



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ERASMO BERNARDO MARINHO

**AVALIAÇÃO MECÂNICA DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS (PRF) DE
PACIENTES SOB USO DE VARFARINA**

FORTALEZA

2022

ERASMO BERNARDO MARINHO

AVALIAÇÃO MECÂNICA DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS (PRF) DE PACIENTES
SOB USO DE VARFARINA

Trabalho referente à defesa de tese de doutorado apresentado à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Bitu Sousa

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M29a Marinho, Erasmo Bernardo.
Avaliação mecânica de fibrina rica em plaquetas (PRF) de pacientes sob uso de varfarina / Erasmo Bernardo Marinho. – 2022.
63 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Fabricio Bitu Sousa.
1. Fibrina rica em plaquetas. 2. Varfarina. 3. Anticoagulantes. 4. Biomaterial. 5. Testes mecânicos. I. Título.

CDD 617.6

ERASMO BERNARDO MARINHO

AVALIAÇÃO MECÂNICA DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS (PRF) DE PACIENTES
SOB USO DE VARFARINA

Trabalho referente à defesa de tese de doutorado apresentado à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Fabricio Bitu Sousa (UFC – Presidente)

Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves (UFC – Examinadora Interna ao Programa)

Dr. Rafael Linard Avelar (UNICHRISTUS – Examinador externo à Instituição)

Dr. Tacio Pinheiro Bezerra (UNICHRISTUS – Examinador externo à Instituição)

Dra. Clarissa Pessoa Fernandes Forte (UNICHRISTUS – Examinadora externa à Instituição)

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir que este percurso tenha sido possível. Sem sombra de dúvida, tudo ocorre de acordo com Sua vontade, em Seu tempo.

Aos meus pais, Antônio Erasmo e Valdélia. Meus valores e minha percepção de mundo se moldaram a partir de seus exemplos.

À minha companheira, Marina Morena, que tem tornado meus dias mais agradáveis e me ajudado a manter o foco nos compromissos.

Ao Professor Fabricio Bitu, meu orientador, por mais uma oportunidade de dar um próximo passo em minha vida profissional.

À Professora Ana Paula e ao Professor Mário Rogério. A evolução da minha percepção na ciência se deu, em grande parte, por meio de seus exemplos na docência.

À Professora Renata de Sousa e toda a equipe do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFC. Todos foram de fundamental importância para a execução da pesquisa. Destaco o nome do amigo Glautemberg Viana, sempre prontamente disponível quando solicitado.

Ao amigo Professor Paulo Goberlânio pelas inúmeras vezes em que suas análises e sugestões foram indispensáveis.

Ao amigo Iury Ximenes, mestrando, que não hesitou em ajudar no andamento da pesquisa em momento de grande necessidade.

Ao amigo Edmundo Júnior pela contribuição imprescindível para a execução da pesquisa. Sua ajuda foi um exemplo genuíno de que o conhecimento não se encontra necessariamente limitado ao meio acadêmico.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para o resultado final deste trabalho.

RESUMO

O uso de fibrina rica em plaquetas (PRF) vem sendo amplamente difundido na prática odontológica nos últimos anos. Presente estudo laboratorial teve como objetivo avaliar mecanicamente PRF de pacientes sob uso de varfarina. Participaram da pesquisa 21 indivíduos em uso de varfarina (INR médio de 2.30 ± 0.89) e 21 não anticoagulados (INR médio de 1.08 ± 0.07), que deram origem às amostras de PRF. Formaram-se três grupos de testes, adotando-se centrifugação do sangue por 10, 14 ou 18 minutos: grupos A (n=21), B (n=21) e C (n=20), respectivamente. Um grupo-controle foi formado por PRFs não anticoagulados, centrifugados por 10 minutos (n=21). Cada PRF teve sua massa aferida. Propriedades mecânicas foram avaliadas através de ensaio de tração axial e de teste de resistência à sutura por meio de máquina de ensaio universal INSTRON 3345®. Parâmetros hematológicos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e mecânicos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn. Analisou-se correlação pelo teste de Spearman (confiança de 95%). Grupos A ($2,17 \pm 0,86g$) e B ($2,21 \pm 0,66g$) apresentaram maior massa que o grupo-controle ($1,92 \pm 0,56g$) com significância estatística. Todos os grupos apresentaram resultados de ensaio de tração axial semelhantes estatisticamente. Observaram-se menores valores de deformação em força máxima do teste de resistência à sutura com diferença estatística nos grupos A ($107,07 \pm 25,05\%$) e C ($104,81 \pm 16,79\%$) em comparação com o controle ($118,01 \pm 17,61\%$). Observaram-se menores valores de força máxima ($0,12 \pm 0,05N$), de deformação em força máxima ($97,59 \pm 19,08\%$) e de força em ruptura ($0,08 \pm 0,05N$) do teste de resistência à sutura com diferença estatística no grupo B em comparação com o controle ($0,20 \pm 0,06N$; $118,01 \pm 17,61\%$; $0,14 \pm 0,06N$, respectivamente). Formação de PRF foi possível mesmo em pacientes em terapia anticoagulante. Não foi observado impacto significativo nos valores do ensaio de tração axial nos três grupos de testes. Constatou-se impacto negativo da anticoagulação no uso de sutura. No presente estudo, PRF de pacientes em uso de varfarina demonstrou se tratar de biomaterial de comportamento viscoelástico e modelável, com grande capacidade de deformação. Ensaio de tração axial demonstrou comportamento de PRF de pacientes em uso de varfarina similar ao de não anticoagulados em todos os tempos de centrifugação. No entanto, o teste de resistência à sutura evidenciou diferença de comportamento de PRF de indivíduos anticoagulados, em todos os tempos de centrifugação, em comparação ao de não anticoagulados.

Palavras-chave: Fibrina rica em plaquetas. Varfarina. Anticoagulantes. Biomaterial. Testes mecânicos.

ABSTRACT

The use of platelet-rich fibrin (PRF) has been widespread in dental practice in recent years. The present laboratory study aimed to evaluate mechanically PRF in patients using warfarin. Twenty-one subjects using warfarin (mean INR 2.30 ± 0.89) and 21 non-anticoagulated subjects (mean INR 1.08 ± 0.07) participated in the study, which gave rise to the PRF samples. Three test groups were formed, adopting blood centrifugation for 10, 14 or 18 minutes: groups A (n=21), B (n=21) and C (n=20), respectively. A control group consisted of non-anticoagulated PRFs, centrifuged for 10 minutes (n=21). Each PRF had its mass measured. Mechanical properties were evaluated by axial tensile test and suture strength test using the INSTRON 3345® universal testing machine. Hematological parameters were compared by the Mann-Whitney test, and mechanical parameters by the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-test. Correlation was analyzed using the Spearman test (confidence of 95%). Groups A (2.17 ± 0.86 g) and B (2.21 ± 0.66 g) had greater mass than the control group (1.92 ± 0.56 g) with statistical significance. All groups had statistically similar axial tensile test results. Lower values of deformation in maximum force of the suture strength test were observed with statistical difference in groups A ($107.07 \pm 25.05\%$) and C ($104.81 \pm 16.79\%$) compared to the control ($118.01 \pm 17.61\%$). Lower values of maximum force (0.12 ± 0.05 N), deformation at maximum force ($97.59 \pm 19.08\%$) and force at break (0.08 ± 0.05 N) were observed in the suture strength test with statistical difference in group B compared to control (0.20 ± 0.06 N; $118.01 \pm 17.61\%$; 0.14 ± 0.06 N, respectively). PRF formation was possible even in patients on anticoagulant therapy. No significant impact was observed on the values of the axial tensile test in the three test groups. There was a negative impact of anticoagulation in the use of suture. In the present study, PRF from patients using warfarin was shown to be a biomaterial with a viscoelastic and moldable behavior, with a high capacity for deformation. Axial tensile test demonstrated PRF behavior of patients using warfarin similar to that of non-anticoagulated patients at all centrifugation times. However, suture strength test showed a difference in the PRF behavior of anticoagulated individuals, at all centrifugation times, compared to non-anticoagulated individuals.

Keywords: Platelet-rich fibrin. Warfarin. Anticoagulants. Biomaterial. Mechanical tests.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Obtenção de fibrina rica em plaquetas	14
Figura 2 - PRFs que compuseram os grupos A, B e C, respectivamente, da esquerda para a direita.....	25
Figura 3 - PRF que compôs o grupo-controle.....	25
Figura 4 - Formação dos grupos de estudo.....	26
Figura 5 - Posicionamento dos stops (setas vermelhas) com a finalidade de padronizar espessura das membranas em 0,3 mm.....	27
Figura 6 - Membrana de PRF obtida após compressão do coágulo entre superfícies metálica e de vidro.....	27
Figura 7 - Medição do comprimento de membrana de PRF.....	27
Figura 8 - Medição da largura de membrana de PRF.....	28
Figura 9 - Molde retangular posicionado na porção da membrana que estaria próxima do plasma acelular se PRF ainda estivesse no tubo de coleta (seta amarela). Molde circular posicionado na porção da membrana que estaria próxima do agregado de eritrócitos (seta vermelha). Essas posições de corte foram padronizadas para todas as amostras.....	29
Figura 10 - Molde retangular e porção da membrana de PRF cortada no mesmo formato para realização de ensaio de tração axial.....	29
Figura 11 - Molde circular e porção da membrana de PRF cortada no mesmo formato para realização de teste de resistência à sutura.....	29
Figura 12 - Mordentes acoplados em máquina de ensaio universal INSTRON® (lado esquerdo) e representação do teste de tração axial com membrana de PRF (lado direito).....	30
Figura 13 - Mordente acoplado em máquina de ensaio universal INSTRON®, demonstrando realização de teste de resistência à sutura com membrana de PRF.....	31
Figura 14 - Representação do ponto de transfixação do fio de sutura na membrana de PRF para teste de resistência à sutura.....	31
Figura 15 - Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo-controle.....	37

Figura 16 - Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo A.....	38
Figura 17 - Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo B.....	39
Figura 18 - Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo C.....	40
Figura 19 - Gráficos força-deformação dos testes de resistência à sutura do grupo-controle e do grupo A.....	41
Figura 20 - Gráficos força-deformação dos testes de resistência à sutura dos grupos B e C.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros hematológicos em participantes em tratamento com varfarina e sua comparação a participantes sem tratamento com varfarina.....	34
Tabela 2 - Comparação entre parâmetros de avaliação de PRF de participantes em tratamento com varfarina realizados com diferentes tempos de centrifugação e de PRF de participantes sem tratamento com varfarina.....	35
Tabela 3 - Correlação estatisticamente significativa entre os parâmetros avaliados nos grupos controle, A, B e C.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

PRP	<i>platelet-rich plasma</i> (plasma rico em plaquetas)
PDGF	<i>platelet-derived growth factor</i> (fator de crescimento derivado de plaqueta)
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i> (fator de crescimento endotelial vascular)
TGF- β	<i>transforming growth factor-β</i> (fator de crescimento transformante beta)
PRF	<i>platelet-rich fibrin</i> (fibrina rica em plaquetas)
BMP	<i>bone morphogenetic protein</i> (proteína morfogenética óssea)
IGF	<i>insulin-like growth factor</i> (fator de crescimento semelhante à insulina)
rpm	rotações por minuto
L-PRF	<i>leukocyte- and platelet-rich fibrin</i> (fibrina rica em plaquetas e leucócitos)
A-PRF	<i>advanced platelet-rich fibrin</i> (fibrina rica em plaquetas avançada)
A-PRF+	<i>advanced platelet-rich fibrin+</i> (fibrina rica em plaquetas avançada+)
liquid-PRF	<i>liquid platelet-rich fibrin</i> (fibrina rica em plaquetas líquida)
i-PRF	<i>injectable platelet-rich fibrin</i> (fibrina rica em plaquetas injetável)
INR	<i>international normalized ratio</i> (razão normalizada internacional)
TP	tempo de protrombina
®	marca registrada
ml	mililitro
M	molar
mm	milímetro
°C	grau Celsius
N	newton
kPa	quilopascal
%	porcento
MPa	megapascal
N.mm	newton milímetro
mm ³	milímetro cúbico
N/mm ²	newton por metro quadrado
TTPA	tempo de tromboplastina parcial ativada
UI	unidade internacional
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Science</i>
mg/dl	miligrama por decilitro
g/dl	grama por decilitro

fL	fentolitro
pg	picograma
g	grama
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	PRF em não anticoagulados.....	16
2.2	PRF em anticoagulados.....	19
3	JUSTIFICATIVA.....	22
4	OBJETIVO	23
4.1	Objetivo geral.....	23
4.2	Objetivos específicos.....	23
5	MATERIAL E MÉTODO	24
5.1	Grupos de estudo.....	24
5.2	Obtenção das membranas de PRF.....	26
5.3	Ensaio de tração axial.....	30
5.4	Teste de resistência à sutura.....	30
5.5	Parâmetros avaliados.....	32
5.6	Tamanho da amostra.....	32
5.7	Métodos estatísticos.....	32
5.8	Aspectos éticos.....	33
6	RESULTADOS	34
7	DISCUSSÃO	43
8	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXO – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	58

1 INTRODUÇÃO

Concentrados plaquetários consistem em materiais autólogos e biocompatíveis de origem sanguínea que são utilizados em procedimentos médicos e odontológicos há mais de 50 anos. Seu uso é citado como meio acessível, seguro e potente na indução da regeneração tecidual local (GEISINGER *et al.*, 2021; NGAH *et al.*, 2021). São reconhecidos como terapias adjuvantes capazes de maximizar a eficácia de tratamentos cirúrgicos ou medicamentosos primários (KAWASE *et al.*, 2020).

A ação dos concentrados plaquetários ocorre devido a sua capacidade de liberar, nos tecidos vizinhos, altas concentrações de fatores de crescimento. Esses mediadores biológicos atuam de forma positiva na regulação de eventos celulares (como migração, proliferação e diferenciação), síntese de matrix extracelular e promoção de angiogênese, resultando na otimização do processo de cicatrização (CHOU; CHANG; WANG, 2020; NGAH *et al.*, 2021).

Plasma rico em plaquetas (*platelet-rich plasma*, PRP) é classificado como concentrado plaquetário de primeira geração. Apresenta concentração de plaquetas de cinco a oito vezes maior quando comparado ao sangue inicialmente coletado. Contém fatores de crescimento naturais, incluindo fator de crescimento derivado de plaqueta (*platelet-derived growth factor*, PDGF), fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) e fator de crescimento transformante beta (*transforming growth factor- β* , TGF- β). Estes induzem o processo proliferativo da cicatrização no local de aplicação do concentrado plaquetário por um período aproximado de sete dias (GEISINGER *et al.*, 2021; MIRON *et al.*, 2021b).

Apesar de sua capacidade de otimização do processo cicatricial, PRP apresenta um protocolo de obtenção pouco prático, envolvendo duas etapas de centrifugação do sangue coletado, além da necessidade de presença de anticoagulante no tubo de coleta. A transformação em coágulo depende ainda da adição de ativadores da coagulação, como a trombina ou o cloreto de cálcio (CHOU; CHANG; WANG, 2020; GEISINGER *et al.*, 2021; NGAH *et al.*, 2021).

Modificações no protocolo de preparo do PRP deram origem à fibrina rica em plaquetas (*platelet-rich fibrin*, PRF), classificada como segunda geração de concentrados plaquetários. Eliminou-se a necessidade de uso de anticoagulante e da adição de ativadores de coagulação, assim como apenas uma etapa de centrifugação passou a ser suficiente, o que tornou o processo de obtenção do biomaterial mais conveniente (CHOU; CHANG; WANG, 2020; GEISINGER *et al.*, 2021; LUO *et al.*, 2019).

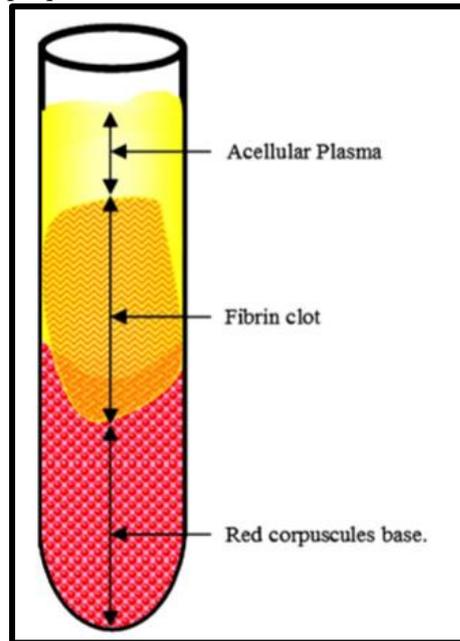
PRF consiste numa estrutura de fibrina natural que possibilita a prolongação da ação dos fatores de crescimento, permitindo a migração celular, a regeneração tecidual e a cicatrização de ferida adequadas. A liberação desses fatores pela PRF chega a se prolongar por até 28 dias. VEGF, TGF- β 1 e 2, proteínas morfogenéticas ósseas (*bone morphogenetic proteins*, BMPs), fator de crescimento semelhante à insulina (*insulin-like growth factor*, IGF) e PDGF são fatores de crescimento secretados pela PRF em quantidades significantes (DAMSAZ *et al.*, 2020; GEISINGER *et al.*, 2021; LUO *et al.*, 2019).

A centrifugação do sangue para obtenção de PRF gera uma rede tridimensional de fibrina, ricamente entremeada por leucócitos e plaquetas, que atua de forma a potencializar o processo cicatricial. Acredita-se que o reticulado fibrinoso possui a capacidade de capturar leucócitos adicionais e de permitir a penetração de células proliferativas cicatriciais periféricas quando em contato direto com os tecidos. Sua composição bioquímica confere-lhe características desejáveis através de sua ação hemostática, angiogênica, osteogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, analgésica e cicatrizante (DAMSAZ *et al.*, 2020; FAN; PEREZ; DYM, 2020).

Além disso, PRF mostra-se como um coágulo forte, resiliente, adesivo e maleável, possuindo consistência que permite sua manipulação de modo a adaptá-la em defeitos teciduais de diferentes formatos. Seu uso clínico pode ocorrer através de mistura com enxerto ósseo, como material de preenchimento direto ou na forma de membrana após compressão do coágulo. Essas propriedades, associadas às ações bioquímicas, ressaltam as vantagens da PRF em relação ao PRP (DAMSAZ *et al.*, 2020; FAN; PEREZ; DYM, 2020).

A obtenção de PRF é realizada através de coleta de sangue do paciente por punção venosa em tubos de vidro sem aditivos. Tubos de plástico com revestimento interno de sílica também podem ser utilizados. O contato do sangue com as paredes dos tubos ativa a via intrínseca de coagulação. Imediatamente após a coleta, o sangue deve ser centrifugado. Inúmeros protocolos são citados na literatura, com tempo de centrifugação e rotações por minuto (rpm) variando entre 8 e 14 minutos e entre 1300 e 3000 rpm, respectivamente. O processo sedimenta, na porção profunda do tubo, um agregado de eritrócitos de cor vermelha intensa. Na porção média, situa-se o coágulo de fibrina, de coloração amarelada, sobre o qual há líquido correspondente ao plasma acelular (CHOU; CHANG; WANG, 2020; DAMSAZ *et al.*, 2020; FAN; PEREZ; DYM, 2020; MIRON *et al.*, 2021a; MIRON *et al.*, 2021b) (FIGURA 1).

