

Trabalho de Conclusão de Curso

INFLUÊNCIA DA MEDICAÇÃO ANTI- INFLAMATÓRIA NO SUCESSO CIRÚRGICO DA FIBRINA RICA EM PLAQUETAS (PRF)

Juliana Borges Müller



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Juliana Borges Müller

**INFLUÊNCIA DA MEDICAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA NO
SUCESSO CIRÚRGICO DA FIBRINA RICA EM PLAQUETAS
(PRF)**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza
Magini
Co-orientador: Me. Miguel Noronha
Oliveira

Florianópolis
2017

Juliana Borges Müller

**INFLUÊNCIA DA MEDICAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA NO
SUCESSO CIRÚRGICO DA FIBRINA RICA EM PLAQUETAS
(PRF)**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado, adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 17 de outubro de 2017.

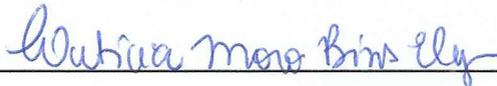
Banca Examinadora:



Prof., Dr. Ricardo de Souza Magini
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof., MSc. Edwin Andrés Ruales Carrera
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof., MSc. Letícia Moro Bins Ely
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico esse trabalho a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização desse meu sonho de se tornar cirurgiã-dentista formada pela UFSC. Em especial, minha mãe Zeneida Borges Müller, meu pai Valdir Lindemann Müller e a minha prima Iliane Müller Otto.

AGRADECIMENTOS

Gratidão, para o dicionário é o reconhecimento de uma pessoa por alguém que lhe prestou um benefício. Para mim, é mais, é um sentimento de conexão com a espiritualidade e desta forma, sempre há algo a agradecer pois tudo que acontece em nossas vidas é motivo de gratidão. A cada dia estou mais convicta que as coisas acontecem no tempo e do modo que devem acontecer e que tudo que vivemos faz parte de um plano maior.

Estar em sintonia com a gratidão é aumentar nossa vibração, hoje eu vibro por sentir a energia de Deus, por sentir a vibração do amor dos meus pais, Valdir e Zeneida, que mesmo longe todos os dias estavam vibrando comigo, nas horas boas e nas ruins.

Agradeço aos meus familiares Irma, Neivinha, Zenilda, por todo carinho, orações e palavras de incentivo. *In memoriam* Klérfim e Ilma que estiveram comigo no início dessa jornada e sinto o amor de vocês tão presente. A Júlia Michels por realizar o meu sonho em ser madrinha, por todo seu carinho e amor comigo. A priminha Manuella Michels por seu amor e alegria de viver, ao Marco Aurélio e Jandira pela amizade e pela disposição em me ajudar no necessário.

Agradecimento em dose dupla a super prima Iliane Müller Otto, como ela diz “siga o conselho da mestre”, quero que saiba que desde pequena és referência para mim com sua simplicidade de ver a vida, seu sorriso fácil, espontâneo e seu afeto que descongelou meu coração gélido, que bom que apesar da distância física sempre estivemos conectadas. Gratidão por estar sempre ao meu lado, principalmente, por me orientar nesses tempos de crescimento ao escrever o TCC.

Impossível não mencionar a equipe da Patiño Odontologia, quando em 2009, com meus 16 anos comecei a sonhar em ser uma cirurgiã-dentista mas acima de tudo, humanitária. Todo meu carinho e admiração a Juliana e Francisco Patiño, Vivian Ribeiro, Camila Canever, Sandra e Elizângela Pinheiro.

As amigas mais lindas e absolutas, Bruna Rebelo e Andressa Camargo que desde o ensino médio alegam a minha vida e foram compreensivas com a minha ausência nos poucos encontros que conseguimos marcar devido à distância.

Quem diria que aquela primeira janta com Nachos e bombom aberto de sobremesa eu conheceria as duas pessoas mais icônicas na minha vida acadêmica, Dioana e Gabriela.

Primeiro agradecer a “miga sua loka”, Dioana Dresseno, imensamente agradecida por todos as incríveis conversas espirituais, aos muitos estudos, aos muitos litros de cafês, a parceria diária, e o que falar dessa parceria de festa que mal começou e já promete muita história?

Agradecida por conviver com esse anjinho que é a Beatriz e que nos alegra com sua personalidade ímpar.

E dupla mais sensacional, Gabriela Bampi por ser minha companheira nessa vida clínica e de extensões universitárias que fizeram a agente amadurecer e crescer juntas. Sou tão grata por cada dia ao seu lado, sentirei muita saudades.

A atual fada do dente de Apiúna, Thaynnara, por sempre me arrastar para as festas e por serem as melhores, por toda amizade, alegria, companheirismo e carinho.

A Maria Radiopaca pela simpatia que me cativou nos estudos de patologia bucal e, desde então, se tornou em uma amiga ímpar.

A minha primeira paciente Maria Delurdes por ser maravilhosa em toda minha caminhada pelas clínicas I, II, III, ESAI I, ESI, ESAI II. Agradecida por todo carinho, pelas palavras de estímulo e também, pelos chocolates.

Ao orientador Magini por sempre abrir as portas do CEPID a todos os alunos da graduação que possuem interesse na área; ao Miguel, co-orientador, pela paciência e dedicação neste trabalho, e pelos conhecimentos adquiridos auxiliando as suas cirurgias. A Leticia por todo carinho em ser a minha tutora na disciplina de implantodontia e pelas contribuições com este trabalho. Ao Edwin por toda troca de conhecimento no ESI de implanto mais “*chevere*” do CEPID e, claro, todas as risadas e músicas latinas. É com muito orgulho e carinho que tenho vocês como banca desse projeto de conclusão de curso.

A equipe do Rondon pela experiência indescritível que envolveu a operação Tocantins.

A equipe PET Odontologia-Fonoaudiologia, principalmente, ao professor Ricardo Vieira pela troca conhecimentos compartilhadas com o grupo.

Por último, mas não menos importante, a Universidade Federal de Santa Catarina por ser essa instituição rica em diversidade que agregou valores insólúveis a minha personalidade. Em especial ao curso de Odontologia, aos professores Sylvio e Nelson por terem aquele abraço amigo que faz a diferença no seu dia. E aos servidores, Rô, Nil, Luiz, Batista, Day, Mário, Jéssica e Jaimar.

“O que pensamos que sabemos hoje, destrói os erros e desatinos de ontem e são descartados amanhã como inúteis. Dessa maneira, vamos passando de grandes erros a outros menores, tanto tempo como nos dure o entusiasmo. Isso é verdadeiro para todas as terapêuticas: nenhum método é o último.”

(Frederick Jensen)

RESUMO

Entre os grandes desafios que a pesquisa clínica enfrenta, uma delas está no desenvolvimento de aditivos cirúrgicos que regulem a inflamação, aumentando o reparo cicatricial dos tecidos perdidos gerando o mínimo desconforto ao paciente. Em virtude disso, a engenharia tecidual estuda o desenvolvimento de alternativas, entre elas surge o uso da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) como enxerto autógeno, obtido de um processo de centrifugação do sangue coletado do próprio paciente, sem adição de ativadores ou anticoagulante, apresentando-se como uma alternativa de enxerto biologicamente adequado a regeneração óssea de uso na Odontologia. O presente estudo objetivou compilar o histórico dos agregados plaquetários, revisar a literatura existente sobre a utilização do PRF na regeneração de tecidos, avaliando a influência da medicação anti-inflamatória no sucesso de cicatrização dos tecidos com esse biomaterial que tem previsibilidade de não ser apenas um concentrado de plaquetas e sim, um concentrado de sangue. O presente trabalho identificou uma lacuna na literatura relacionado ao uso sistêmico dos anti-inflamatórios no sucesso cirúrgico da PRF.

Palavras-chave: fibrina rica em plaquetas (PRF); anti-inflamatórios; regeneração de tecidos; cirurgia dentária; cirurgia bucomaxilofacial; preservação alveolar.

ABSTRACT

Among the major challenges facing clinical research, one is the development of surgical additives that regulate inflammation, increasing the scar repair of lost tissues, generating minimal discomfort to the patient. Because of this, tissue engineering studies the development of alternatives, among them the use of Platelet Rich Fibrin (PRF) as an autogenous graft, obtained from a centrifugation process of blood collected from the patient, without addition of activators or anticoagulant, presenting as a biologically adequate graft alternative to bone regeneration for use in dentistry. The present study aimed to compile the history of platelet aggregates, to review the existing literature on the use of PRF in tissue regeneration, evaluating the influence of anti-inflammatory medication on the success of tissue healing with this biomaterial that has predictability being not only a platelet concentrate, but a blood concentrate. The present work identified a gap in the literature relating the systemic use of anti-inflammatories in the surgical success of PRF.

Keywords: platelet-rich fibrin (PRF); anti-inflammatory; tissue regeneration; dental surgery; bucomaxillofacial surgery; intra-bony defects; alveolar ridge preservation; guided bone regeneration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ativação e degranulação das plaquetas gerando efeitos sobre a iniciação da resposta vascular e celular.....	34
Figura 2: Estratificação do sangue após os procedimentos de centrifugação.....	38
Figura 3: A) Selantes de Fibrina; B) cPRP; C) Estrutura 3D do PRF e a incorporação de citocinas nas diferentes estruturas.....	40
Figura 4: Imagem 4: Estratificação do sangue após a centrifugação.....	43
Figura 5: Concentrado de Fatores de Crescimento.....	44
Figura 6: Preparação do A-PRF.....	45
Figura 7: Cascata da Coagulação.....	49
Figura 8: Cascata do Ácido Araquidônico.....	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Sucesso Cirúrgico com Fibrina Rica em Plaquetas.....	59
----------	------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Difosfato de Adenosina
AFA	Adesivo de Fibrina Autóloga
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ARP	Preservação do Rebordo Alveolar
ATP	Trifosfato de Adenosina
BMMSC	Células Tronco Mesenquimais da Medula Óssea
BMP:	Proteínas Morfogenética
B-TCP-CI	Fosfato de Beta Tricálcio com Colágeno
CAL	Ganho de Inserção Clínica
TCFC	Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico
CGF	Concentrados de Fatores de Crescimento
CO2	Dióxido de carbono
cPRP	Concentrado de Plasma Rico em Plaquetas
DFDA	Aloenxerto de Osso Liofilizado Desmineralizado
FCs	Fatores de Crescimento
FDA	Food and Drug Administration
GML	Nível Gengiva Marginal
GP	Glicoproteína
GRT	Regeneração Tecidual Guiada
MDGF	Crescimento Derivados de Macrófagos
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
NK	Natural Killer Linfócitos
O2	Oxigênio

PS	Profundidade de Sondagem
PDAF	Fator de Angiogênese Derivado das Plaquetas
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PMNs	Polimorfonucleares
PPP	Plasma Pobre em Plaqueta
PRF	Fibrina Rica em Plaquetas
PRGF	Plasma Rico em Fatores de Crescimento
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
RBC	<i>Red Blood Cells</i>
RHCAL	Nível Clínico de Inserção Horizontal
RVCAL	Nível Clínico de Inserção Vertical
SBI	Índice de Sangramento do Sulco
TGF-α	Fator Transformador de Crescimento Alfa
TGF-β	Fator Transformador de Crescimento e Beta
IGF-I	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
VAS	Escala Analógica Visual
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
vWF	Fator Willebrand

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	
RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE QUADROS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
INTRODUÇÃO	25
1.1 OBJETIVOS	27
1.1.1 OBJETIVO GERAL	27
1.1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
2 METODOLOGIA	28
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1 Componentes Sanguíneos.....	29
3.2 1º Geração dos Agregados Plaquetários	35
3.2.1 2º Geração dos Agregados Plaquetários.....	39
3.3 Diferentes formas de preparo dos PRF	42
3.3.1 Fibrina Rica em Plaquetas pelo método L-PRF.....	42
3.3.2 Fibrina Rica em Plaquetas Avançada A-PRF.....	43
3.3.3 Concentrados de Fatores de Crescimento.....	44
3.3.4 Fibrina Rica em Plaquetas pelo método I-PRF	45
3.4 Processo Inflamatório Natural	46
3.4.1 Mediadores Químicos da Inflamação, Hemostasia e Cascata de Coagulação	48
3.5 Efeito da Terapia Medicamentosa Anti-Inflamatória no Processo Inflamatório e Cascata da Coagulação	50
3.6 Efeitos da terapia anti-inflamatória e propriedades do PRF	54
4. RESULTADOS	56
5. DISCUSSÃO	62
6. CONCLUSÕES	66
7. REFERÊNCIAS	67

INTRODUÇÃO

A reconstrução tecidual mediante a manobras regenerativas ou reparativas, representa um papel fundamental na recuperação integral ou parcial de estruturas de suporte ou revestimento periodontal. No âmbito da odontologia, as áreas de periodontia, implantodontia, cirurgia oral objetivam a reabilitação funcional e estética das estruturas comprometidas ou perdidas lançando mão de diferentes tipos materiais, tais como, enxerto ósseo ou de tecido conjuntivo, uso de barreiras na regeneração tecidual guiada e nesse contexto a engenharia tecidual vem ganhando notoriedade pela sua abordagem biológica em que os fatores de crescimento modulam a resposta cicatricial (SILVA; JOLY; CARVALHO, 2010).

