



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**



**AMANDA BÁRBARA BORGES**

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES  
MECÂNICAS DE MEMBRANAS – PRF (Fibrina  
Rica em Plaquetas)**

UBERLÂNDIA

2021

AMANDA BÁRBARA BORGES

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES  
MECÂNICAS DE MEMBRANAS – PRF (Fibrina  
Rica em Plaquetas)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
a Faculdade de Odontologia da UFU, como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Graduado em Odontologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Dechichi  
Barbar

Co-orientador: Marcelo Dias Moreira de Assis  
Costa

UBERLÂNDIA

2021

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado força e coragem e por ter colocado tantas pessoas maravilhosas no meu caminho durante essa jornada.

À minha orientadora Paula, que me estendeu a mão desde o início da graduação e se tornou uma inspiração como mulher, professora e pesquisadora.

Ao meu co-orientador Marcelo, que me atendeu e auxiliou da melhor forma em todos os momentos deste trabalho.

Aos meus pais, José e Lourdes, que abdicaram de tantas coisas e nunca mediram esforços para que o meu sonho se tornasse real.

Às minhas irmãs, Máisa e Flaviane, por terem sido exemplos de dedicação e por terem me ajudado de todas as formas possíveis, vocês são as melhores amigas que eu poderia ter.

Ao meu irmão de alma, Luiz, pelas conversas, cantorias, conselhos e gargalhadas e por me estender a mão sempre.

Aos meus cunhados, Márcio e Marcinho, pelo apoio e incentivo e pelos momentos de descontração compartilhados.

Aos meus sobrinhos, Bernardo, Sofia e Lucas, por terem tornado muitos momentos difíceis em momentos mais leves com suas risadas e carinho por mim.

Ao meu namorado, Fernando, por ter me apoiado e ajudado de inúmeras formas durante esse período e por me proporcionar muitos momentos de felicidade.

Ao grupo PET Odontologia, por terem feito a minha graduação muito mais humana e completa. Em especial, aos tutores Adriano e Guilherme, que foram essenciais para a minha evolução.

Aos meus amigos da turma 83, pelo companheirismo e amizade nos momentos de estudo e diversão.

A todos os pacientes, que com suas diversas histórias de superação e humildade, contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

A todos os professores, técnicos e funcionários da Faculdade de Odontologia, gratidão e orgulho transbordam no meu coração por ter feito parte desta casa.

## SUMÁRIO

Introdução	05
Objetivo	09
Metodologia	09
Resultados	13
Discussão	15
Conclusão	17
Referências bibliográficas	17

## RESUMO

Um dos grandes desafios dos cirurgiões e dos pesquisadores que trabalham com reparo tecidual é o desenvolvimento de bioativos que possam melhorar e acelerar esse processo. Os concentrados sanguíneos PRF (Fibrina rica em plaquetas) e seus derivados estão sendo cada vez mais utilizados na Odontologia devido aos seus bons resultados, baixo custo e fácil preparação. O objetivo deste trabalho foi de avaliar as propriedades mecânicas, por meio de ensaio de tração uniaxial, de membranas de concentrados sanguíneos de fibrina rica em plaquetas, produzidos em tubos de plástico sem aditivos, em dois protocolos de centrifugação. Neste estudo, foram utilizadas amostras de sangue venoso periférico de 6 doadores saudáveis. Cada voluntário, cedeu 6 tubos de sangue, sendo que 3 tubos foram direcionados à produção de membranas de L-PRF e 3 tubos direcionados à produção de membranas de um protocolo alternativo, todos produzidos em tubos de plástico sem aditivos. Este procedimento foi realizado em triplicata em cada voluntário com intervalo mínimo de 07 dias entre as coletas. O sangue venoso coletado em 06 tubos de plástico sem aditivos foi centrifugado em 2 centrífugas: uma programada por 12 minutos a 700 g para o protocolo L-PRF e a outra por 14 minutos a 350 g. Após a centrifugação, os concentrados foram aspirados por seringa de 20mL e transferidos para uma forma padronizada de ácido Polilático. Após 45 minutos, as membranas foram removidas e prensadas por 5 minutos em PRF BOX. Por fim, as membranas passaram por teste de tração utilizando máquina de teste universal, acopladas a uma célula de carga de 50N. A velocidade de tração foi de 5mm/min e a força máxima até o rompimento foi registrada. Para análise dos dados, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos dados e teste *t* pareado para comparação das médias dos grupos. O nível de significância estatística foi estabelecido em  $P < 0,05$ . De acordo com os poucos estudos sobre as propriedades mecânicas de concentrados sanguíneos, ao aumentar o tempo de centrifugação e a força *g*, a rede de fibrina se torna mais densa e há menor celularidade. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa na força máxima de rompimento entre os dois grupos e isso provavelmente se deve ao aumento do tempo de centrifugação. Ainda são necessários mais estudos para avaliar as propriedades de celularidade. O presente estudo amplia as possibilidades de produção e utilização de concentrados sanguíneos e demonstra viabilidade de produzir membranas PRF a partir de tubos de plástico.

