



**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
DIRETORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA**

JÚLIA JÉSSICA DE FREITAS LUIZ

**Avaliação de membrana de L-PRF em diferentes tempos
após a centrifugação**

**Evaluation of L-PRF membrane at different times after
centrifugation**

**MARINGÁ
2022**



**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
DIRETORIA DE PESQUISA, EXTENSÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA**

JÚLIA JÉSSICA DE FREITAS LUIZ

**Avaliação de membrana de L-PRF em diferentes tempos
após a centrifugação**

**Evaluation of L-PRF membrane at different times after
centrifugation**

Dissertação formato artigo apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Odontologia, do Centro Universitário Ingá UNINGÁ, como parte dos requisitos a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Implantodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Polyane Mazucatto Queiroz

**MARINGÁ
2022**

Luiz, Júlia Jéssika de Freitas
Avaliação de membrana de L-PRF em diferentes
tempos após a centrifugação
Luiz / Júlia Jéssika de Freitas Luiz. -- Maringá, 2022.
49 p. : il. ; 31 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Centro Universitário Ingá
Uningá, 2022.

Orientadora: Profa. Dra. Polyane Mazucatto Queiroz

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data: 18/04/2022

Comitê de Ética da UNINGÁ
Protocolo nº: 29185020.7.0000.5220

FOLHA DE APROVAÇÃO

JÚLIA JÉSSIKA DE FREITAS LUIZ

Avaliação de membrana de L-PRF em diferentes tempos após a centrifugação

Evaluation of L-PRF membrane at different times after centrifugation

Dissertação em formato artigo apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Odontologia, do Centro Universitário Ingá UNINGÁ, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Implantodontia.

Maringá, 18 de abril de 2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Polyane Mazucatto Queiroz
UNINGÁ



Prof. Dra. Elen de Souza Tolentino
UEM



Prof. Dra. Núbia Inocencya Pavesi Pini
UNINGÁ

DEDICATÓRIA

Este trabalho é todo dedicado aos meus pais, **Nevaldir e Wanderléia**, e a minha irmã, **Ingrid**, pois é graças ao esforço deles que hoje posso concluir o meu mestrado.

Foi pensando nos pacientes que realizei essa pesquisa. Dedico este trabalho a todos aqueles a quem essa pesquisa possa ajudar de alguma forma.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, sem ele eu não teria capacidade para fazer o mestrado.

Agradeço a minha querida família. Aos meus pais, **Nevaldir e Wanderléia**, e a minha irmã, **Ingrid**, por todo apoio e suporte para realização desse curso. Aos meus avós, que tanto admiro.

Aos professores do programa de Mestrado Profissional em Odontologia do Centro Universitário Ingá, que tanto se dedicaram ao longo dos anos. A minha orientadora, professora Dra. **Polyane Mazucatto Queiroz** sem a qual não teria conseguido concluir esta difícil tarefa.

Agradeço a professora **Ana Regina Casarotto**, que muito contribuiu para o desenvolvimento dessa pesquisa e a **Monique**, técnica do laboratório de patologia, que auxiliou na pesquisa.

Agradeço aos meus colegas de curso, **Everton Salante, Fabiano Brites e Fabiano Gava** por todo o apoio e que assim como eu encerram uma difícil etapa da vida acadêmica.

Ao Centro Universitário Ingá, no nome do reitor Dr. **Ricardo Benedito de Oliveira**, pelas oportunidades.

Agradeço a todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada!

RESUMO

As pesquisas na área da engenharia tecidual vêm ganhando espaço na Odontologia. A membrana de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) tem sido estudada como um adjuvante cirúrgico para potencializar o processo de cicatrização. Como o uso da membrana de L-PRF é realizado durante o ato cirúrgico, a membrana preparada antes do início do procedimento pode ficar em repouso por longo período antes do seu uso. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a contagem celular e peso de membranas de L-PRF em diferentes tempos após a sua obtenção. Para isso, foi realizada a coleta de seis tubos de sangue de dez indivíduos, um para hemograma e cinco para o estudo. Imediatamente após a coleta, foi realizada a centrifugação na centrífuga Intra Spin (Intralock) com o protocolo de 2700 rotações por minuto durante 12 minutos. As 50 membranas foram divididas em cinco grupos: (A) imediatamente, (B) 30 minutos, (C) 60 minutos, (D) 120 minutos e (E) 180 minutos após a centrifugação. As membranas dos grupos B, C, D e E foram pesadas duas vezes, após a centrifugação e no tempo do grupo. Após a segunda pesagem, as membranas foram fixadas em formol e foi realizada a produção de lâminas para análise histológica com coloração de Hematoxilina e Eosina e Giemsa. Em microscópio óptico, foi realizada a contagem de leucócitos em campos proximais ao coágulo, em transição coágulo/fibrina e distais ao coágulo. A contagem de células foi comparada por análise de variância com significância de 5%. Não foi observada diferença significativa ($p=0,9887$) quando comparado o número de células das membranas obtidas em diferentes tempos após a centrifugação. Foi observada uma redução significativa do peso das membranas imediatamente após a confecção em relação aos tempos estudados ($p<0,0001$). Contudo, não foi observada uma diferença significativa na redução obtida entre os diferentes tempos ($p=0,751$). A quantidade de leucócitos não é influenciada pelo tempo de espera de até 180 minutos após a confecção da membrana. Considerando a redução da massa da membrana nos primeiros 30 minutos, aguardar esse período para que a membrana estabilize sua massa pode ser considerado na prática clínica.

Palavras-chave: Buffy coat. Fibrina rica em plaquetas. Leucócitos.

ABSTRACT

Research in tissue engineering has been gaining ground in Dentistry. The leukocyte and platelet-rich fibrin membrane (L-PRF) has been studied as a surgical adjuvant to enhance the healing process. As the use of the L-PRF membrane is performed during the surgical procedure, the membrane prepared before the beginning of the procedure can be left to rest for a long period before its use. The present study was developed with the objective of evaluating the cell count and weight of L-PRF membranes at different times after obtaining them. For this, six tubes of blood were collected from ten individuals, one for blood count and five for the study. Immediately after collection, centrifugation was performed in the Intra Spin centrifuge (Intralock, Alemanha) with the protocol of 2700 rotations per minute for 12 minutes. The membranes were divided into five groups: (A) immediately, (B) 30 minutes, (C) 60 minutes, (D) 120 minutes and (E) 180 minutes after centrifugation. Membranes from groups B, C, D and E were weighed twice, after centrifugation and at the time of the group. After the second weighing, the membranes were fixed in formalin and slides were produced for histological analysis with Hematoxylin and Eosin and Giemsa staining. Under an optical microscope, leukocyte counts were performed in fields proximal to the clot, in clot/fibrin transition and distal to the clot. Cell counts were compared by analysis of variance with a significance of 5%. No significant difference was observed ($p=0.9887$) when comparing the number of cells in the membranes obtained at different times after centrifugation. A significant reduction in the weight of the membranes was observed immediately after preparation in relation to the times studied ($p<0.0001$). However, no significant difference was observed in the reduction obtained between the different times ($p=0.751$). The amount of leukocytes is not influenced by the waiting time of up to 180 minutes after making the membrane. Considering the reduction in membrane mass in the first 30 minutes, waiting for this period for the membrane to stabilize its mass can be considered in clinical practice.

Keywords: Blood buffy coat. Leukocytes. Platelet-rich fibrin.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1 - | Membrana de L-PRF imediatamente (A), 30 minutos (B), 60 minutos (C), 120 minutos (D) e 180 minutos (E) após a centrifugação..... | 21 |
| Figura 2 - | Grade de orientação para contagem de leucócitos..... | 23 |
| Figura 3 - | Avaliação microscópica das membranas de L-PRF em diferentes tempos de armazenamento após centrifugação, considerando as áreas proximais ao coágulo e transição coágulo/fibrina (Coloração de Giemsa, 40x | 24 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| Tabela 1 - | Média e desvio-padrão (DP) dos valores da contagem das células obtidas nas membranas em diferentes tempos após a centrifugação..... | 24 |
| Tabela 2 - | Contagem de células das membranas de L-PRF em diferentes tempos após a centrifugação considerando as diferentes áreas da membrana | 25 |
| Tabela 3 - | Peso inicial e final das membranas obtidas nos tempos 30 (B), 60 (C), 120 (D) e 180 (E) minutos após a confecção da membrana | 25 |
| Tabela 4 - | Diferença média do peso inicial em relação ao peso final das membranas após os diferentes intervalos de tempo após sua preparação | 25 |

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

PRF - Fibrina rica em plaqueta

PPP - Plasma pobre em plaqueta

L-PRF - Fibrina rica em plaqueta e leucócitos, do inglês, leukocyte - *platelet-rich fibrin*

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas

TGF- beta - Fator de crescimento transformante beta

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

IGF - Fator de crescimento de insulina

EGF - Fator de crescimento epidérmico

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

RCF - Força de centrifugação relativa aplicada

SUMÁRIO

| | | |
|----|--|----|
| 1. | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. | ARTIGO | 18 |
| 3. | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 31 |
| 4. | RELEVÂNCIA E IMPACTO DO TRABALHO PARA A SOCIEDADE | 32 |
| | REFERÊNCIAS..... | 33 |
| | ANEXO 1 | 36 |
| | ANEXO 2 | 44 |

1. INTRODUÇÃO

Após uma lesão dos tecidos, seja ela intencional ou não, ocorre no organismo um complexo evento químico e celular que visa a regeneração dos tecidos danificados, este processo é conhecido como cicatrização. A cicatrização ideal de feridas envolve basicamente os seguintes eventos: Fase inicial (hemostasia), fase inflamatória, fase proliferativa e remodeladora. Vários são os tipos de células envolvidas no processo de cicatrização de feridas. A complexidade e a coordenação deste processo são os principais obstáculos para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, e obtenção de materiais que possam auxiliar e/ou potencializar o processo reparador dos tecidos envolvidos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; DOHAN *et al.*, 2004; GUO; DIPIETRO, 2010).