Figura 1 – Obtenção da fibrina rica em plaquetas



Fonte: Fan, Perez e Dym (2006).

Alguns autores denominam os concentrados plaquetários de segunda geração de diferentes formas, a depender dos protocolos de obtenção. Citam-se fibrina rica em plaquetas e leucócitos (*leukocyte- and platelet-rich fibrin*, L-PRF), fibrina rica em plaquetas avançada (*advanced platelet-rich fibrin*, A-PRF) e fibrina rica em plaquetas avançada+ (*advanced platelet-rich fibrin+*, A-PRF+) (ARAVENA *et al.*, 2021; CASTRO *et al.*, 2021). Recomenda-se, ainda, a redução considerável do tempo de centrifugação e das rpm para o preparo de PRF na forma líquida (*liquid platelet-rich fibrin*, liquid-PRF) ou injetável (*injectable platelet-rich fibrin*, i-PRF) (IŞIK *et al.*, 2021; KARADAYI; GURSOYTRAK, 2021).

O uso de PRF vem sendo amplamente difundido na prática odontológica nos últimos anos. Literatura científica cita aplicação em cirurgias relacionadas a terceiros molares, procedimentos periodontais, prevenção de perda óssea pós-exodontias, osteonecrose relacionada a medicamentos, levantamento de seio maxilar, prevenção de osteíte alveolar, defeitos ósseos dos maxilares e implantodontia (BAILEY *et al.*, 2020; CANELLAS *et al.*, 2020; CANELLAS *et al.*, 2021a; CANELLAS *et al.*, 2021b; CHEN *et al.*, 2021; CHOPRA *et al.*, 2021; ESCOBAR *et al.*, 2021; GULAMEABASSE *et al.*, 2021; GUSMAN *et al.*, 2021; HARTLEV *et al.*, 2021; MEZA-MAURICIO *et al.*, 2021; MIRON *et al.*, 2020; MIRON *et al.*, 2021c; MORASCHINI *et al.*, 2020; ORTEGA-MEJIA *et al.*, 2020; OSAGIE; SAHEEB; EGBOR, (2021); PANDA *et al.*, 2020; RAO *et al.*, 2021; RUSILAS; BALČIŪNAITĖ;

ŽILINSKAS, 2020; WANG *et al.*, 2021; YADAV; KUMAR, 2020; ZEITOUNLOUIAN *et al.*, 2021a; ZEITOUNLOUIAN *et al.*, 2021b; ZHU *et al.*, 2020).

Varfarina representa um dos principais medicamentos anticoagulantes antagonistas da vitamina K. É amplamente utilizada no tratamento de condições de saúde com risco tromboembólico aumentado, como fibrilação atrial, trombose venosa profunda, uso de próteses valvares cardíacas, embolia pulmonar e infarto agudo do miocárdio. Cirurgias ortopédicas também podem requerer seu uso. Sua administração acontece por via oral. Considera-se a razão normalizada internacional (*international normalized ratio*, INR) calculada a partir do tempo de protrombina (TP) para o monitoramento dos pacientes em uso desse medicamento (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020; FILHO *et al.*, 2021; MOURÃO *et al.*, 2019).

Os fatores de coagulação II (protrombina), VII, IX e X atuam na conversão da fibrina durante o processo de coagulação. São considerados fatores dependentes da vitamina K e, portanto, podem ter sua ação prejudicada com o uso da varfarina (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020). Levanta-se, então, questionamento sobre a formação de PRF de indivíduos anticoagulados em termos quantitativos e qualitativos.

Apesar da abundância de publicações que avaliam aspectos biológicos, mecânicos, morfológicos e clínicos da PRF (BAILEY *et al.*, 2020; CANELLAS *et al.*, 2020; CANELLAS *et al.*, 2021a; CANELLAS *et al.*, 2021b; CHEN *et al.*, 2021; CHOU; CHANG; WANG, 2020; DAMSAZ *et al.*, 2020; ESCOBAR *et al.*, 2021; FAN; PEREZ; DYM, 2020; GEISINGER *et al.*, 2021; GULAMEABASSE *et al.*, 2021; GUSMAN *et al.*, 2021; LUO *et al.*, 2019; MEZA-MAURICIO *et al.*, 2021; MIRON *et al.*, 2020; MIRON *et al.*, 2021a; MIRON *et al.*, 2021b; MIRON *et al.*, 2021c; MORASCHINI *et al.*, 2020; ORTEGA-MEJIA *et al.*, 2020; PANDA *et al.*, 2020; RUSILAS; BALČIŪNAITĖ; ŽILINSKAS, 2020; YADAV; KUMAR, 2020; ZHU *et al.*, 2020), a literatura científica mostra poucos estudos que possibilitam verificar a formação desse concentrado plaquetário a partir de indivíduos sob terapia anticoagulante (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020; BRANCACCIO *et al.*, 2021; FILHO *et al.*, 2021; MOURÃO *et al.*, 2019; OCKERMAN *et al.*, 2020; SAMMARTINO *et al.*, 2011; SARKAR *et al.*, 2019). Em se tratando de características macro e microscópicas de PRF de indivíduos em terapia com varfarina, publicações tornam-se ainda mais escassas (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020). Considerando busca realizada na base de dados PUBMED no presente ano, pode-se afirmar que inexiste informação científica a respeito de análises mecânicas de PRF de indivíduos sob uso dessa medicação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRF em não anticoagulados

Estudos caracterizam PRFs de indivíduos não anticoagulados do ponto de vista microscópico. Análise por microscopia eletrônica de varredura realizada por Madurantakam, Yoganarasimha e Hasan (2015) demonstrou que a porção superior do concentrado (mais próxima do plasma acelular) é constituída predominantemente por rede de fibrina sem células. Sua porção intermediária mostra-se enriquecida por plaquetas com evidência de ativação e degranulação. Porção profunda (mais próxima do agregado de eritrócitos) é formada por uma mistura de leucócitos e glóbulos vermelhos entremeados em matriz de fibrina.

Sam, Vadakkekuttical e Amol (2015) analisaram a morfologia de PRF de indivíduos saudáveis por meio de microscopia eletrônica de varredura. Na junção das porções vermelha e amarela do concentrado, leucócitos foram identificados em formato esférico com superfície irregular. Ao seu redor, observou-se um denso agregado de plaquetas ativadas situadas em fibrina madura. Na porção central da PRF, foram identificados densos agregados poliméricos formados por plaquetas com morfologia modificada pelo processo de coagulação associadas à matriz fibrinosa. Sugere-se, para uso clínico, manter uma pequena porção do agregado de eritrócitos aderida à PRF a fim de se preservar a presença de maior quantidade possível de leucócitos e plaquetas.

Revisões sistemáticas embasam o uso clínico de PRF na odontologia (CANELLAS *et al.*, 2020; CANELLAS *et al.*, 2021b; CHEN *et al.*, 2021; GUSMAN *et al.*, 2021; MEZA-MAURICIO *et al.*, 2021; MIRON *et al.*, 2021a; MIRON *et al.*, 2021c; MORASCHINI *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). A doença periodontal é uma das mais prevalentes doenças crônicas conhecidas. Casos moderados e severos chegam a acometer 38,5% da população. Regeneração periodontal envolve processos biológicos complexos que necessitam de interação entre epitélio, tecido conjuntivo gengival, ligamento periodontal e osso alveolar. Tem sido sugerido o uso de PRF com o propósito de otimizar esse processo. O uso do biomaterial tem se mostrado efetivo no tratamento de defeitos ósseos decorrentes de doenças periodontais, com resultados satisfatórios em profundidade de sondagem, inserção gengival e recobrimento radicular, associados a características radiográficas favoráveis (CHEN *et al.*, 2021; MIRON *et al.*, 2021c; MORASCHINI *et al.*, 2020).

O palato é citado como importante sítio doador de enxerto tecidual para tratamento de sequelas de doença periodontal. Estudos avaliam a viabilidade do uso de PRF na área de

remoção da enxertia, visando indução do processo de reparo. Observam-se, por meio de estudos, melhores resultados clínicos de cicatrização e de dor ao se utilizar o concentrado plaquetário em sítio doador em palato, culminando em qualidade de vida favorável (GUSMAN *et al.*, 2021; MEZA-MAURICIO *et al.*, 2021).

Remodelação alveolar é um processo fisiológico observado após extrações dentárias. Reabsorção do tecido ósseo ocorre predominantemente entre três e seis meses após exodontia, resultando em perda de espessura de rebordo de 29-63%. Segundo revisões sistemáticas, não existe enxertia capaz de prevenir totalmente a perda de osso. No entanto, o uso de PRF intra-alveolar após extração, em comparação com cicatrização espontânea, reduz a reabsorção do rebordo, especialmente quando associado com enxerto ósseo (CANELLAS *et al.*, 2021b; MIRON *et al.*, 2021a).

Osteíte alveolar, também chamada de alveolite seca, é uma complicação autolimitante associada a exodontias. Sua incidência varia entre 0,5 e 5%. A forte arquitetura de fibrina da PRF parece se mostrar menos susceptível à degradação parcial ou completa por mediadores inflamatórios. Diante dessa característica, seu uso intra-alveolar tem sido utilizado na prevenção da alveolite seca após remoção de terceiros molares inferiores com resultados satisfatórios (CANELLAS *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020).

A caracterização de biomateriais através de estudos laboratoriais se faz necessária por: 1- permitir o aprimoramento destes; 2- identificar novas aplicabilidades de uso; e 3- possibilitar um planejamento mais previsível de procedimentos cirúrgicos. A literatura científica apresenta diversos estudos com essa finalidade, nas mais variadas vertentes de atuação da área da saúde, como oftalmologia, cirurgia cardiovascular e tratamento de queimaduras (AKTAŞ *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2015; KER *et al.*, 2018; KONIG *et al.*, 2009; KÜNG *et al.*, 2016; MCGREGOR *et al.*, 2016; PENSALFINI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018).

Lucarelli *et al.* (2010) avaliaram características mecânicas de matriz de PRF obtida pelo sistema comercial disponível na época conhecido como FIBRINET®. O protocolo sugeria uma coleta inicial de sangue humano, seguida de centrifugação por seis minutos para formação de PRP. Logo após, o material era transferido para outro tubo, contendo ativador de coagulação (0,25 ml de cloreto de cálcio, 1 M) para nova centrifugação por 25 minutos, formando-se o coágulo de PRF. Amostras de matriz translúcida amarelo-esbranquiçadas com mesmo diâmetro dos tubos usados na centrifugação (33 mm) foram obtidas. Com a finalidade de realização de testes mecânicos, membranas de PRF foram cortadas, acondicionadas em solução salina estéril a 4° C e submetidas a ensaio de tração axial em equipamento INSTRON 4302® com célula de

carga de 10 N após cinco dias. Os autores constataram aprimoramento das propriedades mecânicas da matriz de PRF em comparação com outros concentrados plaquetários descritos na época, obtendo valores de $937,3 \pm 314,6$ kPa, $1476,0 \pm 526,3$ kPa e $146,3 \pm 33,8\%$ para módulo de elasticidade, tensão em ruptura e deformação em ruptura, respectivamente.

Estudo de Madurantakam, Yoganarasimha e Hasan (2015) avaliou mecanicamente amostras de L-PRF preparadas a partir de coleta de sangue humano em tubos de vidro submetidos a centrifugação por 12 minutos. Em seguida, os coágulos foram cuidadosamente comprimidos por superfície metálica durante 30 segundos a fim de se obter material em forma de membrana. Para realização de ensaio de tração axial, as membranas foram cortadas em formato de “osso de cachorro” (7,5 mm de comprimento e 2,75 mm de largura em seu ponto mais estreito) e submetidas a tensão enquanto ainda estavam úmidas, com equipamento operando em velocidade de 10 mm/minuto. Realizou-se também teste de resistência à sutura, com membranas cortadas em formato retangular (10 mm x 25 mm) transpassadas por fio ortodôntico (220 μ m de diâmetro). Cada membrana em forma de retângulo era presa no mordente fixo do equipamento de ensaios universais enquanto o fio era fixado no mordente móvel, que operava em velocidade de 10 mm/minuto. Os resultados mostraram um comportamento viscoelástico e maleável. Apesar do baixo módulo de elasticidade (0,47 MPa), L-PRF mostrou-se resistente (energia em ruptura de 5 N.mm) e com grande capacidade de deformação (217%). Segundo Isobe *et al.* (2017), o módulo de elasticidade em tensão consiste na razão entre a variação de tensão a qual determinado material é submetido e sua correspondente variação de deformação. Módulos de elasticidade e deformação são grandezas inversamente proporcionais. Altos valores de módulo de elasticidade implicam baixa capacidade de deformação e vice-versa.

Sam, Vadakkekuttical e Amol (2015) obtiveram amostras de PRF através de coleta de sangue humano em tubos de vidro (10 ml) estéreis sem anticoagulante a ser centrifugado de imediato (3000 rpm por dez minutos). Membranas foram geradas a partir de compressão por dois pedaços de gaze cirúrgica, cortadas em formato retangular (10 mm x 5 mm) e hidratadas com solução tampão de fosfatos (pH 7,4) antes da realização de teste de indentação de superfície (equipamento T1 950 Triboindenter). PRF foi comparada com outras membranas colágenas disponíveis comercialmente usadas em regeneração tecidual guiada. Colágeno derivado de boi e de peixe mostrou melhores propriedades relacionadas a elasticidade e dureza.

Kardos *et al.* (2018) propõem o uso clínico de PRF congelada sob a justificativa de que suas características são melhoradas nessa condição. Os autores constataram que o congelamento resultou em maior resistência da PRF através de realização de ensaio de tração

axial (INSTRON 5566®, operando em velocidade de 10 mm/minuto). Adicionalmente, observou-se preservação de suas propriedades biológicas.

Considerando a biocompatibilidade e as propriedades antimicrobianas das nanopartículas de prata, Khorshidi *et al.* (2018) avaliaram as características da L-PRF associada ou não a essas estruturas. Concentrados plaquetários foram obtidos através de centrifugação de sangue humano em velocidade de 2700 rpm por 12 minutos. Ensaio de tração axial foi realizado por equipamento Zwick/Roell operando em velocidade de 2 mm/minuto. Nanopartículas de prata incorporadas ao L-PRF resultaram em maior rigidez e resistência à tração. Observou-se também aumento da ação antimicrobiana.

Pascoal *et al.* (2021) compararam propriedades mecânicas, constatadas após ensaio de tração axial (equipamento Shimadzu MMT-101 N), de coágulos de PRF obtidos por dois protocolos distintos. O primeiro protocolo, para obtenção de L-PRF, orientava centrifugação em 2700 rpm por 12 minutos. O segundo protocolo, para obtenção de A-PRF, indicava 1500 rpm por 14 minutos. Foram analisadas 13 membranas para cada tipo de concentrado plaquetário. A-PRF mostrou-se significativamente mais resistente, com tração máxima de 0,0752 N/mm², enquanto L-PRF apresentou 0,0425 N/mm².

2.2 PRF em anticoagulados

A literatura científica menciona diversos estudos que sugerem interferência da anticoagulação sistêmica nas características dos concentrados plaquetários. Sangue humano de indivíduos saudáveis foi coletado e adicionado de anticoagulantes orais (dabigatran ou rivaroxaban) previamente a procedimento para obtenção de PRP. Constatou-se queda dos níveis de geração de trombina nas amostras em comparação com grupo-controle (HOSOKAWA *et al.*, 2014).

Kalaska *et al.* (2014) identificaram comprometimento da formação de fibrina em PRP obtido de sangue de ratos Wistar machos em uso 1-metilpiridina, 1,3 e 1,4 dimetilpiridina dissolvidos em água. Piridinas são compostos derivados do café, que possuem propriedades antitrombóticas e antiplaquetárias.

Kikuchi *et al.* (2018) avaliaram terapia com ácido úrico, indicada para casos de acidente vascular cerebral isquêmico. Foi observado aumento do efeito trombolítico em PRP obtido de sangue humano exposto a essa substância.

O oligonucleotídeo HD1 possui a capacidade de reduzir de forma potente a ação da trombina. Derszniak *et al.* (2019) constataram forte inibição de agregação plaquetária em PRP obtido de sangue humano de indivíduos não anticoagulados exposto a HD1.

Estudo realizado por Jourdi *et al.* (2019) analisou PRP obtido de sangue humano de indivíduos saudáveis exposto a dabigatran ou rivaroxaban. Verificou-se que a agregação plaquetária foi retardada, apesar de não ter sido modificada.

Kolodziejczyk-Czepas *et al.* (2021) analisaram PRP de origem humana adicionado de extrato herbal de *Uncaria tomentosa*. Foi observado leve efeito inibidor de agregação plaquetária, não excedendo 20% dos valores considerados padrão. Os componentes da planta são utilizados na medicina por sua ação anticoagulante.

Apesar da suposta interferência de agentes anticoagulantes sistêmicos na formação dos concentrados plaquetários relatada pelos autores citados anteriormente, outras pesquisas científicas trazem resultados em favor dos PRP e PRF obtidos em condições de anticoagulação. Velier *et al.* (2017), em estudo com seres humanos, compararam PRP de indivíduos sob uso ou não de antiplaquetários/anticoagulantes (ácido acetilsalicílico, clopidogrel ou fluindiona). Características biológicas, em ambos os grupos, foram similares, indicando que drogas antitrombóticas não impactam na funcionalidade das plaquetas e na produção do gel de PRP.

Pesquisa avaliou efeito do uso oral de varfarina em seres humanos, comparando PRF de indivíduos não anticoagulados versus PRF de indivíduos em uso do medicamento. Análise macroscópica e por microscopia eletrônica de varredura não identificou diferença entre os coágulos dos dois grupos (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020).

Ockerman *et al.* (2020) estudaram o impacto de terapia anticoagulante *in vitro* nas propriedades mecânicas e estruturais de membranas de L-PRF de seres humanos. Sangue de indivíduos não anticoagulados foram coletados e adicionados de 0,5 ml de enoxaparina em diferentes concentrações a fim de simular anticoagulação sistêmica. Tubos de sangue dos mesmos voluntários foram adicionados de solução salina sem anticoagulante e foram utilizados como controle. L-PRF foi obtido por centrifugação em velocidade de 2700 rpm por 12 minutos. Foi constatado que baixas doses de enoxaparina não afetaram as propriedades mecânicas, a rede de fibrina ou o conteúdo celular do concentrado plaquetário. No entanto, altas doses prejudicaram sua formação a ponto de impedir análises.