Após um trauma facial, perda óssea periodontal e/ou dental ocorre uma remodelação óssea e tecidual podendo gerar sequelas estéticas e funcionais prejudiciais ao indivíduo e ser desfavorável a sua reabilitação. As técnicas reconstrutoras ou de preservação buscam solucionar ou minimizar esses danos. Diversos materiais de enxerto ósseo vem sendo utilizados como auxiliares na reconstrução de defeitos ósseos, são divididos de acordo com sua origem, sendo eles, alógenos (derivados da mesma espécie), xenógenos (de espécie diferente), autógenos (do próprio indivíduo) e aloplástico ou sintético (KLOKKEVOLD, 2007; KARRING; LINDHE, 2010).

Entre esses biomateriais o mais utilizado é o osso autógeno por ser o único osteoindutor, osteocondutor e osteogênico, em contrapartida algumas desvantagens devem ser consideradas, tais como, requer um procedimento cirúrgico adicional para sua remoção aumentando a morbidade, o tempo de cirurgia e as suas complicações (KARRING; LINDHE, 2010; SILVA *et al.*, 2010).

Após a descoberta do potencial regenerativo das plaquetas por Ross *et al.* (1974) surgiram adjuvantes cirúrgicos de origem autóloga explorando os fatores de crescimento contidos nos grânulos das plaquetas capazes de estimular e promover a cicatrização. No decorrer dos anos, uma variedade de agregados plaquetários surgiram e foram sendo aperfeiçoados por meio dos seus resultados promissores, sendo os principais, a cola de fibrina, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP); Plasma Rico em Fatores de Crescimento (PRGF) e a Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) (WU *et al.*, 2012; AGRAWAL; AGRAWAL, 2014; PINHEIRO, 2014; AGRAWAL, 2017).

No entanto, a aplicação clínica de tais agregados plaquetários é, por vezes, acompanhada de algumas dificuldades como risco de infecção cruzada e coagulopatias, por exemplo. Neste sentido, Choukroun *et al.* (2001) sugerem uma nova alternativa de biomaterial autólogo, leuco-plaquetário, de fácil manipulação e baixos riscos de

infecção cruzada, denominado de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF). Desde então, o PRF possui uma ampla possibilidade de aplicações, tanto na odontologia quanto na medicina, com excelentes resultados a curto prazo, publicados e apoiados por diversos estudos relatando a segurança no seu uso (BORIE, 2015; AGRAWAL, 2017).

Entender o processo inflamatório é essencial para entendimento dos anti-inflamatórios, posto que, a inflamação surge como uma reação fisiológica do organismo e possui três papéis essenciais. O primeiro é oferecer células e moléculas imunológicas aos sítios lesados, aumentando o combate aos microorganismos invasores, segundo é formar uma barreira física através da coagulação a fim de delimitar a área agredida, e o terceiro é promover o reparo dos tecidos (MURPHY, TRAVERS, WALPORT, 2010). Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) agem pela inativação da enzima cicloxigenase, não havendo a transformação do ácido araquidônico em seus subprodutos; evitando, desta forma, os efeitos e a exacerbação do processo inflamatório que pode resultar em dor, edema e rubor ao paciente (FERREIRA *et. al.*, 1997; WANNMACHER, 2007; CONSOLARO, 2009).

Desta forma, a inflamação surge como mecanismo fisiológico do corpo a uma agressão e é base para o reparo dos tecidos, para os autores o PRF não é apenas um concentrado de plaquetas, mas sim, um concentrado de sangue possuindo propriedades para uma cicatrização natural e sem excesso inflamatório (DOHAN *et al.*, 2006c; CHOUKROUN, 2014). Por isso, o presente trabalho objetiva investigar a possível influência dos medicamentos, em especial, dos anti-inflamatórios no reparo tecidual e sucesso clínico alcançado após a utilização do PRF no local cirúrgico.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Determinar a existência de uma possível influência que a medicação anti-inflamatória poderá ter no sucesso do reparo ósseo e tecidual após utilização do PRF.

1.1.2 Objetivos Específicos

Compilar estudos relevantes na literatura sobre os agregados plaquetários, com enfoque na técnica de utilização da Fibrina Rica em Paquetas (PRF). Descrever os tipos de preparos dos protocolos existentes e seus benefícios no reparo tecidual, bem como as vantagens e desvantagens comparativamente com as gerações anteriores de agregados plaquetários. Explanar a ação da medicação anti inflamatória na regulação da cascata de coagulação.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho foi baseado em uma revisão bibliográfica que atendeu critérios de pesquisa e análise. Esses critérios tangem a fonte de informação, período, consolidação na área e relação com o tema da pesquisa. Desta forma, artigos científicos publicados entre 2000 e setembro de 2017 foram consultados nas bases de dados *PubMed*, *Bireme*, *Scopus*, *Scielo*, *Lilacs*. Também foram verificados livros publicados entre 1999 e 2017.

O período de análise maior, é relacionado a consolidação da publicação como referências na área de estudo, ou seja, assim como os livros, artigos datados de 1954 também foram inclusos no *hall* de estruturação deste trabalho. O critério vinculado a relação com o tema da pesquisa, foi aplicado a partir da busca e análise preliminar dos títulos e palavras chaves, dos artigos e livros, com os seguintes termos: “platelet-rich fibrina”, “L-PRF”, “growth factor”, “bone regeneration”, “Anti-inflammatory”, “Periodontal surgery”, “Dental surgery”, “fibrina rica em plaquetas”, “inflamação”, “leucócitos e regeneração óssea”.

Sendo assim, após o levantamento bibliográfico, os artigos e livros foram analisados a fim de verificar sua relação com a construção do atendimento aos objetivos propostos nesse trabalho. Portanto, foram exploradas as relações de similaridade e divergências entre as bases de informação. Caracterizando-se assim, como pesquisa qualitativa exploratória (GERHARDT; SILVEIRA, 2009).

3 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão dos componentes sanguíneos se torna necessário nesse contexto devido às suas propriedades celulares e riqueza em fatores de crescimento, suas propriedades desempenham papel fundamental na regulação inflamatória e suas reações no processo de cicatrização. Essas células são fontes constantes de estudo no processo inflamatório e de reparo e são exploradas também pelos biomateriais de origem sanguínea.

3.1 Componentes Sanguíneos

O sangue é um tecido conjuntivo fluido, que circula pelo sistema cardiovascular e desempenha importantes funções para manter a integridade funcional do organismo. Entre essas funções estão o transporte de nutrientes e oxigênio para células, combate os agentes patológicos através dos seus elementos celulares e tumorais, termorregulador e remove o dióxido de carbono e resíduos metabólicos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). Também conhecido como tecido hematológico, o sangue tem seu volume composto por 45% de porção celular, denominada hematócrito, e os demais 55% do volume consiste na porção acelular, denominada plasma. A parte celular é composta pelos glóbulos vermelhos ou eritrócitos, glóbulos brancos ou leucócitos e pelas plaquetas. A parte acelular é constituída por 92% de água e 8% por proteínas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; LORENZI, 2011).

A Hematopoese é a formação dos componentes celulares do sangue, sua origem ocorre no embrião, por volta da sétima ou oitava semana de gestação (LORENZI, 2009), a partir das células da parede de vasos na região aorta-gônada-mesonefros (MARSHALL; THRASHER, 2001), ali se originam as células-tronco hematopoéticas que, posteriormente, irão migrar para os órgãos, como baço e fígado. A medida que se aproxima da época do nascimento, ocorre a migração das células tronco através da corrente sanguínea desses órgãos para a medula óssea onde a hematopoese se fixará no adulto devido a existência de um macroambiente capaz de sustentar a renovação do tecido sanguíneo com a presença das células tronco mesenquimais (HU, 2004; PANEUCCI, 2006).

As funções das células sanguíneas são diversas. Entre elas, os leucócitos ou glóbulos brancos, classificadas como células inflamatórias, genericamente denominadas células de defesa, podem ser divididos em dois grupos: Dos Polimorfonucleares (PMNs) que participam ativamente nas inflamações agudas e mononucleares típicos da inflamação crônica (CONSOLARO, 2009). As células vermelhas do

sangue, os glóbulos vermelhos ou eritrócitos, possuem a principal função da hemoglobina é promover a absorção, o transporte e a liberação de oxigênio (O₂) dos pulmões aos tecidos e do dióxido de carbono (CO₂) recolhido dos capilares tecidas para os pulmões (CONSOLARO, 2009; LORENZI, 2011). A influência dos eritrócitos sobre a cicatrização ainda é incerto, estuda-se a influencia deles na neovascularização (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001).

Os Glóbulos Brancos ou Leucócitos derivados da célula indiferenciada mielóide desenvolvem-se na medula óssea e diferenciam-se para a linhagem dos granulócitos, dos eritócitos ou das plaquetas (LORENZI, 2011). Os PMNs participam ativamente nas inflamações agudas, sendo representados pelos neutrófilos, eosinófilos e basófilos. E o outro grupo são dos Mononucleares, típicos da inflamação crônica, representados pelos macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Para o processo de reparo outras células também são importantes, tais como, os mastócitos e as plaquetas (CONSOLARO, 2009).

Os neutrófilos são células especializadas em fagocitar, sua abundância no sangue e a sua eficiente ação constituem a primeira barreira de defesa de defesa contra o agente agressor. Em seus grânulos possuem enzimas que facilitam sua movimentação através da membrana basal dos vasos, induzem a ativação de células epiteliais e endoteliais, possuem atividades anti-microbiana e liberam mediadores inflamatórios que servem como agentes quimiotáticos e quimiocinérgicos, são capazes de degradar o colágeno, fibrina, fibronectina e proteoglicanas. Quando não conseguem fagocitar a bactéria ocorre a lise da célula (citólise) do neutrófilo, isso contribui para a formação de um exsudato purulento devido o derramamento de enzimas proteolíticas no local, o desaparecimento dos neutrófilos da área inflamada dá-se principalmente por apoptose (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; BAIN, 2007; CONSOLARO, 2009).

Os Eosinófilos representam 1 a 5% dos leucócitos no sangue, residem nos tecidos periféricos e quando a função do neutrófilo está deficiente o eosinófilo apresenta boa defesa contra os organismos não fagocitáveis. Encontra-se nas fases tardias da inflamação e podem funcionar como células apresentadoras de antígeno através do processamento e apresentação de partículas alergênicas quando ingeridas ou inaladas. Os eosinófilos expressam em sua superfície uma variedade de moléculas incluindo receptores para citocina, quimiocina, complemento e moléculas de adesão, no seu citoplasma os corpos lipídicos são responsáveis pela formação dos mediadores dos produtos do ácido araquidônico (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; CONSOLARO, 2009).