A primeira fase (hemostasia) começa a partir do momento em que houve a ferida e consiste em uma constrição vascular e formação de um coágulo de fibrina. O coágulo é o tecido circundante da ferida responsável por liberar citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento. Assim que acontece o controle do sangramento, as células inflamatórias migram para a região dando início da fase inflamatória (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; GUO; DIPIETRO, 2010; VELNAR; BAILEY; SMRKOLJ, 2009).

A segunda fase (inflamatória) dura geralmente entre 24 e 48 horas. Neste período, começa a ocorrer uma interação entre as células endoteliais, citocinas angiogênicas e matriz extracelular (ECM) que culmina na liberação de diversos fatores de crescimento, possibilitando a cicatrização da ferida (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; GUO; DIPIETRO, 2010; VELNAR; BAILEY; SMRKOLJ, 2009).

Posteriormente, cerca de três dias após a hemostasia ter sido alcançada, começa a fase proliferativa que tem duração em média de duas semanas. Essa fase é caracterizada pela migração de fibroblastos e deposição da matriz extracelular (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; GUO; DIPIETRO, 2010; VELNAR; BAILEY; SMRKOLJ, 2009).

Por fim, a fase remodeladora caracteriza-se pela regressão de muitos capilares recém-formados de modo que a densidade vascular da ferida volte ao normal. Ocorre também a contração da ferida, e este processo pode levar até anos para terminar em determinados tecidos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; GUO; DIPIETRO,

2010; VELNAR; BAILEY; SMRKOLJ, 2009).

No cenário atual, a busca pelo desenvolvimento de adjuvantes cirúrgicos capazes de potencializar esse processo de cicatrização de feridas e regular a etapa inflamatória é um dos maiores desafios das pesquisas clínicas na medicina e na odontologia. Várias estratégias foram adotadas a fim de criar materiais que contribuam com a engenharia tecidual (CHOUKROUN *et al.*, 2006; CHOUKROUN *et al.*, 2004; COURY, 2016).

A ideia da utilização dos biomateriais tais como, derivados de aloenxertos, xenoenxertos ou aloplástico sinteticamente produzidos para regenerar os tecidos hospedeiros, é criar sistemas que formem uma espécie de arcabouço. Assim, com materiais que sejam biocompatíveis ao organismo e que permitam a migração, proliferação e diferenciação das células, levando conseqüentemente a regeneração tecidual necessária (THRIVIKRAMAN *et al.*, 2017). No entanto, estes materiais normalmente possuem custos elevados o que muitas vezes impendem sua utilização na rotina clínica (CHOUKROUN *et al.*, 2006; COURY, 2016; TOFFLER *et al.*, 2009).

Dentre os diversos protocolos que visam desenvolver técnicas e materiais que possam otimizar o processo de reparação, o uso das “colas de fibrinas” já está bem documentado e evoluiu muito desde o seu surgimento (DOHAN *et al.*, 2004). Sua aquisição é feita através de técnicas simplificadas, de baixo custo otimizando sua utilização nos procedimentos rotineiros de um consultório odontológico (DOHAN *et al.*, 2006; DOHAN *et al.*, 2004).

A primeira geração de concentrados plaquetários consiste no plasma rico em plaquetas (PRP) que foi desenvolvido com a intenção de ser um agente regenerativo derivado do sangue (WANG *et al.*, 2018). Seu uso na Medicina e na Odontologia aumentou significativamente ao longo dos anos. O PRP é utilizado como arcabouço bioativo na terapia baseada em células da engenharia dos tecidos (CHOUKROUN *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2018). Além de proporcionar um aumento de 6 a 8 vezes na quantidade de fatores de crescimento derivados do sangue, influenciando o crescimento e diferenciação celular, assim, facilitando a cicatrização e reparação de tecidos. A aquisição do PRP é feita a partir do plasma autólogo (CHOUKROUN *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2018).

No campo odontológico, os efeitos benéficos do uso do PRP durante a regeneração do tecido ósseo, na combinação de enxertos ósseos para o levantamento do assoalho do seio maxilar, procedimentos para regeneração

periodontal foram estudados (MARX, 2004). Apesar da sua crescente popularidade no início dos anos 90, apareceram preocupações em relação a técnica de aquisição, uma delas foi em relação ao tempo de preparação, que varia de 30 minutos a uma hora, e também a necessidade de utilização de anticoagulantes, como a trombina bovina e cloreto de cálcio, que vão na contramão do processo fisiológico de cicatrização (CHOUKROUN *et al.*, 2001; MARX, 2004).

Outra desvantagem do PRP é o fato de ser líquido por natureza, necessitando da combinação com outros biomateriais (JAMESON, 2007). Diante essas limitações, os pesquisadores foram motivados a estudar novas modalidades já que apesar das limitações do PRP seus efeitos benéficos já estavam comprovados (WANG *et al.*, 2018).

Neste contexto, as pesquisas têm avançado no campo da regeneração tecidual com o objetivo de acelerar e melhorar este processo. Na tentativa de criar uma terapia que conseguisse melhorar o processo de cicatrização de feridas em pessoas diabéticas, pesquisadores expandiram estudos clínicos em relação aos concentrados plaquetário (CHOUKROUN *et al.*, 2001). Assim, uma nova geração de concentrados plaquetários, a fibrina rica em plaqueta (PRF, do inglês, *platelet-rich fibrina*), surgiu do aperfeiçoamento da primeira geração. Nesse concentrado, não havia a necessidade de anticoagulantes e demandava um menor tempo de centrifugação (CHOUKROUN *et al.*, 2006; DOHAN *et al.*, 2004)

Por definição, a PRF é um concentrado de plaquetas imunológico que reuni em uma única membrana de fibrina todos os constituintes favoráveis à cicatrização. Embora as citocinas das plaquetas e dos leucócitos desempenham um importante papel na composição deste biomaterial, a matriz de fibrina que as sustenta é sem dúvida, o elemento determinante no real potencial terapêutico da PRF (CHOUKROUN *et al.*, 2006; CHOUKROUN *et al.*, 2004; DOHAN EHRENFEST, 2010)

É possível atribuir diversas aplicações importantes à PRF nos tratamentos cirúrgicos. Com a formação da malha de fibrina a combinação de enxertos ósseos ajuda na estabilização e na migração de células reparadoras. Utilizado como uma membrana, a PRF cobre e protege o local operado além de acelerar a fusão das bordas ao longo da incisão, otimizando o processo de reparação. Além disso, em sítios superficiais vascularizados, a membrana é degradada rapidamente pela trombina circulante, o que implica em uma remodelação acentuada devido aos fibroblastos que migram para a matriz (DOHAN EHRENFEST, 2010; GAULTIER *et al.*, 2003).

Entre as propriedades da membrana, é importante destacar a liberação de diversos fatores de crescimento, como o TGF β , fator de crescimento semelhante à insulina1 (IGF-1), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF). Essa liberação de fatores de crescimento se estende por um período médio de até 14 dias, favorecendo uma melhor cicatrização e neoformação tecidual naquela região, além de reduzir a inflamação, dor e morbidades, fazendo com que a atividade cicatricial seja mais acelerada e promissora em relação aos outros métodos não associados a PRF (TOFFLER *et al.*, 2006; CHOUKROUN *et al.*, 2001; MEDIKERI *et al.*, 2018; EHRENFEST *et al.*, 2018)..

Para se obter a PRF, é feita a coleta de amostra de sangue coletada do próprio paciente. Após a coleta esse material é centrifugado sem nenhum aditivo, sendo um processo natural, de fácil realização, baixo custo e boa aceitação (FEIGIN; SHOPE, 2019; XU *et al.*, 2020). Tradicionalmente, aplica-se o Protocolo de *de Choukroun*, que consiste na centrifugação do sangue em uma velocidade de 2700 rpm durante 12 minutos (CHOUKROUN *et al.*, 2001). Logo após a centrifugação o coágulo da membrana deve ser removido, deixando a membrana pronta para o uso (CHOUKROUN *et al.*, 2001).

