

FACULDADE SETE LAGOAS

JULIANA GUIMARÃES MINEI

Impacto Cirúrgico e Biológicos dos Concentrados Plaquetários

São Caetano do Sul - SP

2021

JULIANA GUIMARÃES MINEI

Impacto Cirúrgico e Biológicos dos Concentrados Plaquetários

Monografia apresentada à Faculdade Sete Lagoas de Minas Gerais, como exigência parcial para obtenção do título de Especialização pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA.

Área de Concentração Implantodontia

Orientador: Prof.º Dr. Rodrigo Takamura Otaga

São Caetano do Sul - SP

2021

Minei, Juliana Guimarães

Impacto Cirúrgico e Biológicos dos Concentrados Plaquetários

Juliana Guimarães Minei; São Caetano do Sul – 2021.

Páginas: 46

Orientador: Prof^o Dr. Rodrigo Takamura Otaga

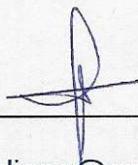
Monografia de conclusão de curso de especialização – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia -- Faculdade Sete Lagoas de Minas Gerais.

- 1- PRF (Fibrina Rica em Plaquetas) 2- Cicatrização 3- Regeneração Tecidual Guiada 4- Implante dentário

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Caetano do Sul, 27/03/2021.

Assinatura: _____



E-mail: [mineijuliana@gmail.com](mailto:minei.juliana@gmail.com)

FOLHA DE APROVAÇÃO

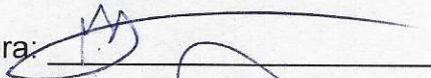
Impacto Cirúrgico e Biológico dos Concentrados e Plaquetários [Trabalho de conclusão de Curso de Especialização]. São Paulo: Faculdade Sete Lagoas de Minas Gerais; 2021.

São Caetano do Sul, 27/03/2021.

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). Rodrigo Takamura Otaga _____

Titulação: Especialista de Implantodontia - FUNDECTO _____

Julgamento: Aprovada. Assinatura: 

2) Prof(a). Dr(a). Alex Casati Lopes _____

Titulação: Mestre em Implantodontia _____

Julgamento: Aprovado Assinatura: 

3) Prof(a). Dr(a). Mariana dos Santos Fernandes Lopes _____

Titulação: Doutora em Biologia Bucal-Dental _____

Julgamento: Aprovada Assinatura: M. Fernandes _____

DEDICATÓRIA

Dedico este projeto a todos os professores que me influenciaram na minha trajetória. Em especial ao professor Rodrigo Takamura Otaga, meu orientador, com quem compartilhei minhas dúvidas e angústias, sua motivação foi essencial para a conclusão da monografia. Aos meus amigos companheiros de jornada sempre dispostos a ajudar, obrigada pela convivência. Aos meus amigos e professores Mariana dos Santos Fernandes Lopes, Alex Casati Lopes, Tatiane Basso, Simone Justi, Denis Alexandre Panhota, Thiago Ferreira.e a equipe da Associação Brasileira de Odontologia regional do ABC.

AGRADECIMENTOS

“Agradeço a Deus por ser essencial em minha Vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, ao meu marido Misael Neris, meus pais Adalcina Guimaraes Teixeira e Sousim Minei, minha grande força Pérola Maria Udovic, que não mediram esforços para que eu chegasse a esta etapa de minha vida.

Lista de Siglas

PRP	Plasma Rico em Plaquetas
PRF	Fibrina Rica em Plaquetas
L-PRF	Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos
rpm	Rotação por Minuto
G	Aceleração da gravidade
A-PRF	Fibrina Rica em Plaquetas Advanced
I-PRF	Fibrina Rica em Plaquetas Injetável
MSCs	Células mesenquimais
GH	Hormônio de crescimento
PDGE	Fator de Crescimento Fibroblástico
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador
VEGF	Fator de Crescimento Vasculoendotelial
EGF	Fator de Crescimento Endotelial
IGF	Fator de Crescimento Insulínico – agentes de proteção
FGFb	Fator de Crescimento Fibroblástico
PDGF	Fator de Crescimento Derivados das Plaquetas
EDTA	Ácido tetra-acético
HP	Heparina de Sódio
PPP	Plasma e Plaquetas
MSSA	Multiplos Staphylococcus aureus resistente a Meticilina
MRSA	Staphylococcus aureus resistente a Meticilina
CD34	Marcador Tumoral
LSCC	Low Speed Centrifugation concept
BMP	Proteína morfogênica do osso

TNF α	Fator de Crescimento Tumoral
IL-10	Interleucina 10
Células NK	Linfócitos Citotóxico, combate células tumorais
VWF	Fator de Willebrand

SUMARIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3 PROPOSIÇÃO.....	23
4 Discussão	23
4.1 Fatores de crescimento e suas funções	23
4.1.1 Plaquetas	24
4.1.2 Fibrina	26
4.1.3 PDGF	27
4.1.4 IGF	28
4.1.5 TGF- β	28
4.1.6 VEGF.....	29
4.1.7 EGF.....	29
4.2 Cascata de coagulação:.....	29
4.2.1 Fatores de Coagulação	32
5 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A – Triagem clínica para coleta sanguínea.....	48

RESUMO

A biotecnologia associada a regeneração óssea guiada, desenvolvida por Choukroun em sua primeira geração de PRP - fibrina rica em plaquetas - alavancou diversos estudos e avanços técnicos chegando a outros protocolos de compostos plaquetários com benefícios em procedimentos cirúrgicos e odontológicos.

Busca-se neste trabalho fazer um amarrado entre esta primeira geração de fibrina rica em plaquetas versus geração posterior de concentrados plaquetários procurando entender suas aplicações e vantagens, onde através destes novos protocolos puderam ser desenvolvidos técnicas com objetivo de melhorar a velocidade de recuperação do paciente aliado à maior eficácia dos procedimentos cirúrgicos.

Um breve resumo sobre fatores de crescimento e cascata de coagulação é demonstrada no capítulo quatro (04), e por fim concluindo o presente trabalho.

Palavras chave: Fibrina Rica em Plaquetas, Plasma Rico em Plaquetas, Regeneração Óssea Guiada, Engenharia Tecidual, I-PRF, LPRF, Fatores de Crescimento Plaquetários.

ABSTRACT

The bone regeneration biotechnology developed by Choukroun on its first platelet-rich fibrin generation has been motivation of several authors to enhance developments of new technology and keep going one step more in many others fibrin protocols with many advantages related to recovery time on patients as well as orthodontics' procedures effectiveness.

Seeks to make in this work a link among this first generation of platelet-rich fibrin versus next generation of platelet concentrate, in order to understand its applications and advantages, where throughout these new protocols' techniques could developing new paths with objective of achieving greater patient recovery combined with efficacy of surgical procedures.

A brief summary of growth factors and coagulation cascade is characterized in chapter four (04), and finally concluding the present work.

Keywords: Platelet Rich Fibrin, Platelet Rich Plasma, Guided Bone Regeneration, Tissue Engineering, I-PRF, LPRF, Platelet Growth Factors.

1 INTRODUÇÃO

A biotecnologia associada a regeneração óssea guiada tem sido amplamente estudada nos últimos anos, pela sua utilização em procedimentos cirúrgicos orais, onde foi desenvolvida a técnica do Plasma Rico em Plaquetas (PRP), seguida pela segunda geração de agregados plaquetários, o Plasma Rico em Fibrina (PRF), ambas desenvolvidas por Choukroun na França.

O uso de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF), segunda geração como concentrados plaquetários, tem como vantagem ser um material autólogo, orgânico, atóxico e não imunorreativo de fácil manuseio, baixo custo, sem aditivos bioquímicos, com resultados promissores na regeneração tecidual e na cicatrização. A partir desse material ocorre uma evolução na busca de uma regeneração tecidual completa e eficaz.

Foram desenvolvidos vários protocolos de centrifugação para uma melhora na qualidade e resolução mais crítica do processo de cicatrização tecidual, através da migração, proliferação, diferenciação celular, armazenamento e liberação dos fatores de crescimento, e angiogênese.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Camargo G. C. A. G. *et al.* (2012), realizaram uma revisão integrativa por consulta no Pubmed e na Biblioteca Virtual de saúde (BVS) com palavras chave como: Plasma Rica em Fibrina, Plasma Rica em Plaquetas, Regeneração. Conclui-se ali que a primeira proposta de concentrados plaquetários para uso clínico inclui o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) que necessita de anticoagulantes nos tubos de coleta de sangue e pode ser utilizado de forma líquida ou em gel, formado após a adição de um agente ativador de coagulação de plaquetas.

Costa A. P. *et al.* (2013), descreveram que aplicação das plaquetas nos locais lesionados se aderem ao colágeno formando um tampão plaquetário através da ativação dos fatores de crescimento, macrófagos, osteoblastos, fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas. As plaquetas representam o componente mais importante quando objetivo é a modulação cicatricial, apresentando propriedades anti-inflamatórias e regenerativas. Em conjunto existe células brancas que garantem a resistência natural aos fatores que dizem respeito a processos infecciosos ou alérgicos, estes componentes são, de fato, importantes para defesa do organismo contra agentes estranhos. Não obstante e de fundamental importância é tranquilizar o paciente quanto a ansiedade e o temor por agulhas, pois a visualização do sangue pode causar um reflexo vagal com consequente síncope e ativação do sistema nervoso simpático, produzindo vasoconstrição, sendo esse um fenômeno indesejável e se torna um fator complicador para a punção venosa.

Ghanaati S. *et al.* (2014), com o objetivo de melhorar o conceito de Fibrina Rica em Plaquetas realizaram este estudo para avaliar histologicamente e histomorfologicamente o padrão de cultivo celular de fibrinas de coágulo aplicando os protocolos de centrifugação de 815G x 12 minutos para L-PRF e 250G x 14 minutos para A-PRF.

O A-PRF mostrou uma estrutura mais solta com espaço inter-fibroso e mais células encontradas no coágulo rico em fibrina, células foram distribuídas de maneira mais uniforme em todo o coágulo com maior quantidade na parte distal do coágulo quando em comparação ao L-PRF.

Rodrigues G. *et al.* (2015), buscaram evidências dos benefícios na formação óssea e regeneração de Fibrinas Rica em Plaquetas, realizaram levantamento bibliográfico dos artigos publicados entre 1985 e 2013. O termo utilizado foi Fibrina Rica em Plaquetas (L-PRF), vinte e um artigos foram selecionados a fim de relatar a performance de cicatrização e regeneração óssea pela Fibrina Rica em Plaquetas (L-PRF) na Implantodontia. Os resultados mostraram diferenças significativas favorecendo o grupo experimental em comparação ao grupo controle, para torque de remoção, neoformação óssea e área de contato entre o osso e implante.