Os basófilos representam menos de 1% dos leucócitos circulantes no sangue. O papel fisiológico do basófilo não foi totalmente esclarecido. Em seus grânulos possuem mediadores pré-formados como

a histamina –promove vasodilatação e aumento da permeabilidade capilar–, sulfato de condroitina, proteína básica maior e lisosfosfolipase. Podem infiltrar-se em locais que estejam ocorrendo um processo inflamatório ou imunopatológico em associação aos eosinófilos. (BAIN, 2007; CONSOLARO, 2009)

Os monócitos são considerados células em trânsito no sangue, devido ao estímulo recebido eles migram para diferenciar-se em monócito no sangue periférico ou macrófago no tecido. A sua migração é em resposta a vários agentes quimiotáticos liberados pelas plaquetas, neutrófilos, linfócitos e bactérias. Estão presentes na fase crônica da inflamação e a sua principal atividade no processo inflamatório é a fagocitose intensa e efetiva, no entanto, estudos mostram que os macrófagos liberam fatores de crescimento derivados de macrófagos (MDGF) que estimulam a proliferação celular na cicatrização da ferida por aumentar a proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e neovascularização. Quando os elementos fagocitados não são destruídos pelos seus mecanismos intracelulares, o macrófago possui a capacidade imunocompetente na defesa do organismo ao apresentar o antígeno para os linfócitos ou se agrupam em vários macrófagos formando uma célula gigante multinucleada do tipo langhans ou tipo corpo estranho (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; CONSOLARO, 2009; LORENZI, 2011).

Glóbulos Brancos ou Leucócitos derivados da célula indiferenciada linfóide são desprovidos de granulações citoplasmáticas (agranulócitos) e são numerosos nos órgãos linfóides, tais como, medula óssea, timo, linfonodos, baço, tonsilas e placas de Peyer. As células maduras encontram-se circulantes no sangue em porcentagem que varia de acordo com a idade e sexo do ser humano em condições fisiológicas, ou podem estar alteradas por um estímulo antigênico, de proliferação benignas ou malignas em condições patológicas. Essas células são representadas pelos linfócitos T, linfócitos B, linfócitos NK (Natural Killer) (LORENZI, 2011).

Os linfócitos são células envolvidas nas reações de reconhecimento de agentes que provêm do meio externo, agindo diretamente sobre eles pela ação do linfócitos T ou por intermédio da secreção de anticorpos pelos linfócitos B e plasmócitos (CONSOLARO, 2009; LORENZI, 2011). Os linfócitos T quando ativados secretam uma série de mediadores ou citocinas responsáveis pela resistência às infecções e pelas reações de hipersensibilidade tardia, pela rejeição de enxertos e pela imunidade aos tumores, por exemplo. Os linfócitos T apresentam dois subtipos básicos: os auxiliares, reconhecidos como CD4, T4 ou "helpers", e os citotóxicos (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

Para Iwamoto (2004) os linfócitos T são as células inteiramente responsáveis pela característica mais importante da resposta imune que é

o reconhecimento de proteínas estranhas (patógenos). Eles reconhecem esse antígeno em associação ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) em células apresentadoras de antígenos, como os macrófagos e células dendríticas.

O linfócito T ativo possui a capacidade de secretar mediadores ou citocinas que possuem a capacidade de recrutar, imobilizar e ativar os macrófagos. Após a apresentação do antígeno, os linfócitos T auxiliares comandam a resposta imunológica visando a destruição do agressor e modulando eventos inflamatórios com suas citocinas e mediadores químicos. O linfócito TCD4 se comunica com os linfócitos T citotóxicos ou TCD8 ou T8, cujo seu papel é liberar citocinas capazes de induzir a apoptose em células atípicas, para liberar enzimas capazes de perfurar as membranas dessas células e enviar sinais aos linfócitos B (plasmócitos) para produção de anticorpos que, em conjugação com outros mediadores e células acessórias, serão os responsáveis pela imunidade protetora contra os agentes patogênicos e pelas reações de hipersensibilidade (CONSOLARO, 2009; MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

As células B reconhecem especificamente determinado antígeno, e seu estímulo ocorre quando a imunoglobulina de superfície interage especificamente com o antígeno (IWAMOTO, 2004). Os plasmócitos são derivados do linfócito B que se diferenciam adquirindo organelas como o retículo endoplasmático rugoso, complexo de golgi com o objetivo de produzir proteínas anticórpicas. Os plasmócitos permanecem nos tecidos linfóides, produzem e secretam anticorpos ou imunoglobulinas que circulam no sangue ou fluidos corporais sendo capaz de se ligar ao antígeno que induziu a sua formação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; CONSOLARO, 2009; IWAMOTO, 2004). Para Murphy et al. (2010) a imunidade protetora contra a reinfecção é uma das consequências mais importantes na imunidade adaptativa pois se manifesta pela capacidade aumentada de responder contra patógenos que foram previamente encontrados e eliminados com sucesso.

Os linfócitos NK são uma população de células citotóxicas, essas células não apresentam receptores para antígenos em sua superfície e deriva de precursores específicos da medula óssea e atuam sobre as células estranhas, atípicas, defeituosas e nas células infectadas por vírus, destruindo-as, independentemente da resposta imunológica e inflamatória (CONSOLARO, 2009).

As plaquetas, principal produto dos agregados plaquetários, são fragmentos celulares citoplasmáticos anucleados, apresentam 2 a 3 μm de diâmetro, são formadas por porções do citoplasma dos megacariócitos da medula óssea hematopoiéticamente ativa. Sua linhagem celular é a mesma das células tronco que formam os leucócitos, linfócitos e as hemácias e têm função fundamental no

processo de coagulação sanguínea devido à sua propriedade de adesão à superfície irregular ocorrendo a agregação entre si, formando o tampão plaquetário (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; CONSOLARO, 2009; PRAKAST, 2011).

Na circulação sanguínea, as plaquetas estão presentes de 140 a 400 mil por milímetro cúbico de sangue e tem vida média de 7 a 10 dias, durante o seu tempo de sobrevivência, circulam na forma não-ativa, isoladamente ou agrupadas. As plaquetas possuem receptores de membrana que servem para ativação e interação interplaquetária, entre eles, estão receptores para o fator willebrand que promoverá a ativação das plaquetas; receptores para adesão plaquetária ao colágeno da camada subendotelial e receptores de ligação ao fibrinogênio e outras moléculas adesivas (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; PRAKASH; THAKUR, 2011).

O seu metabolismo se baseia na liberação de energia, transformando ATP (trifosfato de adenosina) em ADP (difosfato de adenosina), a partir da glicólise e do mecanismo oxidativo das mitocôndrias. Essa energia é utilizada para as funções básicas das plaquetas, tais como, agregação, adesão e secreção de substâncias contidas nos seus grânulos citoplasmáticos (CONSOLARO, 2009; LORENZI, 2011; AGRAWAL, 2017). Quando ativas liberam o ADP, tromboxano, fibrinogênio, além de liberar serotonina, cininas e prostaglandinas na iniciação da resposta inflamatória culminando em uma permeabilidade vascular maior. (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001).

Vários fatores de crescimento são produzidos pelas plaquetas que estimulam o processo de reparo do endotélio, do tecido conjuntivo e do músculo liso, incluindo o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator transformador de crescimento alfa (TGF- α) e beta (TGF- β) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I); fator de angiogênese derivado das plaquetas (PDAF) e o fator 4 das plaquetas. (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; GASSLING *et al.*, 2009; KIERSZENBAUM; TRES, 2012). Assim, o PDGF tem efeito ativador e quimiotático sobre os monócitos, neutrófilos e fibroblastos, o fator 4 de plaquetas também é agente quimiotático para neutrófilos. A liberação de TGF- β induz a angiogênese e deposição do colágeno, o PDAF causa formação de novos capilares e o fator 4 de plaquetas é agente quimiotático para neutrófilos (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001).

Para Lorenzi (2001) as plaquetas possuem em seus grânulos de armazenamento, uma reserva intracelular de proteínas pró-inflamatórias que atuam em todas as fases do processo inflamatório sendo vitais para cicatrização. Entre seus grânulos, em especial, os α -grânulos são os mais abundantes, sendo distribuídos às plaquetas durante a megacariopoiese e possuem papel fundamental ao secretar altas concentrações de fatores pró-inflamatórios e imunomoduladores. Esses mediadores induzem

recrutamento, ativação, secreção de quimiocinas e diferenciação de outras células vasculares e hematológicas (BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009).

Sendo assim, as plaquetas podem ser consagradas como células complexas, multifuncionais e com capacidade imunomodulatória (MCFARLAND *et al.*, 2006). Na figura 1 ilustra as mudanças das plaquetas ao serem expostas ao colágeno, fibrina, trombina, fator XI e fator XI-A resultando na sua ativação e degranulação gerando efeitos sobre a iniciação da resposta vascular, atração e ativação dos neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e das células endoteliais.

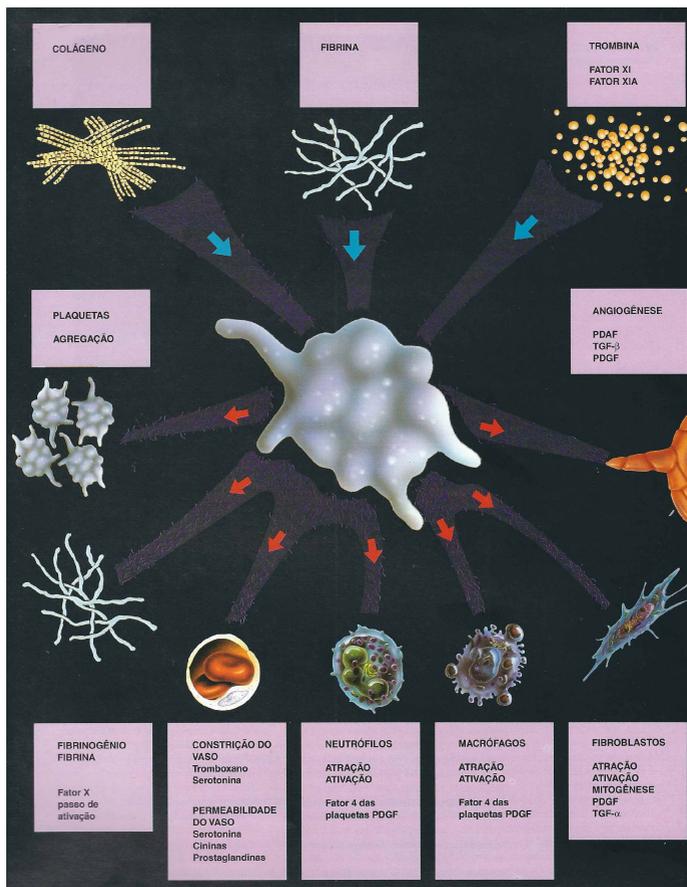


Figura 1: Ativação e degranulação das plaquetas gerando efeitos sobre a iniciação da resposta vascular e celular.

Fonte GOTTRUP; ANDREASEN, 2001.

3.2 1º Geração dos Agregados Plaquetários

O objetivo da cicatrização é promover o reparo ou regeneração tecidual da estrutura dos tecidos lacerados ou perdidos, para tal, regeneração é um processo biológico que restaura a função e a estrutura dos tecidos perdidos e o reparo há formação de um tecido novo mas que não restaura a estrutura e a função (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001 *apud* GILLMAN, 1961). Os biomateriais surgem com a finalidade de obtenção da excelência estética com resultados mais duradouros na reconstrução de deficiências teciduais (SILVA; JOLY; CARVALHO, 2010). A definição clássica dos biomateriais é ampla e complexa, sendo denominada uma combinação de substâncias farmacologicamente ativas ou inertes, de natureza sintética ou natural, utilizada para implementar a reparação tecidual, aumentar ou substituir parcial ou integralmente os tecidos e órgãos (WILLIAMS, 1997; RATNER; BRYANT, 2004).