De forma geral, a utilização da membrana pode ser feita em diversas situações clínicas já que a ideia da sua utilização é auxiliar e/ou potencializar o processo de cicatrização. Diversos autores relatam a utilização em sítios cirúrgicos após exodontia com o intuito de proteger e ajudar a cicatrização muco gengival. Combinações com outros biomateriais como enxertos alógenos, xenogenos , em reabilitações extensas, também estão bem documentadas (GAULTIER *et al.*, 2003; SIMONPIERI *et al.*, 2009; STRAUSS *et al.*, 2019.)

Há evidências de benefícios clínicos com o uso das membranas de PRF. Seu método simplificado de aquisição e o baixo custo são outros atrativos para os cirurgiões-dentistas e pacientes, já que a cirurgia oral menor é uma rotina no consultório odontológico (COURY, 2016). Na prática clínica, a obtenção da membrana pode ser realizada no início do procedimento cirúrgico, o que pode resultar em um tempo significativo antes do seu uso efetivo. Ou ainda, seu preparo pode ser feito imediatamente antes do seu uso, ou seja, durante o procedimento cirúrgico (PETRONILHO *et al.*, 2022). Considerando a possibilidade de preparação em tempos

diferentes e o possível impactado do tempo nas características da membrana, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a estabilidade física e celular das membranas em diferentes tempos após sua obtenção.

2. ARTIGO

O artigo apresentado foi escrito de acordo com as normas da Revista *Journal of Periodontal Research* (Anexo 01).

AVALIAÇÃO DE MEMBRANA DE L-PRF EM DIFERENTES TEMPOS APÓS A CENTRIFUGAÇÃO

RESUMO

Introdução: Como o uso da membrana de L-PRF é realizado durante o ato cirúrgico, pode acontecer da membrana preparada antes do início do procedimento ficar em repouso por longo período antes do seu uso.

Objetivo: Avaliar a contagem celular e peso de membranas de L-PRF em diferentes tempos após a sua obtenção.

Método: Foi realizada a coleta de seis tubos de sangue de dez indivíduos, um para hemograma e cinco para o estudo. Imediatamente após a coleta, foi realizada a centrifugação na centrífuga Intra Spin (Intralock, Alemanha) com o protocolo de 2700 rotações por minuto durante 12 minutos. As 50 membranas foram divididas em cinco grupos: (A) imediatamente, (B) 30 minutos, (C) 60 minutos, (D) 120 minutos e (E) 180 minutos após a centrifugação. As membranas dos grupos B, C, D e E foram pesadas duas vezes, após a centrifugação e no tempo do grupo. Após a segunda pesagem, as membranas foram fixadas em formol e foi realizada a produção de lâminas para análise histológica com coloração Giemsa. Em microscópio óptico, foi realizada a contagem de leucócitos. A contagem de células e peso foram comparados por análise de variância com significância de 5%.

Resultados: Não foi observada diferença significativa ($p=0,9887$) quando comparado o número de células das membranas obtidas em diferentes tempos após a centrifugação. Foi observada uma redução significativa do peso das membranas imediatamente após a confecção em relação aos tempos estudados ($p<0,0001$). Contudo, não foi observada uma diferença significativa na redução obtida entre os diferentes tempos ($p=0,751$).

Conclusão: A quantidade de leucócitos não é influenciada pelo tempo de espera de até 180 minutos após a confecção da membrana. Considerando a redução da massa

da membrana nos primeiros 30 minutos, aguardar esse período para que a membrana estabilize sua massa pode ser considerado na prática clínica.

PALAVRAS-CHAVE: Centrifuga de hemoderivados. Concentrado sanguíneo. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos. Membrana L-PRF.

INTRODUÇÃO

Na prática clínico, o processo de reparação e cicatrização é bastante complexo. Assim, constantemente são pesquisados materiais que possam auxiliar e/ou potencializar o processo reparador de tecidos ósseo e gengival¹⁻³ Nesse contexto, concentrados plaquetários têm sido estudados como biomateriais que possam contribuir para esse processo. Entre os concentrados, destaca-se a fibrina rica em plaqueta (PRF, do inglês, *platelet-rich fibrina*).

A PRF é um concentrado de plaquetas imunológico que reuni em uma única membrana de fibrina diversos constituintes favoráveis à cicatrização.⁴ A matriz de fibrina que sustenta plaquetas e leucócitos é determinando para o potencial terapêutico da PRF.⁴⁻⁶

A membrana de PRF tem uma importante propriedade de liberar diversos fatores de crescimentos, como o TGF β , fator de crescimento semelhante à insulina1 (IGF-1), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento epidermal (EGF) e fator de crescimento epidermal derivado de plaquetas (PDEGF). Essa liberação de fatores de crescimento se estende por um período médio de até 14 dias, favorecendo uma melhor cicatrização e neoformação tecidual, além de reduzir a inflamação, dor e morbidades, fazendo com que a atividade cicatricial seja mais acelerada e promissora em relação aos outros métodos não associados a PRF.⁷⁻¹⁰

A obtenção da membrana de PRF é um procedimento relativamente simples. É feita a coleta de amostras de sangue coletada do próprio paciente e esse material é centrifugado sem nenhum aditivo, sendo um processo natural, de fácil realização, baixo custo e boa aceitação.^{11,12} Tradicionalmente, aplica-se o Protocolo de *de Choukroun*, que consiste na centrifugação do sangue em uma velocidade de 2700 rpm durante 12 minutos.⁸

Há evidências de benefícios clínicos do uso das membranas de L-PRF contribuindo para otimizar o processo de reparação⁹. Diversos autores relatam a utilização em sítios cirúrgicos após exodontia com o intuito de proteger e ajudar a cicatrização muco gengival. Combinações com outros biomateriais como enxertos alógenos, xenógenos, em reabilitações extensas, também estão bem documentadas.¹³⁻¹⁵

Na prática clínica, não há um consenso sobre quando a membrana deve ser preparada. Assim, a obtenção da membrana pode ser realizada no início do procedimento cirúrgico ou imediatamente antes do seu uso.¹⁶ Considerando a possibilidade de preparação em tempos diferentes e o possível impacto do tempo nas características da membrana, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a estabilidade física e celular das membranas em diferentes tempos após sua obtenção.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização da pesquisa o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Ingá – UNINGÁ, via Plataforma Brasil, CAAE: 29185020.7.0000.5220, parecer: 4.668.021. Todos os participantes assinaram o Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Voluntários e Coleta das amostras

Dez indivíduos saudáveis, gênero masculino, com idades entre 20 e 50 anos participaram como voluntários da pesquisa. Os participantes declararam não ser portadores de quaisquer doenças sistêmicas e não ser fumantes. Declaram ainda não fazer uso de medicações de uso crônico, anticoagulantes ou qualquer outro medicamento nos últimos seis meses. Como critério de inclusão os pacientes não poderiam apresentar nenhuma doença pré-existente e deveriam apresentar hemograma dentro dos padrões de normalidade. Foram excluídos os voluntários que haviam feito uso de bebida alcoólica ou de drogas (lícitas ou ilícitas) sete dias antes da doação da amostra.

Após triagem, foi realizada a assepsia para a coleta de sangue das veias periféricas da fossa antecubital (cefálica, basílica ou intermédia cubital). A coleta foi realizada por um cirurgião bucomaxilofacial habilitado em venopunção. Foram

coletados seis tubos de sangue em vidro seco (VACUPLAST®, Cotia, Brasil), contendo 9 ml cada. Cada tubo apresentou tempo médio de preenchimento de 20 segundos. Dos seis tubos coletados, um foi utilizado para confirmar a normalidade no hemograma, e os demais cinco tubos foram usados para obtenção das membranas.

Obtenção das membranas de L-PRF

Imediatamente após a coleta, foi realizada a centrifugação dos tubos na Centrífuga Intra Spin (Intralock, Alemanha). Para um correto balanceamento da centrífuga, todos os espaços ociosos de centrifugação foram preenchidos com tubos contendo água. Foi empregado o protocolo de 2700 rotações por minuto (rpm) durante um período de 12 minutos, conforme preconizando por Choukroun *et al* (2001).

Após a centrifugação, o material centrifugado foi acomodado em caixas metálicas de preparo de membrana de L-PRF para o processo de desidratação durante um período de cinco minutos, finalizando a preparação da membrana de L-PRF.

