium Mesh Combined With Platelet-Rich Fibrin and Deproteinized Bovine Bone: A New Approach for Challenging Augmentation. *J Oral Implantol.* 2018;44(5):345-51.
 36. Kawazoe T, Kim HH. Tissue augmentation by white blood cell-containing platelet-rich plasma. *Cell Transplant.* 2012;21(2-3):601-7.
 37. Perut F, Filardo G, Mariani E, Cenacchi A, Pratelli L, Devescovi V, et al. Preparation method and growth factor content of platelet concentrate influence the osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Cytotherapy.* 2013;15(7):830-9.
 38. Su CY, Kuo YP, Nieh HL, Tseng YH, Burnouf T. Quantitative assessment of the kinetics of growth factors release from platelet gel. *Transfusion.* 2008;48(11):2414-20.
 39. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e45-50.
 40. Lourenco ES, Alves GG, de Lima Barbosa R, Spiegel CN, de Mello-Machado RC, Al-Maawi S, et al. Effects of rotor angle and time after centrifugation on the biological in vitro properties of platelet rich fibrin membranes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2021;109(1):60-8.
 41. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2018;44(1):87-95.

42. El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, Al-Maawi S, Orlowska A, Dias A, et al. Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2019;45(3):467-79.
43. Ghanaati S, Mourao CF, Adam E, Sader R, Zadeh H, Al-Maawi S. The role of centrifugation process in the preparation of therapeutic blood concentrates: Standardization of the protocols to improve reproducibility. 2019;2:41.
44. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig*. 2017;21(8):2619-27.
45. Al-Maawi S, Herrera-Vizcaino C, Orlowska A, Willershausen I, Sader R, Miron RJ, et al. Biologization of Collagen-Based Biomaterials Using Liquid-Platelet-Rich Fibrin: New Insights into Clinically Applicable Tissue Engineering. *Materials (Basel)*. 2019;12(23).
46. Ghanaati S, Herrera-Vizcaino C, Al-Maawi S, Lorenz J, Miron RJ, Nelson K, et al. Fifteen Years of Platelet Rich Fibrin in Dentistry and Oromaxillofacial Surgery: How High is the Level of Scientific Evidence? *J Oral Implantol*. 2018;44(6):471-92.
47. Oncu E, Alaaddinoglu EE. The effect of platelet-rich fibrin on implant stability. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015;30(3):578-82.
48. Boora P, Rathee M, Bhorla M. Effect of Platelet Rich Fibrin (PRF) on Peri-implant Soft Tissue and Crestal Bone in One-Stage Implant Placement: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(4):ZC18-21.
49. Bao MZ, Liu W, Yu SR, Men Y, Han B, Li CJ. Application of platelet-rich fibrin on mandibular third molar extraction: systematic review and Meta-analysis. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2021;39(5):605-11.
50. Marenzi G, Riccitiello F, Tia M, di Lauro A, Sammartino G. Influence of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of Simple Postextraction Sockets: A Split-Mouth Study. *Biomed Res Int*. 2015;2015:369273.
51. Dar M, Hakim T, Shah A, Najjar L, Yaqoob G, Lanker F. Use of autologous platelet-rich fibrin in osseous regeneration after cystic enucleation: A clinical study. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2016;6(Suppl 1):S29-S32.
52. Geeta IB, Galagali G, Kulkarni S, Suran P, Noushin F. A natural meliorate: revolutionary tissue engineering in endodontics. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(11):2644-6.
53. Padma R, Shilpa A, Kumar PA, Nagasri M, Kumar C, Sreedhar A. A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(5):631-6.
54. Keceli HG, Kamak G, Erdemir EO, Evginer MS, Dolgun A. The Adjunctive Effect of Platelet-Rich Fibrin to Connective Tissue Graft in the Treatment of Buccal Recession Defects: Results of a Randomized, Parallel-Group Controlled Trial. *J Periodontol*. 2015;86(11):1221-30.
55. Reyes M, Montero S, Cifuentes J, Zarzar E. Extraction technique and surgical use of the plasma rich in growth factors (PRGF): Update. *Rev Dent Chile*. 2002;93:25-8.
56. Choukroun JI, Braccini F, Diss A, Giordano G, Doglioli P, Dohan DM. [Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial lipostructure (Coleman's technique) and tympanoplasty?]. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*. 2007;128(1-2):27-32.
57. Braccini F, Tardivet L, Dohan Ehrenfest DM. [The relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin (PRF) during middle ear surgery: preliminary results]. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)*. 2009;130(3):175-80.
58. Norholt SE, Hartlev J. Surgical treatment of osteonecrosis of the jaw with the use of platelet-rich fibrin: a prospective study of 15 patients. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45(10):1256-60.
59. Asaka T, Ohga N, Yamazaki Y, Sato J, Satoh C, Kitagawa Y. Platelet-rich fibrin may reduce the risk of delayed recovery in tooth-extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a trial study. *Clin Oral Investig*. 2017;21(7):2165-72.