O padrão ouro dos enxertos ósseos incluem a indução de nova formação óssea, biocompatibilidade, ausência de resposta imune, resistência à infecção, radiolucência, ampla disponibilidade e baixo custo (SILVA; JOLY; CARVALHO, 2010). A classificação desses biomateriais é de acordo com a sua origem, sendo elas: Alógenos, transplantados de um indivíduo da mesma espécie; Xenógenos, enxertos retirados de um doador de espécie diferente; Autógenos, enxertos transplantados de um lugar para o outro em um mesmo indivíduo; Aloplástico ou sintético, materiais de implantes sintéticos ou inorgânicos (KLOKKEVOLD, 2007; KARRING; LINDHE, 2010).

Entre as opções de enxertos ósseos o mais utilizado é o osso autógeno, pois é o único que apresenta os três princípios biológicos requeridos na formação óssea. Possuem capacidade osteoindutora, ou seja, irão estimular a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas da região em osteoblastos, células responsáveis pela produção de matriz fibrosa. A ação de osteocondução servirá como arcabouço para o crescimento ósseo a partir das margens do defeito. E efeito osteogênico ocorre devido à presença de osteoblastos com capacidade de produção da matriz óssea dentro do enxerto. Em contrapartida algumas desvantagens devem ser consideradas, tais como, volume ósseo disponível para doação, morbidade associada ao sítio doador e que por vezes acarreta em reabsorção da área, requer um procedimento cirúrgico adicional para sua remoção aumentando o tempo de cirurgia, as suas complicações pós-operatórias (KARRING; LINDHE, 2010; SILVA; JOLY; CARVALHO, 2010).

Matras (1970) e Ross *et al.* (1974) foram os pioneiros a descreverem sobre as propriedades regenerativas das plaquetas, ao isolarem as plaquetas do sangue periférico constataram que elas apresentavam capacidade de indução proliferativa de células do músculo liso arterial *in vitro*. Atualmente, os fatores de crescimento de plaquetas

são uma fonte bem conhecida de citocinas de cicatrização culminando no desenvolvimento de numerosas técnicas de concentrados autólogos de plaquetas (GASSLING *et al.*, 2009; PRAKASH; THAKUR, 2011).

O primeiro aditivo cirúrgico precursores dos concentrados plaquetários foram os selantes ou colas de fibrina (PRAKAS; THAKUR, 2011; DAVID, 2014). Elas são derivadas do plasma sanguíneo e suas propriedades mimetizam a fase final da cascata de coagulação, formando um coágulo de fibrina. De tal forma, agem independentemente dos defeitos de coagulação, promovendo hemostasia, crescimento e reparo de tecidos; não possuem toxicidade e são biodegradáveis (GIBBLE; NESS, 1990). Mas por serem homólogas (de indivíduos da mesma espécie) existe o risco de infecção cruzada, por isso, em 1994 Tayapongsak *et al.* introduziu uma nova idéia de adição de adesivo de fibrina autóloga (AFA), do plasma do próprio paciente, porém, com propriedades menos satisfatórias, maior fraqueza e menor resistência à estresse físicos (TAWES; SYDORAK; DUVALL, 1994; TAYAPONGSAK *et al.*, 1994; DOHAN, 2006). Estudos experimentais apresentam resultados positivos dos selantes de fibrina para os tecidos moles, no entanto, seus benefícios para a cirurgia óssea e periodontal continua controversa (SOFFER; OUHAYOUN; ANAGNOSTOU, 2003).

Ehrenfest *et al.* (2012) fez um apanhado histórico acerca da terminologia dos concentrados plaquetários pois após as primeiras publicações sobre as colas de fibrina, começaram as “misturas de plaquetas-fibrinogênio-trombina” também chamadas de “plaquetas de gelatina (espuma de gel)” ou “gel de plaquetas” nas áreas de oftalmologia, cirurgia geral e neurocirurgia. Essa falta de padronização gerou na literatura resultados contraditórios acerca dos concentrados de plaquetas que o autor denomina como “biblioteca cega de conhecimento”.

A tendência dos aditivos cirúrgicos na odontologia começou a partir dos resultados publicados por Marx *et al.* (1998) que demonstraram que o um Plasma Rico em Plaquetas (PRP) apresentava uma concentração de fatores de crescimento que influencia positivamente na taxa de formação óssea e a qualidade do osso formado. O fato do PRP ser de origem autóloga eliminava as preocupações com a transmissão de doenças e as reações imunogênicas, desta forma, apresenta maior vantagem sobre os enxertos ósseos de origem alogênicos e xenogênicos. Os autores fizeram apologia ao termo Plasma Rico em Plaquetas descrito anteriormente na literatura por Kingsley (1954) por ser semelhante a esse concentrado de plaquetas usados em hematologia (EHRENFEST *et al.*, 2012).

O uso do termo PRP começou a partir do trabalho de Marx *et al.* De tal maneira, o sangue passou a ser recolhido do próprio paciente e duplamente centrifugado formando a membrana PRP, à qual se adiciona

trombina bovina e cloreto de cálcio, no momento da aplicação, para que esta solidifique. Todavia, o uso de trombina bovina gera preocupações, pois o fator V bovino pode reagir com o fator V humano, causando coagulopatias e episódios de sangramento raros (GUPTA *et al.*, 2011). Inicialmente, essas misturas eram testadas com adesivos de tecido de fibrina e não como estimuladores do reparo ricos em fatores de crescimento (EHRENFEST *et al.*, 2012).

Anitua (1999) descreveu uma versão da qual ele denominou de Plasma Rico em Fatores de Crescimento (PRGF) usando citrato trissódico a 10% como anticoagulante, e um processo de centrifugação do sangue a 160 G durante 6 minutos. Após a estratificação do sangue é realizado a pipetagem, descartando o plasma pobre em fatores de crescimento e ao final é adicionado cloreto de cálcio a 10% para polimerização da fibrina de 15 a 20 minutos. O PRP e PRGF são considerados a primeira geração de agregados plaquetários, caracterizados por centrifugação e aditivos químicos como anticoagulantes, trombina bovina e o cloreto de cálcio no PRP e somente o cloreto de cálcio no PRGF.

O PRP é definido como o sobrenadante contendo plaquetas no sangue anticoagulado e centrifugado. Dugrilon *et al.* (2002) em seu estudo a fim de gerar plaquetas autólogas para unidades de cirurgia oral de acordo com a regulamentação Alemã descobriu que essa preparação, com centrifugação dupla, continha maior concentração de plaquetas e a denominou de Concentrado de Plasma Rico em Plaquetas (cPRP). Em geral, foi relatado um aumento de 17 vezes nas concentrações de plaquetas em comparação com o sangue total dos pacientes e a contagem de plaquetas foi correlacionada com maiores níveis de TGF-1 no cPRP. A figura 2 ilustra o resultado do processo de centrifugação extra resultando em uma concentração maior de plaquetas.

Para obtenção do cPRP é realizada a punção venosa com uma seringa contendo anticoagulante (citrato-fosfato-dextrose) a fim de evitar a degranulação das plaquetas. O sangue é centrifugado a 5600 rpm para que ocorra sua separação em 2 camadas distintas, camada superior composta pelo PRP e a camada inferior com os eritrócitos. É então realizada a pipetagem do PRP e descartado a porção inferior, o PRP é centrifugado novamente a 2400 rpm para uma nova separação celular, um sobrenadante composto pelo Plasma Pobre em Plaqueta (PPP) que é descartado sobrando um concentrado de plaquetas na parte inferior. Desta forma obtem-se um cPRP que é misturado a trombina bovina e o cloreto de cálcio no momento da aplicação para induzir a ativação maciça das plaquetas concentradas e a geleificação da preparação (PRAKASH; THAKUR, 2011; AGRAWAL, 2017).

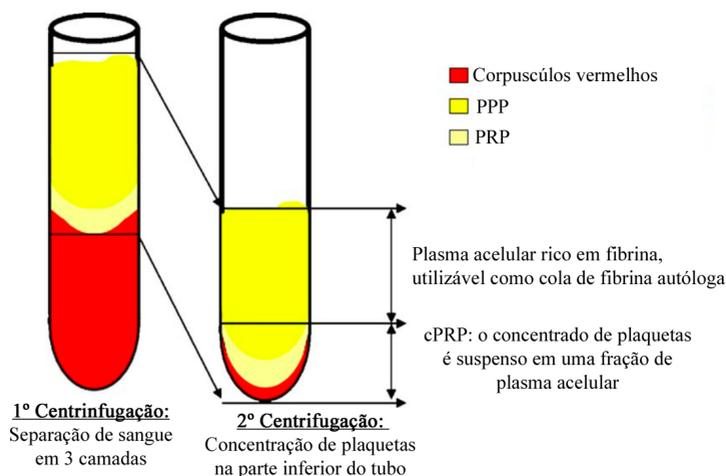


Figura 2: Estratificação do sangue após os procedimentos de centrifugação.

Fonte: DOHAN, 2006a.

Dohan *et al.* (2006a) relata que o PRP era chamado assim tanto na cirurgia tópica quanto na hematologia transfusional, por isso, muitos nomes surgiram para corrigir essa falha, entre eles: o cPRP (DUGRILLON *et al.*, 2002) e PRGF (ANITUA, 1999). Dohan *et al.* (2006a) conclui que cPRP seria a denominação mais apropriado por apresentar 2 fases de centrifugação resultando em um concentrado maior de plaquetas.

David (2014) constata em seu trabalho que esses concentrados de plaquetas eram denominados PRP, sem consideração de seu conteúdo ou arquitetura e essa falta de terminologia durou anos até que em 2001 na França surge uma técnica tão diferente e um produto suficientemente diferenciado a ponto de justificar uma outra terminologia, Choukroun e colaboradores (2001) descreveram uma nova geração de concentrado imunológico e plaquetário denominada Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos.

Durante muito tempo esse costume de focar somente nos fatores de crescimento levou o esquecimento dos outros elementos presentes nesse derivado do sangue, entre eles, a fibrina e os leucócitos (EHRENFEST *et al.*, 2012). O produto final do PRF é uma matriz de fibrina autóloga rica em plaquetas, a fibrina representa papel determinante na hemostasia sendo transformada em uma cola biológica capaz de agregar as plaquetas e se aderir à parede vascular (DOHAN *et*

al., 2006a). A Fibrina Rica em Plaquetas caracteriza a 2ª geração de agregados plaquetários. E com ela surge novas possibilidades para regeneração dos tecidos, tanto para a Medicina como para a Odontologia.

3.2.1 2º Geração dos Agregados Plaquetários

O PRF foi usado pela primeira vez em 2001 por Choukroun e colaboradores na cirurgia oral e maxilofacial, e atualmente é considerada como uma inovadora geração de concentrado de plaquetas (BORIE, 2015). Choukroun *et al.* (2006b) define a PRF como um biomaterial fisiológico, obtido sem adição ou manipulação, sendo um concentrado plaquetário e imunológico sobre uma membrana de fibrina coletado de uma única amostra de sangue autólogo, desta forma, é favorável a cura e a imunidade.

Esse concentrado de plaquetas é obtido após o processamento de centrifugação do sangue com objetivo de separar os componentes de interesse, reunindo fibrinogênio, fibrina, plaquetas, fatores de crescimento, leucócitos, e outras fórmulas de células circulantes no plasma, com a finalidade de utilizar em um local cirúrgico estimulando e acelerando o reparo (DAVID, 2014). Essa técnica não requer uso de anticoagulante, trombina ou agente gelificante, por isso, o sucesso da técnica depende do manuseio rápido da coleta e transferência para a centrífuga, caso contrário, a fibrina irá polimerizar de maneira difusa gerando falha na formação do coágulo (DOHAN *et al.*, 2006a).