**Palavras-chave:** PRF, fatores de crescimento, biomateriais

## 1. INTRODUÇÃO

Complexos fenômenos de remodelação tecidual ocorrem após intervenções cirúrgicas e o desenvolvimento de aditivos cirúrgicos bioativos que regulem esses fenômenos, estão entre uns dos grandes desafios dos cirurgiões (DOHAN *et al.*, 2006).

Para que o reparo dos tecidos ocorra de forma bem-sucedida, quatro fases são descritas como determinantes nesse processo, são elas: hemostasia, inflamação, proliferação e maturação. Cada uma dessas fases necessita de tipos específicos de células e fatores de crescimento. Além disso, esse processo exige uma complexa interação entre as células e a matriz extracelular. Desse modo, o suprimento sanguíneo é um dos pontos chave, pois possibilita a chegada dessas células e dos fatores de crescimento que apoiarão todo o processo de cicatrização (CHOUKROUN; MIRON, 2018).

No campo da recuperação de tecidos perdidos, os aloenxertos, xenoenxertos ou aloplásticos produzidos artificialmente são frequentemente utilizados com o objetivo de auxiliar o reparo tecidual. Todavia, esses materiais produzem uma reação de corpo estranho quando introduzidos no organismo (CHOUKROUN; MIRON, 2018).

Os chamados adesivos de fibrina são utilizados há mais de 30 anos, entretanto, seus protocolos, embora bem documentados, permanecem controversos devido à sua complexidade. Eles agem amplificando o mecanismo biológico natural de polimerização da fibrina durante a hemostasia de forma artificial e são bem-sucedidos quando utilizados para controle do sangramento lento (DOHAN *et al.*, 2006).

Apesar de terem sido criticados durante um longo período por serem produtos derivados do sangue, os adesivos de fibrina apresentam um risco pequeno de contaminação e continuam sendo produzidos por indústrias farmacêuticas. Em conclusão, eles permanecem mais como uma cola de fibrina autóloga, útil para acelerar a cicatrização e reduzir o hematoma pós-operatório (DOHAN *et al.*, 2006).

A principal desvantagem desses biomateriais amplamente utilizados é que grande parte deles é de natureza avascular e como dito anteriormente, um ponto importantíssimo para se obter uma regeneração completa dos tecidos é o suprimento vascular (CHOUKROUN; MIRON, 2018). De acordo com estudos, esse processo de

regeneração é regulado por muitas citocinas e mediado por vários eventos de sinalização. Embora a origem certa dessas citocinas não seja bem conhecida, verificou-se que as plaquetas são uma fonte autóloga de fatores de crescimento (KARDOS *et al.*, 2018).

Várias técnicas foram desenvolvidas para produzir concentrados de plaquetas a partir do sangue (KARDOS *et al.*, 2018). O Plasma rico em plaquetas (PRP) foi descrito inicialmente no final da década de 1990 e é o concentrado de plaquetas de primeira geração, sendo utilizado em associação com enxertos ósseos e também para acelerar o reparo de tecidos moles (MARX *et al.*, 1998). Os protocolos são baseados em uma ideia simples: imediatamente antes da intervenção, a coleta de sangue é feita e transformada em concentrado de plaquetas usando um separador de células ou centrífuga com intuito de promover a liberação de fatores de crescimento plaquetários (DOHAN *et al.*, 2006).

Apesar de possuir mais de 95% de plaquetas, o PRP apresentou algumas limitações: a falta de uniformidade nos métodos de preparo e o tempo exigido, variando entre trinta minutos a mais de uma hora. Esta técnica exigia o uso de fatores anticoagulantes e posteriormente pró-coagulantes, como trombina e cloreto de cálcio, sendo esses dois componentes comprometedores do reparo (KARDOS *et al.*, 2018; CHOUKROUN; MIRON, 2018). Além disso, o PRP demonstrou uma rápida liberação de fatores de crescimento e isso se mostrou como uma limitação, já que, embora o gel de fibrina sirva como um suporte para a ação das citocinas, essas moléculas são liberadas tão rapidamente que não conseguem ser incorporadas à matriz de fibrina durante a polimerização. Portanto, os concentrados de plaquetas PRP, demonstraram efeitos clínicos muito parecidos com os adesivos de fibrina (DOHAN *et al.*, 2006).

Devido às restrições do PRP, um novo tipo concentrado sanguíneo foi produzido na França. Diferente dos adesivos de fibrina e dos concentrados clássicos de plaquetas (PRP), o concentrado sanguíneo chamado Fibrina rica em plaquetas (PRF), foi desenvolvido por Choukroun e se apresenta como uma matriz autóloga tridimensional. A técnica não requer uso de anticoagulante ou trombina bovina e essa é a principal diferença entre os adesivos de fibrina, PRP e PRF (DOHAN *et al.*, 2006).

Diferentemente dos adesivos de fibrina e do PRP, o PRF possui a característica de polimerizar naturalmente e lentamente durante a centrifugação (DOHAN *et al.*,

2006). Além disso, esse concentrado também mostrou liberação lenta de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento transformador (TGF-beta) e plaquetas fator de crescimento derivado (PDGF). O PRF pode ser utilizado em forma de plug ou membrana e é indicado em vários tratamentos regenerativos. Todavia, alguns parâmetros relevantes como propriedades mecânicas e manuseio clínico devem ser levados em consideração para seleção de uma membrana apropriada (KHORSHIDI *et al.*, 2016).