Indivíduos em terapia anticoagulante apresentam maior risco hemorrágico e atraso do reparo tecidual decorrentes da ausência ou formação deficiente de coágulo sanguíneo. O uso de concentrados plaquetários como coágulo artificial em sítio cirúrgico pode, nesses casos,

compensar a deficiência das ações hemostática e cicatricial fisiológicas, em especial nos procedimentos cirúrgicos orais e maxilofaciais (SIMONPIERI *et al.*, 2012).

Estudos avaliam o uso clínico de PRF como hemostático local pós-cirurgias orais em indivíduos sob terapia antitrombótica. Sammartino *et al.* (2011) acompanharam 50 pacientes cardíacos anticoagulados por varfarina de uso sistêmico, sem suspensão da medicação, em período pós-exodontias. PRFs foram introduzidas nos alvéolos dentários. Apenas 4% dos participantes enfrentaram complicações hemorrágicas, que foram prontamente controladas por compressão local e uso de agentes hemostáticos tópicos. Ademais, outras complicações não foram observadas.

Acompanhamento de 25 exodontias em diferentes indivíduos, todos sob uso de rivaroxaban ou apixaban, sem suspensão da anticoagulação, foi realizado por Mourão *et al.* (2019). Utilizou-se como método hemostático local introdução intra-alveolar de PRF associada à sutura. Foi observada ausência de episódios hemorrágicos.

Pesquisa clínica realizada por Brancaccio *et al.* (2021) acompanhou 102 indivíduos sob terapia antiplaquetária com indicação de no mínimo quatro exodontias. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados por paciente no mesmo momento operatório sem interrupção da anticoagulação. Cada alvéolo dentário recebeu um tipo de intervenção para posterior comparação: A-PRF+ e sutura versus L-PRF e sutura versus plug hemostático de celulose e sutura versus apenas sutura. Ácido acetilsalicílico, clopidogrel e ticagrelor (associados ou não) eram os medicamentos em uso. Ao final do estudo, todos os concentrados plaquetários foram considerados alternativas válidas aos métodos hemostáticos tradicionais, reduzindo o sangramento pós-cirúrgico e estimulando o processo de cicatrização.

3 JUSTIFICATIVA

O uso de PRF mostra-se, na literatura científica odontológica atual, como um método terapêutico adjuvante consolidado na prática clínica. O aumento da expectativa de vida da população, decorrente do aprimoramento das práticas médicas na prevenção e no tratamento de condições tromboembólicas, faz da assistência em saúde bucal prestada a indivíduos em anticoagulação oral, especialmente por uso de varfarina, uma realidade em consultórios e clínicas odontológicas. Estudos laboratoriais que avaliam aspectos relacionados aos concentrados plaquetários de segunda geração de indivíduos em uso de drogas antitrombóticas são escassos.

Diante do exposto, fazem-se necessários o delineamento e a execução de linhas de pesquisa que atuem na análise pré-clínica de PRF obtida de pacientes anticoagulados por varfarina a fim de embasar sua aplicação direta.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

- Avaliar PRF de pacientes sob uso de varfarina através de testes mecânicos.

4.2 Objetivos específicos

- Comparar PRF de pacientes em uso de varfarina versus não uso de anticoagulantes por meio de ensaio de tração axial;
- Comparar PRF de pacientes em uso de varfarina versus não uso de anticoagulantes por meio de teste de resistência à sutura;
- Verificar impacto do tempo de centrifugação na caracterização mecânica de PRF de pacientes em uso de varfarina.

5 MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de estudo laboratorial no qual características mecânicas de membranas de PRF de pacientes em uso de varfarina (três grupos de testes, variando tempo de centrifugação) foram avaliadas e comparadas com as de participantes que não fazem uso de anticoagulante (grupo-controle).

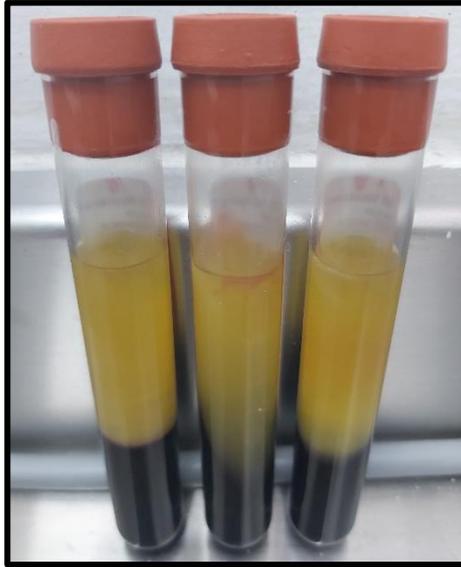
5.1 Grupos de estudo

Para formação dos três grupos de testes, cada participante em uso de varfarina foi submetido a coleta de três tubos de sangue:

- a) O primeiro tubo foi centrifugado por dez minutos, conforme orientações para pacientes não anticoagulados de Dohan *et al.* (2006), compondo o primeiro grupo de teste (grupo A).
- b) O segundo foi centrifugado por tempo intermediário, compondo o segundo grupo de teste (grupo B). Para esse grupo, optou-se de forma aleatória por centrifugação por 14 minutos.
- c) O terceiro foi centrifugado por 18 minutos, conforme orientações para pacientes anticoagulados de Sammartino *et al.* (2011), compondo o terceiro grupo de teste (grupo C) (FIGURA 2).

Apenas pacientes em uso de varfarina foram incluídos no estudo para formação dos grupos de testes. Usuários de outros anticoagulantes foram excluídos.

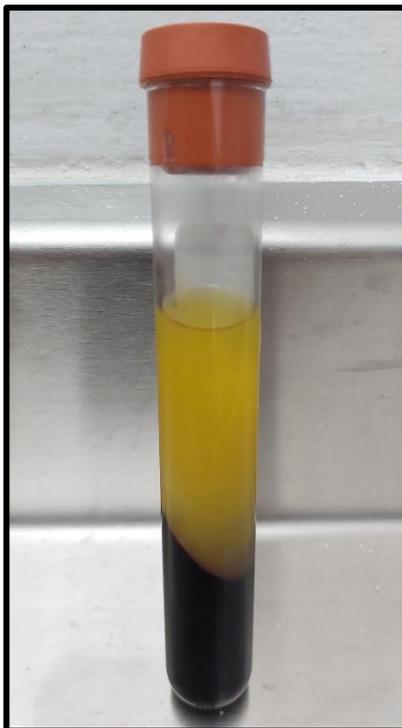
Figura 2 – PRFs que compuseram os grupos A, B e C, respectivamente, da esquerda para a direita



Fonte: próprio autor.

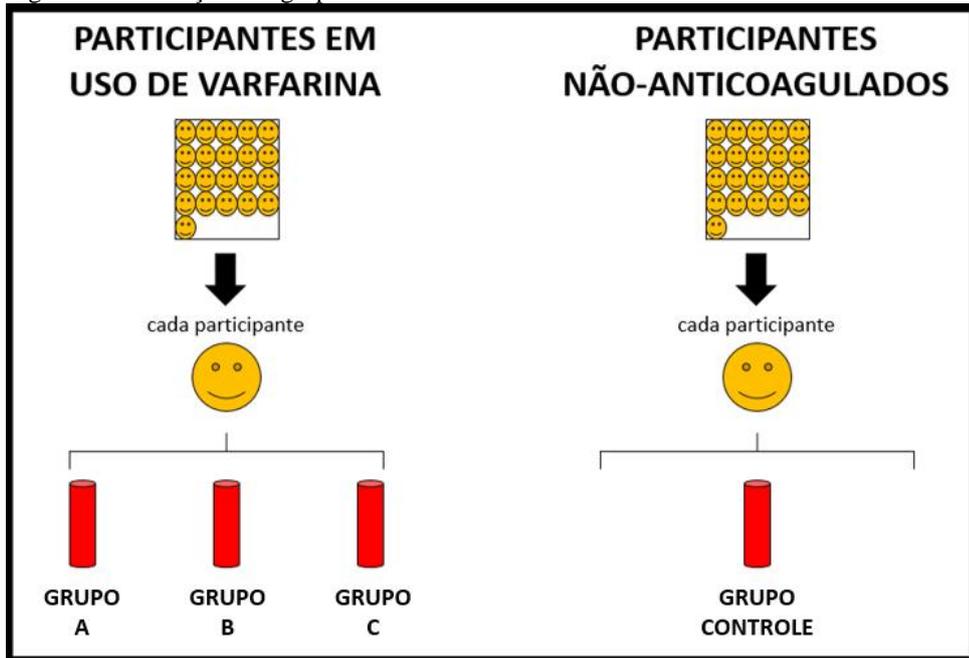
Para formação do grupo-controle, um tubo de sangue foi coletado por participante não submetido a terapia anticoagulante e, em seguida, centrifugado por dez minutos, conforme orientação para pacientes não anticoagulados de Dohan *et al.* (2006) (FIGURAS 3 e 4).

Figura 3 – PRF que compôs grupo-controle



Fonte: próprio autor.

Figura 4 – Formação dos grupos de estudos

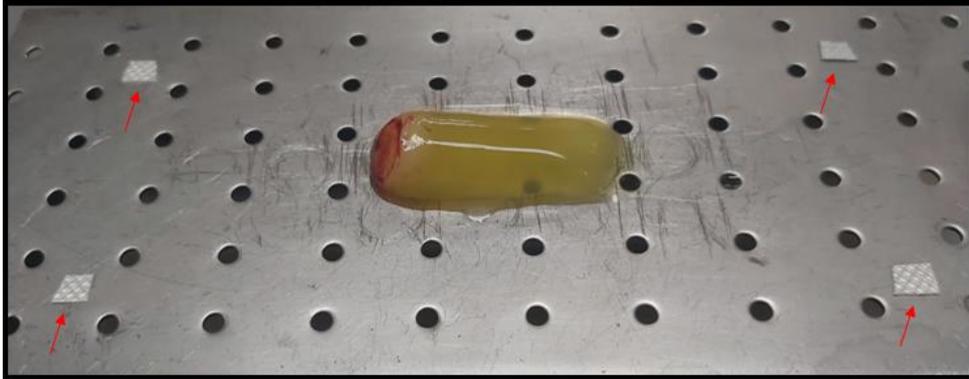


Fonte: próprio autor.

5.2 Obtenção das membranas de PRF

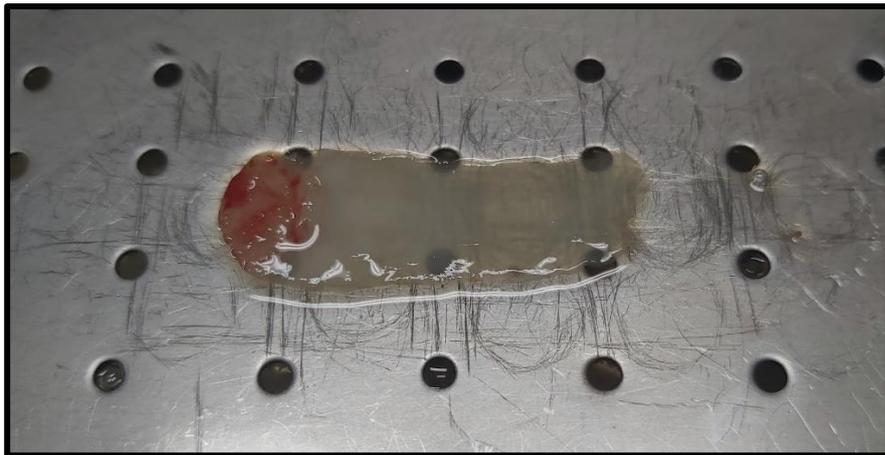
Coágulos de PRF foram obtidos a partir de coleta de 10 ml de sangue dos participantes através de punção de veia do membro superior realizada por técnico de laboratório experiente, entre os horários de sete e dez horas da manhã, sem necessidade de jejum. Material coletado correspondente a cada concentrado plaquetário foi condicionado em tubos de plástico de 10 ml com paredes internas jateadas por sílica sem anticoagulante (BD Vacutainer®) (MARTINS *et al.*, 2021), e submetido a centrifugação em velocidade de 3000 rpm por tempo de acordo com o grupo em que foi alocado (10, 14 ou 18 minutos). Observou-se formação de coágulo de PRF na porção central do tubo. O plasma acelular (localizado na porção superior do tubo) e o agregado de eritrócitos (localizado na porção inferior do tubo) foram descartados (DOHAN *et al.*, 2006). O conjunto de hemácias foi separado da fibrina através de delicado manuseio com pinça clínica e cabo de bisturi munido de lâmina número 15. Concentrado plaquetário foi moldado em forma de membrana através de cuidadosa compressão deste contra superfície metálica perfurada, lisa e reta com placa de vidro polida por 30 segundos. Foram posicionados entre ambas as superfícies quatro *stops* com o objetivo de padronizar a espessura da membrana em 0,3 mm em todos os casos (FIGURAS 5 e 6). Após obtenção das membranas, suas medidas de comprimento e largura foram mensuradas com auxílio de paquímetro digital 150 mm (DEXTER®) (FIGURAS 7 e 8).

Figura 5 – Posicionamento dos stops (setas vermelhas) com a finalidade de padronizar espessura das membranas em 0,3 mm



Fonte: próprio autor.

Figura 6 – Membrana de PRF obtida após compressão do coágulo entre superfícies metálica e de vidro



Fonte: próprio autor.

Figura 7 – Medição do comprimento de membrana de PRF



Fonte: próprio autor.

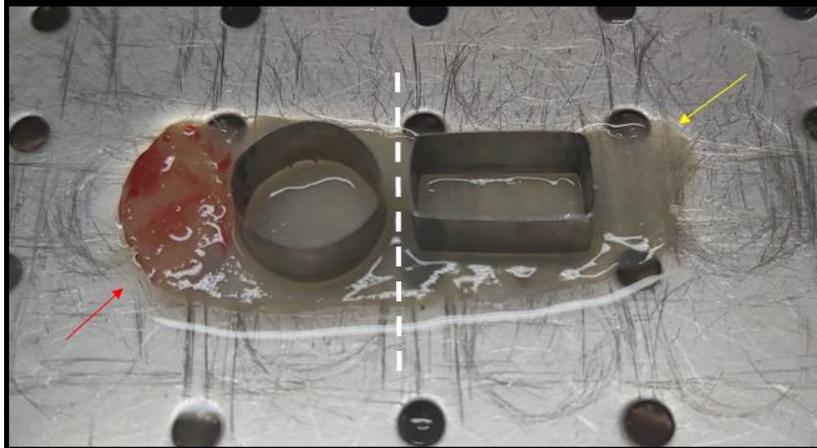
Figura 8 – Medição da largura de membrana de PRF



Fonte: próprio autor.

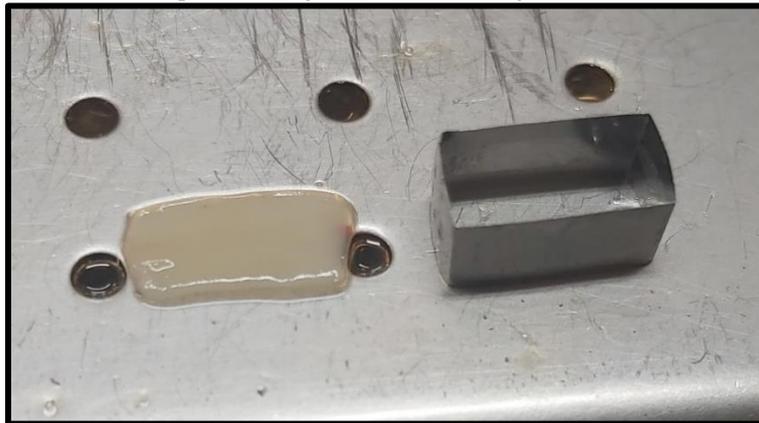
Propriedades mecânicas das membranas de PRF foram analisadas a partir de ensaio de tração axial e de teste de resistência à sutura. Para o primeiro teste, porção de cada membrana foi recortada em formato de retângulo (10,1 mm x 5,25 mm) com auxílio de molde pré-fabricado; para o segundo, foi recortada porção de cada membrana em formato de círculo (8,0 mm de diâmetro) com auxílio de molde fabricado previamente. Ambos os moldes foram confeccionados com fita matriz metálica, e seu uso padronizou as dimensões de todas as amostras testadas. Cada membrana deu origem a um recorte retangular e um circular. Os cortes em retângulo foram feitos na membrana em sua porção que estaria próxima ao plasma acelular caso o PRF ainda estivesse no tubo de coleta, enquanto os cortes em círculo foram removidos da porção que estaria próxima ao agregado de eritrócitos. Essas posições de recorte foram padronizadas de forma aleatória com a finalidade de minimizar possível viés. As membranas foram recortadas com cabo de bisturi e lâmina número 15 (FIGURAS 9, 10 e 11).

Figura 9 – Molde retangular posicionado na porção da membrana que estaria próxima do plasma acelular se PRF ainda estivesse no tubo de coleta (seta amarela). Molde circular posicionado na porção da membrana que estaria próxima do agregado de eritrócitos (seta vermelha). Essas posições de corte foram padronizadas para todas as amostras.



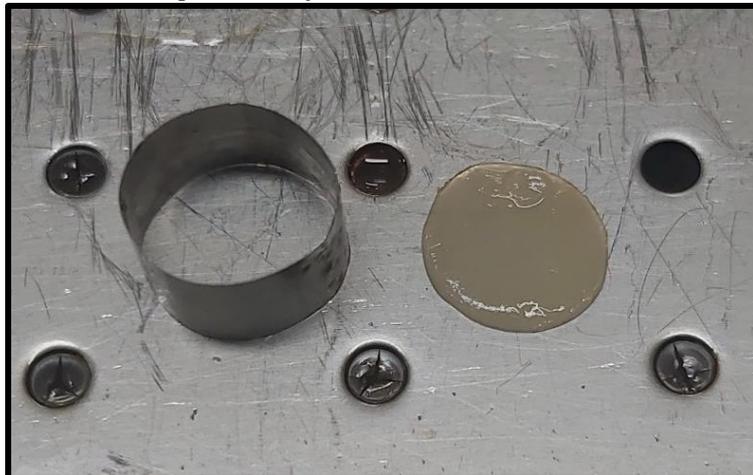
Fonte: próprio autor.

Figura 10 – Molde retangular e porção da membrana de PRF cortada no mesmo formato para realização de ensaio de tração axial



Fonte: próprio autor.