Durante o processo de centrifugação, o sangue possui uma polimerização natural e lenta durante o processo de centrifugação. A rede de fibrina formada possui uma estrutura tridimensional (3D) o que implica em um maior enredamento das citocinas que terão efeito a longo prazo, sendo liberadas no momento da remodelação inicial e matriz cicatricial. A estrutura 3D formada possui uma arquitetura elástica com ligações equiláteras entre as fibras de fibrina sendo favoráveis para a migração celular e retenção de moléculas solúveis. Em contraste, no cPRP há uma súbita polimerização da fibrina pelo uso da trombina resultando em uma rede rígida dificultando a incorporação de citocinas na matriz formada (DOHAN *et al.*, 2006b; DOHAN *et al.*, 2006c).

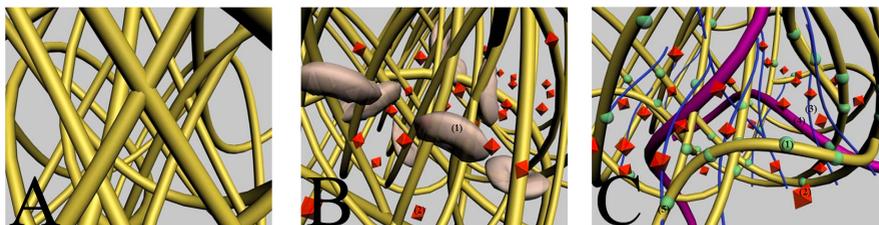


Figura 3: A) Selantes de Fibrina; B) cPRP; C) Estrutura 3D do PRF e a incorporação de citocinas nas diferentes estruturas.

Fonte: DOHAN *et al.*, 2006b.

Conforme ilustrado na figura 3 por Dohan e colaboradores (2006b) a quantificação e a incorporação das citocinas plaquetárias tem relevância nessa rede pois essas moléculas solúveis são as principais mediadoras da inflamação e do reparo. E ainda, ressaltam a importância das principais citocinas plaquetárias, entre elas, TGF- β , PDGF, Fatores de Crescimento semelhantes à Insulina (IGFs) I e II.

Ainda vinculado ao trabalho de Dohan *et al.*, a vasta família do Transformador de Crescimento β possui papel na regulação da inflamação devido à capacidade de induzir a cicatrização fibrosa. Seus efeitos são variáveis *in vitro*, capaz de estimular ou de inibir a proliferação dos osteoblastos, de induzir a síntese de colágeno da matriz pela ação dos osteoblastos ou fibroblastos, constituindo assim, o agente de fibrose mais eficiente de todas as citocinas. Durante o processo de remodelação tecidual os Fatores de Crescimento Derivados de Plaquetas desempenham o papel fundamental de reguladores da migração, proliferação e sobrevivência das células mesenquimais.

Os Fatores de Crescimento semelhantes à Insulina I e II são citocinas importantes liberadas durante a degranulação das plaquetas mas também estão presentes na circulação sanguínea. E são reguladores da proliferação e diferenciação celular, regulam a morte celular programada (apoptose) protegendo as células de estímulos apoptóticos matriciais (DOHAN *et al.*, 2006b).

Choukroun e colaboradores (2006a) apor meio de experiência clínica confirmaram que o PRF apresenta uma matriz de fibrina polimerizada em uma estrutura tetramolecular com a incorporação de plaquetas, leucócitos e citocinas e apresenta células estaminais circulantes. A propriedade angiogênica pode ser explicada pela ligação dos fatores de crescimento, em especial, TGF- β e PDGF. Além do que, é conhecido que a fibrina serve como matriz de suporte para os transplantes de proteínas morfogenética (BMP), desta forma, apresentaria propriedades hemostáticas, angiogênicas e osteocondutora.

Uma das principais diferenças entre os concentrados de plaquetas é a inclusão de leucócitos, liberação de FCs no PRF que afeta

positivamente para a eficácia biológica dessas preparações autólogas. Anitua *et al.* (2015) avaliaram a adição dos leucócitos na modificação das propriedades morfológicas, biomecânicas e biológicas dos concentrados de plaquetas e constataram que os fibroblastos e osteoblastos sofreriam uma maior ativação e proliferação em contato com maior concentração de citocinas pró-inflamatórias. No estudo de Passaretti (2014) o PRF liberou mais de 15 vezes o VEGF e mais de 2 vezes o TGF β 1 quando comparado com PRP. E estudo *in vitro* de Ehrenfest (2009) constatou que a membrana de fibrina densa do PRF libera altas quantidades FCs (TGF β -1, PDGF, VEGF) e tromboplastina durante 7 dias.

Desta forma, o PRF não é apenas um concentrado de plaquetas mas um aglomerado do reparo representando um novo passo no conceito terapêutico, com capacidade favoráveis para o desenvolvimento de uma cicatrização natural sem excesso inflamatório. Também definido pelo autor como um nódulo imunomodulatório pelo seu conteúdo pro ou anti-inflamatório e agiogênico, desta forma, com capacidade de defesa contra as infecções e acesso ao local lesionado devido à neovascularização (DOHAN *et al.*, 2006c).

Prakash e Thakur (2011) descrevem as implicações clínicas do PRF como biomaterial de cura e mediação nos procedimentos de elevação do seio maxilar, preservação alveolar, recessão gengival, defeitos de furca, lesões endodônticas e periodontais, enchimento de cavidades císticas. Apontam limitações do PRF em cirurgia geral por apresentar volume limitado devido a amostra de sangue autólogo, por isso, as membranas de PRF são altamente específicas para o doador impossibilitando bancos de tecido de PRF.

Os estudos de Sammartino *et al.*, (2011) revelaram as propriedades hemostáticas do PRF, sua amostra foi de 50 pacientes submetidos a terapia com anticoagulante oral com necessidades de extrações dentárias. Os resultados da sua pesquisa foram positivos, constatou que o PRF é uma opção eficiente em pacientes com cirurgia cardíaca sob terapia com anticoagulante pelas suas propriedades anti-hemorrágicas e aumentar a cicatrização do tecido em pacientes cardiopatas sem a interrupção da terapia com anticoagulante.

No Brasil, o Conselho Federal de Odontologia (2005) com a resolução 158 de 8 de junho de 2015 regulamenta e autoriza o uso dos agregados plaquetários PRP e PRF na prática odontológica, regulamentando a venopunção pelo cirurgião-dentista ou profissional de saúde devidamente habilitado em conjunto e corresponsabilidade com o cirurgião-dentista podendo ser realizados em centro cirúrgico ou consultório odontológico devidamente habilitado. Anteriormente o Cirurgião-dentista não possuía autorização para a coletar esse sangue, todo o procedimento deveria ser realizado em ambiente hospitalar e sob

a supervisão de um médico ou enfermeiro de acordo com a antiga portaria número 2.712, de 12 de novembro de 2013.

Com exposto, o sucesso da técnica é diretamente dependente da correta preparação do PRF que envolve seu manuseio, tempo de coleta sanguínea, sua transferência para a centrífuga e tempo de centrifugação utilizado (DOHAN *et al.*, 2006), bem como, a experiência prévia do clínico para sua manipulação (GUPTA *et al.*, 2011; SIMONPIERI, 2012), e a aceitação do paciente de realizar punção sanguínea (WANI, 2014). A técnica cirúrgica também irá influenciar nos resultados de remodelação óssea, sendo a técnica minimamente traumática a mais indicada (LEKOVIC *et al.*, 1997).

3.3 Diferentes formas de preparo dos PRF

Segundo Agrawal (2017) o produto final da coleta sanguínea e da centrifugação é o PRF. Cujo seu princípio metodológico é manter as plaquetas íntegras a fim delas influenciarem positivamente na resposta cicatricial. Para a sua obtenção existem alguns métodos, protocolos de centrifugação de marcas registradas. Com isso, surgem sistemas comerciais para a preparação do PRF com suas assinaturas biológicas diferentes. Entre eles, podemos citar:

3.3.1 Fibrina Rica em Plaquetas pelo método L-PRF

Atualmente, o único sistema comercial aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para confecção da L-PRF é o Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock Inc, Estados Unidos) (AGRAWAL, 2017).

O protocolo para a confecção do L-PRF é muito simples e barato: o sangue é recolhido em tubos secos de vidro ou de plástico revestidos de vidro, sem anticoagulante, e imediatamente centrifugado a 3000 rpm/10min. Após a centrifugação, três camadas são formadas: uma base de glóbulos vermelhos, *red blood cells* (RBC), na parte inferior; uma camada superficial contendo o plasma acelular, PPP, na forma de um sobrenadante, e um coágulo PRF na região intermediária do tubo. O coágulo é formado por um processo de polimerização natural durante a centrifugação, e a sua arquitetura tridimensional de fibrina é responsável pela libertação lenta de fatores de crescimento e glicoproteínas da matriz por um período de, aproximadamente, sete dias (CHOUKROUN *et al.*, 2006b; DOHAN *et al.*, 2006a). O protocolo de 2700 rpm/12 min foi utilizado muitos anos para obter membranas mais fortes do que as de 3000 rpm/10min (AGRAWAL, 2017). Processo Ilustrado na figura 4.

Este coágulo dispõe de muitos promotores de reparo e de imunidade presentes na coleta de sangue inicial. O PRF pode ser utilizado diretamente, como um coágulo ou, após compressão, como

uma membrana. Embora fatores de crescimento e plaquetas desempenhem um papel importante na biologia da PRF, a arquitetura tridimensional da fibrina e o seu conteúdo de leucócitos são dois parâmetros chave e não tão frequentemente avaliados. A maioria dos estudos apenas destaca as concentrações de plaquetas e fatores de crescimento. Contudo, a arquitetura de fibrina influencia diretamente a biologia de todos os biomateriais que têm como base a própria fibrina (DOHAN *et al.*, 2006b).

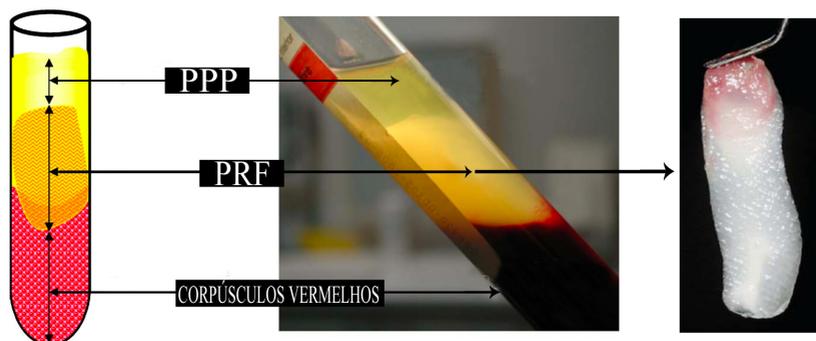


Imagem 4: Estratificação do sangue após a centrifugação em 3 camadas distintas para obtenção do PRF.

Fonte: DOHAN, 2006a.

3.3.2 Fibrina Rica em Plaquetas Avançada A-PRF

Choukroun (2014) descreve que a estimulação óssea do PRF é explicada pois ele atua como uma matriz extracelular provisória de fibrina, fibronectina e tromboplastina, induzindo a vascularização. Os Fatores de Crescimento (FCs) também ajudam nesse processo, porém, novas evidências mostraram que os monócitos desempenham um papel essencial na indução óssea, vascularização e produção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Então, eles foram acrescentados na técnica de PRF avançada da CHOUKROUN ou A-PRF apresentando resultados positivos.

A diferença do método de obtenção do A-PRF é seu tempo de centrifugação que é centrifugado a 1.500 rpm durante 14 min. Diminuir o rpm enquanto aumenta o tempo de centrifugação gerou uma maior presença de granulócitos neutrofilicos no coágulo (GHANAATI *et al.*, 2014). Na pesquisa de Kobayashi *et al.* (2016) o A-PRF apresentou uma

liberação mais gradual de fatores de crescimento até um período de 10 dias quando comparado com o PRP e PRF padrão, concluindo, desta forma, que este fator pode ser clinicamente benéfico para futuros procedimentos regenerativos.