Logo após o desenvolvimento dos primeiros concentrados sanguíneos de PRF, foi demonstrado que eles continham 97% de plaquetas e mais de 50% de leucócitos. Por esse motivo e por perceberem o papel fundamental dos leucócitos na reparação de feridas, ele foi renomeado L-PRF (Fibrina rica em plaquetas e leucócitos). Os leucócitos, além de desempenhar uma ação na prevenção de infecções, também regula a secreção de citocinas imunológicas e controla a capacidade do biomaterial de se adaptar a novos ambientes (CHOUKROUN; MIRON, 2018).

Ao analisar e quantificar as células encontradas na matriz de PRF, foi demonstrado que a maioria dos leucócitos se localizavam próximo ao coágulo de hemácias, não se distribuindo ao longo da matriz PRF. Porém, o ideal seria uma distribuição mais homogênea dos leucócitos na membrana de PRF. Assim, ficou evidente que as velocidades de centrifugação estavam muito altas e se fazia necessário que menores velocidades fossem investigadas. Além disso, o perfil de liberação dos fatores de crescimento precisava ser melhorado, ou seja, eles necessitavam de uma liberação mais lenta e gradual desses fatores ao longo do tempo. Com esse intuito e a partir do L-PRF padrão, surgiram o A-PRF (Fibrina rica em plaquetas avançado) e o A-PRF+ (Fibrina rica em plaquetas avançado plus), bem como o conceito de centrifugação em baixas velocidades (CHOUKROUN; MIRON, 2018; CHOUKROUN; GHANAATI, 2017).

No desenvolvimento do A-PRF, fez-se a redução da força centrífuga relativa (RCF – *relative centrifugation force*), resultando em um PRF de estrutura porosa que facilitou a penetração celular e distribuição mais uniforme das células. Isso promoveu aumento de células inflamatórias e maior vascularização do sítio cirúrgico. Entretanto, segundo estudos comparativos, não foram observadas diferenças significativas entre A-PRF e L-PRF em relação à liberação de fatores de crescimento (CHOUKROUN;



MIRON, 2018). Por esse motivo e para otimizar a liberação dos fatores de crescimento, se manteve a faixa da RCF e o período de centrifugação foi diminuído, obtendo-se assim o A-PRF+. Além do protocolo ser simplificado, o APRF+ apresentou maior potencial de liberar fatores de crescimento acumulado e manteve a porosidade semelhante ao A-PRF (CHOUKROUN; MIRON, 2018).

O desenvolvimento do A-PRF e do A-PRF+ foi um processo importante para que se entendesse mais sobre a importância da força centrífuga relativa. Modificações como diminuição da velocidade de centrifugação, favorece o aumento dos fatores de crescimento (FUJIOKA-KOBAYASHI *et al.*, 2016). Além disso, a velocidade de centrifugação mostrou ser um fator determinante na variação dos tipos de células encontradas na matriz do PRF. Esse conceito, então, permite que haja adaptação para aplicações clínicas específicas para cada caso (BOOMS *et al.*, 2014).

Na sequência do desenvolvimento de protocolos PRF, no intuito de produzir um concentrado sanguíneo fluido, que pudesse ser injetado surgiu o i-PRF (fibrina rica em plaquetas injetável). O protocolo se baseia na coleta de sangue em tubo de plástico e centrifugação a uma força centrífuga relativa baixa, em um tempo curto. O i-PRF deve ser utilizado em no máximo, 15 minutos. Esse novo concentrado pode ser utilizado em conjunto com enxertos ósseos e facilitou seu manuseio, garantindo mais estabilidade ao enxerto (CHOUKROUN; MIRON, 2018). Além disso, foi demonstrado que o i-PRF é capaz de estimular a migração, proliferação e a diferenciação de osteoblastos (WANG *et al.*, 2017).

Outra variável importante na confecção dos concentrados sanguíneos são os tubos utilizados na coleta e centrifugação. Originalmente, utilizava-se tubos de vidro para produção de PRF matrizes sólidas (membranas) e tubos de plástico sem aditivo para confecção de matrizes líquidas (CHOUKROUN; GHANAATI, 2017; EL BAGDADI *et al.*, 2019). Entretanto, o alto preço dos tubos originalmente projetados para preparar matrizes sólidas, associada a sua recente escassez, levaram a utilização de tubos de plástico revestido com sílica como substitutos dos tubos de vidro (KAWASE; OKUDA, 2018; TSUJINO; MASUKI *et al.*, 2019; TSUJINO; TAKAHASHI *et al.*, 2019). No entanto, as micropartículas de sílica destacam-se dos tubos e são incorporadas à matriz PRF produzida (TSUJINO; TAKAHASHI *et al.*, 2019). Células em contato com essas micropartículas de sílica têm suas membranas rompidas e morrem. Assim,

considerando o risco para a saúde humana o uso de tubos de plástico revestido de sílica não deve ser utilizado para produção de concentrados sanguíneos (MASUKI *et al.*, 2020).