Mourão F. A. B. *et al.* (2015), pesquisaram os concentrados plaquetários de segunda geração, até o recente coágulo avançado de Fibrina Rica em Plaquetas (I-PRF), este concentrado plaquetário propõe uma aceleração na cicatrização de tecidos moles e duros através do aumento dos fatores de crescimento. utilizando agregados plaquetários injetáveis autólogos com a utilização de materiais particulados para enxertia óssea na sua forma polimerizada. Em 1990 foi apresentado o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), seguido pela segunda geração de agregados plaquetários o Plasma Rico em Fibrina (PRF) até o recente coágulo avançado de fibrina rica em plaquetas (A-PRF).

Estes concentrados plaquetários propõem uma aceleração na cicatrização de tecidos moles e duros através do aumento da concentração de fatores de crescimento, dos quais seguem: Fator de crescimento transformante Beta (TGF- β); Fator de crescimento semelhante a insulina (IGF1); Fator de crescimento derivados das plaquetas (PDGF); Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF); Fator de crescimento fibroblástico (FGF); Fator de crescimento epidermal (EGF) e; Fator de crescimento epidermal, derivados das plaquetas (PDEGF). A obtenção do L-PRF só foi possível pela utilização de tubos de coleta sem aditivos e com tempo de centrifugação menor, diferente dos tubos com ativadores de coágulo usualmente utilizados para análise bioquímica sanguínea e na confecção do L-PRF, verificou-se que em procedimentos regenerativos a técnica de L-PRF possibilita a incorporação de enxertia óssea sem uso de anticoagulantes ou de outros aditivos com grande sucesso.

Meirelles M. E. (2016), descreveram a importância da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares, através de pesquisas bibliográficas.

Carvalho M. G. et. al. (2016), revisaram o conceito da cascata de coagulação e suas interações bioquímicas dos fatores de coagulação, vias intrínseca, extrínseca e comum.

Pasche G. *et al.* (2016), realizaram um estudo para a obtenção do PRP (Plasma Rico em Plaquetas) e seu uso na odontologia onde vem sendo utilizado desde a década de 90 para acelerar o reparo ósseo proporcionando uma regeneração óssea. As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos anucleados da célula da medula óssea denominados megacariócitos, que realizam a formação do coágulo e liberação dos fatores de crescimento para a coagulação sanguínea, sendo obtido de forma simples com base em uma amostra de sangue do indivíduo no pré-operatório onde esse sangue centrifugado é retirado a concentração de plaquetas que se torna um gel e coloca-se na ferida cirúrgica onde se inicia a liberação dos fatores de crescimento, o que vem a acelerar a cicatrização de feridas com resultados promissores.

Segundo Choukroun M. D. *et al.* (2016), há 2 décadas atrás a fibrina rica em plaquetas (PRF) foi introduzida pela primeira vez na área médica, inicialmente o objetivo primário era desenvolver uma terapia onde os concentrados de plaquetas pudessem ser introduzidos nas feridas, utilizando efetivamente a capacidade de cura natural do corpo. Isto foi conseguido através da coleta dos fatores de crescimento derivados do sangue de uma forma natural o plasma rico em plaquetas (PRP) e o fator de crescimento rico em plaquetas (PRGF) foram comercializados mas continham subprodutos secundários que eram ambos inibidores não naturais e conhecidos na cicatrização das feridas, ao remover esses anticoagulantes e modificar os protocolos de centrifugação, o PRF foi introduzido alguns anos depois, onde incluiu o importante papel da fibrina e liberação preferencial de fatores de crescimento durante períodos mais longos de tempo de PRF, além disso ao introduzir um novo conjunto de células em concentrados de plaquetas (leucócitos) com grande sucesso na cicatrização. Nos últimos 5 anos modificações adicionais na velocidade e tempo de centrifugação melhoraram o PRF agora conhecido como “centrifugação de baixa velocidade”, onde três componentes principais da PRF foram observadas como componentes chave que auxiliam na regeneração tecidual, o PRF possui uma matriz de fibrina tridimensional contendo vários fatores de crescimento TGF β , PDGF, e VEGF, fator de crescimento de insulina IGF, fator de crescimento epidérmico EGF, e leucócitos (em

oposição às plaquetas) são os principais implicadores no processo de cicatrização de feridas teciduais capazes de aumentar ainda mais a formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e formação de tecidos.

Oliveira P. K. *et al.* (2017), descreveram o uso do LPRF como uma técnica simples e rápida de baixo custo, atua como bio-barreiras protegendo o leito enxertado; fonte de fatores de crescimento e leucócitos; estimula a angiogênese, formação de matriz óssea; acelera a cicatrização e maturação do tecido gengival; possui propriedades anti-hemorrágicas e antibacterianas, redução de dor e edema.

Kobayashi F. M. *et al.* (2017), modificaram a velocidade de centrifugação e o tempo com conceito de baixa velocidade para quantificar a qualidade de rede de fibrina coletada através do uso do PRF e suas derivações alcançadas. Sabendo-se que o PRF foi introduzido como uma fonte autógena de sangue onde estimulava os fatores de crescimento para evitar a cascata de coagulação completa, por não conter anticoagulantes, fornece uma matriz de fibrina tridimensional que pode ser usada como uma “rede” onde protege e forma uma membrana com regeneração óssea guiada e regeneração tecidual. Observaram que com um tempo maior de centrifugação e diminuição da velocidade, os fatores de crescimento foram liberados em maior quantidade e por mais tempo, número de leucócitos foram aumentados, como de fatores de crescimento: PDGE, TGF- β 1, VEGF, EGF, IGF.

Morqui *et al.* (2017), compilaram estudos referentes aos concentrados plaquetários autólogos de PRP (Plasma Rica em Plaquetas) e PRF (Fibrina Rica em Plaquetas) realizaram pesquisas entre os anos de 2015 e 2016 sobre os concentrados autógenos e seus métodos de utilização na prática odontológica. O Plasma Rico em Plaquetas é derivado do processamento laboratorial de sangue autógeno, colhido no momento pré-operatório, sua terapêutica se fundamenta na aceleração do processo de cicatrização por meio de fatores de crescimento. O preparo do PRP utiliza trombina bovina e associação de cloreto de cálcio para iniciar a última fase de coagulação e de polimerização de fibrina súbita. O método de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) utiliza-se de sangue autólogo sem o uso de anticoagulante, ou trombina (ou qualquer outro agente de gelificação), utiliza-se o sangue centrifugado sem qualquer adição de outro material não autógeno, tornando-se a técnica mais fácil de ser realizada e com grande eficácia, o coágulo natural otimizado, melhora o processo de cicatrização natural. Na Implantodontia é utilizado em: Levantamentos de seio maxilar; como membrana;

material de preenchimento; tratamento de perfurações da membrana do seio maxilar coadjuvante a regeneração óssea guiada; Peri-implantite; Preenchimento de alvéolo após a exodontia; Pode ser suturado nas bordas de retalho; Manutenção de volume ósseo em implantes imediatos; Aumento de tecido mole e recobrimento de implantes.

Pôde-se concluir que L- PRF e PRP apresentam resultados semelhantes sendo a técnica de L-PRF mais simples, menos sensível e consumir menos tempo comparado a técnica do PRP.

Fernandes G. V. O. *et al.* (2017), realizaram estudos para esclarecimento dos benefícios e limitações do uso do plasma rico em fibrina (PRF) em regeneração óssea guiada. O enxerto ósseo autógeno cuja área doadora é o próprio paciente se caracteriza pela capacidade de osteoindução e osteocondução considerando ser um material padrão para a reconstrução de processos alveolares atróficos, sofrendo limitações de acordo com a extensão da área a ser reparada, pesquisaram também o uso de ossos homogêneos e heterogêneos, que não contém células vivas, mas podem apresentar características osteocondutoras na sua integração nos sítios receptores, não necessitando de um sítio cirúrgico (doador), assim necessitam menor tempo cirúrgico para realização das reconstruções.

Diniz C. P. (2017), descreveu a relação biológica envolvida entre a regeneração tecidual e o PRF.

Angiogênese é explicada pela estrutura tridimensional do gel de fibrina e pela ação simultânea de citocinas presas na malha de fator de crescimento fibroblástico (FGFb), angiopoetina (VEGF), fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF), que somado a rigidez da matriz do PRF influenciam diretamente na angiogênese.

As plaquetas desempenham um papel crucial na hemostasia e também são importantes no processo regenerativo das lesões e tecidos. Durante a degranulação das plaquetas que ocorre no momento da sua ativação, liberam-se citocinas estimuladoras da migração e proliferação celular na matriz de fibrina dando início as primeiras fases da cicatrização.

Além dos enxertos disponíveis para a reparação óssea foram desenvolvidos biomateriais para melhorar o processo de regeneração através da potencialização da

atividade de cicatrização como o PRP (Plasma rico em Plaquetas) e o PRF (Plasma rico em Fibrina).

Sabina D. *et al.* (2018), realizaram estudos sobre o impacto biológico e cirúrgico de leucócitos e fibrina dos concentrados plaquetários com o objetivo de analisar a maior e menor eficácia de células brancas e da fibrina nos concentrados plaquetários de primeira e segunda geração concluíram que:

A autora concluiu que os derivados sanguíneos produziram uma eficácia biológica através da libertação de fatores de crescimento pelas plaquetas e agem na ação imunológica dos leucócitos, uma vez introduzida no local de interesse induzem uma proliferação das células adjacentes com alguma relevância no potencial de diferenciação celular.

Takamori R. E. *et al.* (2018), estudaram o PRF (Plasma Rico em Fibrina) que faz parte da segunda geração dos concentrados plaquetários sendo obtido através de um protocolo aberto, o sangue é coletado em tubos de vidro ou plástico, sem anticoagulantes e imediatamente submetidos a uma centrifugação suave.

O *Advanced* PRF (A-PRF) foi desenvolvido com a proposta de aumentar o número de linfócitos B e T além de plaquetas nas redes de fibrina, onde utilizaram uma velocidade de centrifugação mais baixa (1500 rpm, equivalente a 250G) que a do protocolo inicial do PRF e o tempo de 14 minutos. Esses autores concluíram que ambas as técnicas obtiveram sucesso na formação do coágulo sendo o A-PRF mais eficiente devido a sua grande concentração de plaquetas no coágulo com uma rede de fibrina mais densa e eficaz.

Amaral G. R. *et. al.* (2018), relataram as aplicações do PRP (Plasma Rica em Plaquetas) e do PRF (Plasma Rico em Fibrina) na odontologia devido sua previsibilidade e armação osteocondutora e estimulando as próprias células do paciente no sentido de uma resposta regenerativa com grande potencial de cura.