60. Park JH, Kim JW, Kim SJ. Does the Addition of Bone Morphogenetic Protein 2 to Platelet-Rich Fibrin Improve Healing After Treatment for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw? *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(6):1176-84.
61. Shawky H, Seifeldin SA. Does Platelet-Rich Fibrin Enhance Bone Quality and Quantity of Alveolar Cleft Reconstruction? *Cleft Palate Craniofac J.* 2016;53(5):597-606.
62. Kumar KR, Genmorgan K, Abdul Rahman SM, Rajan MA, Kumar TA, Prasad VS. Role of plasma-rich fibrin in oral surgery. *J Pharm Bioallied Sci.* 2016;8(Suppl 1):S36-S8.
63. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Rev.* 2005;19(2):111-23.
64. Fernández Delgado N, Hernández-Ramírez P, Forrellat Barrios M. Platelet functional spectrum: From hemostasis to regenerative medicine. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.* 2012;28.
65. García García V, Corral I, Bascones Martínez A. Plasma rico en plaquetas y su utilización en implantología dental. *Avances en periodoncia e implantología oral.* 2004;16(2):81-92.
66. Gupta V, Bains V, Singh GP, Mathur A, Bains R. Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin In Dentistry: Literature Review. *Asian J Oral Health Allied Sci.* 2011;1.
67. Gassling V, Douglas T, Warnke PH, Acil Y, Wiltfang J, Becker ST. Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(5):543-9.
68. Zwitter K, Kirnbauer B, Jakse N, Schlenke P, Mischak I, Ghanaati S, et al. Growth Factor Release within Liquid and Solid PRF. *J Clin Med.* 2022;11(17).
69. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;936:11-30.
70. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;936:355-67.
71. Collen A, Koolwijk P, Kroon M, van Hinsbergh VW. Influence of fibrin structure on the formation and maintenance of capillary-like tubules by human microvascular endothelial cells. *Angiogenesis.* 1998;2(2):153-65.
72. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;936:426-37.
73. Ghanaati S, Heselich A. „Platelet-rich fibrin“ zur Anwendung in der regenerativen dentoalveolären Chirurgie. *wissen kompakt.* 2023;17(2):91-8.
74. Barley OR, Chapman DW, Abbiss CR. Reviewing the current methods of assessing hydration in athletes. *J Int Soc Sports Nutr.* 2020;17(1):52.
75. Belval LN, Hosokawa Y, Casa DJ, Adams WM, Armstrong LE, Baker LB, et al. Practical Hydration Solutions for Sports. *Nutrients.* 2019;11(7).
76. Armstrong LE, Johnson EC. Water Intake, Water Balance, and the Elusive Daily Water Requirement. *Nutrients.* 2018;10(12).
77. Ayotte D, Jr., Corcoran MP. Individualized hydration plans improve performance outcomes for collegiate athletes engaging in in-season training. *J Int Soc Sports Nutr.* 2018;15(1):27.
78. Feldberg W, Guertzenstein PG, Rocha e Silva M, Jr. Vasopressin release by nicotine: the site of action. *Br J Pharmacol.* 1975;54(4):463-74.
79. Hashimoto H, Noto T, Nakajima T, Kato N. Effect of ethanol and acetaldehyde on the release of arginine-vasopressin and oxytocin from the isolated hypothalamo-hypophyseal system of rats. *Endocrinol Jpn.* 1985;32(4):489-96.
80. Salem RO, Laposata M. Effects of alcohol on hemostasis. *Am J Clin Pathol.* 2005;123 Suppl:S96-105.
81. Sharma R, Sharma S. Physiology, Blood Volume. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2023.
82. Asim M, Alkadi MM, Asim H, Ghaffar A. Dehydration and volume depletion: How to handle the misconceptions. *World J Nephrol.* 2019;8(1):23-32.
83. Colucci G, Stutz M, Rochat S, Conte T, Pavicic M, Reusser M, et al. The effect of desmopressin on platelet function: a selective enhancement of procoagulant COAT platelets in patients with primary platelet function defects. *Blood.* 2014;123(12):1905-16.
84. Kumar YR, Mohanty S, Verma M, Kaur RR, Bhatia P, Kumar VR, et al. Platelet-rich fibrin: the benefits. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2016;54(1):57-61.