3.3.3 Concentrados de Fatores de Crescimento

O Concentrado de Fatores de Crescimento (CGF) foi introduzido por Sacco em 2006 (AGRAWAL, 2017). O CGF se diferencia do PRF pela sua velocidade de centrifugação alternada para produzir uma matriz de fibrina muito maior, mais densa e rica em fatores de crescimento (SOHN *et al.*, 2015).

Após a punção, o sangue venoso é alocado em tubos de ensaio sem anticoagulante, é realizada a centrifugação em uma centrífuga especial chamada Medifuge (Itália) a 2400-3000 rpm com uma rotação alternada e controlada (SOHN *et al.*, 2015). No experimento de Rodella *et al.* (2011), por exemplo, é utilizado o programa com as seguintes características de centrifugação: 30 segundos de aceleração, 2 minutos com 2.700 rpm, 4 minutos em 2.400 rpm, 4 minutos em 2.700 rpm, 3 minutos com 3.000 rpm e 36 segundos de desaceleração e parada. Em conclusão ao estudo de Rodella *et al.* O CGF demonstrou a presença de células CD34 positivas dentro da sua rede, aumentando a investigação e suas implicações clínicas imunológicas. Além da presença de TGF- β e VEGF na camadas de CGF e de RBC, sugerindo desta forma, possíveis uso da camada RBC em aplicações clínicas.

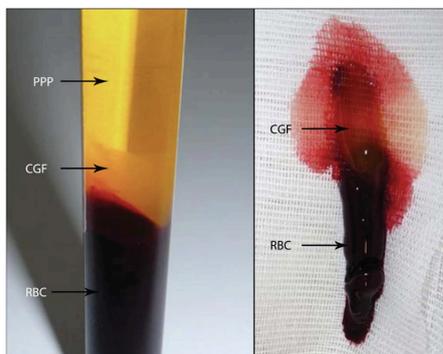


Imagem 5: Apresentando a camada superior de PPP; ao centro, o gel de fibrina com plaquetas agregadas e fatores de crescimento concentrados (CGF); e na parte inferior a camada de glóbulos vermelhos.

Fonte: RODELLA *et al.*, 2011.

3.3.4 Fibrina Rica em Plaquetas pelo método I-PRF

Mourão *et al.*, (2015) apresentam a técnica como alternativa no preparo do PRF de forma rápida e simplificada para utilização em forma líquida (injetável) ou polimerizada (coágulo). A técnica é simples, realizada a punção venosa, o sangue é colocado em tubo sem uso de qualquer aditivo e levado a centrífuga a uma velocidade de 3300 rpm. E após a coleta do material é feito com uma seringa com agulha hipodérmica obtendo sua forma líquida. Para aglutinação com enxerto ósseo, essa mistura é colocada em uma cuba metálica e após a espera de cinco minutos é colocado o enxerto ósseo e em 15 minutos é observado o início da polimerização e o material está pronto para o uso no tempo total de 20 minutos, podendo ser removido para realização do enxerto ósseo. Imagens do procedimento na figura 5.

O i-PRF é uma nova alternativa de preparo como agregado plaquetário para diferentes áreas da Medicina e Odontologia e a possibilidade da aglutinação do I-PRF com biomateriais para enxertia óssea cria uma alternativa ao uso PRF na regeneração óssea (MOURÃO *et al.*, 2015).

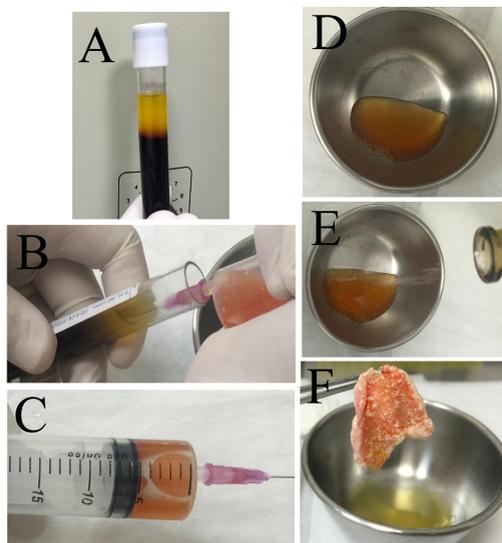


Imagem 6: I-PRF, A) Tubo após a centrifugação, B e C) É coletado 5ml do PRF, D) Conteúdo é colocado em uma cuba metálica, E) Feito a incorporação do enxerto ósseo ao PRF, F) Resultado após a sua polimerização.

Fonte: MOURÃO *et al.*, 2015.

Para Choukroun (2014) as técnicas de A-PRF ou i-PRF devem ser consideradas como "concentrados de sangue" e não apenas concentrados de plaquetas, uma vez que, o objetivo da técnica é obter a quantidade total de células do sangue, células brancas, plaquetas, células estaminais circulantes e células endoteliais.

Com o surgimento de várias centrífugas e protocolos de obtenção do PRF, Ehrenfest *et al.*, (2017) avaliaram o impacto da centrífuga e dos protocolos de centrifugação sobre as características da membrana de fibrina em sua arquitetura, células e fatores de crescimento. Os autores concluíram que as centrífugas por possuírem tamanhos e pesos diferentes, levam a uma intensidade diferente de vibração e ressonância, com isso, a centrífuga utilizada para obtenção do A-PRF não produziria o mesmo produto final utilizando o mesmo protocolo em uma centrífuga específica para L-PRF. Portanto, a centrífuga e os protocolos desenvolvidos influenciam diretamente na arquitetura da fibrina, suas células e fatores de crescimento. Com isso, qualquer modificação do protocolo deve ser identificada com a finalidade de não causar resultados imprecisos na literatura.

3.4 Processo Inflamatório Natural

Segundo Murphy *et al.* (2010) as superfícies epiteliais são a primeira barreira física que protegem o organismo contra a colonização de vírus e bactérias. Os micro-organismos que ultrapassam essa barreira se confrontam imediatamente com um mecanismo de defesa tecidual e esse fator leva a uma resposta inflamatória. Sendo assim, Consolaro (2009) descreve que a inflamação não é uma doença mas um mecanismo de defesa, pelo qual os tecidos vascularizados reagem frente a uma agressão tecidual com objetivo de neutralizar o agente agressor e promover o reestabelecimento da área lesada. Estruturas como o epitélio, esmalte dentário, pêlos, cabelo não apresentam inflamação, intrinsecamente, pois não apresentam circulação sanguínea mas essas estruturas são envolvidas pelo processo inflamatório advindo dos tecidos vizinhos (CONSOLARO, 2009).

Os agentes efetores da inflamação fazem parte do exsudato ou do infiltrado inflamatório. O exsudato é formado por conjunto de substâncias que são expelidos pelas paredes dos vasos da microcirculação na área agredida, e o infiltrado inflamatório consiste no conjunto de células que atravessam a parede de vênulas e capilares e chegando aos espaços teciduais agredidos. A resolução da inflamação deve promover o reparo da área atingida, quando isso não ocorre, o exsudato e o infiltrado inflamatório mudam o seu perfil de ação e de seus constituintes para conter o agressor, delimitando-o, caracterizando desta forma a cronificação da inflamação (CONSOLARO, 2009).

A classificação das inflamações é dividida em dois grupos, inflamação aguda e crônica, tendo por base o conjunto de alterações que as caracterizam, tais como, lesão celular e tecidual, exsudato, proliferação e o reparo. Essa classificação morfológica é importante ao profissional clínico pois permite-lhe compreender seus sinais, sintomas e a evolução das doenças inflamatórias. (FARIA, 2008; CONSOLARO, 2009).

Com base no exposto a inflamação ocorre todos os dias e, em quase todas as horas, em nossos tecidos, porém, na grande maioria das vezes ocorre de forma assintomática. A maioria dos casos da inflamação aguda é subclínica; quando clinicamente detectada, apresenta características de um quadro clínico típico, instalação súbita, podendo apresentar dor, tumor sinônimo de tumefação, calor gerado pela hiperemia local, rubor, perda de função da área afetada, eventualmente poderá apresentar manifestações sistêmicas tal como a febre, cefaléia, prostração, mialgia e astenia (ANDRADE, 2006; FARIA, 2008; CONSOLARO, 2009; MURPHY *et al.*, 2010).

A patogenicidade do agente agressor e o local comprometido irão determinar a intensidade da lesão. A origem da inflamação crônica advém de um patógeno pouco irritante e de leve continuidade ou ainda, pode originar-se da inflamação aguda. A persistência do agente agressor pode ocorrer devido a incapacidade das células inflamatórias de destruí-lo, localização desfavorável do agente agressor não permitindo o acesso das células inflamatórias, entrada repetitiva do agente etiológico e o comprometimento do sistema imunológico do indivíduo. Sua duração é de semanas a meses e há predomínio de fenômenos produtivos, ou seja, produção de tecido objetivando o reparo (FARIA, 2008; CONSOLARO, 2009).

A resolução da inflamação implica na evolução para um processo de reparo ou reconstrução tecidual. A reconstrução dos tecidos que ocorre a partir da proliferação dos seus remanescentes é denominada regeneração, ou seja, os tecidos perdidos são diretamente reconstruídos através da proliferação das células vizinhas especializadas, sem a participação do tecido de granulação. Diferentemente do reparo, onde ocorre a substituição de um tecido destruído por um tecido conjuntivo fibroso, o tecido fibroso provém do tecido de granulação que evolui de forma a desaparecer as células inflamatórias e o exsudato purulento da superfície se houver infecção, e há deposição progressiva de colágeno até formar a cicatriz (FARIA, 2008).

No processo de reconstrução dos tecidos lesados são embarcados sob o termo de bioengenharia ou engenharia tecidual quando houver interferência do profissional com a colocação de materiais, membranas e outros produtos com objetivo de acelerar ou melhorar o processo de reparo ou regeneração (CONSOLARO, 2009).

Gottrup e Andreasen (2001) dividem a dinâmica do reparo da lesão em três fases, a saber, inflamação (subdividida em fase de hemostasia e fase inflamatória), proliferação e as fases de remodelação. A hemostasia gera a vasoconstrição, ativação plaquetária das cascatas de coagulação e sistema complemento. A fase inflamatória é caracterizada pela chegada das células a local da lesão e a liberação de FCs. A fase de proliferação é estimulada pelos FCs, há formação de novos vasos e a migração de células continua até que o defeito tecidual seja obliterado caracterizada pela formação do coágulo. Na fase de remodelação ocorre a contração da ferida alterando sua forma, estrutura e consistência.

Em suma, o processo de reparo para Consolaro (2009) apresentam fases evolutivas sobrepostas no tempo: a primeira fase caracterizada pela Inflamação e coagulação sanguínea apresenta grande importância farmacológica e terapêutica, pois a inibição ou o estímulo por drogas permite o controle dos sinais e sintomas da inflamação. A segunda é caracterizada pela formação de tecido de granulação e a terceira fase a maturação e remodelação tecidual.

3.4.1 Mediadores Químicos da Inflamação, Hemostasia e Cascata de Coagulação.

Os mediadores químicos da inflamação são substâncias que as células produzem e liberam para iniciar, manter ou amplificar a resposta inflamatória. Sinalizam e regulam os passos da inflamação. Existem mediadores químicos pró-inflamatórios que induzem a inflamação e os mediadores químicos anti-inflamatórios quando não é mais necessário o processo inflamatório (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; CONSOLARO, 2009).

A origem desses mediadores podem ser endógenos, quando originado no plasma ou nas células, ou exógenos, quando originados por bactérias ou irritantes químicos. Nas células os mediadores estão presentes nos grânulos intracelulares ou são produzidos no momento da inflamação, exemplos, aminas vasoativas e derivados do ácido araquidônico. No plasma essas substâncias encontram-se na forma inativa e são ativados pelo processo inflamatório, são elas, sistema de cininas, sistema de coagulação e sistema complemento (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; CONSOLARO, 2009).