As 50 membranas obtidas foram divididas em cinco grupos, representando cinco momentos de uso:

Grupo A: Membrana utilizada imediatamente após a preparação

Grupo B: Membrana utilizada 30 minutos após a preparação

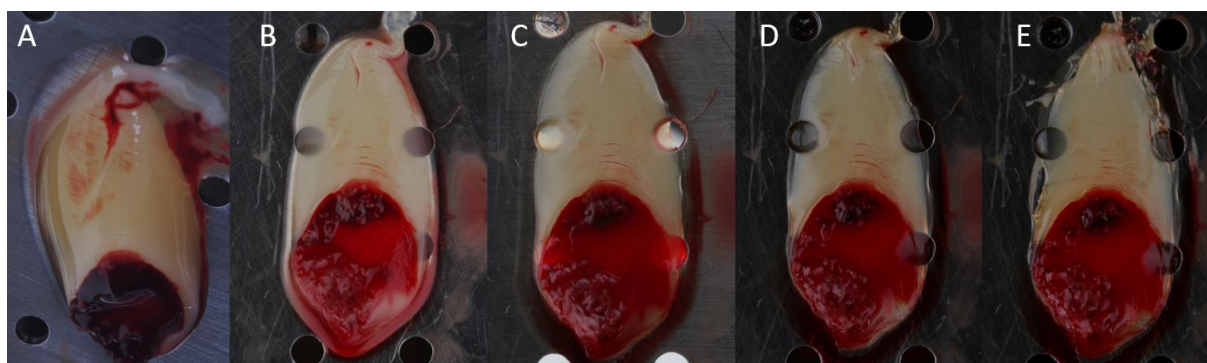
Grupo C: Membrana utilizada 60 minutos após a preparação

Grupo D: Membrana utilizada 120 minutos após a preparação

Grupo E: Membrana utilizada 180 minutos após a preparação

Assim, as membranas dos grupos B, C, D e E foram mantidas em repouso por um período de 30, 60, 120 e 180 minutos após a preparação (Figura 1).

Figura 1. Membrana de L-PRF imediatamente (A), 30 minutos (B), 60 minutos (C), 120 minutos (D) e 180 minutos (E) após a centrifugação.



Pesagem das membranas

Imediatamente após a preparação, as membranas obtidas foram pesadas em balança Semi Analítica AD500 (Marte Científica, São Paulo, Brasil) para obtenção da massa total da membrana. As membranas dos grupos B, C, D e E foram pesadas após transcorrido os tempos de 30, 60, 120 e 180 minutos, respectivamente. Os valores foram obtidos em unidade de medida de massa (grama) e tabulado.

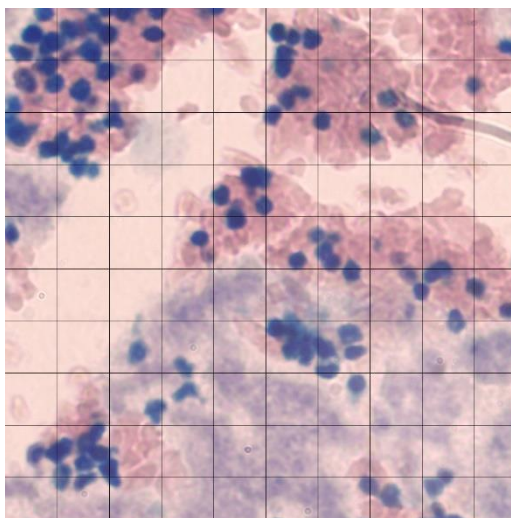
Preparação das membranas para análise histológica

Seguindo o protocolo de preparação de peças para análise histológica, as membranas de L-PRF foram fixadas em solução de formalina 10% por 24 h para posterior inclusão das mesmas em parafina. Cortes centrais semi-seriados de 5 µm foram realizados em sentido longitudinal ao longo eixo das membranas com auxílio de um micrótomo Laica RM 2125RT (Laica Biosystems, China). Foram obtidos quatro cortes histológicos de cada peça. Posteriormente, foi realizada a coloração de Giemsa para contagem de leucócitos.

Avaliação microscópica

A avaliação microscópica foi realizada utilizando o microscópio binocular (Medilux, Barneveld, Holanda) por dois observadores calibrados. Quinze campos foram selecionados e capturados em objetiva de 40x, com aumento de 400 vezes, mediante câmera de vídeo digital acoplada ao microscópio óptico e a um computador, sendo cinco campos proximais à região de coágulo, cinco campos na região de transição coágulo/fibrina e cinco campos distais à região de coágulo (apenas área de fibrina). A quantificação de leucócitos ocorreu através das imagens de captura com apoio de uma grade de orientação para contagem do número celular (Figura 2). A quantidade de leucócitos contada foi tabulada.

Figura 2. Grade de orientação para contagem de leucócitos.



Análise estatística

Os dados obtidos foram tabulados e as análises estatísticas foram realizadas no *software* BioEstat (Instituto Mamirauá, Belém, Brasil). Os valores obtidos na contagem das células foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino-Person, por não apresentarem normalidade ($p < 0,001$), a contagem das células das membranas obtida com os diferentes tempos de repouso foi comparada pelo teste de *Kruskal-Wallis*. A comparação do peso inicial em relação ao peso final da membrana foi realizado pelo Teste t de *Student*. A comparação entre o peso das membranas foi feita pela análise de variância (ANOVA) *one way* com teste *post hoc* de Tukey. Foi considerando o nível de significância de 5% para todos os testes realizados. A concordância entre as avaliações foi calculada pelo Índice de Correlação Intraclasse (ICC).

RESULTADOS

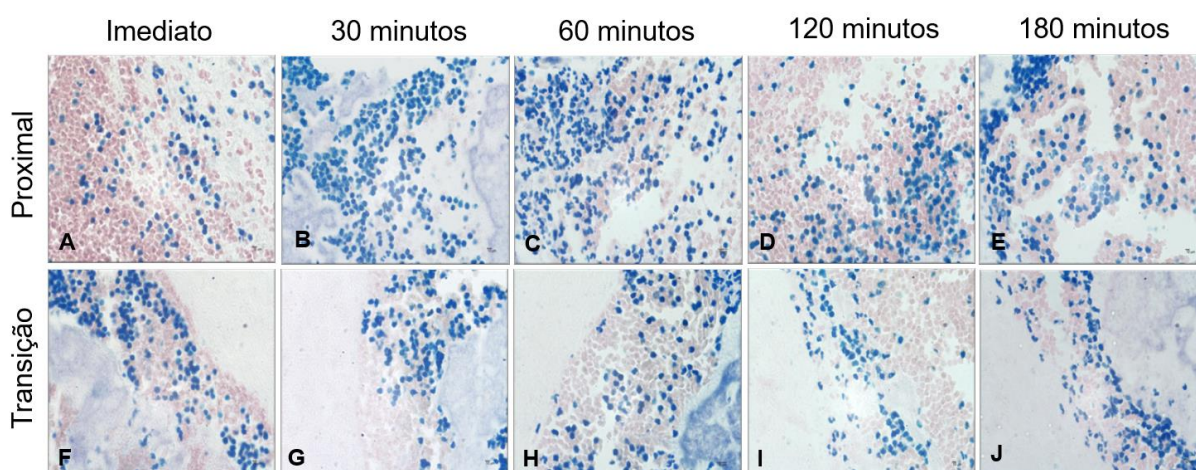
Na contagem de células realizada, independente da área (Tabela 1), não foi observada diferença significativa ($p = 0,9887$) quando comparado o número de células das membranas obtidas em diferentes tempos após a centrifugação.

Tabela 1. Média e desvio-padrão (DP) dos valores da contagem das células obtidas nas membranas em diferentes tempos após a centrifugação

| Contagem de células | |
|---------------------|--------------------|
| Média (DP) | |
| A | 26,7 (\pm 37,3) |
| B | 36,6 (\pm 51,1) |
| C | 34,6 (\pm 34,9) |
| D | 34,8 (\pm 45,8) |
| E | 23,1 (\pm 34,6) |

Considerando as diferentes áreas da membrana (Tabela 2), não foi observada diferença significativa para a contagem de células nas áreas proximais ao coágulo ($p=0,915$), área de transição coágulo/fibrina ($p=0,992$) (Figura 3) e área distal ($p=0,726$).

Figura 3. Avaliação microscópica das membranas de L-PRF em diferentes tempos de armazenamento após centrifugação, considerando as áreas proximais ao coágulo e transição coágulo/fibrina (Coloração de Giemsa, 40x).



Apesar das membranas apresentarem números de leucócitos próximos, observou-se alterações celulares morfológicas com o passar do tempo. Células com características de degradação como aumento do tamanho celular e perda da coloração foram identificadas, principalmente, nos tempos de 120 e 180 minutos para ambas as regiões proximal e transição.