Figura 11 – Molde circular e porção da membrana de PRF cortada no mesmo formato para realização de teste de resistência à sutura

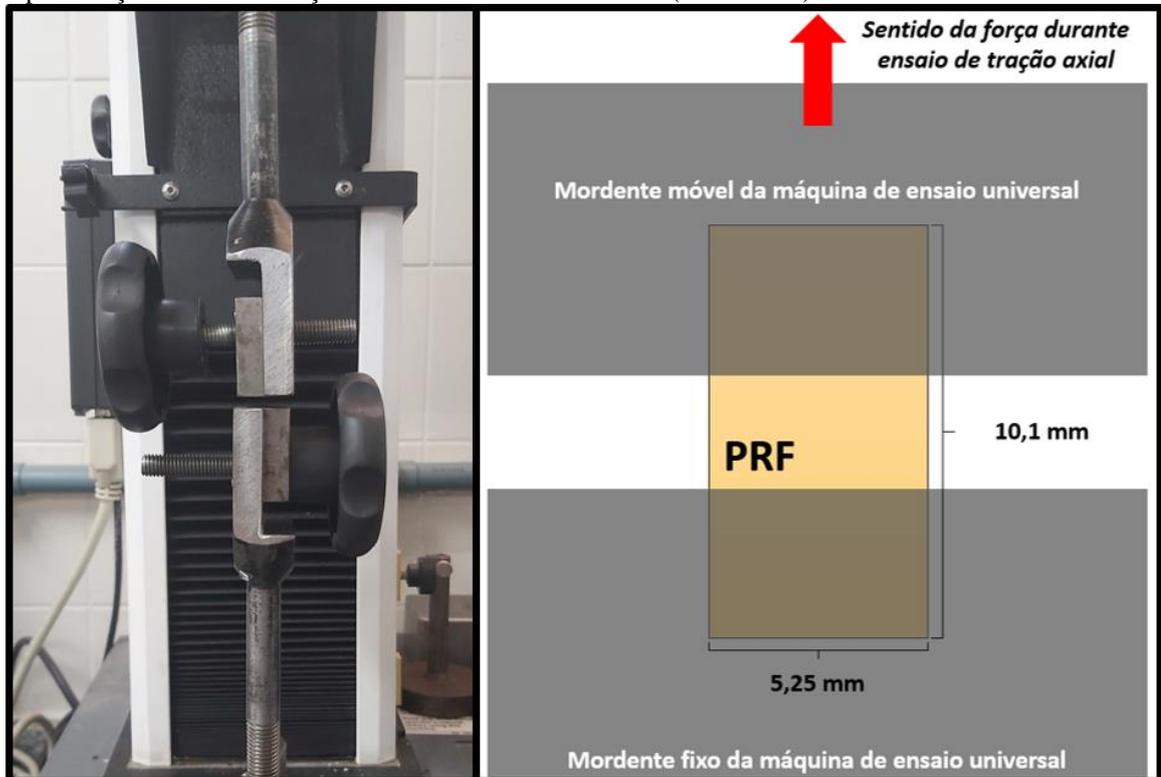


Fonte: próprio autor.

5.3 Ensaio de tração axial

Ensaio de tração axial foi realizado por máquina de ensaio universal com célula de carga de 5 N (INSTRON 3345®). Ambas as extremidades do recorte retangular da membrana foram fixadas por mordentes acoplados ao equipamento de modo que a amostra foi submetida a tração no sentido do seu longo eixo em velocidade de 10,0 mm/minuto até sua ruptura (MADURANTAKAM; YOGANARASIMHA; HASAN, 2015; OCKERMAN *et al.*, 2020) (FIGURA 12).

Figura 12 – Mordentes acoplados em máquina de ensaio universal INSTRON® (lado esquerdo) e representação do teste de tração axial com membrana de PRF (lado direito)



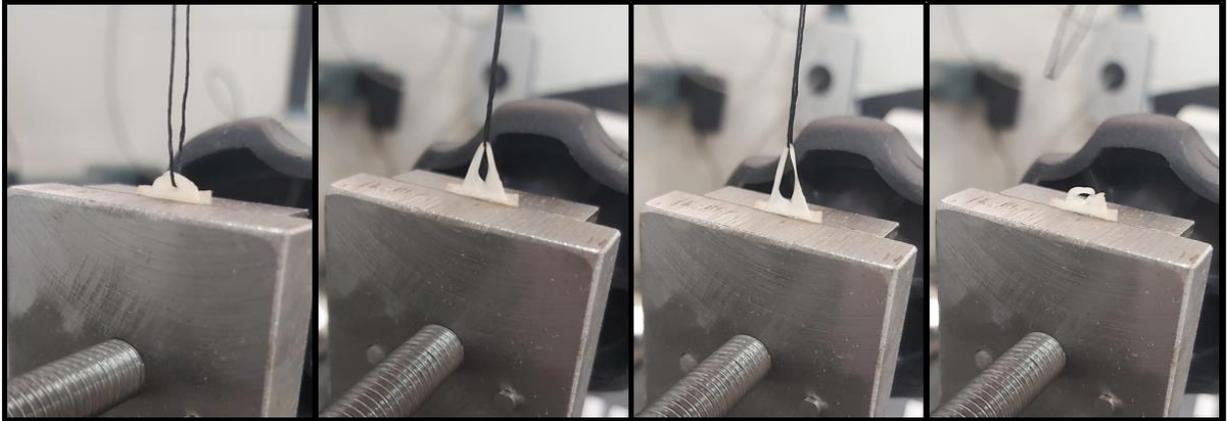
Fonte: próprio autor.

5.4 Teste de resistência à sutura

Teste de resistência à sutura foi realizado pelo mesmo equipamento do ensaio anterior com mesma programação (INSTRON 3345®, com célula de carga de 5 N, em velocidade de 10,0 mm/minuto). O mordente fixo aprisionou o recorte circular da membrana comprimindo uma de suas metades. A porção livre do círculo foi transfixada por fio de sutura agulhado de seda 3.0 de uso odontológico (PROCARE®) a uma distância igual de 2 mm do centro e da borda externa da membrana. Após transfixação, o fio foi amarrado no mordente

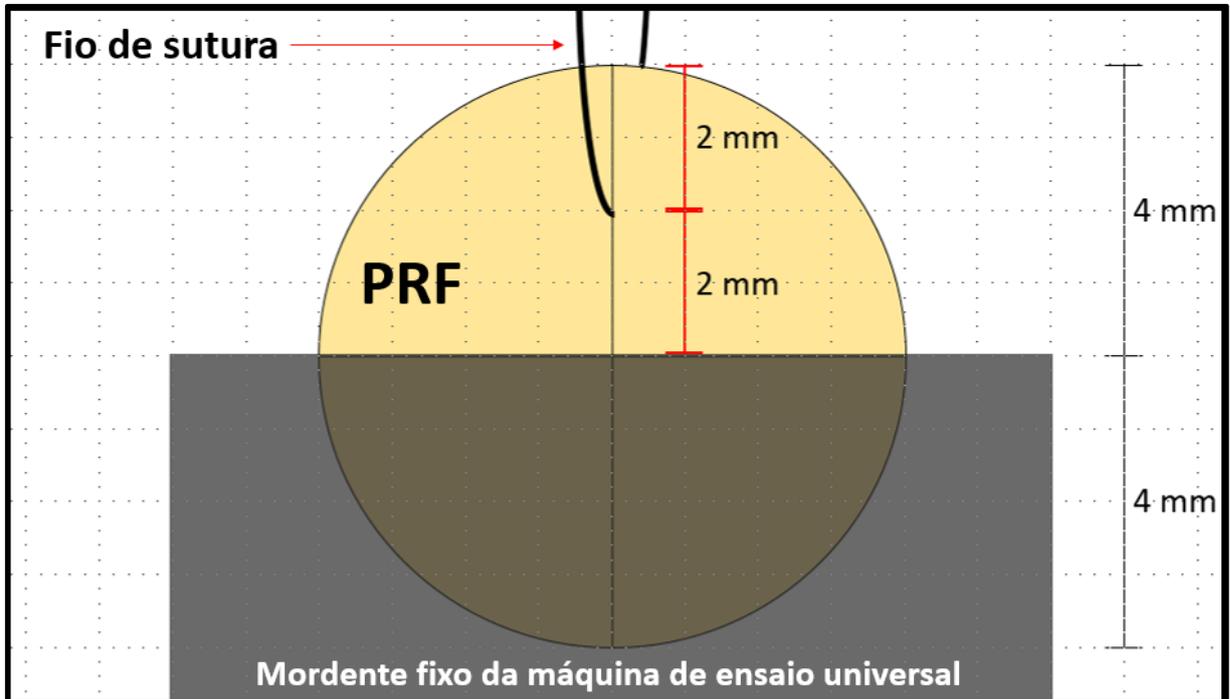
móvel, que fez movimento de tração até momento de ruptura da amostra (HONG *et al.*, 2018; KÜNG *et al.*, 2016; KÜNG *et al.*, 2017; MADURANTAKAM; YOGANARASIMHA; HASAN, 2015) (FIGURAS 13 e 14).

Figura 13 – Mordente acoplado em máquina de ensaio universal INSTRON®, demonstrando realização de teste de resistência à sutura com membrana de PRF



Fonte: próprio autor.

Figura 14 – Representação do ponto de transfixação do fio de sutura na membrana de PRF para teste de resistência à sutura



Fonte: próprio autor.

5.5 Parâmetros avaliados

Hemograma, tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), TP, INR e glicemia capilar do momento da coleta de sangue para obtenção de PRF foram realizados. PRFs tiveram sua massa mensurada logo após separação do agregado de hemácias em balança de precisão (BEL Equipamentos LTDA®). Após obtenção das membranas, suas medidas de comprimento e largura foram registradas. Software específico (Bluehill 2®) calculou resultados referentes a: força máxima, tensão máxima, deformação em força máxima, força em ruptura, tensão em ruptura e deformação em ruptura do ensaio de tração axial; e força máxima, deformação em força máxima, força em ruptura e deformação em ruptura do teste de resistência à sutura.

Todas as coletas e centrifugações para obtenção de PRF, assim como exames hematológicos, foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas, enquanto todo o manuseio das PRFs logo após centrifugação ocorreu no Laboratório Multidisciplinar em Pesquisa Odontológica do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, ambos vinculados à Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

5.6 Tamanho da amostra

Baseado no estudo de Ockerman *et al.* (2020) que observou que a *Elongation at break* \pm SD [-] variou significativamente de L-PRF de pacientes controles (2.78 ± 0.35) comparados a fazendo uso de 5 UI enoxaparina (2.34 ± 0.64), estimou-se necessário avaliar 21 amostras por grupo a fim de obter 80% de poder e 95% de confiança em rejeitar a hipótese de nulidade deste estudo.

5.7 Métodos estatísticos

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel e exportados para o SPSS v20.0 para Windows no qual as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95%. Todos os dados foram expressos em forma de média e desvio-padrão e submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. As médias dos parâmetros hematológicos foram comparadas entre os dois grupos por meio do teste de Mann-Whitney, e as médias dos parâmetros mecânicos foram comparadas entre os quatro grupos experimentais por meio do teste Kruskal-Wallis seguido do

pós-teste de Dunn. Adicionalmente, em cada grupo, parâmetros mecânicos e hematológicos foram correlacionados por meio da correlação de Spearman.

5.8 Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará sob parecer de número 3.795.863. Participaram da pesquisa apenas aqueles que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foi-lhes garantido o direito de desistir da pesquisa, em qualquer momento, sem que houvesse qualquer penalidade ou prejuízo.

A pesquisa foi executada seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras da Resolução nº 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, que incorpora, sob a ótica do indivíduo e das coletividades, referenciais da bioética, tais como autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade, dentre outros, e visa a assegurar os direitos e deveres que dizem respeito aos participantes da pesquisa, à comunidade científica e ao Estado.

6 RESULTADOS

Um total de 42 voluntários participaram da pesquisa, sendo 21 anticoagulados em uso de varfarina (idade média em anos de 61,10±10,99; relação mulher/homem de 9/12) e 21 não anticoagulados (idade média em anos de 50,81±19,12; relação mulher/homem de 13/8). Usuários de outras drogas antitrombóticas foram excluídos da pesquisa.

A tabela 1 mostra parâmetros hematológicos dos participantes em terapia anticoagulante e dos não anticoagulados.

Tabela 1 - Parâmetros hematológicos em participantes em tratamento com varfarina e sua comparação a participantes sem tratamento com varfarina

	GRUPO		p-valor
	Controle	Varfarina	
IDADE (anos)	50.81±19.12	61.10±10.99	0,099
SEXO (feminino/masculino)[†]	13/8	9/12	0,217
GLICEMIA CAPILAR (mg/dl)	-	-	0,125
HEMÁCIAS MILHÕES (/mm³)	-	-	0,443
HEMOGLOBINA (g/dl)	-	-	0,413
HEMATÓCRITO (%)	-	-	0,352
VCM (fL)	-	-	0,237
HCM (pg)	-	-	0,980
CHCM (g/dl)	-	-	0,257
RDW (%)	12.91±0.80	14.33±1.22*	<0,001
LEUCÓCITOS (/mm³)	-	-	0,119
NEUTRÓFILOS (/mm³)	-	-	0,187
BASTÕES (/mm³)	-	-	0,973
SEGMENTADOS (/mm³)	-	-	0,187
EOSINÓFILOS (/mm³)	-	-	0,763
LINFÓCITOS (/mm³)	-	-	0,195
MONÓCITOS (/mm³)	-	-	0,811
PLAQUETAS (/mm³)	-	-	0,302
TP (segundos)	13.16±0.73	24.60±7.62*	<0,001
INR	1.08±0.07	2.30±0.89*	<0,001
TTPA (segundos)	-	-	0,068

*p<0,05 vs. Controle; Teste Mann-Whitney (média ± DP). †Teste qui-quadrado.

Os grupos A, B e controle foram compostos por 21 PRFs. O grupo C foi composto por apenas 20 PRFs, pois um dos tubos de coleta foi centrifugado de maneira inadequada, tendo sido excluído do estudo.

Foram obtidas as seguintes médias de valores para comprimento e largura da membrana, respectivamente: 35,49±5,36 mm e 13,14±0,87 mm para o grupo-controle; 34,60±5,03 mm e 13,07±0,56 mm para o grupo A; 43,62±4,60 mm e 12,45±0,86 mm para o grupo B; e 34,41±6,79 mm e 13,10±0,65 mm para o grupo C.

A tabela 2 mostra comparação entre caracterização de PRF de participantes em terapia anticoagulante e de não anticoagulados.

Tabela 2 - Comparação entre parâmetros de avaliação de PRF de participantes em tratamento com varfarina realizados com diferentes tempos de centrifugação e de PRF de participantes sem tratamento com varfarina

	Varfarina				p-valor
	Controle	A	B	C	
MASSA DO PRF (g)	1.92±0.56	2.17±0.86*	2.21±0.66*	1.64±0.69‡	0,039
FORÇA MÁXIMA (N)	0.38±0.12	0.43±0.33	0.48±0.25	0.54±0.31	0,138
TENSÃO MÁXIMA (MPa)	0.24±0.07	0.27±0.21	0.30±0.16	0.34±0.20	0,137
DEFORMAÇÃO EM TENSÃO MÁXIMA (%)	70.64±22.46	77.67±23.05	78.63±35.73	79.96±24.14	0,584
FORÇA EM RUPTURA (N)	0.08±0.08	0.12±0.17	0.11±0.16	0.11±0.14	0,759
TENSÃO EM RUPTURA (MPa)	0.05±0.05	0.08±0.11	0.07±0.10	0.07±0.09	0,804
DEFORMAÇÃO EM RUPTURA (%)	117.73±34.66	127.59±32.06	105.81±30.10	130.47±29.74	0,072
RS FORÇA MÁXIMA (N)	0.20±0.06	0.17±0.05	0.12±0.05*†	0.22±0.07‡	<0,001
RS DEFORMAÇÃO EM FORÇA MÁXIMA (%)	118.01±17.61	107.07±25.05*	97.59±19.08*	104.81±16.79*	0,018
RS FORÇA EM RUPTURA (N)	0.14±0.06	0.12±0.05	0.08±0.05*†	0.14±0.06‡	<0,001
RS DEFORMAÇÃO EM RUPTURA (%)	129.84±13.96	124.83±22.54	117.95±14.96	120.92±19.81	0,153

*p<0,05 vs. Controle, †p<0,05 vs. 10 min; ‡p<0,05 vs. 14 min; Teste Kruskal-Wallis/Dunn (média ± DP). RS = Resistência à sutura.

Teste de Spearman evidenciou, para o grupo-controle, correlação estatística negativa entre força/tensão em ruptura do ensaio de tração axial e idade, indicando que PRF de indivíduos mais velhos apresentaram menor força/tensão no momento da quebra das amostras.

Teste de Spearman evidenciou, para o grupo A, correlação estatística positiva entre idade e massa de PRF, indicando que indivíduos mais velhos geraram maior quantitativo do biomaterial. Observou-se ainda correlação estatística positiva entre idade e força/tensão

máxima do ensaio de tração axial, implicando que PRFs de indivíduos mais velhos foram submetidos a maiores valores máximos de carga durante a execução do teste.

Teste de Spearman evidenciou, para o grupo B, correlação estatística positiva entre idade e massa de PRF, o que evidencia que indivíduos com idades mais avançadas resultaram na formação de maior quantidade do biomaterial, de forma similar ao grupo A. Observou-se também correlação estatística positiva entre TP/INR e massa de PRF, indicando que valores mais elevados dos parâmetros hematológicos levaram a um maior quantitativo de coágulo. Houve ainda correlação estatística negativa entre TP/INR e deformação em tensão máxima do ensaio de tração axial, ou seja, valores mais elevados dos parâmetros hematológicos se associaram a menores valores de deformação do biomaterial.

Teste de Spearman evidenciou, para o grupo C, correlação estatística positiva entre idade e força/tensão máxima do ensaio de tração axial e entre idade e força em ruptura do ensaio de tração axial. Esses achados indicam que PRFs de indivíduos mais velhos alcançaram maiores valores de carga máxima e maiores valores de carga no momento da quebra das amostras. Identificou-se também correlação estatística positiva entre TP/INR e massa de PRF, implicando que valores mais elevados dos parâmetros hematológicos resultaram em obtenção de maior quantidade de biomaterial, de forma similar ao grupo B.

A tabela 3 mostra resultados de correlação estatisticamente significativa de parâmetros avaliados pelo teste de Spearman nos grupos controle, A, B e C.