85. Zorbas YG, Federenko YF, Naexu KA. Blood plasma concentrations of microelements in endurance trained volunteers during hypokinesia and chronic hyperhydration. *Biological Trace Element Research*. 1994;41(3):253-67.

8 Anhang

8.1 Studienprotokoll

Einfluss der Trinkmenge auf die im Zentrifugat von Eigenblutenthaltene Fibrinmatrix - Platelet-Rich-Fibrin

Studien-ID T-PRF

Eine randomisierte kontrollierte Pilotstudie an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit

Prüfer, Mitarbeiter:

Univ. ZÄ Priv-Doz. DDr. Petra Rugani

ao. Univ.Prof. DDr. Michael Payer

OÄ Priv.Doiz. DDr. Barbara Kirnbauer

Cmd Lukas Clemens Schneeberger

PAss Erika Hafner

Medizinische Universität Graz

Univ. Klinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit

Billrothgasse 4, 8010 Graz, +43/316/385-13280, petra.rugani@medunigraz.at

Inhaltsverzeichnis

1 Wissenschaftlicher Hintergrund	55
2 Ziel	57
3 Patient*innen	57
4 Zielgrößen	57
5 Methodik	57
6 Auswertung	58
7 Datenschutz	58
8 Referenzen	58

Wissenschaftlicher Hintergrund

Platelet-Rich-Fibrin, kurz PRF, definiert sich als eine autologe fibrinreiche Matrix und wird durch die Zentrifugation aus peripher entnommenem Blut gewonnen. PRF enthält neben Fibrin auch wichtige Wachstumsfaktoren sowie eine große Anzahl an weißen Blutkörperchen, welche allesamt einen wichtigen Beitrag zur Gewebsregeneration leisten. Die gewonnene Fibrinmatrix kann nun als Membran, als Clot (A-PRF) oder als Flüssigkeit (i-PRF) verwendet werden und so den Heilungsverlauf positiv beeinflussen.

Die venöse Blutabnahme stellt den Grundstein jeder Art der Herstellung von PRF dar. Die daraus gewonnenen Blutproben werden dann zentrifugiert, wo grundsätzlich zwischen vertikaler und horizontaler Zentrifugationsrichtung entschieden werden kann. Schon Lourenço ES et al. haben diese unterschiedlichen Zentrifugationstechniken, in Bezug auf das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren, Leukozyten sowie Thrombozyten und wichtigen Zytokinen in den Zentrifugaten untersucht. Ihre Untersuchungen ergaben, dass grundsätzlich beide Zentrifugationstechniken zu sehr brauchbaren PRF-Membranen mit ähnlicher Struktur und zellulärer Zusammensetzung führen, jedoch die horizontale Zentrifugation eine höhere Freisetzung von Wachstumsfaktoren induziert [1]. Die durch die Zentrifugation gewonnenen PRF-Membranen haben einen sehr großen Anwendungsbereich, jedoch wird es in der oralen Chirurgie hauptsächlich für die socket preservation, zum Komplikationsmanagement bei Weisheitszahnentfernungen und als Membran bei Knochenaufbauten verwendet. Grundlage dafür ist, dass die Wundheilungsprozesse von Hart- und Weichgewebe durch konzertierte Interaktionen von intra- und extrazellulären Abläufen, mediiert durch Signalproteine, ablaufen. Die in PRF enthaltenen Thrombozyten tragen durch Agglutination und Ausschüttung von Wachstumsfaktoren, zur Wundheilung bei [3]. Des Weiteren wird PRF in der Literatur mit vielen positiven Aspekten assoziiert. Kumar et al. beschreiben PRF als einfache Methode, um autologes Blut mit minimaler Manipulation des Blutsystems zu gewinnen, sowie als sehr gutes biokompatibles Material, welches sogar zusammen mit anderen Augmentaten verwendet werden kann. Zusammenfassend sind PRF-Membranen ein perfekter biologischer Konnektor zwischen verschiedenen Augmentationsmaterialien,

welches die Neoangiogenese fördert und die Einlagerung von Stammzellen bzw. Osteoprogenitorzellen als Vorstufen der Osteoblasten in das Zentrum des Augmentats fördert [3].