Tabela 2. Contagem de células das membranas de L-PRF em diferentes tempos após a centrifugação considerando as diferentes áreas da membrana

| | Proximal | Transição | Distal |
|---|---------------------|----------------------|--------------------|
| A | 66,3 ($\pm 36,7$) | 60,7 ($\pm 37,7$) | 0,14 ($\pm 0,2$) |
| B | 91,5 ($\pm 33,9$) | 52,44 ($\pm 29,2$) | 0,70 ($\pm 0,5$) |
| C | 61,1 ($\pm 25,7$) | 55,5 ($\pm 20,5$) | 0,24 ($\pm 0,3$) |
| D | 83,2 ($\pm 46,9$) | 39,6 ($\pm 31,1$) | 0,32 ($\pm 0,4$) |
| E | 66,3 ($\pm 48,1$) | 25,2 ($\pm 23,1$) | 0,52 ($\pm 0,8$) |

Foi observada uma redução significativa do peso das membranas obtidas imediatamente após a confecção da membrana em relação ao peso observado 30 ($p=0,0006$), 60 ($p=0,0082$), 120 ($p=0,0023$) e 180 ($p=0,0045$) minutos de espera após a obtenção da membrana (Tabela 3).

Tabela 3. Peso inicial e final das membranas (em grama) obtidas nos tempos 30 (B), 60 (C), 120 (D) e 180 (E) minutos após a confecção da membrana

| | Peso inicial | Peso final | p-valor |
|---|--------------------|--------------------|---------|
| B | 0,534 ^A | 0,278 ^B | 0,0006 |
| C | 0,498 ^A | 0,257 ^B | 0,0082 |
| D | 0,465 ^A | 0,243 ^B | 0,0023 |
| E | 0,478 ^A | 0,223 ^B | 0,0045 |

*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa para $p \leq 0,05$.

Contudo, não foi observada uma diferença significativa na redução obtida entre os diferentes tempos ($p=0,751$) (Tabela 4).

Tabela 4. Diferença média do peso inicial em relação ao peso final das membranas (em grama) após os diferentes intervalos de tempo após sua preparação

| | Diferença de peso |
|---|-------------------|
| B | 0,228 |
| C | 0,226 |
| D | 0,222 |
| E | 0,259 |

O ICC obtido foi de 0,870 para as contagens de células feitas em diferentes tempos, indicando uma boa concordância¹⁷.

DISCUSSÃO

A L-PRF é uma matriz de fibrina que sustenta plaquetas, leucócitos e apresenta fatores de crescimento importantes.⁴⁻⁶ Na prática odontológica muitas são as situações em que a L-PRF pode servir como um biomaterial único ou coadjuvante com outros biomateriais para tratar lesões em tecidos moles e duros.^{18,19} Para que a membrana de L-PRF cumpra seu papel clínico, é necessário que ela tenha os componentes envolvidos no processo de reparação. Portanto, é importante avaliar a celularidade para confirmar o potencial da membrana em contribuir nesse processo.

Como há uma influência da *rpm* e do tempo na característica da membrana, no presente estudo, padronizou-se todas as centrifugações com o *Protocolo de Choukroun*.^{8,20-23} Considerando ainda que características da centrífuga também podem influenciar as características das membranas e seu potencial de regeneração,²⁴ foi utilizada uma centrífuga do modelo pré-definido por *Choukroun* em seu protocolo.⁸

No uso clínico, a coleta de sangue e produção da membrana de L-PRF podem ser realizadas no início do procedimento cirúrgico ou imediatamente antes do uso.¹⁶ Na dinâmica clínica, se a coleta for realizada imediatamente antes do uso, durante os procedimentos cirúrgicos, pode haver maior demanda de tempo de trabalho. Por outro lado, pode-se conseguir um fluxo melhor se se a coleta de sangue e centrifugação do material forem realizadas antes de iniciar o procedimento. No entanto, é desconhecido o tempo real dos procedimentos de anestesia, incisão e preparação do campo cirúrgico para receber o material, já que esse tempo é particular para cada procedimento e paciente. Assim, muitas vezes, quando essa rotina é aplicada, a membrana pode ficar pronta por 30 minutos, 60 minutos ou até mais tempo, sem uso, antes do seu emprego clínico. Após a centrifugação, o concentrado sanguíneo passa por um processo de desidratação.⁶ É necessário investigar se nesse processo há uma perda de componentes, água e células, que possam influenciar na eficácia da membrana.

Dependendo da força de centrifugação, o tempo de espera de 30 minutos já pode influenciar na resistência devido ao início do processo de polimerização da membrana.¹⁶ No presente estudo, observou-se que não há uma perda de células da

membrana com os tempos de espera estudados, ou seja, em até 180 minutos após a preparação. Essa característica pode ser associada também ao processo de polimerização, já prendendo as células na matriz da membrana.

Além do aspecto quantitativo, é necessário ponderar o aspecto descritivo das células. Porque embora as mesmas estejam presentes com 60, 120 e 180 minutos após a produção da membrana, há uma alteração no seu padrão morfológico. Estudos imuno-histoquímicos,²⁵ devem ser realizados para avaliar a viabilidade dessas células nesses tempos.

Por outro lado, neste estudo foi observada uma perda de massa da membrana, a partir de 30 minutos após a produção da mesma. Após transcorridos os 30 minutos, a perda não progrediu, mantendo uma massa estável. É importante conhecer essa redução da massa da membrana, porque na prática clínica, se a membrana for utilizada imediatamente após a produção, essa perda de líquido ocorrerá no sítio cirúrgico, com uma redução da membrana e, conseqüentemente, com possível retração dos tecidos aos quais a membrana está associada. Assim, o tempo de espera de pelo menos 30 minutos pode ser importante clinicamente para ter essa estabilidade da massa real da membrana.

Assim, correlacionando o possível aumento da resistência¹⁶ com a estabilidade da massa e da celularidade 30 minutos após a produção da membrana, esse tempo de espera pode ser importante para o desempenho clínico. Por outro lado, estudos futuros podem ser desenvolvidos para avaliar se esse aumento da resistência ocorre e/ou se mantém estável, assim como a massa e a celularidade, para os tempos de 60, 120 e 180 minutos após a preparação da membrana.

Assim, na prática clínica, considerando a permanência celular em até 180 minutos após a produção da membrana, é interessante aguardar o tempo de pelo menos 30 minutos para que a membrana estabilize sua massa, a fim de evitar possível retração de tecidos.

REFERÊNCIAS

1. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 12S-34S.
2. Dohan S, Choukroun J, Dohan A, *et al.* Platelet Rich Fibrin (PRF) : un nouveau biomatériau de cicatrisation Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques. 3e partie : aspects immunitaires. *Implantodontie* 2004; 13: 109–115.
3. Guo S, Di Pietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010; 89: 219-229.
4. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 56-60.
5. Choukroun J, Simonpieri A, Girard MO, Fioretti F, Dohan S, Dohan D. Platelet Rich Fibrin (PRF) : un nouveau biomatériau de cicatrisation Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques 4e partie : implications thérapeutiques. *Implantodontie* 2004; 13: 229–235.
6. Dohan Ehrenfest DM. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 110: 275-278.
7. Toffler M. Treating the atrophic posterior maxilla by combining short implants with minimally invasive osteotome procedures. *Practical Procedures and Aesthetic Dentistry* 2006;18(5):301.
8. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une Opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2001; 42: 55-62.

9. Medikeri RS, Meharwade V, Wate PM, Lele SV. Effect of PRF and Allograft Use on Immediate Implants at Extraction Sockets with Periapical Infection - Clinical and Cone Beam CT Findings. *Bull Tokyo Dent Coll* 2018; 59: 97-109.
10. Ehrenfest DMD, Pinto NR, Pereda A, *et al.* The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets* 2018; 29: 171-184.
11. Feigin K, Shope B. Use of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Dentistry and Oral Surgery: Introduction and Review of the Literature. *J Vet Dent* 2019; 36; 109-123.
12. Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-Rich Plasma and Regenerative Dentistry. *Australian Dental Journal* 2020; 65: 131-142.
13. Gaultier F, Navarro G, Donsimoni JM, Dohan D. Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques 3e partie : applications cliniques. *Implantodontie* 2003; 13: 3–11.
14. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part I: A New Grafting Protocol. *Implant Dent* 2009; 18: 102-11.
15. Strauss FJ, Nasirzade J, Kargarpoor Z, Stähli A, Gruber R. Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies. *Clinical Oral Investigations* 2019; 24: 1-16.
16. Petronilho VG, Balderrama IF, De Oliveira LA, Queiroz PM, Zubek MG, Gottardo VD. Evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane for implant surgery: An analysis *in vitro*. *J Indian Soc Periodontol* 2022; 26: 19-23

17. Koo TK, Li MY. A guideline of selectiong and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *J Chiropr Med* 2016; 15:155-163.
18. Girish Rao S, Bhat P, Nagesh KS, *et al.* Bone regeneration in extraction sockets with autologous platelet rich fibrin gel. *J Maxillofac Oral Surg* 2013; 12: 11-16.
19. Hoaglin Dr, Lines GK. Prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using platelet-rich fibrin. *Int J Dent* 2013; 875380.
20. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, *et al.* Advanced platelet-rich fibrin: A new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol* 2014; 40: 679-89.
21. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: The first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2018; 44: 87-95.
22. Croisé B, Paré A, Joly A, Louisy A, Laure B, Goga D. Optimized centrifugation preparation of the platelet rich plasma: Literature review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2020; 121: 150-4.
23. De Oliveira LA, Borges TK, Soares RO, Buzzi M, Kückelhaus SA. Methodological variations affect the release of VEGF *in vitro* and fibrinolysis' time from platelet concentrates. *PLoS One* 2020; 15: e0240134.
24. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol* 2010; 81: 546-55.
25. Liu PF, Hu YC, Kang BH, *et al.* Expression levels of cleaved caspase-3 and caspase-3 in tumorigenesis and prognosis of oral tongue squamous cell carcinoma. *Plos One* 2017; 12: e0180620.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A membrana apresenta constante sua contagem celular em até 180 minutos após a produção. No entanto, 30 minutos após a obtenção da membrana, há uma redução de massa que se mantém estável nos próximos 150 minutos. Assim, para evitar possível prejuízo de volume de tecido, pode-se aguardar pelo menos 30 minutos após a obtenção da membrana, para seu uso clínico, sem comprometer a contagem celular.