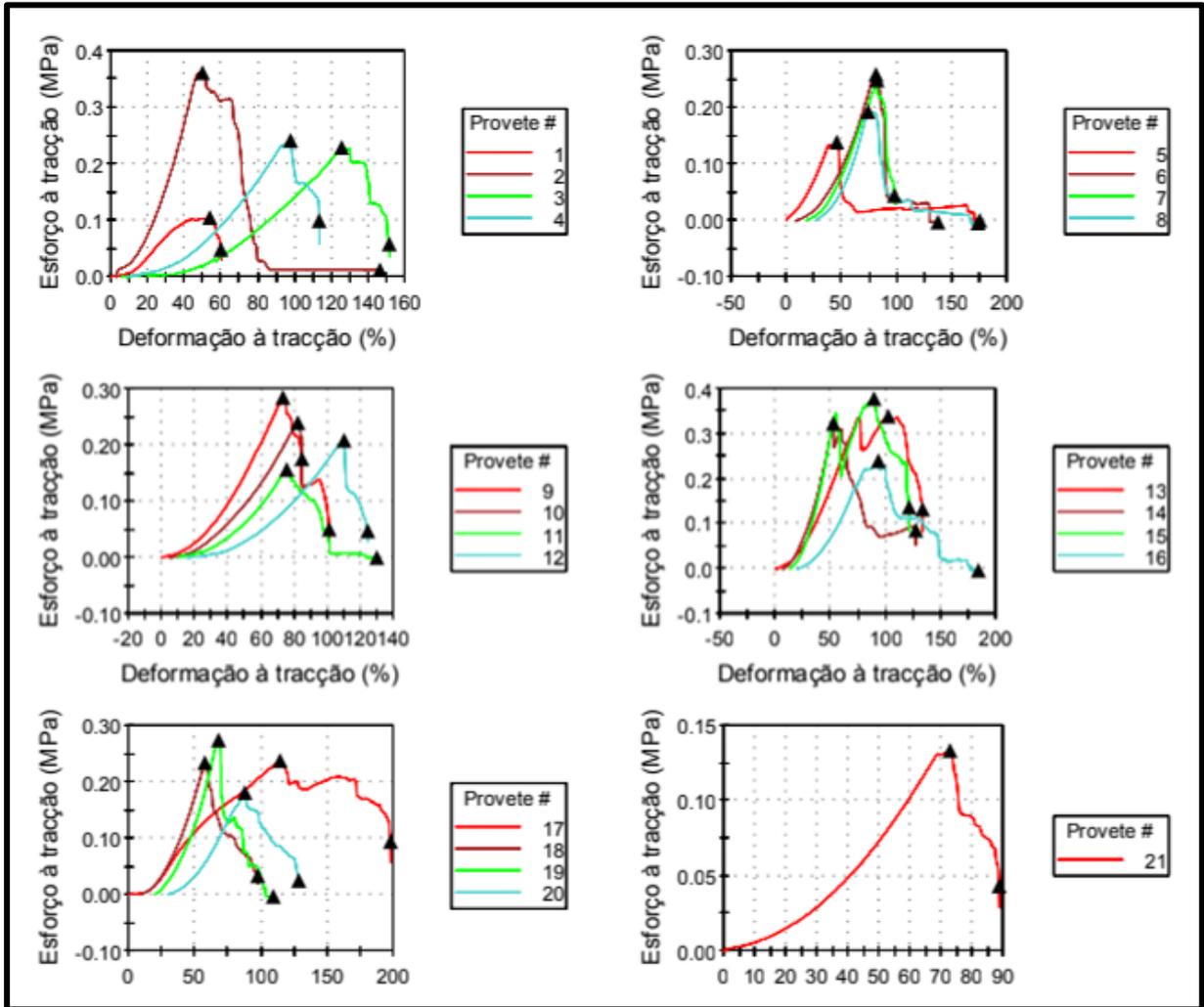
Tabela 3 – Correlação estatisticamente significativa entre os parâmetros avaliados nos grupos controle, A, B e C

	Parâmetros correlacionados	r	p-valor
GRUPO- CONTROLE	idade / força em ruptura do ensaio de tração axial	-0,566	0,008
	idade / tensão em ruptura do ensaio de tração axial	-0,526	0,017
GRUPO A	idade / massa de PRF	0,454	0,039
	idade / força máxima do ensaio de tração axial	0,467	0,033
	idade / tensão máxima do ensaio de tração axial	0,467	0,033
GRUPO B	idade e massa de PRF	0,505	0,019
	TP / massa de PRF	0,443	0,044
	TP / deformação em tensão máxima do ensaio de tração axial	-0,448	0,042
	INR / massa de PRF	0,443	0,044
	INR / deformação em tensão máxima do ensaio de tração axial	-0,448	0,042
GRUPO C	idade / força máxima do ensaio de tração axial	0,452	0,045
	idade / tensão máxima do ensaio de tração axial	0,452	0,045
	idade / força em ruptura do ensaio de tração axial	0,447	0,048
	TP / massa de PRF	0,492	0,028
	INR / massa de PRF	0,492	0,028

p<0,05, correlação de Spearman.

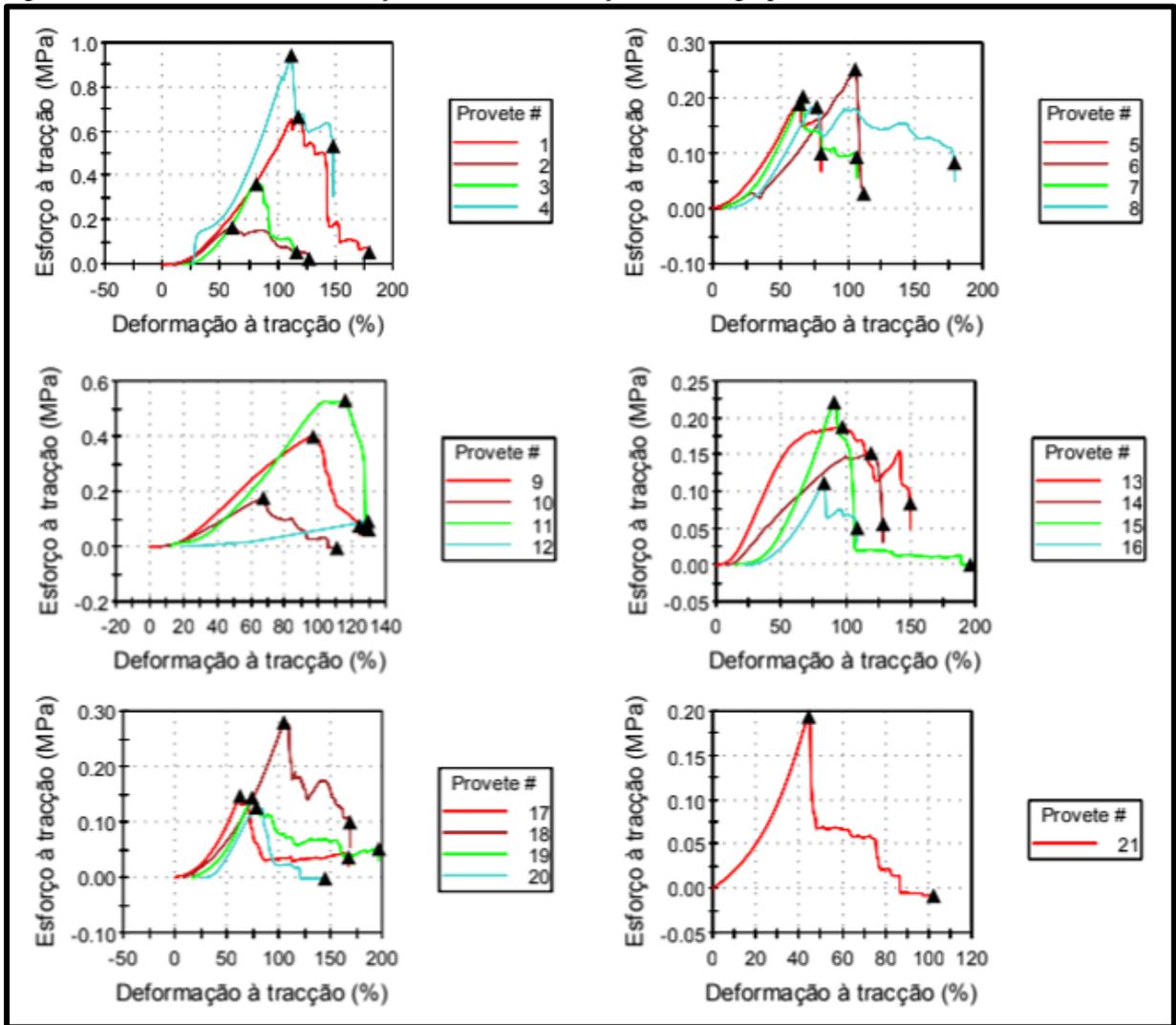
Gráficos tensão-deformação obtidos nos ensaios de tração axial e gráficos força-deformação obtidos nos testes de resistência à sutura ilustram os resultados do presente estudo (FIGURAS 15 A 20).

Figura 15 – Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo-controle



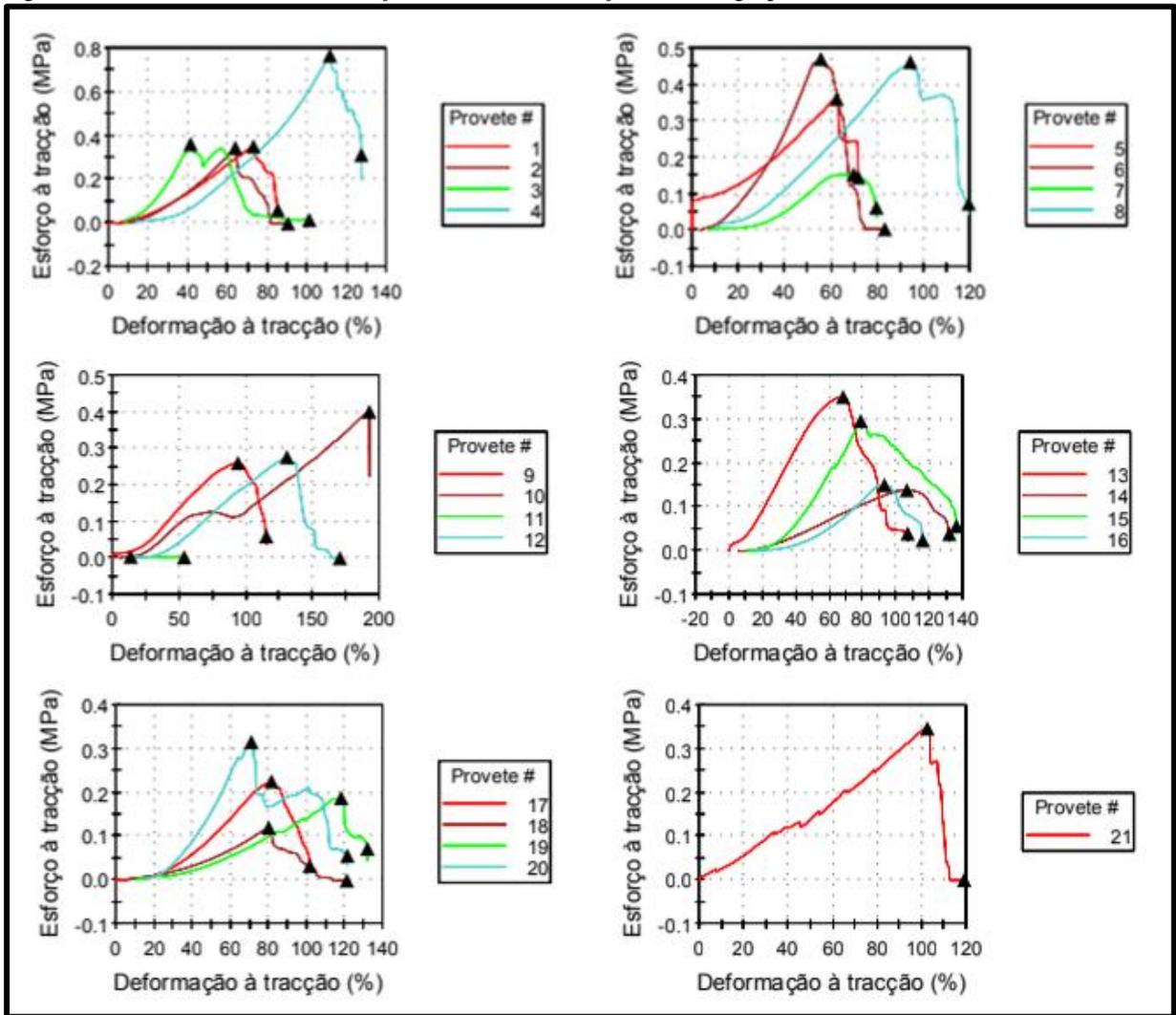
Fonte: próprio autor.

Figura 16 – Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo A



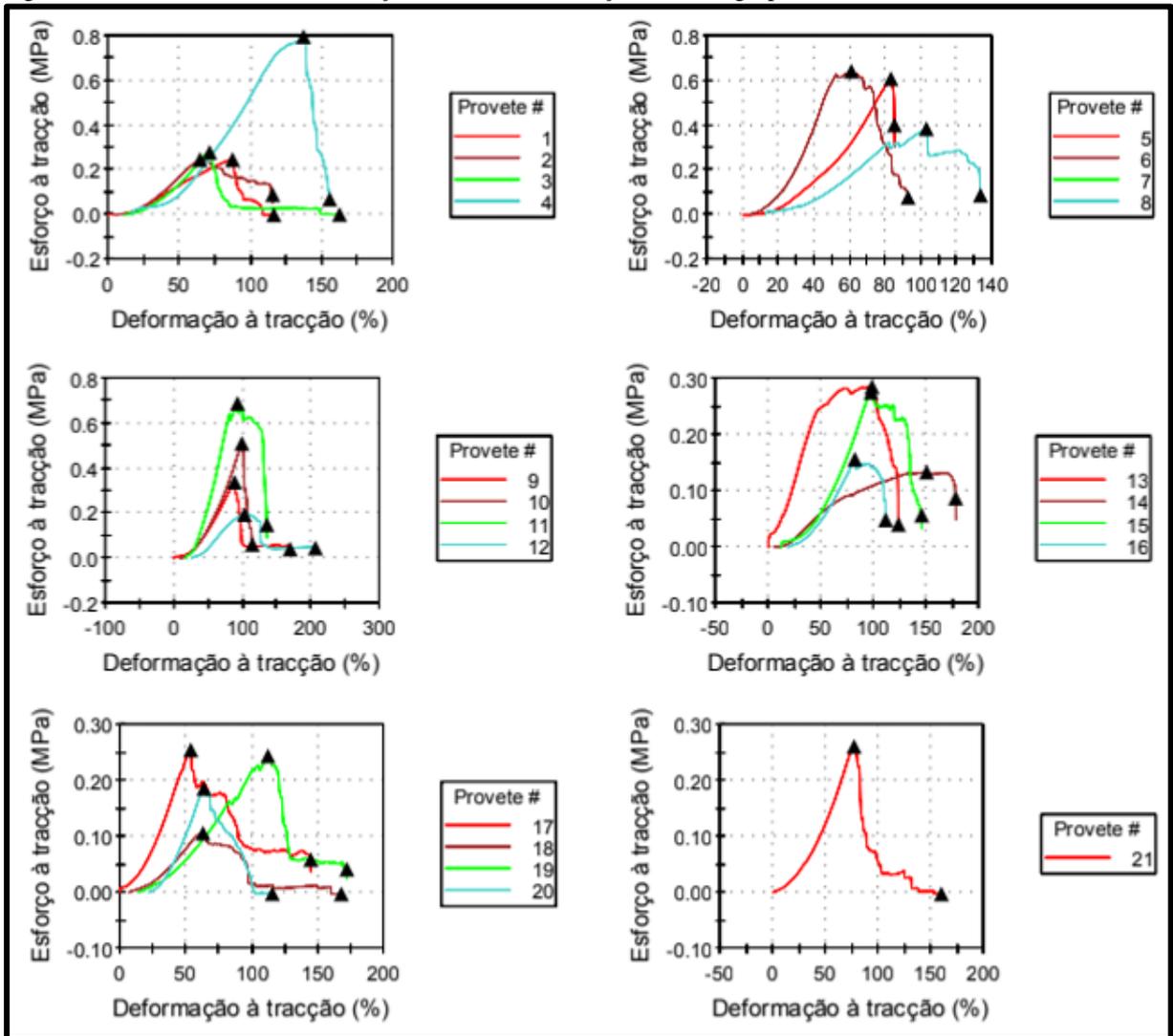
Fonte: próprio autor.

Figura 17 – Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo B



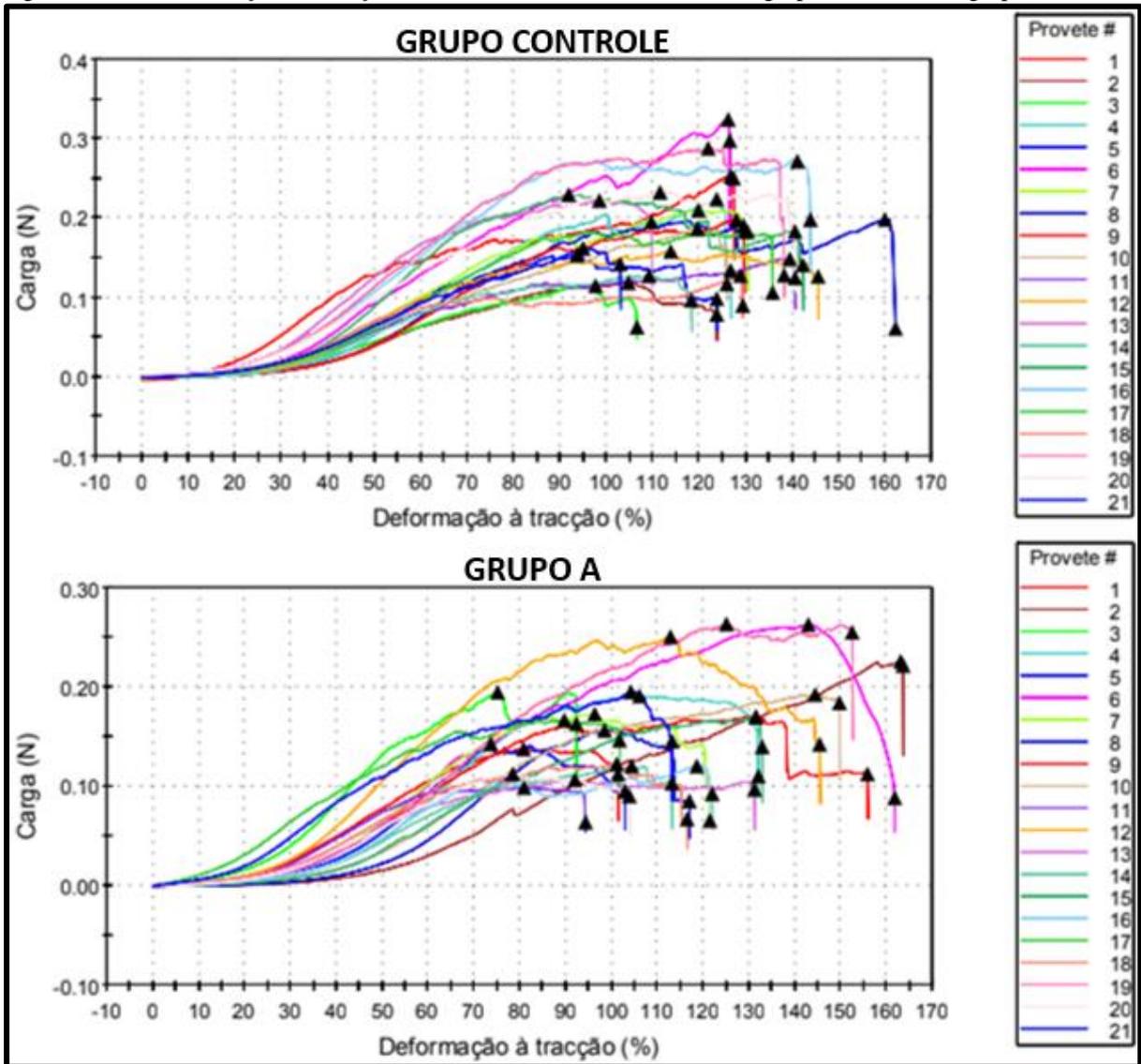
Fonte: próprio autor.