Há um processo fisiológico denominado hemostasia cujo objetivo do organismo é manter o sangue em estado fluido dentro dos vasos sanguíneos (FURIE, 1988; REZENDE, 2010, LORENZI, 2011). Após a lesão do vaso ocorre a hemostasia primária envolvendo a vasoconstrição, adesão plaquetária, ativação do mecanismo de coagulação, diminuindo a permeabilidade vascular e mantendo o tônus

da rede vascular (PATTON, 2008; LORENZI, 2011; KIERSZENBAUM; TRES, 2012; DAVOREN; WANG, 2016).

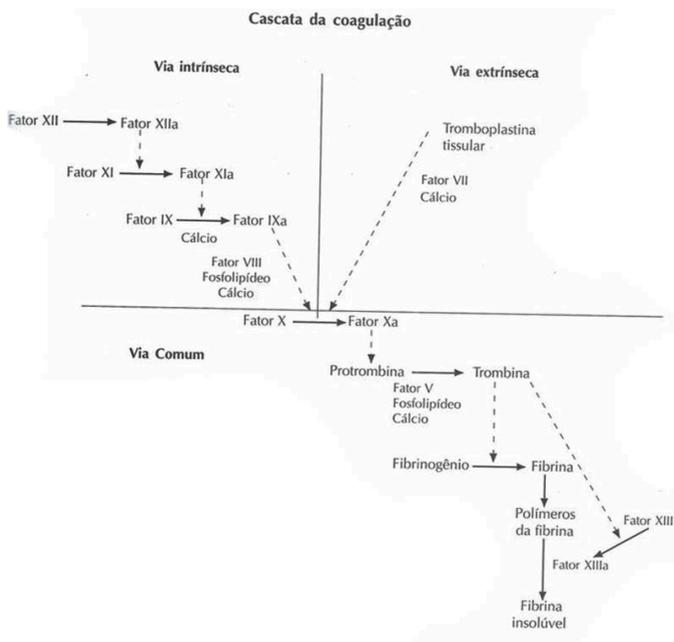


Imagem 7: Cascata da Coagulação.

Fonte: PATTON, 2008.

A hemostasia secundária resulta na formação de um coágulo capaz de obliterar a lesão vascular através da deposição de uma rede de fibrina entre as plaquetas agregadas. Esse processo é resultado do sistema de coagulação, que para Lorenzi (2011), possui a finalidade de transformação do fibrinogênio em fibrina e desenvolve-se em três vias distintas, inicialmente por uma via intrínseca e outra extrínseca que convergem ao ativar a via comum da coagulação (PATTON, 2008; REZENDE, 2010; DAVOREN; WANG, 2016).

Para Rezende (2010) a divisão dessas vias do ponto de vista fisiológico é incorreto mas é conveniente para fins didáticos e para interpretação de testes laboratoriais de coagulação. O processo da cascata de coagulação envolve múltiplas proteínas, tais como, fibrinogênio, protrombina, F V, VII, IX, XI, XII e XIII, e essas proteínas são dependentes da vitamina K (F. II, VII, IX e X). A via intrínseca do

sistema de coagulação ocorre quando o fator hageman é ativado pelo contato com o colágeno proveniente do vaso lesado e a via extrínseca é iniciada através da lesão vascular com a liberação do fator tissular denominado tromboplastina tecidual. Ocorrerá a união das vias, quando a tromboplastina tecidual (via extrínseca) se unir ao F VII ligado ao cálcio formando um complexo capaz de ativar os fatores IX (via intrínseca) e Fator X resultando assim em uma via comum. A via ocorre quando o fator X é ativado convergindo para o Fator Xa, responsável por converter a protrombina em trombina conforme, esquema demonstrado na imagem 7.

A formação da trombina é o ponto essencial da via comum do mecanismo da coagulação pois esta é responsável por agir sobre fibrinogênio transformando-o em fibrina, que resultará na formação de uma rede permitindo a adesão plaquetária. A fibrina na inflamação serve para apoio e locomoção do neutrófilo, impede a disseminação do agente agressor para os tecidos adjacentes, interfere na ativação das plaquetas e na formação da rede de fibrina que vai incorporar a rede plaquetária formada na hemostasia primária tornando-o em um coágulo firme que impedirá a perda hemorrágica (LORENZI, 2011; KIERSZENBAUM; TRES, 2012).

Desta forma, vários mediadores químicos agem ao mesmo tempo, por exemplo, a trombina ativa estimula as células endoteliais a expressarem moléculas de adesão em sua superfície permitindo maior adesão dos leucócitos, quando há a transformação do fibrinogênio em fibrina são liberados pequenos fragmentos moleculares protéicos denominados fibrinopeptídeos, que irão aumentar a permeabilidade vascular e fazer quimiotaxia para o neutrófilo. Sempre que há a ativação da cascata de coagulação tem-se juntamente a ativação do sistema fibrinolítico, que irá degradar a fibrina modulando, desta forma, a coagulação sanguínea evitando que seja em excesso. Os produtos dessa degradação promovem a quimiotaxia para os leucócitos a fim de eliminarem os agentes inflamatórios e limparem a região preparando-a para o reparo. (CONSOLARO 2009; HALL, 2011; LORENZI, 2011).

Conclui Consolaro (2009) que os mediadores químicos do exsudado inflamatório tem grande importância terapêutica no controle dos sinais e sintomas da inflamação através da sua inibição ou estímulo por fármacos implicando em conforto ao paciente e o controle da instalação do processo de reparo em períodos pós-operatórios.

3.5 Efeito da Terapia Medicamentosa Anti-Inflamatória no Processo Inflamatório e Cascata da Coagulação

A compreensão dos mecanismos inflamatórios e reparatórios permite o entendimento e a ação dos efeitos dos anti-inflamatórios, para

Consolaro (2009) a expressão "drogas anti-inflamatórias" é equivocada porque não se objetiva inibir por completo o processo inflamatório pois ele é essencial para o reparo tecidual. O objetivo é controlar e modular o processo inflamatório, principalmente, nas situações pré, trans e pós cirúrgicas. Além do que, entender a resposta inflamatória e os seus sinais clínicos, sintomas e suas evoluções é fundamental na escolha da opção terapêutica, diagnóstico e prognósticos de quadros clínicos inflamatórios (WANNMACHER, 2007).

Dois fenômenos são marcantes na inflamação, a exsudação plasmática pela saída de substâncias do vaso no local agredido formando o exsudato inflamatório podendo produzir tumefação e edema. E a chegada de células inflamatórias formando o infiltrado inflamatório a fim de exercer funções defensivas contra o agente infeccioso podendo gerar efeitos indesejáveis como dor intensa, destruição tecidual abundante, alterações sistêmicas, edema abundante, reabsorções indesejáveis de tecido mineralizado ósseo e dentário (WANNMACHER, 2007; CONSOLARO, 2009; TORTAMANO; ARMONIA, 2010).

A sensação dolorosa tem finalidade protetora sendo aceita com uma advertência para o paciente e serve ainda como um guia clínico para o diagnóstico. As mudanças celulares e vasculares do processo inflamatório agudo, darão origem a síntese e liberação dos mediadores químicos e esses fatores locais irão sensibilizar as terminações nervosas nociceptivas causando a dor inflamatória. Períodos prolongados de dor e inflamação estão relacionadas a formação das prostaglandinas através da cascata do ácido araquidônico (TORTAMANO, 2001; ANDRADE, 2006).

Em uma cirurgia odontológica após estímulo ativador, ou seja, a lesão tecidual, os fosfolípidos das membranas celulares darão origem ao ácido araquidônico por intermédio da enzima fosfolipase A2, esse ácido graxo rapidamente sofre ação de outros dois sistemas enzimáticos: lipoxigenase e cicloxigenase com suas duas isoformas, cicloxigenase 1 (COX 1) e cicloxigenase 2 (COX 2) (TORTAMANO, 2001; ANDRADE, 2006; PINHEIRO; WANNMACHER, 2007).

O ácido araquidônico sofrerá influência da enzima COX 1 ou COX 2 gerando produtos diferentes, tais como, a prostaglandina (PGG2) que ao sofrer a ação de peroxidação resulta na Prostaglandina (PGH2). A PGH2 também poderá gerar o eicosanóide tromboxano pela ação de enzima tromboxano A2 sintetase, uma enzima associada ao retículo endoplasmático expressa nas plaquetas. O Tromboxano (TXA₂) é um potente vasoconstritor e agregador plaquetário (YORK, 2002).

A partir da PGH2, podem ser produzidas 4 prostaglandinas activas da série 2: a Prostaglandina D2 (PGD₂), a Prostaglandina E2 (PGE₂), a Prostaglandina F2 (PGF₂) e a Prostaglandina I2 (PGI₂ ou prostaciclina). Cada qual com ações diversificadas, dependendo do

tecidos-alvo, mediadores e receptores. Entre os mais relevantes podemos enumerar: ação vasodilatadora sistêmica (PGE₂ e PGI₂), inibição da agregação plaquetária (PGI₂), recrutamento de leucócitos na resposta inflamatória (PGE₂ e PGF₂) (YORK, 2002).

O ácido araquidônico através da LOX irá gerar subprodutos como os leucotrieno e os ácidos hidroxicicosatetraenoicos (HETEs). No grupo dos HETEs o principal produto está identificado com a regulação da resposta inflamatória através da quimiotaxia, medeiam a degranulação dos leucócitos polimorfonucleados. Na via dos Leucotrienos, os HPETEs são os seus precursores, e como são instáveis, rapidamente são reduzidos pela ação da enzima peroxidase (5-LOX) a 5-HPETE. Os leucotrienos são, em geral, substâncias pró-inflamatórias, promovem o aumento da permeabilidade vascular e estão associados à estimulação da ação dos leucócitos, complementando o papel dos HETEs (YORK, 2002).

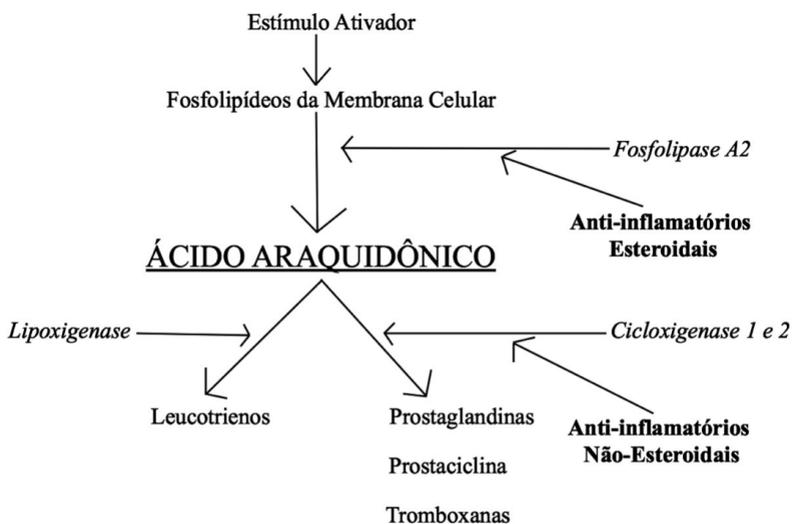


Figura 8: Cascata do ácido araquidônico. Ação das enzimas fosfolipase, cicloxigenase e lipoxigenase. Mecanismo de ação dos anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais.

Fonte: WANNMACHER, 2007.

Os medicamentos anti-inflamatórios irão atuar em algum ponto do ciclo do ácido araquidônico, modulando a produção dos seus subprodutos, tais como, as prostaglandinas, tromboxanas e os

leucotrienes, promotores essenciais da resposta inflamatória (ANDRADE, 2006).