Aráujo F. R. *et. al.* (2018), analisaram os constituintes celulares e fatores de crescimento presentes no: PRP, PRF e I-PRF e realizaram estudos através de contagem de células por citometria de fluxo e imunoensaio ELISA. Os resultados encontrados foram que ambos apresentaram semelhanças na morfologia das estruturas, sendo encontrados maior quantidade linfócitos e neutrófilos no I-PRF pelo

seu peso molecular ser maior comparado as plaquetas, ao ser centrifugado gerando um grande potencial de cura.

Varela A. H. *et al.* (2018), realizaram pesquisas para elucidar a morfologia e caracterização das células encontradas no I-PRF. Os achados macroscópicos demonstram que o I-PRF na sua forma líquida inicia um processo de polimerização da fibrina adquirindo uma forma de gel após cerca de 20 minutos, a quantidade de células em volume sanguíneo fixo será determinada pelas características individuais de cada paciente e pelo processo de centrifugação, ainda não é conhecida a concentração ideal de plaquetas e de seus fatores de crescimento para a aceleração da regeneração óssea, sabe-se que uma reposta suficiente a concentração de plaquetas começa quando se alcança um aumento de plaquetas 4 a 5 vezes do número inicial de plaquetas. Esses autores relatam que em certas concentrações o derivado plaquetário pode até inibir a regeneração, por isso tem sugerido que a quantidade de 1.000.000 de plaquetas/ μ é uma concentração adequada para alcançar efeitos biológicos vantajosos na reparação tecidual. Testes imuno-histoquímicas para as citocinas IL-10 e TGF β o I-PRF mostrou maiores níveis de imunomarcção, que possuem maior poder imunossupressor. Com isso os autores concluíram, que o processo de polimerização para produção de I-PRF produz uma rede tridimensional de fibrina mais complexa, densa e com fibras mais espessas em relação ao coágulo sanguíneo.

Os critérios de inclusão foram artigos na área de implantodontia com mais de 5 anos de publicação, puderam concluir que o PRF apresentou bom índice de osseointegração com grandes propriedades curativas e regenerativas, excelente biocompatibilidade e bioatividades, ausência de sintomatologia dolorosa, proporcionou uma ótima condição tecidual, acesso rápido aos fatores de crescimento melhorando a aceleração das vias normais de cicatrização.

Medina F. T. *et al.* (2019), realizaram uma sistemática comparação científica dos diferentes tipos de hemoderivados devido as grandes variações intrínsecas e biológicas em produtos autólogos e devido à falta de padronização dos vários protocolos utilizados, conclui-se que produtos de fibrina rico em plaquetas são osteoindutivos (produzem formação óssea ectópica) e o uso dos hemoderivados com partículas de osso substitutos mostraram resultado divergentes, podendo atribuir as variações nos locais do implante. Foram observados uma forte influência na

sobrevivência celular; função e maiores concentrações de exsudato hemoderivados (A-PRF, I-PRF) após 24 horas de incubação que foi associado a efeitos prejudiciais, no entanto foi evidenciado que esse efeito desapareceu para todos os grupos exceto A-PRF, pois produziu uma citotoxicidade impedindo a migração e mineralização celular, sendo possível que vários componentes celulares como: Monócitos; Linfócitos; MSCs, que estão presos na rede de fibrina de A-PRF produziram esses efeitos adversos que não são totalmente descritos ou compreendidos.

Miranda C. R. *et al.* (2019), pesquisaram artigos relevantes para o uso do PRF (Plasma Rico em Fibrina) em revistas científicas datados entre 2014 e 2019.

Silva. C. A. J. *et al.* (2019), demonstraram por meio de uma revisão de literatura a utilização do hormônio do crescimento (GH) em concentrados plaquetários na odontologia como preservação do osso alveolar. O hormônio do crescimento é secretado e tem sua circulação sistêmica a partir da glândula pituitária, diversos tecidos apresentam receptores para o hormônio apresentando função de regulação e diferenciação, além de função autócrina, o hormônio do crescimento desempenha função parácrina (comunicação célula a célula), afetando os osteoclastos e osteoblastos e tornando o metabolismo ósseo propício ao anabolismo, tendo assim papel fundamental nos processos de reabsorção e formação óssea. O hormônio de crescimento liofilizado foi acrescentado ao I-PRF como forma de reconstituinte (hidratando o hormônio de crescimento), e utilizado na loja óssea, o hormônio do crescimento é rapidamente metabolizado e liberado ao longo do tempo melhorando a neoformação óssea ao redor dos implantes.

Zanini A. F. *et al.* (2019), realizaram um estudo com 31 pacientes operados no centro cirúrgico da Escola da Associação Brasileira de Cirurgiões – Dentistas (ABCD) seção Florianópolis, foram realizadas reconstruções horizontais com osso alógeno particulado, Fibrina Rico em Plaquetas (PRF) e I-PRF (Fibrina Rico em Plaquetas Injetável). Todos os enxertos foram realizados por meio da mesma técnica cirúrgica utilizando osso alógeno particulado de A-PRF e I-PRF o período de cicatrização variou de 4 a 8 meses. Pelas características do enxerto a reabsorção pós-cicatrização a variável sexo mostrou diferença significativa nas mulheres com cerca de 44,1%; em homens cerca de 73,3%; em relação a idade dos pacientes e reabsorção óssea em milímetros, mostrou valores que não houve correlação; as condições de saúde dos

pacientes bem como hábitos de tabagismo não estiveram associadas em nenhum dos desfechos.

Medina F. T. *et al.* (2019), realizaram a comparação sistêmica do comportamento dos osteoblastos nos concentrados plaquetários, porém, uma sistemática comparação científica dos tipos diferentes dos hemoderivados (A-PRF, PRF, L-PRF) é uma tarefa árdua, pelas diversas variações intrínsecas e biológicas em produtos autólogos, mas também devido à falta de padronização dos vários protocolos de centrifugação, pode -se concluir que os hemoderivados são osteoindutivos (capacidade de formação óssea ectópica) e alcança grande sucesso quando utilizado em combinação com partículas de osso substituto. Esses autores observaram que a malha de fibrina obtida através do A-PRF apresentaram uma citotoxicidade, ou seja, um impedimento de migração e mineralização celular para maiores concentrações deste produto sanguíneo, é portanto possível que vários componentes celulares (monócitos, linfócitos, MSCs e componentes moleculares , além de trombóticos que estão presos na rede de fibrina A-PRF podem produzir esses efeitos adversos ,efeitos colaterais biológicos que não são totalmente descritos ou compreendidos, o tipo de malha resultante da preparação A-PRF poderia explicar este efeito adverso, depois de realiza o ciclo de centrifugação 208G x 8 minutos os tubos de sangue são colocados em repouso vertical por 5 minutos . permitindo que a coagulação espontânea do A-PRF que se refletem sua composição: O centro do coagulo é composto por uma densa rede de fibrina rodeada por uma estrutura de fibra macia e parcialmente polimerizada, a camada exterior de fibrina pode não ser completamente reticulada, produzindo assim uma estrutura de malha de fibrina fraca que não é capaz de conter todas as pistas bioquímicas, proteínas e fatores de crescimento, que são então liberados de forma rápida e não eficaz, este meio de fatores de crescimento hiperconcentrados pode resultar em um ambiente citotóxico sob condições *in vitro*. Esta hipótese está de acordo com relatos que destacam o papel da rede de fibrina na cinética de liberação de fatores de crescimento.

Seidler K. D. *et al.* (2019), através de pesquisas concluíram que o PRF quando misturado com enxerto ósseo pode atuar como um “conector biológico” que atrai células-tronco que favorece a migração de células osteoprogenitoras para o centro do enxerto estimulando uma neo-angiogênese, essa fibrina permite uma serie de interações celulares e fornece uma matriz provisória na qual as células podem

proliferar, organizar e realizar as suas funções. As vantagens do PRF a seu antecessor PRP se resume basicamente ao modo de preparo, sendo o PRF de fácil obtenção e menos tempo de preparo, o PRF libera seus fatores de crescimento de forma mais contínua e lenta (10 dias de liberação no organismo) comparado ao PRP (1 dia de liberação no organismo), em decorrência de uma polimerização progressiva do PRF tem um aumento de citocinas circulantes nas malhas de fibrina, essa configuração implica em um aumento do tempo de vida dessas citocinas, pois são liberadas e usadas apenas no momento da remodelação. O protocolo utilizado por esses pesquisadores é de 815G x 12 minutos para PRF.

Aires G. C. C. *et al.* (2020), realizaram uma análise a respeito do uso de Fibrina Rica em Plaquetas na implantodontia, onde pode ser utilizada para osseointegração; preservação do osso alveolar em implantes imediatos; levantamento de seio maxilar; regeneração de tecidos moles; aumento do rebordo alveolar. Utilizaram o protocolo de centrifugação de 815G x 12 minutos onde obtiveram uma rede de fibrina mais organizada com membranas mais resistente, em alguns anos alteraram o protocolo de centrifugação diminuindo o tempo e a velocidade de centrifugação para 250G x14 minutos (A-PRF) e 190G x 8 minutos (A-PRF+), que se diferem pelo tempo de centrifugação e concluíram que a alta velocidade de centrifugação tende a empurrar as células incluindo as plaquetas e leucócitos para longe do coágulo, ao diminuir a velocidade de centrifugação uma distribuição mais uniforme de plaquetas e um maior número de granulócitos é alcançado, estes resultados demonstraram que o uso de baixa velocidade para produção do PRF otimiza a produção de fatores de crescimento e resposta celular.

Tornou-se evidente que um aumento no número de leucócitos, e uma distribuição uniforme através da “rede” de PRF, é altamente favorável durante o período de cicatrização de feridas, durante a integração de biomateriais de membranas de barreira de colágeno, ossos e enxertos e implantes, sendo mais completo em números de células o protocolo do A-PRF.

Miron J. R. *et al.* (2020), utilizaram de 24 protocolos para a produção do PRF, produzido por centrifugação horizontal para melhor entender a separação de células sanguíneas, comparada com o uso de centrifugação onde os tubos se encontram inclinados a 45 graus durante a centrifugação. Foram investigados com vários protocolos de centrifugação com diferenças forças centrífuga e tempos diferentes de

centrifugação. Os resultados mostraram que a posição 0 (zero) dos tubos na centrifuga não interferiram no resultado da disposição de células, foi observado também que um protocolo de 700g x 8 minutos foi ideal para obtenção de plaquetas /leucócitos serem distribuídos uniformemente pelas camadas superiores do PRF.