Figura 18 – Gráficos tensão-deformação dos ensaios de tração axial do grupo C



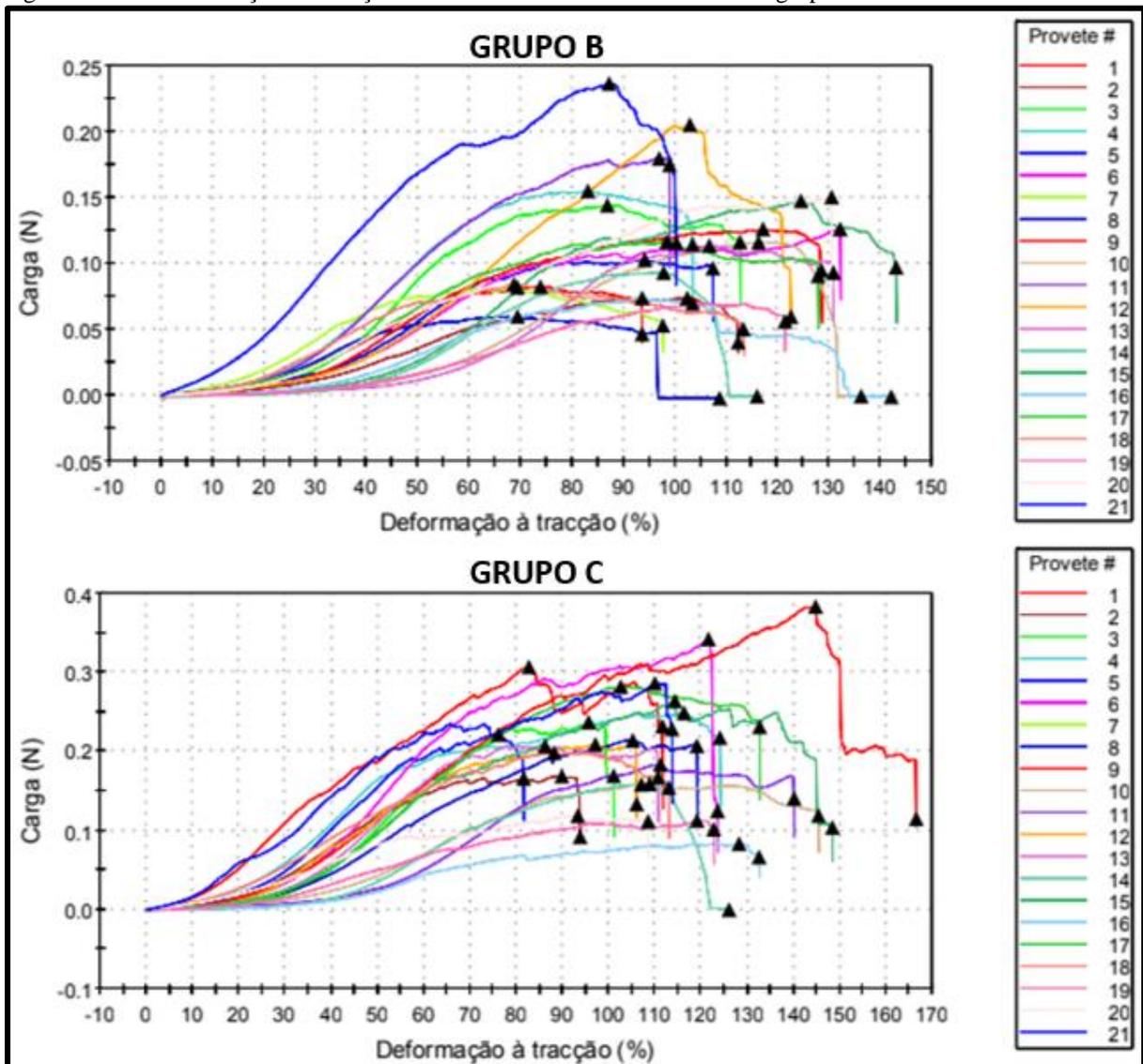
Fonte: próprio autor.

Figura 19 – Gráficos força-deformação dos testes de resistência à sutura do grupo-controle e do grupo A



Fonte: próprio autor.

Figura 20 – Gráficos força-deformação dos testes de resistência à sutura dos grupos B e C



Fonte: próprio autor.

7 DISCUSSÃO

Um total de 42 voluntários participaram do presente estudo, sendo metade destes usuários de varfarina. O tamanho da amostra foi consideravelmente elevado ao se comparar com o que existe publicado na literatura. Estudos que analisaram em laboratório PRF humano de indivíduos não anticoagulados tiveram número de participantes variando de um a dez. A quantidade de sangue coletado para obtenção de PRF variou entre os estudos (de 10 a 30 ml) (CASTRO *et al.*, 2021; KHORSHIDI *et al.*, 2016; KHORSHIDI *et al.*, 2018; PASCOAL *et al.*, 2021; RAVI; SANTHANAKRISHNAN, 2020; SAM; VADAKKEKUTTICAL; AMOL, 2015).

Estudos que realizaram análises laboratoriais com concentrados plaquetários humanos de indivíduos sob uso de anticoagulante tiveram número de participantes variando de dez (cinco anticoagulados / cinco não anticoagulados) a 20 (dez anticoagulados / dez não anticoagulados) (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020; VELIER *et al.*, 2017). Ockerman *et al.* (2020) realizaram coleta de sangue de 12 voluntários saudáveis não anticoagulados e, em seguida, submeteram os conteúdos obtidos a um estado de anticoagulação através de suplementação *in vitro* com enoxaparina previamente ao processo de centrifugação para obtenção de PRF.

No presente estudo, como exposto na tabela 1, idade e sexo dos participantes anticoagulados e não anticoagulados foram considerados estatisticamente semelhantes. Da mesma forma, parâmetros hematológicos obtidos por hemograma, coagulograma e glicemia capilar também não apresentaram diferença estatisticamente significativa, exceto pelo *Red Cell Distribution Width* – RDW, TP e INR, que apresentaram valores mais altos no grupo de participantes em uso de varfarina.

RDW reflete o grau de heterogeneidade de tamanho dos eritrócitos. Indivíduos com doenças cardiovasculares possuem tendência a apresentar valores mais altos de RDW. Adicionalmente, seu valor aumentado tem mostrado associação com dificuldade de manter INR dentro do intervalo terapêutico de 2,0 a 3,0, elevando o risco de eventos tromboembólicos (LEE *et al.*, 2018). A diferença de valores de RDW observada no presente estudo entre coagulados e não-anticoagulados pode ser justificada por terem sido incluídos para a formação dos grupos de testes apenas indivíduos em uso de varfarina para tratamento de condições cardiovasculares.

O uso da varfarina resulta em implicações diretas em TP e INR, de forma que esses exames complementares são usados no controle de dosagem do fármaco (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020; FILHO *et al.*, 2021; MOURÃO *et al.*, 2019), o que

justifica a diferença observada no presente estudo entre esses parâmetros nos indivíduos anticoagulados e não anticoagulados. Fazendo essas considerações, pode-se dizer que os dois grupos são semelhantes nos parâmetros necessários e permitem análises confiáveis.

Os valores médios dos comprimentos e das larguras das membranas obtidos no presente estudo são compatíveis com os encontrados por Bootkrajang, Chinkruea e Aschaitrakool (2020). Em sua publicação, caracterização macroscópica das membranas de PRF de voluntários em uso ou não de varfarina obteve os seguintes resultados para comprimento e largura, respectivamente: $34,8 \pm 5,37$ mm e $11,5 \pm 1,95$ mm no grupo de não anticoagulados; e $37,0 \pm 9,09$ mm e $13,4 \pm 1,43$ mm no grupo de anticoagulados. É prudente salientar que essas membranas tiveram suas espessuras padronizadas em 1,0 mm. Portanto, acredita-se que suas dimensões de comprimento e largura poderiam ser sensivelmente maiores caso tivesse sido adotada a padronização de espessura de 0,3 mm utilizada na presente pesquisa. Outro importante aspecto a ser considerado é a compatibilidade dos valores médios de INR dos voluntários em uso de varfarina de ambos os estudos: $2,30 \pm 0,89$ da presente pesquisa versus $2,80 \pm 0,35$ de Bootkrajang, Chinkruea e Aschaitrakool (2020).

Ensaio de tração axial permite o reconhecimento de propriedades intrínsecas de diferentes biomateriais, sendo o teste mais frequentemente citado na literatura científica para caracterização mecânica de PRF. Deformação máxima das amostras em diferentes estudos varia de 145% a 278% (KHORSHIDI *et al.*, 2016; KHORSHIDI *et al.*, 2018; MADURANTAKAM; YOGANARASIMHA; HASAN, 2015; OCKERMAN *et al.*, 2020), podendo alcançar valores próximos de 400% nos casos de métodos de aperfeiçoamento das características do concentrado plaquetário (KARDOS *et al.*, 2018). No presente estudo, a deformação em ruptura teve resultados similares, apresentando o valor de $130,47 \pm 29,74\%$ como maior média entre os grupos.

Publicações mostram tensão máxima variando de 0,11 a 0,29 MPa (KARDOS *et al.*, 2018; KHORSHIDI *et al.*, 2016; KHORSHIDI *et al.*, 2018; OCKERMAN *et al.*, 2020). Os resultados do presente estudo são concordantes com a literatura, alcançando uma média de $0,34 \pm 0,20$ MPa. Apesar da similaridade dos achados, deve-se ressaltar que as metodologias utilizadas por cada estudo variam em alguns aspectos, como formato do recorte e dimensões da membrana, velocidade de operação da máquina de ensaio universal e sensibilidade da célula de carga.

Teste de resistência à sutura realizado por Madurantakam, Yoganarasimha e Hasan (2015) demonstrou a viscoelasticidade de PRF de voluntários não anticoagulados, atingindo deformação em ruptura de 140%. O presente estudo apresentou para esse mesmo parâmetro, no

grupo-controle, o valor médio de $129,84 \pm 13,96\%$, compatível com a literatura. Apesar da similaridade de resultados, as seguintes diferenças de metodologia devem ser mencionadas: recorte em forma circular transpassado por fio de sutura de seda foi utilizado no presente estudo, enquanto recorte retangular transpassado por fio metálico ortodôntico simulando fio de sutura foi usado no estudo dos autores citados. Adicionalmente, essa publicação não faz referência à padronização do ponto de transpasse do fio. Teste de resistência à sutura permite identificar características de falha de biomateriais (MADURANTAKAM; YOGANARASIMHA; HASAN, 2015).

A comparação estatística entre os quatro grupos de PRFs no presente estudo, exposta na tabela 2, demonstrou que o grupo A alcançou maior massa quando comparado ao grupo-controle ($2,17 \pm 0,86$ g versus $1,92 \pm 0,56$ g). Todos os outros parâmetros foram similares, exceto pela deformação em força máxima do teste de resistência à sutura, em que a média do concentrado plaquetário anticoagulado foi menor ($107,07 \pm 25,05\%$ versus $118,01 \pm 17,61\%$).

O grupo B resultou em maior massa quando comparado ao grupo-controle ($2,21 \pm 0,66$ g versus $1,92 \pm 0,56$ g). No entanto, sua caracterização mecânica foi a mais desfavorável, com resultados inferiores no teste de resistência à sutura quando comparados ao grupo-controle (força máxima $0,12 \pm 0,05$ N versus $0,20 \pm 0,06$ N; deformação em força máxima $97,59 \pm 19,08\%$ versus $118,01 \pm 17,61\%$; força em ruptura $0,08 \pm 0,05$ N versus $0,14 \pm 0,06$ N). Os resultados do ensaio de tração axial não apresentaram diferença estatística entre os dois grupos.

O grupo C apresentou valor médio de massa estatisticamente semelhante ao encontrado no grupo-controle ($1,64 \pm 0,69$ g versus $1,92 \pm 0,56$ g). O único parâmetro a apresentar diferença estatística foi o de deformação em força máxima do teste de resistência à sutura em desfavor do grupo anticoagulado ($104,81 \pm 16,79\%$ versus $118,01 \pm 17,61\%$).

Nota-se que, no presente estudo, a formação de PRF foi possível mesmo em pacientes em terapia anticoagulante. Além disso, não foi observado impacto significativo nos valores do ensaio de tração axial nos três grupos de testes. Portanto, acredita-se que o emprego de PRF de indivíduos em uso de varfarina, nas condições do presente estudo, em diversos procedimentos cirúrgicos, como no uso intra-alveolar pós-exodontias, não enfrentaria dificuldades adicionais.

No entanto, constatou-se impacto negativo da anticoagulação sistêmica nas propriedades mecânicas relacionadas ao uso de sutura nos três grupos de testes do presente estudo. Essas características devem ser levadas em consideração para planejamento de procedimentos em que o coágulo de PRF de paciente em uso de varfarina necessite ser

transfixado, posicionado e/ou estabilizado por fios de sutura, especialmente se manuseados em forma de membrana.

Estudo de Bootkrajang, Chinkruea e Aschaitrakool (2020) demonstrou que o uso sistêmico de varfarina não apresentou impacto nas características microscópicas dos coágulos de PRF. A densidade de fibrina apresentou-se de maneira similar em indivíduos em uso do medicamento versus não anticoagulados. Resultados semelhantes foram encontrados em estudo de Ockerman *et al.* (2020) com PRFs humanos anticoagulados *in vitro* por suplementação de enoxaparina. Os autores concluem que concentrações do fármaco compatíveis a esquemas profiláticos de anticoagulação pareceram não interferir no concentrado plaquetário. Observou-se que apenas altas doses do fármaco impactam nas características mecânicas, na arquitetura microscópica da rede de fibrina e na contagem de células em PRF.

Sammartino *et al.* (2011) defendem o aumento do tempo de centrifugação para a obtenção de PRF em indivíduos em terapia anticoagulante para 18 minutos. Bootkrajang, Chinkruea e Aschaitrakool (2020), baseados em suas análises laboratoriais, concordam com essa defesa. No presente estudo, a centrifugação de PRF de anticoagulados por 18 minutos obteve resultado estatisticamente distinto do grupo controle apenas em um parâmetro avaliado (deformação em força máxima do teste de resistência à sutura), conforme a tabela 2. No entanto, o presente trabalho traz resultados mais favoráveis à centrifugação de PRF de anticoagulados por 10 minutos, tendo em vista o maior quantitativo de massa formado associado à similaridade com o grupo controle, mesmo com a diferença estatística do parâmetro de deformação em força máxima do teste de resistência à sutura. Dessa forma, de acordo com o presente estudo, pode-se afirmar que, para indivíduos em uso de varfarina, a centrifugação por 10 minutos gera PRF com características similares ao de pacientes não anticoagulados em todos os parâmetros do ensaio de tração axial e em quase todos do teste de resistência à sutura. Além disso, resulta em maior quantitativo de material e em economia de tempo clínico em comparação a maiores tempos de centrifugação.

Caracterização de PRF em todos os grupos do presente estudo apresentou correlação significativa com a idade. Indivíduos mais velhos demonstraram, em geral, maior massa (grupos A e B). Idade se correlacionou ainda com resultados de ensaio de tração axial de forma conflitante. No grupo-controle, indivíduos mais velhos apresentaram PRFs com menor capacidade de suportar força/tensão. Contudo, nos grupos A e C, indivíduos de maior idade obtiveram PRFs com valores mais altos relacionados a força/tensão. Yajamanya *et al.* (2016) concluíram que a idade é um dos fatores que influenciam na qualidade de PRF em termos de padrão da rede de fibrina e seu embricamento com leucócitos e plaquetas.

No presente estudo, exames hematológicos que avaliam o processo de coagulação demonstraram correlação com a caracterização da PRF. Valores mais altos de TP e INR implicaram: maiores valores de massa nos grupos B e C; e menor deformação em força máxima do ensaio de tração axial no grupo B. Vale reforçar que o presente trabalho considerou como anticoagulante apenas a varfarina, droga com impacto limitado à via extrínseca. A literatura mostra estudos clínicos que avaliam o uso de PRFs obtidos de pacientes em uso de outros antitrombóticos, como ácido acetilsalicílico, clopidogrel, ticagrelor, rivaroxabana e apixabana, cada um com seus mecanismos de ação distintos (BRANCACCIO *et al.*, 2021; MOURÃO *et al.*, 2019; SARKAR *et al.*, 2019).

Alguns fatores podem ser citados como limitações no presente estudo. As coletas de sangue foram obtidas de indivíduos diferentes, o que pode ter gerado grupos heterogêneos de amostras. Pascoal *et al.* (2021) conseguiram minimizar essa heterogeneidade coletando amostras distintas de sangue do único participante da pesquisa em dias diferentes, conforme descrito em sua recente publicação. Outra limitação do presente trabalho se deu pela realização dos testes com uma única amostra por grupo por coleta. Idealmente, os testes deveriam ser realizados com amostras em triplicata por grupo por coleta, a fim de minimizar possíveis vieses de execução nos ensaios. Por fim, o presente estudo apresentou também como limitação a incapacidade de justificar a diferença entre os resultados obtidos nos três grupos de testes.

Apesar dos resultados animadores de alguns estudos laboratoriais na caracterização mecânica, macroscópica e estrutural de PRFs em situação de anticoagulação, análises mais detalhadas de seus mecanismos de ação no reparo tecidual devem ser conduzidas. Faz-se necessário o conhecimento dos processos bioquímicos relacionados à cicatrização induzida por PRF obtida de indivíduos em uso de anticoagulantes a fim de respaldar sua aplicação clínica. Considerando que apenas dois estudos do presente levantamento bibliográfico avaliaram em laboratório PRFs anticoagulados, um por varfarina e outro por enoxaparina (BOOTKRAJANG; CHINKRUA; ASCHAITRAKOOL, 2020; OCKERMAN *et al.*, 2020), fazem-se necessários estudos adicionais envolvendo outros antitrombóticos, objetivando consolidar o uso de PRFs em indivíduos sob terapia anticoagulante.