Nesse sentido, Faleiros e colaboradores (2021), em estudo laboratorial, compararam tubos de vidro e plástico com e sem revestimento por sílica, na produção de membranas LPRF, APRF e APRF+. Os autores demonstraram, para um mesmo protocolo produzido, em diferentes tubos, que a densidade de agregados de plaquetas é maior nos concentrados produzidos em tubos de plástico sem aditivos. No entanto, a rede de fibrina de matrizes produzidas em tubos de plástico sem aditivos exibiu densidade de rede de fibrina ligeiramente mais baixa, o que pode não ser clinicamente relevante (dados em fase de publicação).

Assim, considerando que o tubo de plástico sem sílica fornece concentrados com segurança e qualidade biológica, e a necessidade de buscar um protocolo que agregasse resistência e celularidade, Saboia-Dantas *et al.* (2021), propuseram um novo protocolo. Nesse protocolo é utilizada centrifugação com metade da força  $g$  e um tempo ligeiramente maior que o protocolo clássico de L-PRF e utiliza-se tubos de plástico sem sílica. Assim, é importante tornar a produção dos concentrados sanguíneos PRF mais acessíveis a todos os profissionais e facilitando a técnica. Portanto, o presente estudo propôs comparar as propriedades mecânicas de protocolos de L-PRF e protocolo alternativo, produzidos em tubos de plástico sem aditivos. O presente estudo teve como hipótese que os dois protocolos estudados apresentariam resistência mecânica semelhantes (dados em fase de publicação).

## **2. OBJETIVO**

Avaliar as propriedades mecânicas, por meio de ensaio de tração uniaxial, de membranas de concentrados sanguíneos de fibrina rica em plaquetas obtidos a partir de dois protocolos de centrifugação e produzidos em tubos de plástico sem aditivos.

## **3. METODOLOGIA**

### **3.1 Delineamento Experimental**

Neste estudo, foram utilizadas amostras de sangue venoso periférico obtidas a partir de 6 doadores saudáveis que se enquadraram nos critérios de inclusão e exclusão e concordaram em participar voluntariamente do experimento. Os critérios de inclusão foram: ter entre 25 e 55 anos, apresentar-se clinicamente saudável, não fazer uso de nenhum medicamento de uso controlado, não ter feito uso de anti-inflamatórios, medicação anticoagulante ou antibióticos nos 3 meses anteriores à coleta e não ser fumante. O desenho do estudo e os formulários de consentimento para os procedimentos realizados foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa para seres humanos da Universidade Federal de Uberlândia (CAAE: 31441520.2.0000.5152). Após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, cada voluntário cedeu 6 tubos de sangue para produção dos concentrados sanguíneos, sendo 3 tubos direcionados à produção de membranas de L-PRF e 3 tubos direcionados à produção de membranas do protocolo alternativo, todos produzidos em tubos de plástico sem aditivos. Este procedimento foi realizado em triplicata em cada voluntário com intervalo mínimo de 07 dias entre as coletas.

### **3.2 Coleta de Sangue e Preparo do PRF**

As coletas de sangue foram realizadas na fossa anticubital após garroteamento do braço 5 cm cranialmente a fossa. Após antisepsia com álcool 70%, a veia foi punçionada em um ângulo entre 30° e 45° com Scalp 21G VACUTAINER safety lok (BD, Jundiaí, Brasil) e o sangue venoso periférico coletado em 06 tubos de vácuo plástico sem aditivos VACUETTE (Greiner Bio-One, Americana, Brasil) do mesmo doador e centrifugados em duas centrífugas Spinplus TITAN (SpinLab, Carapicuíba, Brasil) (Fig. 1). O início da centrifugação ocorreu no máximo 4 minutos após o início da coleta e todos os *slots* estavam preenchidos para equilíbrio da centrífuga. A centrífuga foi programada 700 *g* por 12 minutos para o protocolo de L-PRF e 350 *g* por 14 minutos para o protocolo alternativo.

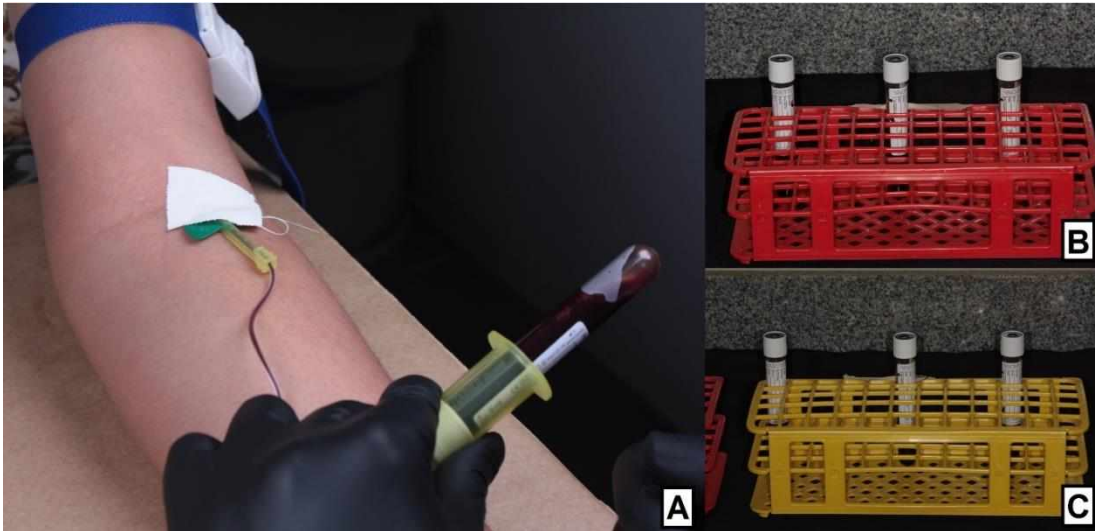


Figura 1 – Coleta de sangue. A- Coleta de sangue; B- 3 tubos de sangue destinados ao protocolo L-PRF; C- 3 tubos de sangue destinados ao protocolo alternativo.