4. RELEVÂNCIA E IMPACTO DO TRABALHO PARA A SOCIEDADE

O presente estudo mostra-se como uma forma de orientar o profissional em relação ao melhor tempo para obter a membrana de L-PRF para o uso clínico, a fim de obter um biomaterial que não comprometa sua celularidade e usá-lo quando o mesmo já apresenta uma estabilidade de massa/volume.

REFERÊNCIAS

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plast Reconstr Surg**, v. 117, n. 7, p. 12S-34S, 2006.

CHOUKROUN, J., *et al.* Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques 4e partie: implications thérapeutiques. **Implantodontie**, v. 13, p. 229–235, 2004.

CHOUKROUN, J., *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 101, n. 3, p. e56-60, 2006.

CHOUKROUN, J., *et al.* Une Opportunité en paro-implantologie: Le PRF. **Implantodontie**, 2001.

COURY, A. J. Expediting the transition from replacement medicine to tissue engineering. **Regen Biomater**, v. 3, n. 2, p. 111-113, 2016.

DOHAN EHRENFEST, D.M. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 110, n. 3, p. 275-278, 2010.

DOHAN, D.M. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 101, n. 3, p. e45-50, 2006.

DOHAN, S. *et al.* Platelet Rich Fibrin (PRF) : un nouveau biomatériau de cicatrisation Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques. 1re partie : biotechnologies et fibrine. **Implantodontie**, v. 13, p. 87–97, 2004.

DOHAN, S. *et al.* Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications

thérapeutiques. 2e partie: plaquettes et cytokines. **Implantodontie**, v.13, p. 99–108, 2004.

EHRENFEST, D. M. D., *et al.* The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. **Platelets**, v. 29, n. 2, p. 171-184, 2018.

FEIGIN, K.; SHOPE, B. Use of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Dentistry and Oral Surgery: Introduction and Review of the Literature. **J Vet Dent**, v. 36, n. 2, p. 109-123, 2019.

GAULTIER, F. *et al.* Concentrés plaquettaires: technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques 3e partie: applications cliniques. **Implantodontie**, v. 13, p. 3–11, 2003.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **J Dent Res**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

JAMESON, A. C. Autologous Platelet Concentrate for the Production of Platelet Gel. **Labmedicine**, v. 38, p. 39-42, 2007.

MARX, R. E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 62, n. 4, p. 489-496, 2004.

MEDIKERI, R., *et al.* Effect of PRF and Allograft Use on Immediate Implants at Extraction Sockets with Periapical Infection -Clinical and Cone Beam CT Findings. **Bull Tokyo Dent Coll**, v. 59, n. 2, p. 97-109, 2018.

PETRONILHO, V. G., *et al.* Evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane for implant surgery: An analysis *in vitro*. **J Indian Soc Periodontol**, v. 26, p. 19-23, 2022.

SIMONPIERI, A., *et al.* The Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part I: A New Grafting Protocol. **Implant Dent**. v. 18, n. 2, p. 102-11, 2009.

STRAUSS, F. J., *et al.* Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies. **Clinical Oral Investigations**, v. 24, n. 2, p. 1-16, 2019.

THRIVIKRAMAN, G., *et al.* Biomaterials for Craniofacial Bone Regeneration. **Dent Clin North Am**, v.61, n.4, p.835-856, 2017.

TOFFLER, M., *et al.* Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. **J Implant Adv Clin Dent**, v. 1, n. 6, p. 21-30, 2009.

VELNAR, T.; BAILEY, T.; SMRKOLJ, V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. **J Int Med Res**, v. 37, n. 5, p. 1528-1542, 2009.

WANG, X., *et al.* Effects of an injectable platelet-rich fibrin on osteoblast behavior and bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma. **Platelets**, v. 29, n. 1, p. 48-55, 2018.

XU, J. *et al.* Platelet-Rich Plasma and Regenerative Dentistry. **Australian Dental Journal**, v. 65, n. 2, p. 131-142, 2020.

ANEXO 1

Normas de Submissão da Revista *Journal of Periodontal Research*

Author Guidelines

Journal of Periodontal Research now offers [Free Format submission](#) for a simplified and streamlined submission process. [More details here](#)

Content of Author Guidelines: [1. General](#), [2. Ethical Guidelines](#), [3. Manuscript Submission Procedure](#), [4. Manuscript Types Accepted](#), [5. Manuscript Format and Structure](#), [6. After Acceptance](#), [7. Data Protection](#), [8. Offprints](#)

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL

The *Journal of Periodontal Research* is an international research periodical the purpose of which is to publish original clinical and basic investigations and review articles concerned with every aspect of periodontology and related sciences. Reports of scientific meetings in periodontology and related fields are also published.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in the *Journal of Periodontal Research*. Authors are encouraged to visit Wiley's [Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

Data Sharing and Data Accessibility

Journal of Periodontal Research expects that data supporting the results in the paper will be archived in an appropriate public repository. Authors are required to provide a data availability statement to describe the availability or the absence of shared data. When data have been shared, authors are required to include in their data availability statement a link to the repository they have used, and to cite the data they have shared. Whenever possible the scripts and other artefacts used to generate the analyses presented in the paper should also be publicly archived. If sharing data compromises ethical standards or legal requirements then authors are not expected to share it.

See the [Standard Templates for Author Use](#) to select an appropriate data availability statement for your dataset.

2. ETHICAL GUIDELINES

The *Journal of Periodontal Research* adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

The *Journal of Periodontal Research* adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of

data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Please also include specifications of the source of funding for the study and any potential conflict of interests if appropriate. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

2.2. Ethical Approvals

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Photographs of People

The Journal of Periodontal Research follows current HIPAA guidelines for the protection of patients/subject privacy. Patient anonymity should be preserved. Photographs need to be cropped sufficiently to prevent human subjects being recognized (or an eye bar should be used). Images and information from individual participants will only be published where the authors have obtained the individual's free prior informed consent. Authors do not need to provide a copy of the consent form to the publisher; however, in signing the author license to publish, authors are required to confirm that consent has been obtained. Wiley has a [standard patient consent form available](#) for use.

2.4 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

The *Journal of Periodontal Research* encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.5 Conflict of Interest and Source of Funding

Please disclose information concerning sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest under Acknowledgements

2.6 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.7. Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.8. Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login to Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS), they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the Open Access option is not selected, the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing Open Access

If the Open Access option is selected, the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Agreements (OAA):

Creative Commons License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial - NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements, please visit the Copyright FAQ hosted on Wiley Author Services <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-301.html> and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the Open Access option and your research is funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)], you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy, please visit <http://www.wiley.com/go/funderstatement>

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

New submissions should be made via the Research Exchange submission portal <https://wiley.atyponrex.com/journal/JRE>. Should your manuscript proceed to the revision stage, you will be directed to make your revisions via the same submission portal. You may check the status of your submission at anytime by logging on to submission.wiley.com and clicking the “My Submissions” button. For technical help with the submission system, please review our FAQs or contact submissionhelp@wiley.com.

Journal of Periodontol Research now offers [Free Format submission](#) for a simplified and streamlined submission process.

Manuscripts can be uploaded either as a single document (containing the main text, tables and figures), or with figures and tables provided as separate files. Should your manuscript reach revision stage, figures and tables must be provided as separate files. The main manuscript file can be submitted in Microsoft Word (.doc or .docx) format.

Before you submit, you will need:

Your main document file should include:

- A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations

- The full names of the authors with institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- Acknowledgments;
- Abstract structured (intro/methods/results/conclusion) or unstructured
- Up to seven keywords;
- Practitioner Points (optional) Authors will need to provide no more than 3 'key points', written with the practitioner in mind, that summarize the key messages of their paper to be published with their article.
- Main body: formatted as introduction, materials & methods, results, discussion, conclusion
- References;
- Tables (each table complete with title and footnotes);
- Figures: Figure legends must be added beneath each individual image during upload AND as a complete list in the text.