8 CONCLUSÕES

- A avaliação mecânica de PRF de pacientes em uso de varfarina demonstrou se tratar de biomaterial de comportamento viscoelástico e modelável, com grande capacidade de deformação.
- O ensaio de tração axial demonstrou comportamento de PRF de pacientes em uso de varfarina similar ao de não anticoagulados, independentemente do tempo de centrifugação.
- O teste de resistência à sutura demonstrou resultados desfavoráveis de deformação em força máxima em PRF de pacientes em uso de varfarina, em todos os tempos de centrifugação, em comparação aos de não anticoagulados; adicionalmente, também demonstrou resultados desfavoráveis de força máxima e de força em ruptura em PRF de pacientes em uso de varfarina centrifugados por 14 minutos em comparação aos de não anticoagulados.
- O tempo de centrifugação em PRF de pacientes em uso de varfarina não apresentou impacto nos resultados do ensaio de tração axial; no entanto, o tempo de centrifugação de 14 minutos em PRF de pacientes em uso de varfarina levou a resultados desfavoráveis do teste de resistência à sutura em comparação aos demais tempos de centrifugação do biomaterial anticoagulado.

REFERÊNCIAS

- AKTAS, A.; OZER, T.; SEN, M.; TURK, M.; KARABULUT, E. Comparison of the mechanical properties of platelet-rich fibrin and ankaferd blood stopper-loaded platelet-rich fibrin. **Niger J Clin Pract.**, v. 21, n. 9, 2018. doi: 10.4103/njcp.njcp_370_17. PMID: 30156190.
- ALVES, A. P. N. N.; LIMA VERDE, M. E. Q.; FERREIRA-JÚNIOR, A. E. C.; BARROS-SILVA, P. G.; FEITOSA, V. P.; LIMA-JÚNIOR, E. M.; MIRANDA, M. J. B.; MORAES-FILHO, M. O. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. **Rev Bras Queimaduras.**, v. 14, n. 3, 2015.
- ARAVENA, P. C.; SANDOVAL, S. P.; PIZARRO, F. E.; SIMPSON, M. I.; CASTRO-ADAMS, N.; SERANDOUR, G.; ROSAS, C. Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin Have Same Effect as Blood Clot in the 3-Dimensional Alveolar Ridge Preservation. A Split-Mouth Randomized Clinical Trial. **J Oral Maxillofac Surg.**, v. 79, n. 3, 2021. doi: 10.1016/j.joms.2020.10.006. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33171113.
- BAILEY, E.; KASHBOUR, W.; SHAH, N.; WORTHINGTON, H. V.; RENTON, T. F.; COULTHARD, P. Surgical techniques for the removal of mandibular wisdom teeth. **Cochrane Database Syst Rev.**, v. 26, n. 7, 2020. CD004345. doi: 10.1002/14651858.CD004345.pub3. PMID: 32712962; PMCID: PMC7389870.
- BOOTKRAJANG, M.; CHINKRUA, C.; ASCHAITRAKOOL, Y. The Effect of Warfarin on the Fibrin Architecture of Platelet-Rich Fibrin. **J Craniofac Surg.**, v. 31, n. 1, 2020. doi: 10.1097/SCS.0000000000005808. PMID: 31403516.
- BRANCACCIO, Y.; ANTONELLI, A.; BARONE, S.; BENNARDO, F.; FORTUNATO, L.; GIUDICE, A. Evaluation of local hemostatic efficacy after dental extractions in patients taking antiplatelet drugs: a randomized clinical trial. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 3, 2021. doi: 10.1007/s00784-020-03420-3. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32613433.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, **Diário Oficial da União**, 12 dez. 2012
- CANELLAS, J. V. D. S.; FRAGA, S. R. G.; SANTORO, M. F.; NETTO, J. N. S.; TINOCO, E. M. B. Intra socket interventions to prevent alveolar osteitis after mandibular third molar surgery: A systematic review and network meta-analysis. **J Craniomaxillofac Surg.**, v. 48, n. 9, 2020. doi: 10.1016/j.jcms.2020.06.012. Epub 2020 Jul 8. PMID: 32718882.
- CANELLAS, J. V. D. S.; DRUGOS, L.; RITTO, F. G.; FISCHER, R. G.; MEDEIROS, P. J. D. Xenograft materials in maxillary sinus floor elevation surgery: a systematic review with network meta-analyses. **Br J Oral Maxillofac Surg.**, v. 59, n. 7, 2021a. doi: 10.1016/j.bjoms.2021.02.009. Epub 2021 Feb 23. PMID: 34120778.(a)
- CANELLAS, J. V. D. S.; SOARES, B. N.; RITTO, F. G.; VETTORE, M. V.; VIDIGAL JÚNIOR, G. M.; FISCHER, R. G.; MEDEIROS, P. J. D. What grafting materials produce

greater alveolar ridge preservation after tooth extraction? A systematic review and network meta-analysis. **J Craniomaxillofac Surg.**, 2021b Jun 19;S1010-5182(21)00157-8. doi: 10.1016/j.jcms.2021.06.005. Epub ahead of print. PMID: 34176715.

CASTRO, A. B.; VAN DESSEL, J.; TEMMERMAN, A.; JACOBS, R.; QUIRYNEN, M. Effect of different platelet-rich fibrin matrices for ridge preservation in multiple tooth extractions: A split-mouth randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol.**, v. 48, n. 7, 2021. doi: 10.1111/jcpe.13463. Epub 2021 Apr 18. PMID: 33847018.

CHEN, L.; DING, Y.; CHENG, G.; MENG, S. Use of Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Biomed Res Int.**, 2021 Feb 4;2021:6669168. doi: 10.1155/2021/6669168. PMID: 33614786; PMCID: PMC7878074.

CHOPRA, R.; BHATE, K.; GADKARI, N.; KAKODKAR, P.; KULKARNI D. Evaluation and Comparison of Human Chorionic Amniotic Membrane and Platelet-Rich Fibrin in Achieving Bone Formation and Soft Tissue Healing in Extraction Sockets Indicated for Rehabilitation with Implants: A Preliminary Study. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, v. 36, n. 2, 2021. doi: 10.11607/jomi.8344. PMID: 33909725.

CHOU, T. M.; CHANG, H. P.; WANG, J. C. Autologous platelet concentrates in maxillofacial regenerative therapy. **Kaohsiung J Med Sci.**, v. 36, n. 5, 2020. doi: 10.1002/kjm2.12192. Epub 2020 Feb 12. PMID: 32052598.

DAMSAZ, M.; CASTAGNOLI, C. Z.; ESHGHPOUR, M.; ALAMDARI, D. H.; ALAMDARI, A. H.; NOUJEIM, Z. E. F.; HAIDAR, Z. S. Evidence-Based Clinical Efficacy of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin in Maxillary Sinus Floor Lift, Graft and Surgical Augmentation Procedures. **Front Surg.**, v. 7, 2020. doi: 10.3389/fsurg.2020.537138. PMID: 33330603; PMCID: PMC7732646.

DERSZNIAK, K.; PRZYBOROWSKI, K.; MATYJASZCZYK, K.; MOORLAG, M.; DE LAAT, B.; NOWAKOWSKA, M.; CHLOPICKI, S. Comparison of Effects of Anti-thrombin Aptamers HD1 and HD22 on Aggregation of Human Platelets, Thrombin Generation, Fibrin Formation, and Thrombus Formation Under Flow Conditions. **Front Pharmacol.**, v. 10, 2019. doi: 10.3389/fphar.2019.00068. PMID: 30842734; PMCID: PMC6391317.

DOHAN, D. M.; CHOUKROUN, J.; DISS, A.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A. J.; MOUHYI, J.; GOGLY, B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 101, n. 3, 2006. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.008. Epub 2006 Jan 19. PMID: 16504849.

ESCOBAR, M.; PAULETTO, P.; BENFATTI, C. A. M.; CRUZ, A. C. C.; FLORES-MIR, C.; HENRIQUES, B. A. P. C. Effect of cyanoacrylate tissue adhesive in postoperative palatal pain management: a systematic review. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 6, 2021. doi: 10.1007/s00784-020-03683-w. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33200283.

FAN, Y.; PEREZ, K.; DYM, H. Clinical Uses of Platelet-Rich Fibrin in Oral and Maxillofacial Surgery. **Dent Clin North Am.**, v. 64, n. 2, 2020. doi: 10.1016/j.cden.2019.12.012. Epub 2020 Feb 3. PMID: 32111269.

- FILHO, E. L. C.; FRANCO, J. M. P. L.; RIBEIRO, T. R.; SILVA, P. G. B.; COSTA, F. W. G. Does Platelet-Rich Fibrin Prevent Hemorrhagic Complications After Dental Extractions in Patients Using Oral Anticoagulant Therapy? **J Oral Maxillofac Surg.**, 2021. doi: 10.1016/j.joms.2021.07.003. Epub ahead of print. PMID: 34343502.
- GEISINGER, M. L.; NASSEH, P.; GALVIZ, G.; JO, K. Y.; PIKOS, A. M. Adjunctive Use of Platelet Concentrates for Hard- and Soft-Tissue Grafting. **Compend Contin Educ Dent.**, v. 42, n. 5, 2021. PMID: 33980018.
- GULAMEABASSE, S.; GINDRAUX, F.; CATROS, S.; FRICAIN, J. C.; FENELON, M. Chorion and amnion/chorion membranes in oral and periodontal surgery: A systematic review. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.**, v. 109, n. 8, 2021. doi: 10.1002/jbm.b.34783. Epub 2020 Dec 22. PMID: 33354857.
- GUSMAN, D. J.; MATHEUS, H. R.; ALVES, B. E.; DE OLIVEIRA, A. M.; BRITTO, A. S.; NOVAES, V. C.; NAGATA, M. J.; BATISTA, V. S.; DE ALMEIDA, J. M. Platelet-rich fibrin for wound healing of palatal donor sites of free gingival grafts: Systematic review and meta-analysis. **J Clin Exp Dent.**, v. 13, n. 2, 2021. doi: 10.4317/jced.57451. PMID: 33575004; PMCID: PMC7864367.
- HARTLEV, J.; NØRHOLT, S. E.; SCHOU, S.; ISIDOR, F. Pain after mandibular ramus block harvesting and lateral ridge augmentation with and without involvement of platelet-rich fibrin: a randomized controlled trial. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v. 50, n. 3, 2021. doi: 10.1016/j.ijom.2020.07.009. Epub 2020 Aug 12. PMID: 32798161.
- HONG, H.; HUH, M. I.; PARK, S. M.; LEE, K. P.; KIM, H. K.; KIM, D. S. Decellularized corneal lenticule embedded compressed collagen: toward a suturable collagenous construct for limbal reconstruction. **Biofabrication.**, v. 10, n. 4, 2018. doi: 10.1088/1758-5090/aad1a4. PMID: 29978836.
- HOSOKAWA, K.; OHNISHI, T.; SAMESHIMA, H.; MIURA, N.; KOIDE, T.; MARUYAMA, I.; TANAKA, K. A. Comparative evaluation of direct thrombin and factor Xa inhibitors with antiplatelet agents under flow and static conditions: an in vitro flow chamber model. **PLoS One.**, v. 9, n. 1, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0086491. PMID: 24497951; PMCID: PMC3908954.
- IŞIK, G.; ÖZDEN YÜCE, M.; KOÇAK-TOPBAŞ, N.; GÜNBAŞ, T. Guided bone regeneration simultaneous with implant placement using bovine-derived xenograft with and without liquid platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 9, 2021. doi: 10.1007/s00784-021-03987-5. Epub 2021 May 28. PMID: 34047835.
- ISOBE, K.; WATANEBE, T.; KAWABATA, H.; KITAMURA, Y.; OKUDERA, T.; OKUDERA, H.; UEMATSU, K.; OKUDA, K.; NAKATA, K.; TANAKA, T.; KAWASE, T. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). **Int J Implant Dent.**, v. 3, n. 17, 2017. doi: 10.1186/s40729-017-0081-7. Epub 2017 May 2. PMID: 28466249; PMCID: PMC5413460.
- JOURDI, G.; BACHELOT-LOZA, C.; MAZOYER, E.; POIRAUT-CHASSAC, S.; DUCHEMIN, J.; FONTENAY, M.; GAUSSEM, P. Effect of rivaroxaban and dabigatran on

platelet functions: in vitro study. **Thromb Res.**, v. 183, 2019. doi: 10.1016/j.thromres.2019.10.007. Epub 2019 Oct 22. PMID: 31678711.

KALASKA, B.; PIOTROWSKI, L.; LESZCZYNSKA, A.; MICHALOWSKI, B.; KRAMKOWSKI, K.; KAMINSKI, T.; ADAMUS, J.; MARCINEK, A.; GEBICKI, J.; MOGIELNICKI, A.; BUCZKO, W. Antithrombotic effects of pyridinium compounds formed from trigonelline upon coffee roasting. **J Agric Food Chem.**, v. 62, n. 13, 2014. doi: 10.1021/jf5008538. Epub 2014 Mar 20. PMID: 24650005.

KARADAYI, U.; GURSOYTRAK, B. Randomised controlled trial of arthrocentesis with or without PRF for internal derangement of the TMJ. **J Craniomaxillofac Surg.**, v. 49, n. 5, 2021. doi: 10.1016/j.jcms.2021.01.018. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33581954.

KARDOS, D.; HORNYÁK, I.; SIMON, M.; HINSENKAMP, A.; MARSCHALL, B.; VÁRDAL, R.; KÁLLAY-MENYHÁRD, A.; PINKE, B.; MÉSZÁROS, L.; KUTEN, O.; NEHRER, S.; LACZA, Z. Biological and Mechanical Properties of Platelet-Rich Fibrin Membranes after Thermal Manipulation and Preparation in a Single-Syringe Closed System. **Int J Mol Sci.**, v. 19, n. 11, 2018. doi: 10.3390/ijms19113433. PMID: 30388866; PMCID: PMC6274993.

KAWASE, T.; MUBARAK, S.; MOURÃO, C. F. The Platelet Concentrates Therapy: From the Biased Past to the Anticipated Future. **Bioengineering (Basel).**, v. 7, n. 3, 2020. doi: 10.3390/bioengineering7030082. PMID: 32751638; PMCID: PMC7552713.

KER, D. F. E.; WANG, D.; BEHN, A. W.; WANG, E. T. H.; ZHANG, X.; ZHOU, B. Y.; MERCADO-PAGÁN, Á. E.; KIM, S.; KLEIMEYER, J.; GHARAIBEH, B.; SHANJANI, Y.; NELSON, D.; SAFRAN, M.; CHEUNG, E.; CAMPBELL, P.; YANG, Y. P. Functionally Graded, Bone- and Tendon-Like Polyurethane for Rotator Cuff Repair. **Adv Funct Mater.**, v. 28, n. 20, 2018. doi: 10.1002/adfm.201707107. Epub 2018 Mar 30. PMID: 29785178; PMCID: PMC5959293.

KHORSHIDI, H.; HADDADI, P.; RAOOFI, S.; BADIEE, P.; DEHGHANI NAZHVANI, A. Does Adding Silver Nanoparticles to Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin Improve Its Properties? **Biomed Res Int.**, v. 2018, 2018. doi: 10.1155/2018/8515829. PMID: 29977918; PMCID: PMC5994260.

KHORSHIDI, H.; RAOOFI, S.; BAGHERI, R.; BANIHASHEMI, H. Comparison of the Mechanical Properties of Early Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin versus PRGF/Endoret Membranes. **Int J Dent.**, v. 16, 2016. doi: 10.1155/2016/1849207. Epub 2016 Jan 6. PMID: 26880919; PMCID: PMC4736579.

KIKUCHI, K.; SETOYAMA, K.; TANAKA, E.; OTSUKA, S.; TERASHI, T.; NAKANISHI, K.; TAKADA, S.; SAKAKIMA, H.; AMPAWONG, S.; KAWAHARA, K. I.; NAGASATO, T.; HOSOKAWA, K.; HARADA, Y.; YAMAMOTO, M.; KAMIKOKURYO, C.; KIYAMA, R.; MORIOKA, M.; ITO, T.; MARUYAMA, I.; TANCHAROEN, S. Uric acid enhances alteplase-mediated thrombolysis as an antioxidant. **Sci Rep.**, v. 8, n. 1, 2018. doi: 10.1038/s41598-018-34220-1. PMID: 30367108; PMCID: PMC6203847.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J.; PONCZEK, M.; SADY-JANCZAK, M.; PILARSKI, R.; BUKOWSKA, B. Extracts from *Uncaria tomentosa* as antiplatelet agents and thrombin

inhibitors - The in vitro and in silico study. **J Ethnopharmacol.**, v. 267, 2021. doi: 10.1016/j.jep.2020.113494. Epub 2020 Oct 20. PMID: 33091497.

KONIG, G.; MCALLISTER, T. N.; DUSSE, N.; GARRIDO, S. A.; IYICAN, C.; MARINI, A.; FIORILLO, A.; AVILA, H.; WYSTRYCHOWSKI, W.; ZAGALSKI, K.; MARUSZEWSKI, M.; JONES, A. L.; CIERPKA, L.; DE LA FUENTE, L. M.; L'HEUREUX, N. Mechanical properties of completely autologous human tissue engineered blood vessels compared to human saphenous vein and mammary artery. **Biomaterials.**, v. 30, n. 8, 2009. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.11.011. Epub 2008 Dec 25. PMID: 19111338; PMCID: PMC2758094.

KÜNG, F.; SCHUBERT, D. W.; STAFIEJ, P.; KRUSE, F. E.; FUCHSLUGER, T. A. A novel suture retention test for scaffold strength characterization in ophthalmology. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.**, v. 69, 2016. doi: 10.1016/j.msec.2016.07.052. Epub 2016 Jul 22. PMID: 27612789.

KÜNG, F.; SCHUBERT, D. W.; STAFIEJ, P.; KRUSE, F. E.; FUCHSLUGER, T. A. Influence of operating parameters on the suture retention test for scaffolds in ophthalmology. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.**, v. 77, 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.02.177. Epub 2017 Mar 18. PMID: 28532023.

LEE, K. H.; CHO, J. G.; PARK, H. W.; YOON, N. S.; JEONG, H. K.; LEE, N. Role of Red Cell Distribution Width in the Relationship between Clinical Outcomes and Anticoagulation Response in Patients with Atrial Fibrillation. **Chonnam Med J.**, v. 54, n. 2, 2018. doi: 10.4068/cmj.2018.54.2.113. Epub 2018 May 25. PMID: 29854676; PMCID: PMC5972124.

LUCARELLI, E.; BERETTA, R.; DOZZA, B.; TAZZARI, P. L.; O'CONNEL, S. M.; RICCI, F.; PIERINI, M.; SQUARZONI, S.; PAGLIARO, P. P.; OPRITA, E. I.; DONATI, D. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix. **Eur Cell Mater.**, v. 20, 2010. doi: 10.22203/ecm.v020a02. PMID: 20597062.

LUO, R. M.; CHVARTSZAID, D.; KIM, S. W.; PORTNOF, J. E. Soft-Tissue Grafting Solutions. **Dent Clin North Am.**, v. 64, n. 2, 2020. doi: 10.1016/j.cden.2019.12.008. Epub 2020 Jan 29. PMID: 32111279.