3 PROPOSIÇÃO

Através deste trabalho realizamos uma revisão de literatura sobre o uso dos agregados plaquetários, PRP, L-PRF, I-PRF e A-PRF, como adjuvante a uma regeneração óssea guiada e engenharia tecidual na implantodontia, evidenciamos os protocolos de centrifugação de cada agregado plaquetário, e realizamos um estudo sobre as células, citocinas e fatores de crescimento envolvidos nesta técnica.

Os levantamentos bibliográficos utilizados neste trabalho foram realizados através de buscas por artigos científicos, em banco de dados (Scielo, Medline, Lilacs, Revistas científicas e Livros).

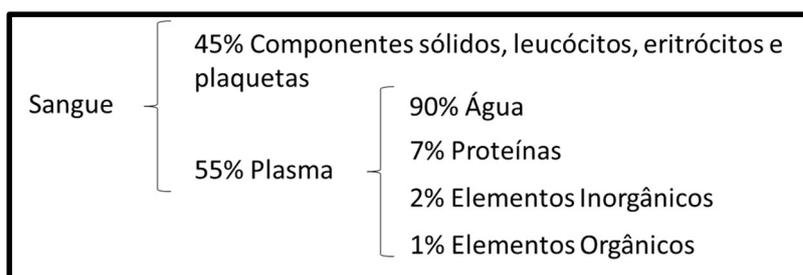
4 Discussão

4.1 Fatores de crescimento e suas funções

O tecido hematopoiético é formado pelo conjunto de sangue periférico e medula óssea, o sangue é constituído por elementos figurados e plasma que corresponde ao líquido intercelular, como mostra a figura 1, conferindo ao sangue suas propriedades, eritrócitos, leucócitos e plaquetas, correspondente aos elementos celulares, após a separação do sangue forma-se na parte superior da camada celular outra camada mais delgada “creme” leucocitária constituída por leucócitos e plaquetas [2].

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos, anucleados, derivados de células da medula óssea, os megacariócitos por sua vez podem originar mais de três mil plaquetas a partir de um único megacariócito, sendo que oitenta por cento (80%) dessas plaquetas estão circulando e os outros vinte por cento (20%) estão no baço, e geralmente possuem de 8 a 10 dias de vida.

Figura 1: Composição sanguínea.



Fonte: O autor.

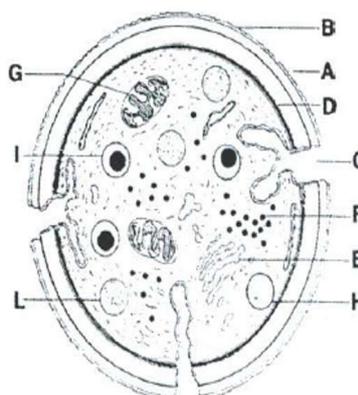
As plaquetas participam ativamente no processo de reparo das feridas sendo as primeiras células presente no local do trauma ^[10].

4.1.1 Plaquetas

As plaquetas desempenham um papel crucial na hemostasia, são células enucleadas que se originam na medula óssea após a maturação e ruptura do citoplasma dos megacariócitos, participam da homeostase formando junto com a fibrina um tampão plaquetário que segura o extravasamento de sangue e libera moléculas sinalizadoras, ocorrendo o início do processo regenerativo específico de cada tecido lesado. As plaquetas são fundamentais para a coagulação, liberação dos fatores de crescimento, adesão do fibrinogênio de desencadeia a formação da rede de fibrina.

Figura 2: Desenho esquemático da plaqueta.

- A- Atmosfera plaquetária
- B- Membrana trilaminar
- C- Sistema canalicular aberto
- D- Citoesqueleto (sistema microtubula e contrátil)
- E- Sistema tubular denso
- F- Glicogeno
- G- Mitocondrio
- H- Grânulo α (β -TG, FP4, fibrinogeno, VIII-Ag, fator de crescimento)
- I- Grânulo δ (ADP, ATP, Sero-tonina, Ca^{++})
- L- Grânulo λ (hidrolases, proteases, catepsinas)



Fonte: Adaptado de - DINIZ, Paulo (2017).

A polimerização das plaquetas sem uso de coagulantes (PRF), tem uma configuração tetraédrica que torna a membrana mais forte e ao mesmo tempo mais flexível, liberando suas citocinas mais lentamente [7].

Os eventos fundamentais que estruturam o PRF são:

- a) Angiogênese;
- b) Imunidade;
- c) Quimiotaxia de células tronco e epitelização.

A angiogênese é explicada pela estrutura tridimensional da fibrina e pela ação simultânea de citocinas presas na malha com fatores de crescimento, a polimerização da fibrina no PRF é mais forte do que nos outros concentrados tornando-se uma matriz mais segura conferindo um caráter mais eficaz. A angiogênese é estimulada pelo fator de necrose tumoral (TNF- α) caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, essencial para cicatrização adequada.

Essas citocinas que se encontram presas na malha de fibrina liberam os fatores de crescimento que somado a rigidez da matriz do PRF influenciam diretamente na angiogênese, dando suporte para que as células estaminais e mesenquimais se torne presentes nesta matriz primária com vigor e rapidez, a molécula de fibrina por ser insolúvel é a grande protagonista sendo ativada pelo fibrinogênio plasmático e pela trombina, a malha formada pela fibrina no PRF- L é um grande trunfo pois aprisiona robustamente as plaquetas, que a seu tempo liberaram os fatores de crescimento e citocinas que irão modular e promover a regeneração. As plaquetas tem origem na fragmentação do citoplasma dos megacariócitos maduros na medula óssea, as citocinas plaquetárias mais importante na regeneração óssea são:

TGF1 (agente de fibrose), os PDGFs (fatores de crescimento) e os IGFs (agentes de proteção).

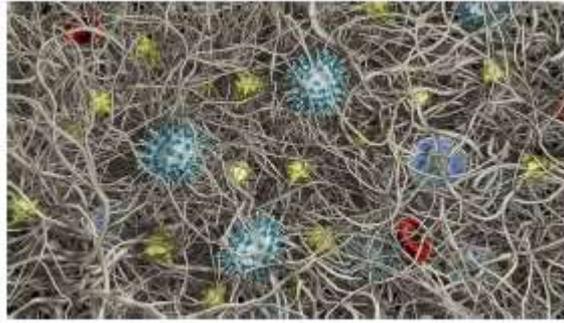
O fator de crescimento transformante beta é uma grande super família de mais 30 membros, porém a molécula referência é a TGF1 que é a isoforma que mais se produz não só nos grânulos alfa das plaquetas, mas em geral durante o contato intracelular. Seus efeitos são variados e funcionam de acordo com uma quantidade aplicada à matriz e o tipo de célula podendo estimular a proliferação de osteoblastos e sendo o mais potente agente de fibrose entre todas as citocinas, este induz a síntese de colágeno e fibronectina, ou seja, induz por fibroblasto ou osteoblastos a

cicatrização fibrosa. As plaquetas desempenham um papel crucial na hemostasia e também são importantes no processo regenerativo das lesões e tecidos, essas células enucleadas se originam na medula óssea após a maturação ou ruptura do citoplasma dos megacarióticos, formando verdadeiros pacotes proteicos com vida média de 8 a 10 dias, participam da homeostase sendo ativadas nas lesões dos vasos sanguíneos formando junto com a fibrina o tampão que segura o extravasamento do sangue ao mesmo tempo que o liberam as moléculas sinalizadoras promovendo assim o início do processo regenerativo específico de cada tecido lesado, nessas mesmas plaquetas estão os grânulos alfa que possuem várias moléculas proteicas específicas como as beta tromboglobulinas, fibronectina, trombospotina, fibrinogênio e outros fatores de coagulação, fatores de crescimento (PDGFs), inibidores de fibrinólise, imunoglobulinas, grânulos densos ricos em serotonina e cálcio. A membrana plaquetária é uma dupla camada fosfolipídica que são receptores para várias moléculas e se inserem com o colágeno, trombina, entre outros. Durante a degranulação das plaquetas que ocorre no momento da sua ativação, liberam-se citocinas estimuladoras da migração e proliferação celular na matriz de fibrina dando início as primeiras fases da cicatrização [18].

4.1.2 Fibrina

A molécula de fibrina é insolúvel, e grande protagonista desses adesivos plaquetários sendo a forma ativada do fibrinogênio plasmático pela trombina, a malha formada pela fibrina, é o grande trunfo pois aprisiona as plaquetas que a seu tempo liberarão os fatores de crescimento e citocinas moduladoras da regeneração tecidual. A fibrina é a proteína final da coagulação, polimeriza o fibrinogênio, é estável por um período de 7 a 14 dias, realiza a retenção dos elementos sanguíneos, e forma uma matriz tridimensional para espraiamento celular [9].

Figura 3: Matriz de fibrina.



Fonte: <https://www.allmedics.eu1.pdf/1-prf-scientific-literature>

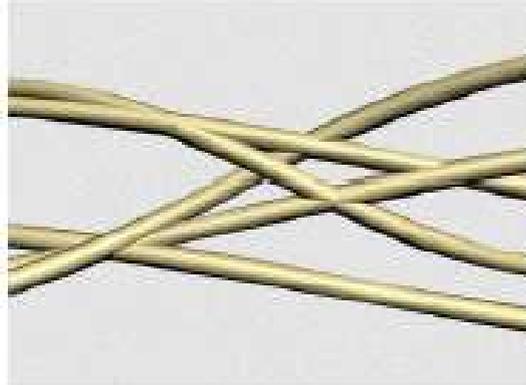
4.1.3 PDGF

Fator de crescimento liberados pelas plaquetas está envolvido em quase todo reparo tecidual, estimula a fibronectina, colágeno e colagenase, proteoglicanas e ácido hialurônico que estimulam a remodelação de colágeno em todos os tecidos, estimulam células mesenquimais com efeito mitogênico nos fibroblastos, estimula a quimiotaxia e a mitogenicidade de neutrófilos e macrófagos, o PDGF é secretado por macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e queratinócitos da epiderme. O PDGF está envolvido em quase todo reparo tecidual como reservatório de fatores de crescimento como de fator de hemostasia, serve como mediador regulando a migração e proliferação e síntese de matriz de uma variedade de células. ^[11]

Citocinas: Derivadas das plaquetas (isoformas A, B, C, D), funções:

- a) Quimiotático aos leucócitos polimorfonucleados;
- b) Macrófagos e fibroblastos;
- c) Mitogênico aos fibroblastos de células musculares lisas;
- d) Estimula a produção de metaloproteinases da matriz angiogênese e contração da ferida;
- e) Remodelação;
- f) Inibe a expressão da integrina.

Figura 4 – Modelagem teórica de computador de junções de derivação de fibrina tetramoleculares ou bilatéria condensadas.