Após a centrifugação, os concentrados de PRF (porção acima da fase vermelha), ainda no estado fluido, foram imediatamente aspirados com uma seringa de 20 mL e agulha 40x12 (Fig. 2). O volume do aspirado foi registrado e o conteúdo transferido para uma forma padronizada de ácido Poliláctico (PLA) com volume total de 9 mL. Após 45 minutos as membranas foram removidas da forma e prensadas por 5 minutos em PRF BOX (Maximus, Belo Horizonte, Brasil) (Fig. 3).

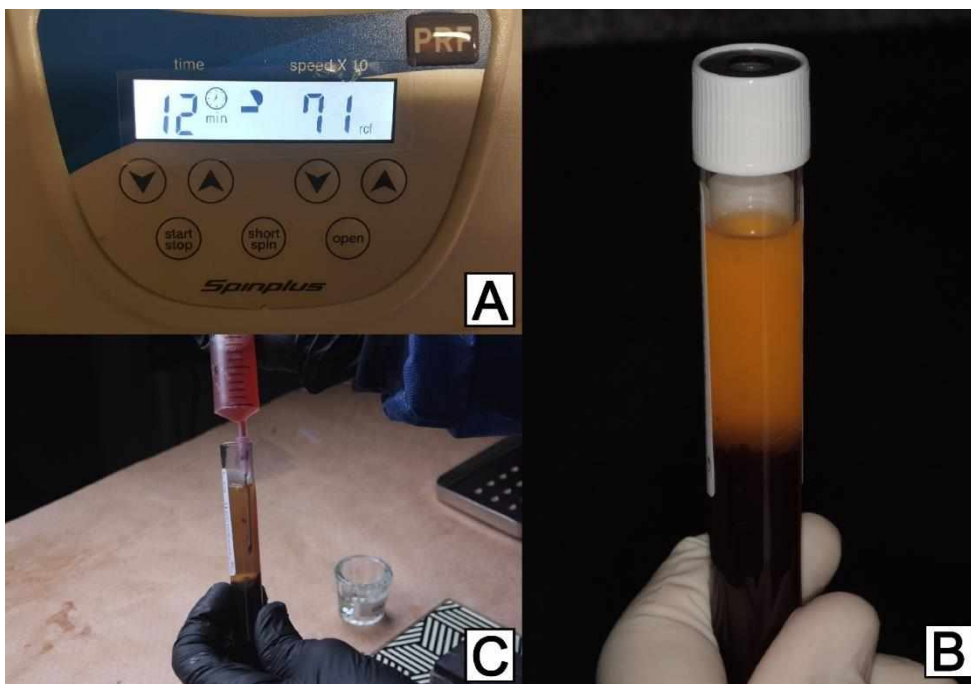


Figura 2 – Centrifugação e aspiração do concentrado. A- Centrifuga programada para protocolo L-PRF padrão; B- Tubo após a centrifugação evidenciando duas fases; C- Aspiração do concentrado acima da fase vermelha.

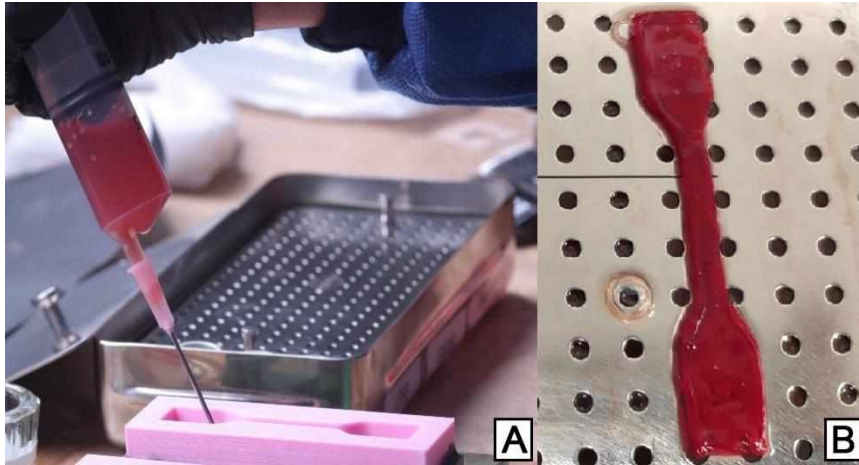


Figura 3 – Produção da membrana de Fibrina rica em plaquetas. A – Transferência do concentrado para forma padronizada; B – Membrana após prensagem em PRF box.