In der Studie soll untersucht werden, ob die „Trinkmenge“ der Proband*innen auf das Vorhandensein der leukozyten- und thrombozytenreichen Fibrinfraktion in Blutproben einen Einfluss hat.

Die Dehydration reduziert das totale Plasmavolumen, steigert jedoch den Hämatokrit, welcher als zellulärer Anteil der Blutbestandteile des Vollblutes definiert wird. Der Hämatokrit stellt nicht den direkten Parameter für die zelluläre Hydratation dar, sondern wird vielmehr als Stellgröße für das Blutplasma gesehen. Aus diesem Grund ist ein positiver Einfluss der Steuergröße auf die Zielgröße, PRF, zu erwarten [4].

Weiters ist es interessant den Hydrationsstatus der Proband*innen zu ermitteln, um dann mittels einem Trinkprotokoll in den perfekten Status der Euhydratation zu kommen, um so den Einfluss auf das im Plasma enthaltene PRF zu untersuchen. Grundsätzlich kann die Euhydratation mit der Plasmaosmolalität, den Änderungen des Plasmavolumens sowie dem Gehalt von antidiuretischem Hormon, kurz ADH, im Blutplasma ermittelt werden.

Euhydratation ist durch eine ADH-Plasmakonzentration von 2 pg/ml definiert, was äquivalent einer täglichen Wasseraufnahme von 1,8 L/24h ist. Das Trinkprotokoll muss dann so gestaltet sein, dass pro 15 Minuten nicht mehr als 350ml Wasser getrunken werden, da der Körper dies sonst nicht aufnehmen kann [5,6,7].

Ziel

Ziel dieser Studie ist es eine Aussage bezüglich des Einflusses der Trinkmenge bzw. des Trinkverhaltens auf das Zentrifugat von Eigenblut zu erlangen.

Möglicherweise besteht eine positive Auswirkung/Proportionalität der Trinkmenge bzw. des richtigen Trinkverhaltens auf das vermehrte Vorhandensein der leukozyten- und thrombozytenreichen Fibrinfraktion in Blutproben.

Patient*innen

Das Patient*innenkollektiv soll 30 Personen umfassen, wobei die Proband*innen je zweimal getestet werden.

Die Teilnehmer*innen werden primär aus der Kohorte der Studierenden der Zahnmedizin mittels Aushang, um einem Abhängigkeitsverhältnis Abhilfe zu schaffen sowie persönlicher Ansprache rekrutiert.

Die Teilnehmer*innen dieser klinischen Studie, sind aufgrund der Nichtkenntnis betreffend des Neuigkeitswertes der Sache, absolut unvoreingenommen und stehen in keinem Abhängigkeitsverhältnis mit den Studieninitiatoren.

Zielgrößen

Die Hauptzielgröße ist die Menge des zentrifugierten Blutplasmas in einer Probe von 10 ml Eigenblut bei der autologen Herstellung von PRF.

Methodik

Die Durchführung der klinischen Studie erfolgt innerhalb von drei unterschiedlichen Zeitpunkten, welche zwei Visiten beinhaltet. Nach der Rekrutierung der Proband*innen und der Unterzeichnung des informed consent zum Zeitpunkt 1, erfolgt die Ausgabe der Trinkprotokolle und die Einladung zu zwei Studienvisiten zu den Zeitpunkten 2 und 3. Bei Visite 1 zum Zeitpunkt 2, sollen die Proband*innen 1 Tag vor der Studienvisite ihr Trinkverhalten reduzieren. Bei der Visite 1 erfolgt schließlich die Abnahme und anschließende Zentrifugation von 10 ml Eigenblut. Direkt im Anschluss wird die Menge der gewonnenen Plasmafraktion in ml ermittelt.

Zum Zeitpunkt 3 bei der Visite 2 erfolgt abermals die Abnahme und Zentrifugation derselben Menge Eigenblut (10ml), wobei die Proband*innen am Tag zuvor ein vorgegebenes Trinkprotokoll eingehalten haben.