Fonte: Dohan et al (2006b)

4.1.4 IGF

Fator de crescimento insulínico são fatores secretados pelos osteoblastos durante a formação óssea, são agentes de proteção celular IGF1 e 2 são reguladores positivos da proliferação e diferenciação para as células em sua maioria, regulam e mediam a apoptose protegendo as células de estímulos, aceleram a deposição óssea, são quimiotáticos para osteoblastos e células progenitoras dos osteoblastos e fibroblastos.

Citocina: Fator de crescimento semelhante à insulina, funções:

- a) Estimula a síntese dos proteoglicanos sulfatados;
- b) Colágeno;
- c) Proliferação de fibroblastos;
- d) Efeitos endócrinos.

4.1.5 TGF- β

Fator de crescimento de transformação β tem a função de estimular o crescimento das células especialmente na formação de cartilagens e ossos, realiza a ativação de macrófagos age nos leucócitos polimorfonucleares e nas células

endoteliais bloqueando os efeitos de citocinas pró-inflamatórias, é um agente fibrinogênico potente que intensifica a formação de colágeno, existem cinco membros nessa família (TGF-b1 a b5), alguns são mais comuns de serem encontrados no PRP, como o TGF-b1 e TGF-b2, possuindo função de serem ligadas ao crescimento à cicatrização do tecido conjuntivo e regeneração do tecido ósseo.

Citocina: Fator de crescimento transformador, funções:

- a) São quimiotáticos aos leucócitos polimorfonucleares;
- b) Migração de ceratinócitos;
- c) Inibe a produção de metaloproteinases.

4.1.6 VEGF

Fator de Crescimento Vasculoendotelial comprovam a indução à quimiotaxia e a diferenciação endoteliais na angiogênese, aumenta a permeabilidade vascular.

4.1.7 EGF

Fator de Crescimento Endotelial, tem efeito quimiotático para fibroblasto e células epiteliais, estimulando assim a formação de tecido de granulação, pré-osteoblastos e os fibroblastos tem grande número de receptores EGF, estimula a formação do tecido de granulação [22]

4.2 Cascata de coagulação:

A hemostasia se inicia a partir da lesão no vaso sanguíneo, como resposta a lesão, se inicia a vasoconstrição do vaso lesionado com o objetivo de diminuir o fluxo sanguíneo local e assim evitar a hemorragia e trombose, assim se inicia a cascata de coagulação.

O sangue é um fluido que circula no sistema artéria-venoso e capilar do organismo, composto de diversos grupos celulares em uma porção líquida denominada plasma, é o responsável por assegurar a “constância do meio”, proporciona o desenvolvimento das funções vitais e é um importante veículo de transporte de substâncias nutritivas como: sais, glicídios, lipídios, proteínas absorvidas ou metabolizadas, transporta oxigênio, dióxido de carbono, regula o pH, regula a osmose celular, controla a temperatura corpórea e controla as diversas homeostases pelo corpo. O sangue é formado em 45% do volume total por componentes sólidos ou formadores, classificados em: leucócitos, eritrócitos e as plaquetas, leucócitos são responsáveis pela defesa do organismo, eritrócitos são encarregadas pelo transporte de oxigênio do organismo e as plaquetas são responsáveis pelos fatores de coagulação sanguínea, os 55% restantes são compostos pela parte líquida do plasma, plasma que por sua vez é composto de 90% de água, aproximadamente 2% de elementos inorgânicos, 7% de proteínas, em especial a albumina, imunoglobulinas e fibrinogênio e 1% de elementos orgânicos não proteicos.

As fases da cicatrização são: fase inflamatória; fase aguda; fase crônica; fase proliferativa; fase remodeladora. Quando o organismo sofre algum tipo de dano se inicia as fases de cicatrização, descritas a seguir:

- a) Inflamatória – tem o objetivo de cessar o extravasamento de sangue-24 a 48 horas
- b) Aguda – 20 a 48 horas – sinais fisiológicos;
- c) Crônica – Após 48 horas – duradoura e assintomática;
- d) Proliferativa – Após 5 dias – infiltração linfocitária, migração e proliferação de linfócitos, apoptose de macrófagos;
- e) Remodeladora – Ação colagenase e rearranjo fibroso do tecido conjuntivo.

Essas fases podem ocorrer simultaneamente, a formação de cicatriz tem início a cerca de 24 horas após a lesão, em 3 a 5 dias já é possível observar a presença de tecido de granulação (dependendo do tamanho da lesão), com o uso dos agregados plaquetários buscamos diminuir esse processo e conseguimos agir diretamente na fase proliferativa através da inserção dos concentrados plaquetários que liberam os fatores de crescimento, citocinas, adiantando assim o processo da cascata de coagulação que descreveremos a seguir ^[10].

O conceito da cascata de coagulação descreve as interações bioquímicas dos fatores da coagulação, onde a hemostasia necessita da formação de um tampão de plaquetas e fibrina no local da lesão vascular, com permanência de substâncias procoagulantes ativadas nesse processo de início da lesão, o controle da coagulação sanguínea é realizado por meio de reações procoagulantes em superfícies celulares específicas e localizadas evitando a propagação da coagulação no sistema vascular.

Hemostasia Primária – se refere a interação entre as plaquetas circulantes a parede lesada dos vasos sanguíneos e as proteínas adesivas, a interação entre estes componentes ocasiona a formação do plug inicial de plaquetas.

O espaço subendotelial é altamente trombogênico pois contém colágeno, fator tecidual, fator VWF e laminina, assim um vaso sanguíneo que sofre injúria com exposição do espaço endotelial e subendotelial é um potente iniciador da cascata de coagulação, as plaquetas não aderem ao endotélio, mas se aderem fortemente ao colágeno e ao fator VWF ambos abundantes no espaço subendotelial.

A cascata de coagulação é dividida em via intrínseca, extrínseca e comum:

-Via intrínseca - A via intrínseca da coagulação do sangue é muito mais complexa do que a via extrínseca, é assim denominada pois seus ativadores estão em contato direto com o sangue ou contidos no sangue, não é necessária lesão tecidual externa, é um processo de coagulação iniciado por componentes presentes na circulação sanguínea, o início do processo dessa via ocorre pela interação do fator XII ou da pré-caliceína, essas serinoproteases são capazes de aumentar o potencial coagulante, o fator XIIa é capaz de ativar o Fator XI de maneira cálcio dependente e gerando o Fator XIa sendo ele responsável pela ativação do Fator IX e também presença de íons cálcio gerando IXa formando o complexo tenase que é composto pelos cofatores, fator VIIIa capaz de ativar a molécula do Fator X.

-Via extrínseca – Está associada aos danos aos vasos sanguíneos que promovem a exposição do fator tecidual na superfície das células subendoteliais expostas. O fator tecidual é uma mistura complexa de lipoproteínas e fosfolípidios, uma proteína membranosa liberada pelas superfícies das células danificadas que interagem tanto na forma inativa, quanto na forma ativa fator VII, o complexo fator tecidual, VIIa desencadeia a coagulação sanguínea convertendo o Fator X para sua forma ativa Xa. O fator Xa pode permanecer associado ao Fator Tecidual ligados as

células ou livre no sangue, podendo se ligar a superfícies próximas as plaquetas ativadas que formam o tampão plaquetário previamente instalado no local da lesão. A ativação das plaquetas promove a exposição dos fosfolipídios carregados negativamente, que tem alto potencial de se ligar a fatores de coagulação.

-Via comum- A partir da formação do Fator Xa, a via intrínseca e extrínseca compartilha uma via comum da coagulação que leva a formação da rede de fibrina a protobina é transformada em trombina pelo complexo protrombinase composto pelo fator Xa e seu cofator Va ligado aos fosfolipídios da superfície das plaquetas e na presença do cálcio. A formação de protrombinase assinala o início da via comum, a protrombinase e o cálcio catalisam a conversão de protrombina em trombina, a trombina na presença do cálcio converte o fibrinogênio que é solúvel em filamentos frouxos de fibrina, a trombina exerce dois efeitos de retroalimentação positiva feedback positivo que depende do Fator V, onde a trombina acelera a formação da protrombinase, e ativa as plaquetas reforçando sua agregação e eficácia.

A cascata de coagulação tem este nome pela sequência de ativações da coagulação, onde as enzimas são ativadas através de reações em cascata. Um tecido lesado sofre um injúria com exposição do espaço endotelial e subendotelial iniciando a cascata de coagulação seguido pelo fator colágeno e Fator de Von Willebrand e assim ocasionando a cascata de coagulação.

Endotélio, são células que estão em íntimo contato com o sangue, formando a parede do vaso sanguíneo, promovendo a hemostasia, quando estão intactas inibem a aderência plaquetária e a coagulação, quando necessário o endotélio ativa o plasminogênio que se transforma em uma enzima chamada plasmina que remove o coágulo.

O Fator de Von Willebrand (VWF) é um co-fator produzido pelo endotélio essencial para ligação das plaquetas ao colágeno e outras superfícies.

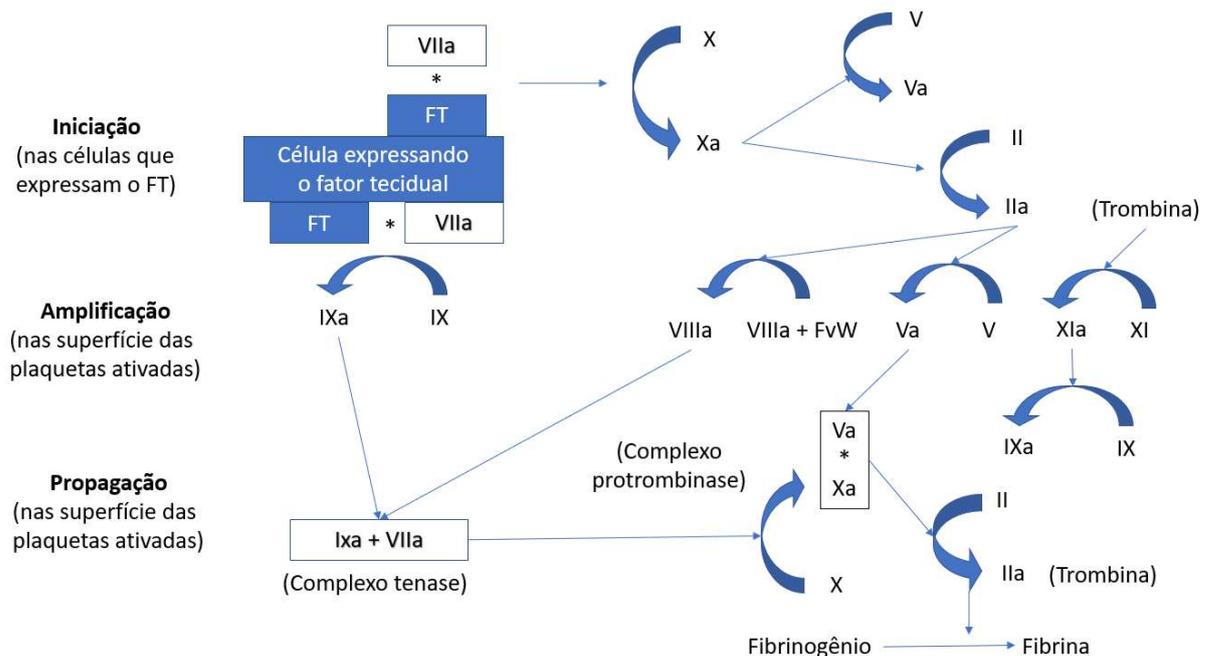
4.2.1 Fatores de Coagulação

a) Fator I – Fibrinogênio produzido pelo fígado é o precursor da fibrina.

b) Fator II – Protrombina produzida pelo fígado é precursora da trombina.