### 3.3 Teste de Tração

O teste de tração foi realizado utilizando máquina de teste universal (EMIC DL 2000, EMIC, São José dos Campos, PR, Brasil) (Fig. 4) . A amostra foi fixada com grampos em ambas as extremidades (usando lixa d'água gramatura 800 e cianocrilato para evitar o deslocamento) acoplada a uma célula de carga de 50 N em uma de suas extremidades. A carga de tração foi aplicada numa velocidade de 5 mm/min e a força máxima até o rompimento foi registrada.

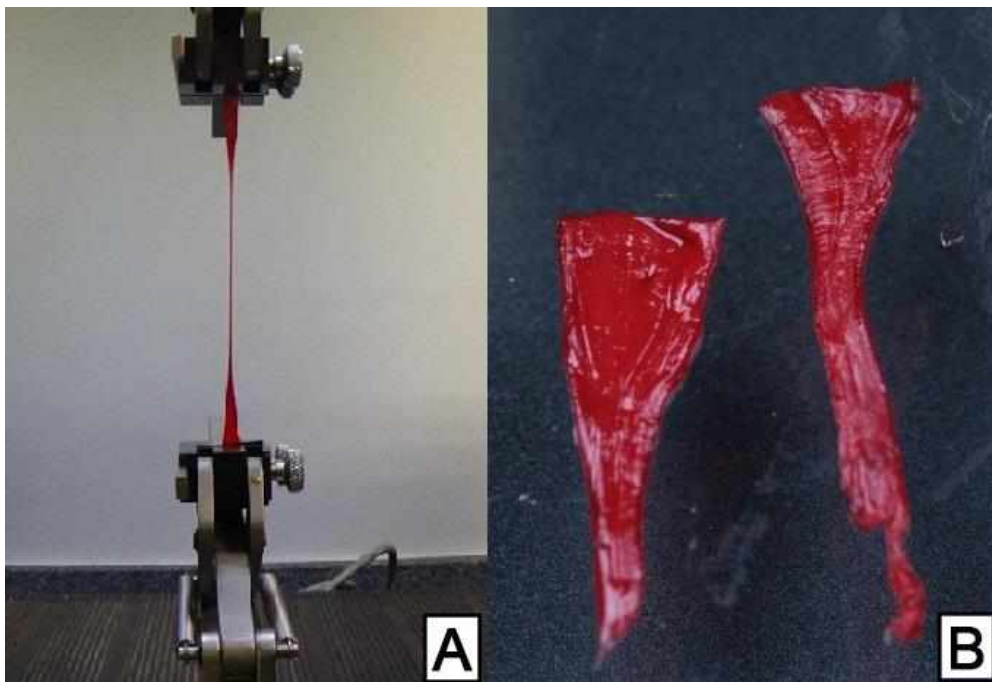


Figura 4 – Teste de tração. A – Membrana durante o teste de tração; B – Membrana após rompimento.

### 3.4 Análise de Dados Estatísticos

Para avaliar as diferenças estatísticas nas propriedades mecânicas de resistência máxima à tração, foram registrados os valores de cada indivíduo referente à força máxima até o rompimento das membranas. Dados de média, mediana e desvio padrão também foram calculados. A normalidade da distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov utilizando o *software* Jamovi (Version 1.2.27.0). O teste t para amostras pareadas foi utilizado para comparação das médias dos grupos. O nível de significância estatística foi estabelecido em  $P < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

O objetivo principal deste estudo foi comparar a força máxima de rompimento de dois tipos de membranas produzidas em tubos de plástico sem aditivos, uma seguindo o protocolo de produção do L-PRF (centrifugação em 700 g por um período de 12 minutos) e outra utilizando um protocolo alternativo utilizando a metade da força centrífuga relativa (centrifugação em 350 g por um período de 14 minutos). Um total de três membranas de cada tipo de concentrado foram produzidas para a medição das propriedades mecânicas e o valor médio foi calculado. Ao comparar os dois tipos de membranas de concentrados sanguíneos, verificou-se que a membrana produzida a partir de tubos de plástico utilizando o protocolo L-PRF obteve maior força máxima de rompimento comparada a membrana produzida com metade da força g. A tabela 1 mostra a média da força máxima de rompimento de cada voluntário nos dois protocolos de concentrados sanguíneos estudados. Não houve diferença estatisticamente significativa na força máxima de rompimento entre dois grupos.

Tabela 1 – Força máxima de rompimento até o rompimento das membranas por indivíduo

<b>Voluntário</b>	<b>L-PRF</b>	<b>Protocolo Alternativo</b>
1	0,294	0,288
2	0,401	0,554
3	0,613	0,586
4	0,622	0,565
5	0,825	0,582
6	0,921	0,938
Média (Desvio Padrão)	0,613 (0,240)	0,586 (0,207)

A média das 6 amostras de L-PRF foi de 0.613 e a média do protocolo alternativo GMA 350 de 0.586. O desvio padrão das amostras de L-PRF foi de 0.240 e do protocolo alternativo GMA 350 de 0.207. Já a mediana foi de 0,617 para as amostras de L-PRF e 0,574 para o protocolo alternativo (Tabela 2 e Figura 5).