Blinded Review

All manuscripts submitted to the Journal of Periodontal Research will be reviewed by two experts in the field. The Journal of Periodontal Research uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

Suggest a Reviewer

The Journal of Periodontal Research attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of 2 potential international reviewers whom you consider capable of reviewing your manuscript.

Article Preparation Support

[Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence.

Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Articles: must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles must conform to the highest international standards in the field.

Review Articles: are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged.

Mini Reviews are covering a smaller area and may be written in a more free format.

Short Communications: Short communications, limited to 1-3 pages, including illustrations and references, will be considered for rapid publication. Such papers must be based on work that is of special importance or having the potential for great impact, or a body of work that is complete but of insufficient scope to warrant a full-length paper. Short communications need not follow the usual divisions.

Meeting Reports: Reports of scientific meetings in periodontology and related fields are also published.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 7 published pages (including figures and tables) are subject to a charge of GBP70.00 per additional page. For guidance purposes, one published page amounts approximately to 5,500 characters; text should be reduced if figures/tables are included within the 7 pages. If authors are unable to pay additional page fees they will need to reduce the length of their articles.

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

Abbreviations and symbols: Abbreviations should be in accordance with Guidelines laid down by the American Society of Microbiology. Unless they are in common usage (e.g. DNA), all terms must be displayed in full in the key words, and the first time that they appear in the abstract, the main text, tables and figures, followed by the abbreviation in parentheses. If an abbreviation is used in the body of figure or table only it must be defined in the figure legend or table footnotes. The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro* and *in vivo* are to be italicized. Use only standard abbreviations. All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point, and not a comma, will be used. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of *Webster's Third New International Dictionary* will be adhered to.

Scientific Names: Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined in the typescript. The full proper name (e. g. *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e. g. *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e. g. streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalized and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e. g. *Ps.* for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names.

It is strongly recommended that all abbreviations be introduced in the first paragraph in Materials and Methods. Alternatively, define each abbreviation and introduce it in parentheses the first time it is used; e.g., "Cultures were grown in Eagle minimal essential medium (MEM)." Generally, eliminate abbreviations that are not used at least three times in the text (including tables and figure legends).

5.3. Structure

All manuscripts submitted to the Journal of Periodontal Research should include: Title page, abstract, main text, references and tables, figures and figure legends were appropriate.

Title Page: should contain the title of the article, name(s) of the author(s), initials, and institutional affiliation(s), and the name and complete mailing address, including email address, of the author responsible for correspondence. We accept only one corresponding author per manuscript and in case of co-correspondence a foot note will be added indicating 'Both the authors have contributed equally to the work'. The author must list 4 keywords for indexing purposes.

Abstract: The abstract should consist of 1) the objective 2) the background data discussing the present status of the field 3) methods 4) results 5) conclusion.

Main Text of Original Research Articles

Introduction: Summarize the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively.

Material and methods: Materials and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made.

Results: Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all of the data in the tables and illustrations. Important observations should be emphasized.

Discussion: Summarize the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

Main Text of Reviews, Short Communications and Meeting Reports

These need not follow the usual divisions.

Acknowledgements: Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support must be acknowledged.

5.4. References

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text, and should be kept to a pertinent minimum. References should include the beginning and ending page numbers. Identify references in the text, tables, and figure legends by arabic numerals in superscript format. References cited only in the tables or figure legends should be numbered in accordance with a sequence established by the first notation of that figure or table in the text. Use the style of the examples below, which is based on *Index Medicus*. Manuscripts accepted but not published may be cited in the reference list by placing "in press" after the abbreviated title of the journal. Abstracts and manuscripts not yet accepted may be cited in full in the text but not in the reference list. References must be verified by the author(s) against the original documents.

We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here:

<http://refman.com/downloads/styles>

Examples:

(1) *Standard journal article*

(List all authors up to 6; for 7 or more list the first 3 and add "et al.") Dockrell H, Greenspan JS. Histochemical identification of T- cells in oral lichen planus. *Oral Surg* 1979; 48: 42-49. Thomas Y, Sosman J, Yrigoyen O, et al. Functional analysis of human T- cell subsets defined by monoclonal antibodies. I. Collaborative T-T interactions in the immunoregulation of B-cell differentiation. *J Immunol* 1980; 125: 2402-2405.

(2) *Corporate author*

The Royal Marsden Hospital Bone- Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post- hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977; 2: 628-630.

(3) *No author given*

Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas [Editorial]. *Br Med J* 1981; 283: 628-635.

(4) *Journal supplement*

Mastri AR. Neuropathology of diabetic neurogenic bladder. *Ann Intern Med* 1980; 92 (2 pt 2): 316-324.

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan. *Blood* 1979; 54 (suppl 1): 26- 28.

(5) *Journal paginated by issue*

Seaman WB. The case of the pancreatic pseudocyst. *Hosp Pract* 1981; 16 (Sep): 24-29.

(6) *Personal author(s)*

Eisen HN. *Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response*, 5th edn. New York: Harper Row, 1984:406-420.

(7) *Editor, compiler, chairman as author*

Dausset J, Colombani J, eds. *Histocompatibility testing 1972*. Copenhagen: Munksgaard, 1973: 12-18.

(8) *Chapter in a book*

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1974: 457-480.

(9) *Published proceedings paper*

DePont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. Proceedings of 3rd Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology. Houston: International Society for Experimental Hematology, 1974: 44-50.

(10) *Agency publication*

Ranofsky AL. Surgical operations in short-stay hospitals: United States - 1975. Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics, 1978; DHEW publication no. (PHS) 78-1785. (Vital and health statistics; series 13; no. 34.)

(11) *Dissertation or thesis*

Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen. Berkeley, CA: University of California, 1965. 156pp. Dissertation.

5.5. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be numbered consecutively with arabic numerals. Use titles which are self explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single column width (54 mm) after reduction, although in some cases 113 mm (double column) and 171 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed.

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and

Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible).

For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley Blackwell's guidelines for figures:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

5.6. Supporting Material

Supporting Material, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted.

It should be clearly stated at the time of submission that the Supporting Material is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the Supporting Material is such that it cannot be accommodated on the journal's Web site, the author agrees to make the Supporting Material available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Wiley Blackwell if the URL of the website where the Supporting Material is located changes. The content of the Supporting Material must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of Supporting Material should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Material' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The Supporting Material is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

ANEXO 2

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF

Pesquisador: Polyane Mazucatto Queiroz

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 44398821.8.0000.5220

Instituição Proponente: Faculdade Ingá / UNINGÁ/PR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.668.021

Apresentação do Projeto:

De acordo com as informações apresentadas na PB_Informações básicas do projeto apresentada pelo pesquisador Polyane Mazucatto Queiroz, no projeto intitulado AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF, versão 1, submetido dia 05/03/2021, CAAE nº 44398821.8.0000.5220: Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Ingá – UNINGÁ e assinados os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), doze indivíduos do gênero masculino, saudáveis, realizarão a doação de sangue para esta pesquisa. Os voluntários devem apresentar idade entre 18 e 60 anos, não fazer uso sistêmico de anticoagulante ou qualquer outra medicação nas últimas quatro semanas. Além disso, os voluntários não devem ser portadores de doenças sistêmicas, não podem fazer uso de bebidas alcoólicas, tabaco ou qualquer outra droga. Em uma primeira análise, serão incluídos os pacientes dentro da faixa etária, que se

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24

Bairro: Saída para Astorga

CEP: 87.035-510

UF: PR

Município: MARINGÁ

Telefone: (44)3033-5040

Fax: (44)3225-5009

E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



Continuação do Parecer: 4.668.021

declararem normosistêmicos, não realizarem uso de qualquer medicamento e apresentar a pressão arterial dentro dos padrões de normalidade. Desses indivíduos, serão coletadas 10 amostras de sangue em tubos de 9 ml, seguindo os protocolos de coleta e biossegurança conforme preconizados no Manual da Organização Mundial da Saúde (OMS): "Diretrizes da OMS para tiragem de sangue: boas práticas em flebotomia". A coleta de sangue será realizada por um profissional capacitado em venopunção. As análises para inclusão dos pacientes serão pautadas nos protocolos nacionais das suas respectivas academias, portanto, a partir de um tubo de sangue serão realizadas as avaliações do hemograma completo, teste para coagulação, hemoglobina glicada e pressão arterial. Serão excluídos os indivíduos que apresentarem seus exames incompatíveis com o padrão de normalidade nos testes realizados.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com as informações apresentadas na PB_Informações básicas do projeto apresentada pelo pesquisador Polyane Mazucatto Queiroz, no projeto intitulado AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF, versão 1, submetido dia 05/03/2021, CAAE nº44398821.8.0000.5220, os objetivos da pesquisa são: Objetivo Primário: Avaliar as características físicas e celulares de membranas de PRF considerando diferentes intervalos de tempo transcorridos entre a preparação e o uso clínico, e considerando diferentes centrífugas disponíveis comercialmente

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com as informações apresentadas na PB_Informações básicas do projeto apresentada pelo pesquisador Polyane Mazucatto Queiroz, no projeto intitulado AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF, versão 1, submetido dia 05/03/2021, CAAE nº44398821.8.0000.5220, os riscos e benefícios da pesquisa são: Riscos:

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24
Bairro: Saída para Astorga CEP: 87.035-510
UF: PR Município: MARINGÁ
Telefone: (44)3033-5040 Fax: (44)3225-5009 E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



Continuação do Parecer: 4.668.021

Os riscos do presente estudo são os mesmos que podem acontecer durante qualquer procedimento de flebotomia. O paciente será previamente avaliado por anamnese e só será voluntário o indivíduo sem alteração sistêmica prévia. O voluntário será previamente orientado sobre todos os possíveis riscos da sua participação.