- c) Fator III – Fator tissular (tromboplastina) é uma glicoproteína de membrana, que funciona como receptor para o fator VII da coagulação.
- d) Fator IV – Cálcio tem origem no fígado e é um co-fator da coagulação.
- e) Fator V – Pró-acelerina é produzida pelo fígado, plaquetas e endotélio, atua como co-fator na via comum.
- f) Fator VII – Pró-convertina é sintetizada no fígado atua na via extrínseca.
- g) Fator VIII – fator anti-hemofílico A, sintetizado no fígado e atua na via intrínseca.
- h) Fator IX – Fator anti-hemofílico B, sintetizado no fígado e na via intrínseca.
- i) Fator X – Fator Stuart sintetizado no fígado, atua na via comum.
- j) Fator XI – Precursor da tromboplastina plasmática, sintetizado no fígado, atua na via intrínseca.
- k) Fator XII – Fator Hageman sintetizado no fígado e atua na via intrínseca.
- l) Fator XIII – Fator estabilizador da fibrina sintetizado no fígado e atua na via comum.

Figura 5: Método de coagulação baseado em superfícies celulares.



Fonte: Adaptado de - Ferreira et al (2010)

Diversos protocolos de centrifugação estão sendo utilizados para o desenvolvimento de biotecnologias regenerativas.

Os concentrados plaquetários através do fracionamento do plasma sanguíneo por centrifugação propõem uma aceleração na cicatrização de tecidos moles e duros, neste trabalho discutiremos:

a) Plasma Rico em Plaquetas (PRP), vide figura 4: É um produto derivado do processamento de centrifugação de sangue autógeno, colhido no pré-operatório, o tubo de ensaio usado na coleta possui a adição de um fator coagulante podendo ser: ácido tetra-acético (EDTA); heparina de sódio (HP); cloreto de cálcio; trombina bovina.

A preparação do PRP utiliza-se dois métodos de centrifugação: a primeira a 160G x 10 minutos cada ciclo, e a segunda centrifugação de 285G x 10 minutos para cada ciclo, no primeiro passo de centrifugação se separam as camadas de *buffy coat* depois recolhidas com cuidado para evitar uma contaminação são transferidas para um outro tubo onde são centrifugadas pela segunda vez a alta velocidade de rotação, separa ainda mais seus componentes onde a maioria do PPP são descartados e o PRP resultante está rico em plaquetas, leucócitos e fibrinogênio circulante além de células vermelhas resultante [4] [6] [16] [23].

Figura 6: Centrífuga manual com a velocidade de 3000 rpm.



Centrífuga manual

Tabela 1: Característica das centrífugas de bancada utilizadas na obtenção dos agregados plaquetários.

MARCA	MODELO	ORIGEM	TIPO	RAIO CENTRAL (mm)	ÂNGULO	MOTOR	G A 2000 RPM
Centribio	80-2B	China	Analógica	60	45°	Escovas	268.32
Daiki	DT4000	China	Digital	60	45°	Indução	268.32
DragonLab	Duo	China	Digital	105	45°	Indução	469.56
DragonLab	A-PRF12	China	Digital	105	45°	Indução	469.56
DigiLab	DSC-200A-2	China	Analógica	106	45°	Escovas	474.03
Hettich	EBA20	Alemanha	Digital	50	33°	Indução	223.60
Hettich	EBA200	Alemanha	Digital	50	33°	Indução	223.60
Intra-Lock	Intraspin	Alemanha	Digital	50	33°	Indução	223.60
Kasvi	K14-0815	China	Digital	48	36°	Indução	214.66
Montserrat	80-2B	China	Analógica	60	45°	Escovas	268.32
Montserrat	Fibrinufuge25	China	Digital	65	25°	Indução	290.68
Ortoalresa	Microcen23	Espanha	Digital	91	30°	Indução	406.95
Silfradent	Medifuge200	Itália	Digital	85	35°	Indução	380.12
Spinlab	Spinplus	China	Digital	78	45°	Indução	348.82

Fonte: Adaptado de Platelets second edition 20087. Academic Press

Tabela 2: Densidade dos componentes sanguíneos.

COMPOSTO SANGUÍNEO	DENSIDADE (g/cm ³)
Plasma	1,020
Plaquetas	1,040
Mononucleares	1,060
Polimorfonucleares	1,085
Eritrócitos	1,095

Fonte: Adaptado de Platelets second edition 2007. Academic Press

Atraves da fórmula a seguir conseguimos transformar a velocidade angular (rpm) em força G, tratado neste por FCR, sendo 1G equivalente à aceleração da gravidade na superfície da terra.

r -> raio de centrifugação em mm;

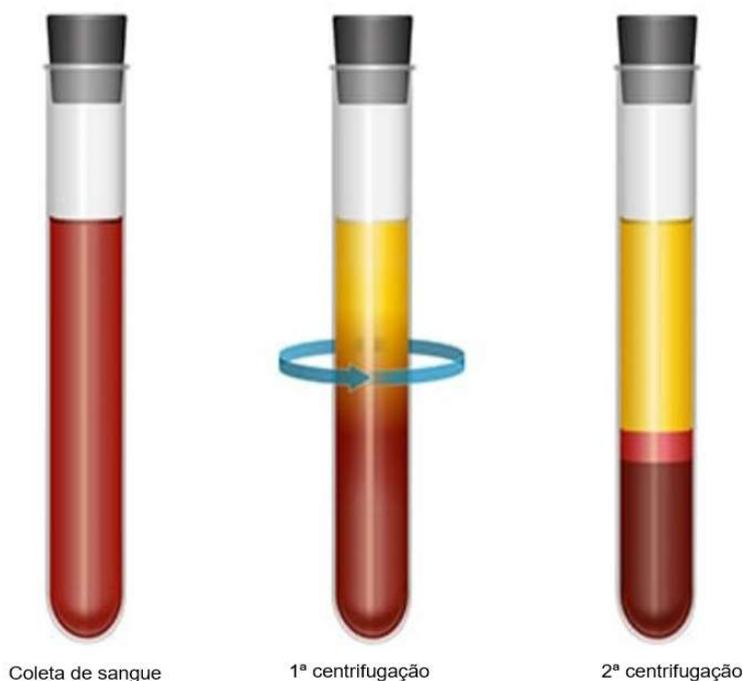
rpm -> velocidade de centrifugação em rotações por minuto.

A unidade de medida da FCR é o "G"

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{\text{FCR}}{1,12r}}$$

Com base na tabela 1, e referenciando na tabela 2, podemos entender o porquê do plasma permanecer na parte superior do Becker, devido à sua densidade ser a menor dos compostos sanguíneos. A figura 7 a seguir mostra essa segregação.

Figura 7: PRP Mostrando as duas etapas de centrifugação.



Fonte: Adaptação de - Instituto de Medicina y Cirurgia Barcelona.

O PRP é um concentrado sanguíneo onde foram identificados diferentes famílias de leucócitos; linfócitos T; linfócitos B; células NK (que são um tipo de linfócitos citotóxicos necessários para o funcionamento do sistema imunitário nato, e tem a importante função no combate as células tumorais); Monócitos e granulócitos, nenhum dos estudos mostraram um número de células brancas, assim a porcentagem em cada protocolo utilizado pelo operador é diferente, observaram também que o PRP possui uma grande atividade antimicrobiana contra MSSA, MRSA, E. coli, não foi possível identificar uma correlação entre atividade antibacteriana e maior presença de leucócitos, porem oferece risco pois a trombina bovina, utilizada para processar o PRP pode gerar anticorpos para fatores V, XI, que interfere na eficácia da atividade antibacteriana e trombina podendo causar coagulopatias, a incorporação de um fator anticoagulante tem a função de formar uma rede de fibrina incorporada ao PRP capaz

de permitir sua aderência ao local do implante bem como impedir a migração de células epiteliais e do tecido conjuntivo para fora da região do enxerto^{[15] [18] [21] [26]}.

Plasma Rico em Fibrina (L-PRF) desenvolvido na França no ano de 2001 por Choukroun para uso específico em cirurgia oral e maxilo facial, esta técnica não exige o uso de agentes de gelificação ou anticoagulantes para sua centrifugação.

O protocolo do PRF consiste de uma amostra de sangue centrifugada sem anticoagulante a 100G x 10 minutos , em um tubo de vidro ou revestido com sílica, a ausência de anticoagulante implica na ativação do coágulo em poucos minutos o contato das plaquetas com o interior do tubo inicia a cascata de coagulação onde o fibrinogênio, Inicialmente concentrado na parte alta do tubo antes da trombina circulante transformar em fibrina, é necessário uma movimentação rápida entre a coleta de sangue e colocação na centrifuga para que não ocorra a polimerização do coágulo de uma forma difusa, as plaquetas são presas maciçamente nas malhas de fibrina . O fibrinogênio é o substrato final de todas as reações de coagulação, sendo uma proteína solúvel, o fibrinogênio é transformado em fibrina insolúvel pela trombina, enquanto o gel de fibrina polimerizada constitui a primeira matriz cicatricial da ferida. O PRF é composto por três camadas: superior constituída por um coágulo plasmático celular, PRF na camada intermediária e glóbulos vermelhos na parte inferior, depois de centrifugado o PRF é colocado em um recipiente estéril durante cerca de 10 minutos para a liberação do soro contido em seu interior ,o coágulo pode ser transformado em membrana através da compressão de duas gazes estéreis ou material específico, a fibrina proporciona uma matriz para a migração de fibroblastos e de células endoteliais envolvidos no processo de angiogênese, pela sua estrutura tridimensional da fibrina de PRF (veja figura 5 e 6) se torna capaz de aprisionar um maior número de leucócitos que depois libertam citocinas e fatores de crescimento que se difundem nos tecidos em tempo gradual e contínuo de aproximadamente 10 dias (sendo liberado somente nos primeiros dias comparado ao PRP).