Tabela 2 – Análise estatística descritiva

<b>Descrição</b>	<b>L-PRF</b>	<b>Protocolo Alternativo</b>
N	6	6
Média	0,613	0,586
Mediana	0,617	0,574
Desvio Padrão	0,24	0,207
Valor mínimo	0,294	0,288
Valor máximo	0,921	0,938

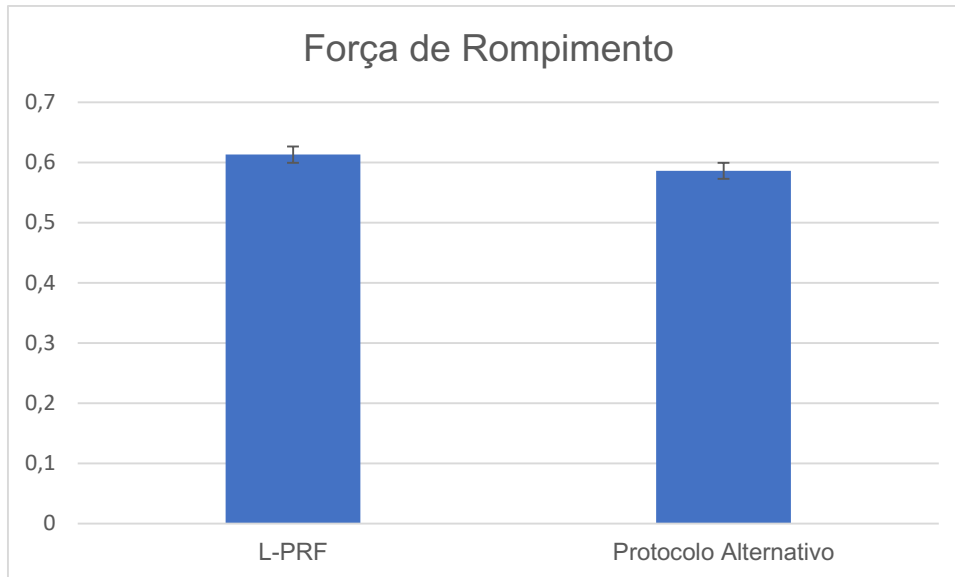


Figura 5: Valores de média e desvio padrão de força de rompimento (Newton), dos dois protocolos estudados.

## 5. DISCUSSÃO

Poucos estudos relatam propriedades mecânicas dos concentrados sanguíneos. Foi observado que o tempo e a força  $g$  impactam na arquitetura dos concentrados sanguíneos produzidos (DOHAN *et al.*, 2018). É observado que quanto maior o tempo de centrifugação e/ou a força  $g$  utilizada, mais densa a rede de fibrina e menor quantidade de células encontradas, sendo o inverso também verdade (KUBESCH *et al.*, 2019). Essa característica específica não foi encontrada no novo protocolo proposto, pois apesar da metade da força  $g$  empregada, obtivemos forças de rompimento média sem diferenças estatísticas. Isso pode ser explicado pelo aumento no tempo de centrifugação no novo protocolo proposto.

Os concentrados sanguíneos PRF e seus derivados estão sendo cada vez mais utilizados na Odontologia devido ao seus bons resultados, baixo custo e fácil preparação. Entretanto, um fator impeditivo a sua utilização foi a interrupção da produção de tubos de vidro pelos fabricantes de equipamentos médicos (MASUKI *et al.*, 2020; TSUJINO *et al.*, 2019). Segundo Masuki *et al.* (2020), os grupos silanol presentes na superfície do vidro são carregados negativamente e ativam o fator XII de coagulação, que iniciará a cascata de coagulação e consequente transformação do concentrado fluido em membrana sólida. Com a necessidade de substituição dos



tubos de vidro, foi proposto a utilização de tubos de plástico revestidos por sílica, já que a sílica também é carregada negativamente e é o principal componente do vidro. Além disso, acreditava-se que as micropartículas de sílica pudessem atuar de forma mais eficaz na ativação da cascata de coagulação. Dessa forma, os custos se tornariam mais baixos e não haveriam problemas na oferta dos tubos (MASUKI *et al.*, 2020). Os tubos de plástico sem aditivos são amplamente utilizados no meio médico/hospitalar, facilmente encontrados e financeiramente acessíveis, custando 5% dos tubos tradicionais produzidos especificamente para produção de concentrados sanguíneos.

Entretanto, trabalhos que avaliaram o efeito dessa sílica, especialmente as partículas de sílica cristalinas, demonstraram efeitos citotóxicos em células de cultura. Segundo estudos, pó de sílica contendo partículas cristalinas podem causar silicose pulmonar e até mesmo câncer de pulmão. Já a sílica amorfa, apesar de apresentar uma toxicidade menor, também demonstrou ser a causa de injúrias em membranas celulares e consequente apoptose celular (MASUKI *et al.*, 2020). Segundo Tsujino *et al.* (2019), as micropartículas de sílica se destacam da superfície dos tubos e são incorporadas à matriz de PRF. Dessa forma, fica evidente que tubos de plástico revestidos por sílica não devem ser utilizados para produção de membranas e faz-se necessário o estabelecimento de normas por parte dos órgãos de saúde mundiais.