Existe a possibilidade de contaminação durante o procedimento de flebotomia. Contudo, o operador responsável tomará todos os cuidados de biossegurança, conforme preconizado pela OMS, para evitar qualquer contaminação. Caso ocorra a contaminação, os pesquisadores serão responsáveis pelo encaminhamento e acompanhamento do paciente conforme a necessidade. Além disso, o indivíduo está sujeito a um desconforto durante o procedimento. A flebotomia será realizada por um profissional capacitado e experiente a fim de gerar o mínimo de desconforto possível.

Como todo processo de coleta de sangue, o indivíduo está sujeito a hemorragia, hematomas e edemas na região. No entanto, o profissional realizará todos cuidados para otimizar o processo de hemostasia e minimizar qualquer dano. Além disso, o profissional é capacitado e estará preparado para resolver qualquer possível intercorrência.

Outro risco a qual o paciente está sujeito é em relação a exposição de sua identidade. No entanto, os pesquisadores asseguram total sigilo e preservação da identidade do paciente e/ou de qualquer informação que possa identificá-lo.

Benefícios:

Como benefício ao voluntário, o mesmo receberá uma cópia de todos os exames realizados e será orientado e encaminhado para busca de atendimento médico conforme a necessidade. Além disso, espera-se que com os resultados do presente estudo, a comunidade de modo geral e o

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24
 Bairro: Saída para Astorga CEP: 87.035-510
 UF: PR Município: MARINGÁ
 Telefone: (44)3033-5040 Fax: (44)3225-5009 E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



Continuação do Parecer: 4.668.021

indivíduo voluntário possam se beneficiar no futuro pelos resultados do presente estudo como uma forma de otimizar a conduta clínica do preparo e manejo da PRF.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

De acordo com as informações apresentadas na PB_ Informações básicas do projeto apresentada pelo pesquisador Polyane Mazucatto Queiroz, no projeto intitulado AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF, versão 1, submetido dia 05/03/2021, CAAE nº44398821.8.0000.5220, trata-se de estudo nacional prospectivo. Patrocínio: financiamento próprio. 12 Participantes brasileiros. Início previsto para 01/06/2021 e término em 31/05/2022.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os termos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo com as informações apresentadas na PB_ Informações básicas do projeto apresentada pelo pesquisador Polyane Mazucatto Queiroz, no projeto intitulado AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E CELULARES DE MEMBRANAS DE PRF, versão 2, submetido dia 25/03/2021, CAAE nº 44398821.8.0000.5220: a pesquisadora apresenta carta de resposta ao primeiro parecer (nº4.601.573):
Pendência: Riscos: explicar quais são os riscos que o pesquisado estará exposto durante a flebotomia.

Resposta ao Comitê: São apontados como riscos aos quais o indivíduo colaborador estará submetido durante a flebotomia:

- Hematoma: É um acúmulo de sangue extravasado sob a pele. O hematoma pode decorrer de uma venopunção imperfeita com angulação muito acentuada, dupla punção da veia ou ainda por pressão insuficiente na região após a coleta das amostras.
- Reação vaso-gaval: É um reflexo involuntário em que ocorre bradicardia com redução da pressão arterial, haverá privação parcial de sangue para o cérebro e ocorre o episódio de desmaio. Essa alteração pode ser decorrente da ansiedade do voluntário, quadro de hipoglicemia ou falta de líquido.
- Desmaio retardado (síncope): É um episódio de desmaio que pode ocorrer de uma a quatro horas após a coleta das amostras de sangue. A síncope pode ser

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24
Bairro: Saída para Astorga CEP: 87.035-510
UF: PR Município: MARINGA
Telefone: (44)3033-5040 Fax: (44)3225-5009 E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



Continuação do Parecer: 4.668.021

decorrente de situação de estresse ou ingestão insuficiente de líquido (queda do volume).

- Perfuração arterial: É a perfuração indesejada da artéria braquial devido a relação de proximidade da artéria com a veia.
- Comprometimento de nervo: Dor ou parestesia que pode estar associada a perda motora ou sensorial. Ocorre devido ao acometimento de terminações nervosas durante a punção.

Pendência: Riscos: explicar detalhadamente quais são os protocolos da OMS para minimizar os riscos.

Resposta ao Comitê: Para evitar/minimizar a manifestação de riscos, os protocolos a serem seguidos para cada risco apresentado:

- Hematoma: Após a coleta deve-se fazer a pressão e colocação do curativo com firmeza e instruir que o voluntário evite levantar objeto pesado.
- Reação vaso-gaval: Esclarecer sobre o procedimento, tranquilizar o voluntário e instruir sobre ingestão normal de água antes da coleta.
- Desmaio retardado (síncope): Tranquilizar o voluntário e instruir sobre ingestão normal de água antes e após a coleta.
- Perfuração arterial: Localização correta da veia e inclinação adequada da agulha. Caso ocorra a perfuração (identificada pelo sangue vermelho vivo e de fluxo rápido) a coleta deve ser interrompida, aplicar pressão firme por pelo menos 15 minutos e, se necessário, entrar em contato com serviço médico.
- Comprometimento nervoso: Tranquilizar o voluntário, localização correta da veia e inclinação adequada da agulha. Caso ocorra comprometimento com perda motora ou sensorial, orientar e observar remissão espontânea esperada em até 24 horas.

Pendência: TCLE: adotar linguagem para que um leigo entenda quais são os riscos aos quais ele estará exposto durante a flebotomia.

Resposta ao Comitê: Em relação aos riscos no TCLE foram reescritos buscando uma linguagem mais simples. As adequações realizadas estão transcritas abaixo:

“Os riscos aos quais estará sujeito são os mesmos envolvidos em qualquer coleta de sangue, como realizada para exames médicos. O profissional que vai fazer a sua coleta é habilitado e com experiência em coleta de sangue. O

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24
 Bairro: Saída para Astorga CEP: 87.035-510
 UF: PR Município: MARINGA
 Telefone: (44)3033-5040 Fax: (44)3225-5009 E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br

FACULDADE INGÁ /
UNINGÁ/PR



Continuação do Parecer: 4.668.021

profissional seguirá todos os cuidados preconizados pela Organização Mundial da Saúde, para evitar qualquer dano. Entretanto, observamos que há a possibilidade de ocorrer riscos e desconfortos relacionados com a coleta de sangue, ainda que raros e passageiros, como hematoma (mancha vermelha/arroxeadada sob a pele) após a coleta, desmaio durante ou após a coleta do sangue, perfuração de alguma artéria da região ou ainda de algum nervo que pode causar uma perda de sensibilidade temporária na região. Apesar de raros e passageiros, caso ocorra alguma dessas complicações, você terá todo o suporte e acompanhamento da nossa equipe de pesquisadores.”

Considerações Finais a critério do CEP:

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, via notificação “relatório” para que sejam devidamente apreciados no CEP, conforme Norma Operacional CNS nº 001/13, item XI, 2.d.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|---------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1711703.pdf | 25/03/2021 11:21:33 | | Aceito |
| Recurso Anexado pelo Pesquisador | RespostaaoParecer.pdf | 25/03/2021 11:21:08 | Polyane Mazucatto Queiroz | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_adequacoes.pdf | 25/03/2021 11:20:30 | Polyane Mazucatto Queiroz | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projetodepesquisa.pdf | 05/03/2021 17:33:49 | Polyane Mazucatto Queiroz | Aceito |
| Folha de Rosto | FolhaDeRosto_assinaturas.pdf | 05/03/2021 17:33:30 | Polyane Mazucatto Queiroz | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114 - Bloco G, Sala 24
 Bairro: Saída para Astorga CEP: 87.035-510
 UF: PR Município: MARINGÁ
 Telefone: (44)3033-5040 Fax: (44)3225-5009 E-mail: comitedeetica@uninga.edu.br