O PRF tem uma organização na sua rede de fibrina que confere um alto grau de elasticidade, proporcionando a migração celular e uma boa retenção de moléculas, fatores de crescimento, essa elasticidade vem do processo de polimerização natural e progressivo que permite uma maior incorporação de citocinas e fatores de crescimento dentro de sua própria rede, essas moléculas estarão disponíveis progressivamente durante a remodelação da matriz por fibroblastos, a liberação de

citocinas e fatores de crescimento é continua por quase 7 dias e continua até o 14 dia pós-operatório tornando essa combinação íntima de citocinas, fatores de crescimento, glicoproteínas circulantes (fibronectina, vitronectina, trombospodina, glicosaminoglicanos, heparina, ácido hialurônico) grande potencializador do processo de cicatricial ^[1]^[14].

Figura 8: Membrana de L-PRF.



Fonte: O autor

Figura 9: *Stickbone* com L-PRF.



Fonte: O autor

Fibrina Rica em Plaquetas Injetáveis (I-PRF) – No ano de 2014 Choukroun modificou seu protocolo apresentando uma nova versão para o PRF existente, o PRF líquido com o nome de I-PRF (injetável-PRF), o protocolo não varia, mas os tubos utilizados são plásticos e não contém nenhuma fase mineral ou anticoagulante, a centrifugação foi realizada a 55G x 3 minutos, são obtidas no tubo após a centrifugação 2 fases: um concentrado de hemácias (parte inferior do tubo), um sobrenadante que constitui o I-PRF, a coleta deste sobrenadante deve ser feita com o auxílio de seringa com agulha diretamente no tubo (figura 7), o I-PRF foi projetado para atingir os mesmos objetivos que seu precursor, porém na forma líquida e coagulando dentro de 5 a 10 minutos após a sua produção ^[5]^[17].

Figura 10: I-PRF.



Fonte: TORRALBA, Manoel (2020)

O I-PRF tem sido utilizado na associação de materiais ósseos autógenos, alógenos e xenógenos, o derivado plaquetário é misturado com o substituo ósseo particulado para a produção de um bloco bioativo (PRF-BLOCK) para aumento e manutenção do volume ósseo. A fibrina líquida é lentamente polimerizada atuando como aglutinante do enxerto ósseo particulado, favorece a neo-angiogênese enquanto o substituto ósseo atua como suporte espacial para manutenção do volume ósseo a ser regenerado e suporte pra matriz óssea sendo osteoindutivo. Alguns autores citaram uma técnica onde deixam o implante embebido no I-PRF por 3 minutos antes da instalação do implante para que haja uma polimerização inicial do PRF líquido na superfície do implante, obtendo-se assim um fator mais potente na ação de citocinas

liberadas. Alguns autores fizeram uso de I-PRF incorporado com hormônio GH, e obtiveram grande sucesso como descrito anteriormente [3] [17] [24] [28].

Advanced – PRF (A-PRF+) – Com uma velocidade de centrifugação mais baixa 1500rpm x 14 minutos, a diminuição da velocidade do tempo de rotação e o aumento do tempo de centrifugação proporcionam uma maior presença de granulócitos neutrófilos na parte distal do coágulo (figura 8), a maior parte dos neutrófilos foi encontrado na interface entre os glóbulos vermelhos e a camada leuco-plaquetária, eles contribuem para a diferenciação de monócitos em macrófagos e criam um relacionamento sinérgico entre as células permitindo a estimulação mútua para a regeneração tecidual, possui uma estrutura mais solta com espaço inter-fibroso, células distribuídas de maneira mais uniforme em todo o coágulo com maior quantidade na parte distal (em comparação ao L-PRF), maior quantidade de linfócitos B e T, granulócitos neutrofilicos, haste positiva para CD34 e plaquetas, existem muitas modificações na velocidade e tempo de centrifugação para a obtenção do A-PRF mas sempre com uma menor velocidade de centrifugação chamadas de *low speed centrifugation concept* (LSCC) [13] [29].

Figura 11: Parte distal do coágulo de A-PRF (onde possui mais fibrina tridimensionais).

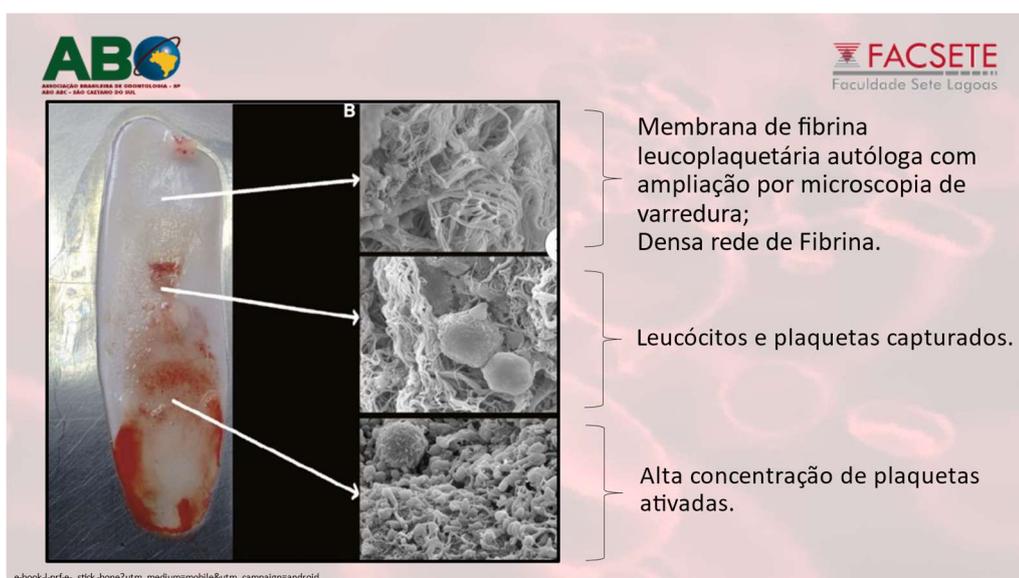


Fonte: TORRALBA, Manoel (2020)

A ideia base foi desenvolver um biomaterial a partir do L-PRF capaz de incluir o maior número possível de leucócitos e nomeadamente monócitos que tem receptores BMP e são capazes de produzir BMP-2 e BMP-7 além de ter um papel na produção de VEGF (Fator de Crescimento descrito no trabalho), mostrou-se

resultados interessantes na vascularização inicial, crescimento de tecidos moles mais rápido e maior liberação de citocinas em comparação ao L-PRF. Um estudo do ano de 2018 sugere que os concentrados produzidos com protocolo de baixa velocidade

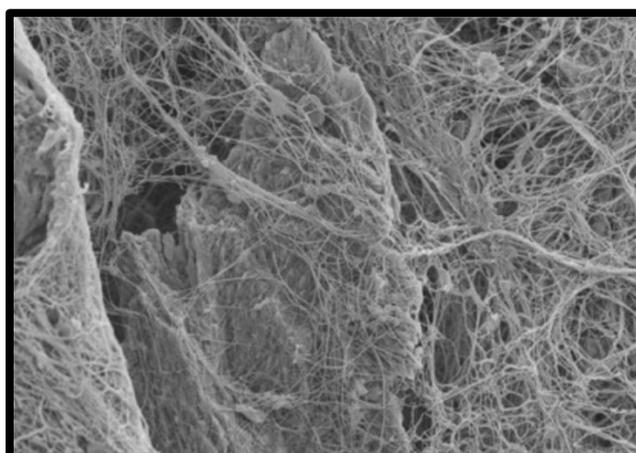
Figura 12: Membrana de PRF.



Fonte: e-book-l-prf-prf-e-stick-bone?utm_medium=mobile&utm_campaign=android

de centrifugação podem ter uma capacidade maior de aprisionar leucócitos, plaquetas e fatores de crescimento. Contudo, há literatura limitada sobre a comparação entre os dois protocolos sendo necessário mais pesquisas para verificar os benefícios e limitações de A-PRF e L-PRF.

Figura 13: Malha de fibrina.

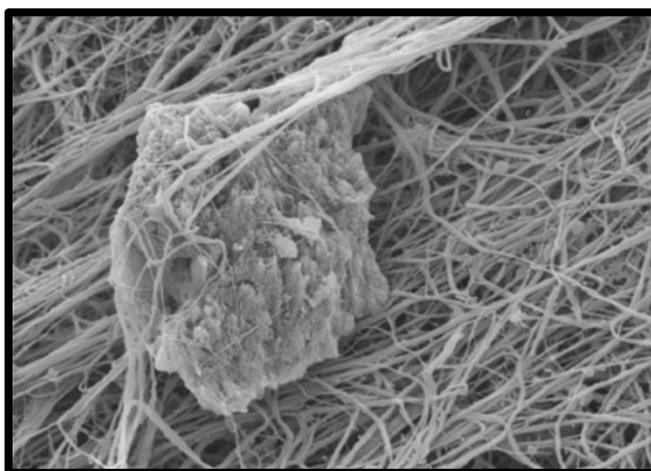


Fonte: e-book-l-prf-e-stick-bone?utm_medium=mobile&utm_campaign=android

Microscopia eletrônica de varredura com aumento de 1.100 vezes. Densa malha de fibrina cobrindo parcialmente o fragmento ósseo. A porosidade do material evidencia a penetração de fibrina em sua estrutura.

Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com aumento de 3.500 vezes. Densa malha de fibrina ao fundo e um pequeno fragmento de biomaterial “capturado” pela rede de fibrina.

Figura14: Fragmento de biomaterial capturado pela rede de fibrina.



Fonte: e-book-l-prf-e-stick-bone?utm_medium=mobile&utm_campaign=android

Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com aumento de 3.500 vezes. Densa malha de fibrina ao fundo e um pequeno fragmento de biomaterial “capturado” pela rede de fibrina.

Os agregados plaquetários por sua armação osteocondutora e por estimular as próprias células do paciente no sentido de uma resposta regenerativa pode ser aplicado na odontologia, através de:

- a) Elevação do seio maxilar;
- b) Vedação de perfuração da membrana do seio maxilar;
- c) Observaram um bom índice de osseointegração de implantes realizados;
- d) Proteção e estabilização de materiais de enxertos ósseos, a fim de acelerar a cicatrização;
- e) Preservação do alvéolo após extração ou avulsão;

- f) Cobertura de raízes de um ou mais dentes com recessão;
- g) Tratamento de defeitos ósseos de 3 paredes;
- h) Tratamento de lesão endodôntica periodontal combinada;
- i) Tratamentos de defeito de furca;
- j) Aprimoramento de feridas palatais após o enxerto gengival livre;
- k) Preenchimento de cavidade cística.