Anhand der ausführlichen Protokollierung der Trinkmengen und der anschließend gewonnenen Blutplasmen kann eine Beziehung, respektive Wechselwirkung, der Einflussgröße auf die Zielgröße bestimmt werden.

Auswertung

Die mögliche Korrelation zwischen der Einflussgröße und der Zielgröße wird statistisch ausgewertet, respektive dargestellt.

Die erhobenen Daten stellen eine Messwiederholung dar, weswegen sie paarweise ausgewertet werden.

Die Nullhypothese ist, dass ein optimiertes Trinkprotokoll, keinen Einfluss auf die gewonnene Menge an Blutplasma hat.

Datenschutz

Alle Proband*innen werden mit einer fortlaufenden Nummer codiert (pseudonymisiert). Nur autorisierte Personen haben Zugriff auf die Originaldaten.

Referenzen

- 1) Lourenço ES, Alves GG, de Lima Barbosa R, Spiegel CN, de Mello-Machado RC, AlMaawi S, et al. Effects of rotor angle and time after centrifugation on the biological in vitro properties of platelet rich fibrin membranes. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2021;109(1):60–8
- 2) K. Retna Kumar, K. Genmorgan, S. M. Abdul Rahman, M. Alaguvel Rajan, T. ArulKumar, 1 and V. Srinivas Prasad. Role of plasma-rich fibrin in oral surgery. *J PharmBioallied Sci.* 2016 Oct; 8(Suppl 1): S36–S38.

- 3) Barley, O. R., Chapman, D. W., & Abbiss, C. R. (2020). Reviewing the current methods of assessing hydration in athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 17(1), 52.
<https://doi.org/10.1186/s12970-020-00381-6>
- 4) Belval, L. N., Hosokawa, Y., Casa, D. J., Adams, W. M., Armstrong, L. E., Baker, L.B., Burke, L., Chevront, S., Chiampas, G., González-Alonso, J., Huggins, R. A., Kavouras, S. A., Lee, E. C., McDermott, B. P., Miller, K., Schlader, Z., Sims, S., Stearns, R. L., Troyanos, C., & Wingo, J. (2019). Practical Hydration Solutions for Sports. *Nutrients*, 11(7), 1550.
<https://doi.org/10.3390/nu11071550>
- 5) Armstrong, L. E., & Johnson, E. C. (2018). Water Intake, Water Balance, and the Elusive Daily Water Requirement. *Nutrients*, 10(12), 1928.
<https://doi.org/10.3390/nu10121928>
- 6) Ayotte, D., Jr, & Corcoran, M. P. (2018). Individualized hydration plans improve performance outcomes for collegiate athletes engaging in in-season training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 27.
<https://doi.org/10.1186/s12970-018-0230-2>

Weitere Referenzen:

Miron Rj, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Wang HL, Chandad F, Nacopoulos C, Simonpieri A, Aalam AA, Felice P, Sammartino G, Ghanaati S, Hernandez MA, Choukroun J. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2017 Jul;21(6):1913-1927.

Eduardo Borie^{1,2}, Daniel García Oliví³, Iara Augusta Orsi², Katia Garlet⁴, Benjamín Weber⁵, Víctor Beltrán¹, Ramón Fuentes. „Platelet-rich fibrin

application in dentistry: a literature review." *Int J Clin Exp Med* 2015;8(5):7922-7929.

Verboket RD, Anbar B, Söhling N, Konradowitz K, Marzi I, Ghanaati S, et al. Changes in platelet-rich fibrin composition after trauma and surgical intervention. *Platelets* [Internet]. 2020;31(8):1069–79. Available from: <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1714575>

Mullish BH, Williams HRT. *Clostridium difficile* infection and antibiotic-associated diarrhoea. *Clin Med J R Coll Physicians London*. 2018;18(3):237–41.

Ghosh D, Veeraraghavan B, Elangovan R, Vivekanandan P. Antibiotic resistance and epigenetics: More to it than meets the eye. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(2):1–16

8.2 Case Report Form

Pilotstudie

Einfluss der Trinkmenge auf die im Zentrifugat von Eigenblut enthaltene Fibrinmatrix - Platelet-Rich-Fibrin (PRF)

Prüfer: *Petra Rugani, Univ. ZÄ. Priv-Doz. Dr. med. dent. et. scient. med.*

Sponsor

Abteilung für Orale Chirurgie und Kieferorthopädie, Univ. Klinik für Zahnmedizin und Mundgesundheits Graz, Univ. Prof. DDr. Norbert Jakse

Billrothgasse 4, 8010 Graz

CRF Version Nr. 2, 12.09.2022

Teilnehmer*in Nr.