Com a preocupação das consequências da produção de concentrados sanguíneos em tubos de plástico com sílica, Faleiros e colaboradores (2021), demonstraram que a rede de fibrina de matrizes produzidas em plástico sem tubos de aditivos exibiu densidade de rede de fibrina ligeiramente mais baixa, o que pode não ser clinicamente relevante. Entretanto, os agregados plaquetários aumentaram significativamente nos concentrados sanguíneos obtidos em tubos plásticos sem aditivos, quando comparados aos de vidro simples e tubos plásticos revestidos de sílica. Validando assim a utilização dos tubos de plástico sem aditivos para confecção de membranas de concentrados sanguíneos de segunda geração. A produção de concentrados sanguíneos em tubos de plástico amplia o arsenal a ser utilizado já que o tempo de solidificação do coágulo aumentado permite a soma do conteúdo de vários tubos para produção de membranas maiores e a associação de biomaterias já aglutinados ao seu interior (dados em fase de publicação).

As propriedades estruturais e de resistência à tração de biomateriais são importantes devido sua aplicação clínica e cirúrgica (KARDOS *et al.*, 2018). A força máxima de rompimento do novo concentrado utilizando a metade da força *g* empregada no protocolo clássico de L-PRF são muito semelhantes às membranas L-PRF produzidas em tubos de plástico sem aditivos. O tipo de tubo utilizado, a forma das membranas testadas e a velocidade de tração do ensaio podem influenciar os resultados, embora isso deva ser investigado. Portanto, é difícil esclarecer as semelhanças e discrepâncias das propriedades mecânicas das membranas entre outros estudos.

Os dados do presente estudo revelaram não haver diferenças estatísticas significativas em relação à resistência mecânica do teste de tração entre os dois grupos estudados. Entretanto, de acordo com resultados obtidos por estudos nos quais houve diminuição da RCF, espera-se que o grupo GM 350 apresente melhor celularidade. Portanto, são necessários mais estudos para avaliar as propriedades de liberação de fatores de crescimento entre os dois grupos.

## 6. CONCLUSÃO

Os dados mostraram que não há diferença significativa na força máxima de resistência a tração entre o protocolo L-PRF ( 700 *g* /12minutos) e o protocolo alternativo (350 *g* /14 minutos), produzidos em tubos de plástico sem aditivos. O presente estudo amplia as possibilidades de produção e utilização de concentrados sanguíneos-PRF, uma vez demonstra a viabilidade de produzir membranas PRF, a partir de tubos de plástico.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell- Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology*. 2014;XL(6):679-689.

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.* 2017.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2006;101(3):E37-44.

Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso M Del, Kang BS, 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 [Internet]. Taylor & Francis;* 2018;29(2):171–84. Available from: <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1293812>.

El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, Al-Maawi S, Orłowska A, Dias A, et al. Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2019;45(3):467–79.

Fujioka-kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized Platelet-Rich Fibrin With the. 2016;88(1).

Kardos D, Hornyák I, Simon M, Hinsenkamp A, Marschall B, Várdai R, et al. Biological and mechanical properties of platelet-rich fibrin membranes after thermal manipulation and preparation in a single-syringe closed system. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11).

Kawase T, Okuda K. Comprehensive Quality Control of the Regenerative Therapy Using Platelet Concentrates: The Current Situation and Prospects in Japan. *Biomed Res Int.* 2018;2018.

Khorshidi H, Raofi S, Bagheri R, Banihashemi H. Comparison of the Mechanical Properties of Early Leukocyte-and Platelet-Rich Fibrin versus PRGF/Endoret Membranes. *Int J Dent.* Hindawi Publishing Corporation; 2016;2016.

Kubesch A, Barbeck M, Al-Maawi S, Orłowska A, Booms PF, Sader RA, et al. A low-speed centrifugation concept leads to cell accumulation and vascularization of solid platelet-rich fibrin: an experimental study in vivo. *Platelets [Internet]. Taylor & Francis;* 2019;30(3):329–40. Available from: <https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1445835>

Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638–46.

Masuki H, Isobe K, Kawabata H, Tsujino T, Yamaguchi S, Watanabe T, et al. Acute cytotoxic effects of silica microparticles used for coating of plastic blood-collection tubes on human periosteal cells. *Odontology* [Internet]. Springer Singapore; 2020;108(4):545–52. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10266-020-00486-z>.

Miron RJ, Choukroun J. *Fibrina rica em plaquetas na odontologia regenerativa*. 1. ed. Florida: Quintessence; 2018. 268p.

Tsujino T, Masuki H, Nakamura M, Isobe K, Kawabata H, Aizawa H, et al. Striking differences in platelet distribution between advanced-platelet-rich fibrin and concentrated growth factors: Effects of silica-containing plastic tubes. *J Funct Biomater*. 2019;10(3):1–11.

Tsujino T, Takahashi A, Yamaguchi S, Watanabe T, Isobe K, Kitamura Y, et al. Evidence for contamination of silica microparticles in advanced platelet-rich fibrin matrices prepared using silica-coated plastic tubes. *Biomedicines*. 2019;7(2).

Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ. Effects of an injectable platelet-rich fibrin on osteoblast behavior and bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma. *Platelets* [Internet]. Taylor & Francis; 2017;00(00):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/09537104.2017.1293807>.