Embora descrita em diversas aéreas, na implantodontia sua aplicabilidade tem seu maior efeito, o PRF pode ser combinada com enxertos ósseos para acelerar a cicatrização, levantamento de seio maxilar, redução do edema e a dor pós-operatória, diminuição de fenômenos infecciosos, proteção e estabilidade do material de enxerto ósseo, isso devido ao fato da membrana para regeneração óssea guiada possuir uma elasticidade e uma resistência, facilitando a sutura e uma matriz densa responsável por essa proteção [2] [7] [19].

5 CONCLUSÃO

Os agregados plaquetários são derivados sanguíneos ricos em plaquetas e leucócitos com a propriedade de liberar de forma gradual citocinas e fatores de crescimento envolvidos no processo de reparação tecidual durante sua remodelação. Os agregados plaquetários atuam na fase proliferativa de inflamação que só ocorreria 5 dias após a lesão, através de: infiltração linfocitária; migração; e apoptose de macrófagos, seguindo imediatamente para a fase remodeladora, com ação das collagenases e rearranjo fibroso do tecido conjuntivo.

As vantagens do uso dos agregados plaquetários são: Procedimento de baixo custo com grande potencial cicatricial; Promove a angiogênese, modula o processo inflamatório em maior tempo e intensidade; Favorece a formação óssea quando combinado com materiais de enxertia; Pode ser usado como membrana de proteção para casos de perfuração da membrana de Schneider; Favorece a cicatrização de alvéolos após exodontias; Pode ser usado na sua forma injetável para hidratar material de enxertia entre outros; Diminuição do edema pós cirúrgico; Cicatrização mais rápida.

Embora o conhecimento sobre os agregados plaquetários tenha evoluído muito, se faz necessário continuar as pesquisas para melhor avaliar o impacto que estas células têm nos processos de cura.

REFERÊNCIAS

1. AIRES, Carolina, et al. Terapias Regenerativas em Implantodontia: Avanços no Uso da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF), **Revista Acervo Saúde**, Recife, 2020, ISSN 2178:2091
2. AMARAL, Rodrigo Guimarães et al. Benefícios da Utilização da Fibrina Rica em Plaquetas na Implantodontia, **Revista de odontologia Contemporânea**, [S.I.], Volume 2, Número 1, 2018.
3. ARAUJO, Raimundo et al. Histological Preparation Technique of Blood Derivative Injectable Platelet Rich Fibrin (I-PRF) for Microscopic Analyses, **Journal of Citology**, Natal, 2018, DOI 10.1007/s00784-018-2555-2.
4. CAMARGO, Gabriela Alessandra Cruz Galhardo et al. Utilização do Plasma Rico em Plaquetas na Odontologia. **Revista CRO-PE**, Recife, Volume 11, número 3, p187-190, 2012.
5. CHOUKROUN, Joseph et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin (A-PRF) – A New Concept for Cell Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells, **Journal of Oral Implantology**, Frankfurt, Göthe Univeristy Frankfurt, DOI aaid-joi-D-14-00138.
6. COSTA, Pâmela Aparecida da, Santos, Patrícia. Plasma Rico em Plaquetas: Uma Revisão Sobre seu Uso Terapêutico, **Revista BAC**, Florianópolis, 2017 DOI 10.21877/2448-3877.201600177, Disponível em: rabc.org.br/artigos/plasma-rico-em-plaquetas-uma-revisao-sobre-seu-uso-terapeutico, acesso em: 10 out. 2020
7. DINIZ, Paulo. **Utilização do PRFL como Aditivo na Odontologia**. 2017. Monografia (Especialização em odontologia). – Faculdade de odontologia, Universidade federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.
8. FAYAD. [S.I.], Disponível em: <http://drfayadbucomaxilo.com/cirurgias/tecido-mole-lprf/categoria/cirurgia>. Acesso em 20 fev. 2021
9. FERNANDES, Gustavo Vicentis de Oliveira et al. Fibrina Rica em Plaquetas Líquida em Superfície de Implante: Curto Tempo para Função e Estética – Relato de Caso, **International Journal of Science Dentistry** 2017. ISSN 1413-2966/D-2316.
10. FERREIRA, Natália. O Novo Modelo da Cascata de Coagulação Baseado nas Superfícies Celulares e Suas Implicações, **Revista Brasileira de Hematologia e Hoterapia**, 2010 Volume 32, número 5, São Paulo, 2010 ISSN 1516:8484
11. Ghanaati, Shahrhan et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells, **Journal of Oral Implantodonty**,[S.I.] 2014. DOI 10.563/aaid-joi-D-14-00138-
12. Instituto de Medicina y Cirurgia Barcelona, Factores de Crecimiento o Tratamiento com Plasma Rico em Plaquetas (PRP), Barcelona. Disponível em:

<https://www.imecba.com/especialidades-medicas/clinica-del-dolor-arcelona/factores-de-crecimiento-plasma-rico-en-plaquetas-prp/>. Acesso em 20 fev. 2021

13. KOBAYASHI, Masako Fujioka et al. Optimized Platelet Rich Fibrin with Low Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility and Cellular Response, **Journal of periodontology**, [S.l.], 2016, DOI 10.3092/jep.2016.150443.
14. MEDINA, Tulio; CEDRYCK, Vaquette; IVANOVSKI, Saso. Systematic Comparison of the Effect of Four Vlinical-Grade Platelet Rich Hemoderivatives on Osteoblast Behaviour, **International journal of molecular sciences**, [S.l.],2019, DOI 10.3390/ijms20246243.
15. MIRANDA, Rodrigo Correia; NETO, Milton D´Almeida Ferreira. Plasma Rico em Fibrina para Implante Imediato: Revisão de Literatura, **Revista multidisciplinar e de psicologia**, [S.l.], Volume 13, Número 47, p. 889-899, ISSN 1981-1179, 2019.
16. MIRON, Richard et al. Evaluation of 24 Protocols for the Production of Platelet-Rich Fibrin, **BMC Oral Health**, [S.l.], 2020, DOI 10.1186/s12903-020-1299-w.
17. MOURÃO, Carlos Fernando de Almeida Barros et al. **Obtenção de Fibrina Rica em Plaquetas Injetável (i-PRF) e sua Polimerização Com Enxerto Ósseo: Nota Técnica**, 2015. DOI 10.390 0100-69912015006013.
18. MORQUI, Amanda Cavalli; MIGUEL, Diego Felipe; MAGALHÃES, José Cássio de Almeida. Comparação Entre a Técnica Plasma Rico em Plaquetas e Fibrina Rico em Plaquetas e sua Utilização na Odontologia, **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo de Conhecimento**. Rio de Janeiro, Ano 2, Vol. 13 pp 268-276, 2017 ISSN: 2448-0959.
19. OLIVEIRA, Kerlisson, et al. **Aumento Horizontal de Rebordo Utilizando Osso Xenógenos, L-PRF e Membrana D-PTFE com Reforço de Titânio**, [S.l.], p. 67-76, 2018.
20. PASCHE, Gabriela. **Plasma Rico em Fibrina e Seu Uso na Implantodontia**. 2016. Monografia (Especialização em odontologia) – UFPR, Curitiba, 2016.
21. RODRIGUES, Gabriel et al. Fibrinas Ricas em Plaquetas, Uma Alternativa Para Regeneração Tecidual, **Journal Oral Invest**,p. 57-62, 2015. ISSN 2238-510X.
22. SAVINA, Daniele. **L-PRP, L-PRF, A-PRF, Impacto Biológico e Cirúrgico de Leucócitos e Fibrina na Evolução dos Concentrados Plaquetários**, 2018. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2018.
23. SEIDLER, Dayara. **Avaliação da Fibrina Rica em Plaquetas na Regeneração de Tecidos Orais: Uma Revisão de Literatura**. 2019. Trabalho de conclusão (Graduação em odontologia). – Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

24. SILVA, João et al. **Uso do Hormônio do Crescimento Associado à Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos Injetável (I-PRF)**, Passo Fundo, Volume 24, Número 2, p. 309-315, maio/ago, 2019.
25. SILVA, Rasan. A atual Teoria da Coagulação Baseada em Superfícies Celulares, **Saúde & Ciência em Ação – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências e Saúde**, 2016, ISSN: 2447 9330.
26. TAKAMORI, Esther Rieko et al. Fibrina Rica em Plaquetas: Preparo, Definição da Qualidade, uso Clínico, **Revista Visa em debate**, Rio de Janeiro. 2018. DOI 10.22239/2317-269x.01044, Disponível em: www.visaemdebate.icnqs.fiocruz.br acesso em: 20 de nov. 2020.
27. TORRALBA, Manoel, [S.l.], site Dentomicro, disponível em: <https://dentomicro.com/prf/>. Acesso em 20 fev. 2021;
28. VARELA, Hugo. Injectable Platelet Rich Fibrin: Cell Content, Morphological, and Protein Characterization, **Clinical Oral Investigations**, [S.l.], 2018.
29. ZANINI, Franciele. **Reconstruções Ósseas Horizontais Orais com Enxerto de A-PRF+, i-PRF e Osso Alógeno Particulado e Sua Relação com Características Demográficas e de Saúde dos Pacientes**. 2017. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde). – Universidade do sul de Santa Catarina, Palhoça, 2019.

ANEXO A – Triagem clínica para coleta sanguínea

Nome:			
idade:		Telefone de contato:	
1	Peso [Kg]:		Pressão Arterial:
2	Frequência Cardíaca:		
3	Você se considera uma pessoa saudável:		
4	Você está alimentado?		Está se sentindo bem?
5	Você já doou sangue?		
6	Se sim, há quanto tempo foi a última doação?		
7	Você já apresentou testes alterados em alguma doação?		
8	Se sim, qual motivo?		
9	Você fez exames sanguíneo nos últimos 7 dias?		
10	Está sob trabamento médico?		
11	Você apresenta alguma doença crônica?		
12	Está tomando alguma medicação?		
13	Você tomou algum medicamento com AAS nos últimos 30 dias?		
14	Você tomou algum medicamento nos últimos 30 dias?		
15	Tem ou teve problema de coração, rins, pulmões, fígado ou coagulação?		
16	Tem ou teve problema de pressão arterial e/ou de coagulação?		
17	Tem ou teve anemia?		
18	Já apresentou algum sangramento anormal?		
19	Consome bebida alcoólica?		
		Tipo?	
		Frequência?	
20	É fumante?		Há quanto tempo?
<div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 20px; margin-bottom: 10px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 20px; margin-bottom: 10px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 20px;"></div>			