--

Teilnehmer*in – ID

TPRF

Visiten	1	2	3
Wochen (Wo)	-2 Wo \pm 7d	0 \pm 5d	2 Wo \pm 5d
IC	x		
Ein-und Ausschlusskriterien	X		
Krankengeschichte	X		
Begleitmedikation	x	x	x
Unerwünschte Ereignisse		X	x
Blutabnahme + Zentrifugat		X	x
Erfassung Trinkverhalten		X	x

Visite 1 , Datum:

IC unterzeichnet	___/___/_____ (DD / MM /YYYY)
-------------------------	----------------------------------

<i>Demografie:</i>	
Name:	
Geburtsdatum:	
Geschlecht:	
Adresse:	
Telefonnummer:	
Email:	
Größe in cm:	
Gewicht in kg:	

<i>Risikofaktoren:</i>	
Sind Sie Raucher*in?	
Trinken Sie regelmäßig Alkohol, wenn Ja wieviel?	
Leiden Sie an chronischem Stress?	

<i>Erkrankungen:</i>	
Leiden Sie an einer der folgend aufgelisteten Erkrankungen:	
Diabetes Mellitus ?	
Nierenerkrankung?	
Herz-Kreislaufferkrankung?	
Tumorerkrankung? wenn ja, welcher Therapieansatz?	
Bluthoch/-Tiefdruck?	

Medikation/Dauertherapie:Nehmen Sie regelmäßig
Medikamente? Wenn ja welche?Sind Sie in laufender ärztlicher
Behandlung? Wenn ja warum?**Abschließende Checkliste:**

		JA	NEIN
1.	Ein- und Ausschlusskriterien erlauben eine Teilnahme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.	Alle Daten des 1. Besuchs erhoben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.	Allgemeine und Medikamenten-Anamnese erhoben?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Eignung zur Teilnahme

Eignet sich der Patient / die Patientin an der Studie teilzunehmen?	<input type="checkbox"/> JA
Unterschrift des Prüfers: _____ Date : ___ / ___ / _____ (DD / MM / YYYY)	<input type="checkbox"/> NEIN, bitte unten Grund anführen
Name des Prüfers: _____	

Gründe für die Nicht-Eignung

1.

2.

<i>Visiten:</i>		
	<u>Visite 2</u>	<u>Visite 3</u>
Datum:		
Reduktion des Trinkverhaltens?	Ja / Nein	-
Einhaltung des Trinkprotokolls?	-	Ja / Nein
Plasmafraktion nach Zentrifugation in ml?		

PRINCIPAL INVESTIGATOR'S SIGN OFF

Principal Investigator's Signature Statement:

I have reviewed this CRF and confirm that, to the best of my knowledge, it accurately reflects the study information obtained for this participant. All entries were made either by me or by a person under my supervision who has signed the Delegation and Signature Log.

Principal Investigator's Signature:

Principal Investigator's Name:

**Date of
Signature:**

___/___/_____
(DD / MM / YYYY)

**ONCE SIGNED, NO FURTHER CHANGES CAN BE MADE TO THIS CRF
WITHOUT A SIGNED DATA QUERY FORM.**

8.3 Trinkprotokoll

	50-60kg	60-70kg	70-80kg	80-90kg	> 90kg	
<i>Uhrzeit</i>						<i>Status</i>
08.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
09.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
10.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
11.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
12.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
13.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
14.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
15.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
16.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	

17.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
18.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
19.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	
20.00 Uhr	150 ml	175ml	200ml	230ml	260ml	

Nota bene:

Die angegebenen stündliche Richtwerte beziehen sich auf die Flüssigkeitszufuhr von reinem Wasser.

Weiters sind dies Richtwerte für einen Menschen mit durchschnittlicher körperlicher Aktivität.

Falls zusätzlich tagsüber Sport gemacht wird oder eine anstrengende körperliche Betätigung ansteht, bitte die Trinkmenge während, vor oder nach der Aktivität auf maximal 800ml pro Stunde ergänzen, da dies die maximale Flüssigkeitsresorptionsrate darstellt. Des Weiteren ist es essenziell in diesem Fall, aufgrund der Rückresorption, maximal 350ml je 15 Minuten zu trinken.