MADURANTAKAM, P.; YOGANARASIMHA, S.; HASAN, F.K. Characterization of Leukocyte-platelet Rich Fibrin, A Novel Biomaterial. **J. Vis. Exp.**, v. 103, 2015.

MARTINS, L. C. F.; SOUSA CAMPOS DE OLIVEIRA, A. L.; ALOISE, A. C.; SCAVONE DE MACEDO, L. G.; TEIXEIRA, M. L.; MOY, P. K.; PELEGRINE, A. A. Bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich fibrin in fresh extraction sockets: A histomorphometric and immunohistochemical study in humans. **J Craniomaxillofac Surg.**, v. 49, n. 2, 2021. doi: 10.1016/j.jcms.2020.12.005. Epub 2020 Dec 11. PMID: 33349509.

MCGREGOR, C.; BYRNE, G.; RAHMANI, B.; CHISARI, E.; KYRIAKOPOULOU, K.; BURRIESCI, G. Physical equivalency of wild type and galactose α 1,3 galactose free porcine pericardium; a new source material for bioprosthetic heart valves. **Acta Biomater.**, v. 41, 2016. doi: 10.1016/j.actbio.2016.06.007. Epub 2016 Jun 4. PMID: 27268480; PMCID: PMC4982525.

MEZA-MAURICIO, J.; FURQUIM, C. P.; GELDRES, A.; MENDOZA-AZPUR, G.; RETAMAL-VALDES, B.; MORASCHINI, V.; FAVERI, M. Is the use of platelet-rich fibrin effective in the healing, control of pain, and postoperative bleeding in the palatal area after free gingival graft harvesting? A systematic review of randomized clinical studies. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 7, 2021. doi: 10.1007/s00784-021-03933-5. Epub 2021 Apr 7. PMID: 33829349.

MIRON, R. J.; MORASCHINI, V.; DEL FABBRO, M.; PIATTELLI, A.; FUJIOKA-KOBAYASHI, M.; ZHANG, Y.; SAULACIC, N.; SCHALLER, B.; KAWASE, T.; COSGAREA, R.; JEPSEN, S.; TUTTLE, D.; BISHARA, M.; CANULLO, L.; ELIEZER, M.; STAVROPOULOS, A.; SHIRAKATA, Y.; STÄHL, A.; GRUBER, R.; LUCACIU, O.; AROCA, S.; DEPPE, H.; WANG, H. L.; SCULEAN, A. Use of platelet-rich fibrin for the treatment of gingival recessions: a systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig.**, v. 24, n. 8, 2020. doi: 10.1007/s00784-020-03400-7. Epub 2020 Jun 26. PMID: 32591868.

MIRON, R. J.; FUJIOKA-KOBAYASHI, M.; MORASCHINI, V.; ZHANG, Y.; GRUBER, R.; WANG, H. L. Efficacy of platelet-rich fibrin on bone formation, part 1: Alveolar ridge preservation. **Int J Oral Implantol (Berl)**., v. 14, n. 2, 2021a. PMID: 34006080.

MIRON, R. J.; KAWASE, T.; DHAM, A.; ZHANG, Y.; FUJIOKA-KOBAYASHI, M.; SCULEAN, A. A technical note on contamination from PRF tubes containing silica and silicone. **BMC Oral Health.**, v. 21, n. 1, 2021b. doi: 10.1186/s12903-021-01497-0. PMID: 33740959; PMCID: PMC7980632.

MIRON, R. J.; MORASCHINI, V.; FUJIOKA-KOBAYASHI, M.; ZHANG, Y.; KAWASE, T.; COSGAREA, R.; JEPSEN, S.; BISHARA, M.; CANULLO, L.; SHIRAKATA, Y.; GRUBER, R.; FERENC, D.; CALASANS-MAIA, M. D.; WANG, H. L.; SCULEAN, A. Use of platelet-rich fibrin for the treatment of periodontal intrabony defects: a systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig.**, v. 25, n. 5, 2021c. doi: 10.1007/s00784-021-03825-8. Epub 2021 Feb 20. PMID: 33609186; PMCID: PMC8060184.

MORASCHINI, V.; CALASANS-MAIA, M. D.; DIAS, A. T.; DE CARVALHO FORMIGA, M.; SARTORETTO, S. C.; SCULEAN, A.; SHIBLI, J. A. Effectiveness of connective tissue graft substitutes for the treatment of gingival recessions compared with coronally advanced flap: a network meta-analysis. **Clin Oral Investig.**, v. 24, n. 10, 2020. doi: 10.1007/s00784-020-03547-3. Epub 2020 Aug 26. PMID: 32851531.

MOURÃO, C. F. A. B.; MIRON, R. J.; DE MELLO MACHADO, R. C.; GHANAATI, S.; ALVES, G. G.; CALASANS-MAIA, M. D. Usefulness of platelet-rich fibrin as a hemostatic agent after dental extractions in patients receiving anticoagulant therapy with factor Xa inhibitors: a case series. **Oral Maxillofac Surg.**, v. 23, n. 3, 2019. doi: 10.1007/s10006-019-00769-y. Epub 2019 May 17. PMID: 31102080.

NGAH, N. A.; RATNAYAKE, J.; COOPER, P. R.; DIAS, G. J.; TONG, D. C.; MOHD NOOR, S. N. F.; HUSSAINI, H. M.; Potential of Lyophilized Platelet Concentrates for Craniofacial Tissue Regenerative Therapies. **Molecules.**, v. 26, n. 3, 2021. doi: 10.3390/molecules26030517. PMID: 33498167; PMCID: PMC7863735.

OCKERMAN, A.; BRAEM, A.; EZELDEEN, M.; CASTRO, A.; COUCKE, B.; POLITIS, C.; VERHAMME, P.; JACOBS, R.; QUIRYNEN, M. Mechanical and structural properties of

leukocyte- and platelet-rich fibrin membranes: An in vitro study on the impact of anticoagulant therapy. **J Periodontal Res.**, v. 55, n. 5, 2020. doi: 10.1111/jre.12755. Epub 2020 May 14. PMID: 32406545.

ORTEGA-MEJIA, H.; ESTRUGO-DEVESA, A.; SAKA-HERRÁN, C.; AYUSO-MONTERO, R.; LÓPEZ-LÓPEZ, J.; VELASCO-ORTEGA, E. Platelet-Rich Plasma in Maxillary Sinus Augmentation: Systematic Review. **Materials (Basel)**., v. 13, n. 3, 2020. doi: 10.3390/ma13030622. PMID: 32019255; PMCID: PMC7040697.

OSAGIE, O.; SAHEEB, B. D.; EGBOR, E. P. Do the bioactive effects of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin influence the oral health related quality of life following impacted third molar surgery? A randomized comparative study. **Niger J Clin Pract.**, v. 24, n. 5, 2021. doi: 10.4103/njcp.njcp_543_20. PMID: 34018981.

PANDA, S.; SATPATHY, A.; CHANDRA DAS, A.; KUMAR, M.; MISHRA, L.; GUPTA, S.; SRIVASTAVA, G.; LUKOMSKA-SZYMANSKA, M.; TASCHIERI, S.; DEL FABBRO, M. Additive Effect of Platelet Rich Fibrin with Coronally Advanced Flap Procedure in Root Coverage of Miller's Class I and II Recession Defects-A PRISMA Compliant Systematic Review and Meta-Analysis. **Materials (Basel)**., v. 13, n. 19, 2020. doi: 10.3390/ma13194314. PMID: 32992613; PMCID: PMC7579296.

PASCOAL, M. A. N. C.; DOS SANTOS, N. B. M.; COMPLETO, A. M. G.; FERNANDES, G. V. O. Tensile strength assay comparing the resistance between two different autologous platelet concentrates (leucocyte-platelet rich fibrin versus advanced-platelet rich fibrin): a pilot study. **Int J Implant Dent.**, v. 7, n. 1, 2021. doi: 10.1186/s40729-020-00284-w. PMID: 33447875; PMCID: PMC7809075.

PENSALFINI, M.; MENEGHELLO, S.; LINTAS, V.; BIRCHER, K.; EHRET, A. E.; MAZZA, E. The suture retention test, revisited and revised. **J Mech Behav Biomed Mater.**, v. 77, 2018. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.08.021. Epub 2017 Aug 24. PMID: 28867371.

RAO, J. K. D.; BHATNAGAR, A.; PANDEY, R.; ARYA, V.; ARORA, G.; KUMAR, J.; BOOTWALA, F.; DEVI, W. N. A comparative evaluation of iliac crest bone graft with and without injectable and advanced platelet rich fibrin in secondary alveolar bone grafting for cleft alveolus in unilateral cleft lip and palate patients: A randomized prospective study. **J Stomatol Oral Maxillofac Surg.**, v. 122, n. 3, 2021. doi: 10.1016/j.jormas.2020.07.007. Epub 2020 Aug 8. PMID: 32781256.

RAVI, S.; SANTHANAKRISHNAN, M. Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF - an in vitro study. **Biomater Res.**, v. 24, n. 16, 2020. doi: 10.1186/s40824-020-00193-4. PMID: 32944280; PMCID: PMC7488539.

RUSILAS, H.; BALČIŪNAITĖ, A.; ŽILINSKAS, J. Autologous platelet concentrates in treatment of medication related osteonecrosis of the jaw. **Stomatologija.**, v. 22, n. 1, 2020. PMID: 32706343.

SAM, G.; VADAKKEKUTTICAL, R. J.; AMOL, N. V. In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of

its surface characteristics. **J Indian Soc Periodontol.**, v. 19, n. 1, 2015. doi: 10.4103/0972-124X.145821. PMID: 25810590; PMCID: PMC4365153.

SAMMARTINO, G.; DOHAN EHRENFEST, D. M.; CARILE, F.; TIA, M.; BUCCI, P. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. **J Oral Implantol.**, v. 37, n. 6, 2011. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00001. Epub 2011 Jun 30. PMID: 21718187.

SARKAR, S.; PRASHANTH, N. T.; SHOBHA, E. S.; RANGAN, V.; NIKHILA, G. Efficacy of Platelet Rich Fibrin versus chitosan as a hemostatic agent following dental extraction in patients on antiplatelet therapy. **J Oral Biol Craniofac Res.**, v. 9, n. 4, 2019. doi: 10.1016/j.jobcr.2019.07.003. Epub 2019 Aug 18. PMID: 31467833; PMCID: PMC6710641.

SIMONPIERI, A.; DEL CORSO, M.; VERVELLE, A.; JIMBO, R.; INCHINGOLO, F.; SAMMARTINO, G.; DOHAN EHRENFEST, D. M. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. **Curr Pharm Biotechnol.**, v. 13, n. 7, 2012. doi: 10.2174/138920112800624472. PMID: 21740370.

VELIER, M.; MAGALON, J.; DAUMAS, A.; CASSAR, M.; FRANCOIS, P.; GHAZOUANE, A.; PHILANDRIANOS, C.; BERTRAND, B.; FRERE, C.; BERNOT, D.; VILLANI, P.; GEORGE, F. D.; SABATIER, F. Production of platelet-rich plasma gel from elderly patients under antithrombotic drugs: Perspectives in chronic wounds care. **Platelets.**, v. 29, n. 5, 2018. doi: 10.1080/09537104.2017.1336212. Epub 2017 Aug 14. PMID: 28805478.

WANG, X.; WANG, K.; ZHANG, W.; QIANG, M.; LUO, Y. A bilaminated decellularized scaffold for islet transplantation: Structure, properties and functions in diabetic mice. **Biomaterials.**, v. 138, 2017. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.05.033. Epub 2017 May 22. PMID: 28554010.

WANG, J.; SUN, X.; LV, H.; DU, L.; WANG, L.; ZHOU, Y. Endoscope-Assisted Maxillary Sinus Floor Elevation with Platelet-Rich Fibrin Grafting and Simultaneous Implant Placement: A Prospective Clinical Trial. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, v. 36, n. 1, 2021. doi: 10.11607/jomi.8723. PMID: 33600535.

XU, F.; ZOU, D.; DAI, T.; XU, H.; AN, R.; LIU, Y.; LIU, B. Effects of incorporation of granule-lyophilised platelet-rich fibrin into polyvinyl alcohol hydrogel on wound healing. **Sci Rep.**, v. 8, n. 1, 2018. doi: 10.1038/s41598-018-32208-5. PMID: 30232343; PMCID: PMC6145885.

YADAV, N.; KUMAR, A. Palatoradicular groove: The hidden predator and etiological factor - Advanced proposed classification and literature review. **Indian J Dent Res.**, v. 31, n. 4, 2020. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_679_17. PMID: 33107474.

YAJAMANYA, S. R.; CHATTERJEE, A.; BABU, C. N.; KARUNANITHI, D. Fibrin network pattern changes of platelet-rich fibrin in young versus old age group of individuals: A cell block cytology study. **J Indian Soc Periodontol.**, v. 20, n. 2, 2016. doi: 10.4103/0972-124X.176390. PMID: 27143826; PMCID: PMC4847460.

ZEITOUNLOUIAN, T. S.; ZENO, K. G.; BRAD, B. A.; HADDAD, R. A. Effect of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) in accelerating orthodontic tooth movement : A randomized split-mouth-controlled trial. **J Orofac Orthop.**, v. 82, n. 4, 2021a. doi: 10.1007/s00056-020-00275-x. Epub 2021 Jan 22. PMID: 33481053.

ZEITOUNLOUIAN, T. S.; ZENO, K. G.; BRAD, B. A.; HADDAD, R. A. Three-dimensional evaluation of the effects of injectable platelet rich fibrin (i-PRF) on alveolar bone and root length during orthodontic treatment: a randomized split mouth trial. **BMC Oral Health.**, v. 21, n. 1, 2021b. doi: 10.1186/s12903-021-01456-9. PMID: 33653326; PMCID: PMC7971145.

ZHU, J.; ZHANG, S.; YUAN, X.; HE, T.; LIU, H.; WANG, J.; XU, B. Effect of platelet-rich fibrin on the control of alveolar osteitis, pain, trismus, soft tissue healing, and swelling following mandibular third molar surgery: an updated systematic review and meta-analysis. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v. 50, n. 3, 2021. doi: 10.1016/j.ijom.2020.08.014. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32950350.

ANEXO

Universidade Federal do Ceará
Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “CARACTERIZAÇÃO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS DE PACIENTES SOB USO DE VARFARINA E AVALIAÇÃO DE SUA AÇÃO HEMOSTÁTICA NO PÓS-OPERATÓRIO DE EXODONTIAS MÚLTIPLAS CONTÍGUAS”, de responsabilidade do cirurgião-dentista Erasmo Bernardo Marinho, doutorando do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Você não deve participar contra sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

A pesquisa será realizada na Clínica de Estomatologia, onde ocorrem os atendimentos do Núcleo de Estudos em Pacientes Especiais (NEPE), e no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas, ambos vinculados à FFOE da UFC. Seu objetivo é caracterizar coágulo obtido de sangue de pacientes sob uso de varfarina assim como avaliar sua ação anti-hemorrágica no pós-operatório de extrações de dentes vizinhos.

Ao assinar este termo, no qual consta seu nome e registro geral do documento de identidade, você estará declarando que por meio de livre e espontânea vontade participará da pesquisa cujo objetivo foi citado anteriormente.

São considerações sobre a pesquisa:

- a) os participantes da pesquisa poderão contribuir com o estudo como doadores de material sanguíneo (em quantidade de até 40 mL) e/ou como pacientes a serem submetidos a extrações de mais de um dente;
- b) o sangue coletado será utilizado para a realização de exames hematológicos e para a obtenção do coágulo rico em plaquetas e leucócitos;
- c) a coleta do sangue doado será realizada no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da FFOE da UFC por técnico de laboratório experiente;
- d) para realização de cirurgia odontológica serão solicitados aos participantes da pesquisa, anterior ao procedimento, radiografias e exames de sangue, sendo estes realizados respectivamente nas Clínicas de Radiologia do Curso de Odontologia e no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas do Curso de Farmácia, ambos vinculados à FFOE da UFC;
- e) para execução do estudo serão realizadas extrações de dentes vizinhos que não apresentem outra alternativa de tratamento a não ser sua remoção, sendo o atendimento realizado na Clínica de Estomatologia da FFOE da UFC;
- f) para todos os participantes sob uso de varfarina que forem submetidos a extrações dentárias serão adotadas medidas locais de prevenção de hemorragia (uso de esponja de colágeno ou de coágulo rico em plaquetas e leucócitos no sítio cirúrgico) além de sutura e compressa com gaze;
- g) citam-se como benefícios pela participação no presente estudo como paciente a ser submetido a extrações dentárias a oportunidade de receber tratamento cirúrgico odontológico realizado por profissional capacitado, sendo este realizado em unidade de saúde com condições adequadas ao atendimento e à assistência à saúde em caso de complicações inerentes ao procedimento realizado, além da possibilidade de identificação de alteração sanguínea desconhecida de importância clínica através de exames complementares;
- h) citam-se como riscos aos participantes a possibilidade de picadas, surgimento de hematomas, contaminação por agentes externos e infecção por patógenos em função de exposição a sangue contaminado (sendo estes inerentes a qualquer procedimento de coleta sanguínea), assim como hemorragia, infecção, dor pós-operatória e trismo (sendo estes inerentes a extrações dentárias), além de vazamento de dados que possibilitem a identificação do paciente, gerando algum constrangimento;

- i) medidas serão tomadas com a finalidade de reduzir todos os riscos inerentes à participação do estudo;
- j) não haverá identificação dos participantes por ocasião da exposição e/ou publicação dos resultados da pesquisa;
- k) os participantes não receberão nenhuma ajuda financeira por participar deste projeto;
- l) nenhum procedimento relacionado à pesquisa acarretará em custos aos participantes;
- m) será garantido aos participantes adequação do meio bucal através de tratamento odontológico a ser realizado na Clínica de Estomatologia da UFC;
- n) e os participantes terão a liberdade de desistir ou de interromper sua participação no estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação, sem que lhes traga qualquer ônus.

Declaro, pelo presente instrumento, que fui informado (a) sobre todos os procedimentos da pesquisa e que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações do projeto. Informo, também, que todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão repassadas.

Número do RG do participante: _____



Polegar direito do participante:

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Fortaleza - CE, _____ de _____ de 20____.

Pesquisador: Erasmo Bernardo Marinho. CPF: 006.019.243-71.
Telefone: (85) 99634-2582. E-mail: erasmobmarinho@gmail.com. Endereço: Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem – UFC. Rua Alexandre Baraúna S/N, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, CE.

Orientador: Professor Doutor Fabricio Bitu Sousa.

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará: Rua Coronel Nunes de Melo, 1000, Rodolfo Teófilo, Fortaleza – CE. Telefone: 3366-8344 (horário de funcionamento de 08:00 às 12:00 horas de segunda a sexta-feira).