O princípio de ação dos anti-inflamatórios esteroidais ou corticoesteroidais baseia-se na indução da síntese da lipocortina, inibidor da fosfolipase A2, levando a inibição da mobilização dos fosfolípidos, a menor ativação do ciclo ácido araquidônico e dos seus produtos finais, reduzindo assim a exacerbação do processo inflamatório. Saliencia Consolaro (2009) que é indispensável uma anamnese criteriosa do paciente devido aos efeitos indesejados dos corticosteroides. Entre eles estão listados a hiperglicemia, hiperlipidemia, hipertensão, trombose, gastrite, entre outros. Para tal, no âmbito da odontologia, Andrade (2006) recomenda o uso no pré-operatório em doses únicas, preferencialmente, pela manhã quando os níveis de cortisol estão altos e causam menos interferência no eixo hipotálamo adrenal hipofisário diminuindo os efeitos adversos. Quando utilizados para controlar efeitos pós-operatórios de procedimentos cirúrgicos Wannmacher (2007) recomenda o uso de 48 a 72 horas a fim de evitar efeitos indesejáveis.

Os anti-inflamatórios não esteroidais ou não hormonais (AINES) são amplamente prescritos por obterem poucos efeitos colaterais e mínimas contra-indicações, baixo custo e boa efetividade. John Vane, em 1971, descreveu o mecanismo de ação dos AINES pela inibição da cicloxigenase (COX), desta forma, não haveria a transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas (FERREIRA *et al.*, 1997; WANNMACHER, 2007; CONSOLARO, 2009). A origem da sua natureza química são variadas, sendo assim, seus efeitos diferem de fármaco para fármaco. Praticamente todos possuem efeito antiedemogênicos, analgésicos e antitérmicos mas a escolha da droga anti-inflamatória ideal depende de qual efeito que se obter predominantemente (TORTAMANO; ARMONIA, 2001; CONSOLARO 2009).

De acordo com cada cicloxigenase parece interessante utilizar os fármacos que apresentam especificidade pela COX 2 pois diminuem os efeitos adversos decorrentes da inibição da COX 1, sendo elas, irritação gástrica, sangramento gastroesofágico e diminuição da adesividade plaquetária, uma vez que, a COX 1 é uma enzima constitutiva de células endoteliais, rins e estômago responsável por funções fisiológicas protetoras de mucosa gástrica e parênquima renal. Em contra partida a COX 2 é formada pela indução de estímulos mitogênicos e inflamatórios; neste caso, teoricamente, a inibição da COX 2 impediria o processo inflamatório sem interferir nos efeitos protetores da COX 1. Mas na prática a seletividade parcial da COX 2 demonstraram efeitos nocivos sobre o sistema cardiovascular restringindo seu uso (TORTAMANO, 2001; ANDRADE, 2006; PINHEIRO; WANNMACHER, 2007; CONSOLARO, 2009).

A terapêutica com AINEs dura por cerca de 3 dias, período pelo qual ocorre o pico do processo inflamatório. A droga padrão deste grupo é a Aspirina (Ácido Acetilsalicílico) que possui boa atividade analgésica se empregada na dosagem de 500mg a 650mg, entretanto, para se obter uma ação antiinflamatória deste composto são necessários de 4 a 5 gramas diários. São exemplos de especialidades farmacêutica bastante prescritas dos AINEs na odontologia: Ácido acelsalicílico (500mg), Diclofenaco de potássio (50mg), Aceclofenaco (100mg), Naproxeno (250mg, 275mg, 500mg e 550mg), Ibuprofeno (600mg), Piroxican (20mg), Etoricoxibe (200mg), sendo os AINEs de alta seletividade de COX 2 o Celecoxib (200mg) e Arcóxia (120mg), inibidores preferencialmente da COX 2 Nimesulida (100mg) e Meloxican (15mg) (TORTAMANO, 2001; ANDRADE, 2006).

A terapêutica anti-inflamatória tem como finalidade o controle dos efeitos indesejáveis da ação excessiva das substâncias e células que constituem este mecanismo de defesa sem atrapalhar os mecanismos de defesa reparatória (CONSOLARO, 2009).

3.6 Efeitos da terapia anti-inflamatória e propriedades do PRF

Recaptulando, após a agressão tecidual e a lise vascular, essa agressão é controlada pela combinação de vasoconstrição, ativação plaquetária, ativação da cascata de coagulação, sistema complemento e de cininas. Essas alterações celulares e vasculares darão origem ao exsudato inflamatório e a síntese e liberação dos mediadores químicos da inflamação e, com isso, podem causar a dor inflamatória. Períodos prolongados de dor estão relacionados com a formação de prostaglandinas, através do ácido araquidônico que é o responsável pelas vias dos leucotrienos e das cicloxigenares. Anti-inflamatórios surgem para controlar a inflamação aguda evitando seu quadro clínico de dor, tumefação, hiperemia local, rubor e perda de função local, febre, cefaléia, mialgia através do bloqueio da enzima cicloxigenase, com isso há resposta sobre a vasodilatação, estimuladores de agregação plaquetária e atração dos leucócitos (ANDRADE, 2006; FARIA, 2008; CONSOLARO 2009).

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos, em seu plasma contém muitas proteínas que servem como receptores para agonistas que iniciam a ativação plaquetária, ou moléculas adesivas que medeiam adesão e agregação plaquetária. Entre eles, o receptor GP (glicoproteína) ib-IX-V é o principal, após ser ativado, há a ligação do fator Willebrand (vWF), fibrinogênio ou adesivos multivalentes ao receptor GPIIb-IIIa responsável pela agregação plaquetária. O fibrinogênio possui pelo menos três locais de reconhecimento de plaquetas, com isso,

demonstram sua importância na mediação tanto da adesão quanto da agregação das plaquetas (WHITE; JENNINGS, 1999a).

As plaquetas ativas, elas mudam a sua conformação e liberam o conteúdo dos seus grânulos no plasma, entre eles, produtos de oxidação do ácido araquidônico pela via da ciclooxigenase. O ácido araquidônico sofrerá influência da enzima COX 1 ou COX 2 gerando produtos diferentes, tais como, a prostaglandina que possui ação vasodilatadora, inibição plaquetária e recrutamento de leucócitos. E irá gerar Tromboxano que é um potente vasoconstritor e agregador plaquetário. O ácido araquidônico através de outra enzima LOX irá gerar o leucotrieno que possuem substâncias pró-inflamatórias, promovem o aumento da permeabilidade vascular e estão associados à estimulação da ação dos leucócitos (YORK, 2002). Os AINEs irão inibir as enzimas COX1 e COX2 impedindo a formação dos seus subprodutos, entre eles, a prostaglandina e, desta forma, diminuindo a atividade e agregação plaquetária que influenciará na menor ativação da cascata de coagulação (WANNMACHER, 2007).

A inflamação é reconhecida por promover vasodilatação, quimiotaxia para neutrófilos, macrófagos e mastócitos. No entanto, estudos recentes mostraram que o fator de necrose tumoral (TNF alfa) e o Interferon gama (IFN-gama) produzidos por células T pró-inflamatórias podem inibir a reparação e remodelação óssea. Desta forma, as células T pró-inflamatórias modificaram a regeneração óssea mediada por células tronco mesenquimais da medula óssea (BMMSC) que são células estaminais multipotentes, não hematopoéticas capazes de se diferenciar em tipos de células mesenquimais e não mesenquimais, incluindo osteoblastos, adipócitos e condrócitos, desta forma, podem gerar tecidos associados aos ossos para substituir tecidos perdidos (PROCKOP, 1997).

A aspirina é um agente anti-inflamatório não esteróide amplamente utilizado, este medicamento se liga ao receptor GPIIb-IIIa das plaquetas com alta afinidade e inibe a ligação do fibrinogênio e do vWF após a ativação das plaquetas inibindo assim, a agregação plaquetária (WHITE; JENNINGS, 1999b). Inibe também a osteoclastogênese e melhora a osteogênese afetando múltiplas vias biológicas, como a inibição da atividade de COX2, COX1 e PGE2. No estudo do modelo animal, o tratamento com aspirina melhora a formação óssea e inibe a reabsorção óssea em camundongos osteoporóticos o que pode associar-se à regulação positiva induzida por aspirina na inibição do TNF-alfa e IFN-gama em BMMSC (YAMAZA *et al.*, 2008).

Os estudos de Du *et al.*, (2017) observou a associação tópica da aspirina com PRF no local cirúrgico. Com base nas propriedades da aspirina na regeneração óssea, demonstraram *in vitro* que o PRF é o andaime perfeito para liberação da aspirina no local do reparo. Por

possuir capacidade de aumentar a proliferação de fibroblastos aumentando a síntese de colágeno que serve como andaime para as células, pela liberação lenta de fatores de crescimento aumentando a proliferação celular e a síntese da matriz extracelular promovendo a cicatrização de feridas e a regeneração do tecido ósseo (CHOUKROUN *et al.*, 2006a; DOHAN *et al.*, 2006a; DOHAN *et al.*, 2006b; DOHAN *et al.*, 2006c). Ainda vinculado ao trabalho de Du *et al.*, os autores concluíram que o complexo aspirina com PRF é benéfico como método terapêutico para uso clínico, com uma habilidade de regeneração superior a PRF padrão.

O presente estudo obteve uma limitação do estudo devido a falta de literatura relacionando a existência direta da influência da medicação anti-inflamatória de uso sistêmico no sucesso do reparo ósseo e tecidual após utilização do PRF.

4. RESULTADOS

O resumo dos trabalhos analisados, seu sucesso clínico, bem como seu preparo e medicação anti-inflamatória estão resumidos no quadro 1.

Sharma e Pradeep (2011) demonstraram que o PRF poderia ser utilizado como membrana de regeneração tecidual guiada (GRT) em lesões de furca grau II. A pesquisa foi realizada com 18 pacientes contendo 36 defeitos de furca grau II mandibular, usando o modelo de estudo boca dividida, nos dois grupos foi realizada a raspagem a campo aberto e do grupo teste recebeu o preenchido do defeito de furca com PRF, as margens mucoperiosteais foram reposicionadas e fixadas com a sutura. Em conclusão, o PRF mostrou ser uma modalidade efetiva na terapia no tratamento regenerativo no defeito de furca grau II, e comparando os resultados obtidos os autores constataram que todos os parâmetros clínicos e radiográficas foram melhores no PRF em comparação aos resultados anteriores na literatura com o PRP.

Ainda vinculado ao trabalho de Sharma e Pradeep, não foram observadas diferenças de cicatrização dos tecidos moles e duros entre os grupos. Nos 9 meses os locais teste apresentaram redução significativamente da PD que o grupo controle, com uma diferença de 2,17mm. O ganho de nível de inserção (CAL) foi maior no grupo teste, e o grupo teste apresentou preenchimento vertical 2 vezes maior do que os de controle.

A pesquisa de Patil e Kapadia (2015) avaliou o PRF juntamente com o aloenxerto de osso liofilizado na reconstrução dos tecidos periodontais perdidos (defeito de 3 paredes). Esses pacientes foram submetidos a raspagem de campo aberto e a enxertia com o PRF

juntamente com o aloenxerto de osso liofilizado. Após a reavaliação em 6 meses foi constatada a redução da profundidade de sondagem com ausência de sangramento, assim como preenchimento ósseo após observação radiográfica. Os autores concluem que o PRF é eficaz no tratamento de perdas periodontais e mais econômico do que outro material regenerativo disponível.

A associação do PRF com o mesmo enxerto (DFDA) foi utilizada em outro estudo de boca dividida para regeneração de defeitos intra-ósseos periodontais (Bharti e Bansal, 2013). Nos dois grupos foi realizada a raspagem a campo aberto e regeneração com DFDA, sendo que em um dos grupos se associou o PRF ao DFDA. Com a utilização de PRF foi possível obter uma maior redução da profundidade da bolsa e um maior ganho de nível de inserção. O índice de placa, de sangramento, de preenchimento ósseo e de reabsorção da crista alveolar não foram significantes. Desta forma, os autores concluem que o PRF com DFDA demonstrou melhores resultados na busca de redução de profundidade da bolsa e ganho de inserção clínico em comparação com DFDBA sozinho.

O ensaio clínico randomizado do tipo boca dividida desenvolvido por Marenzi *et al.*, (2015) com 26 pacientes necessitando de múltiplas extrações, totalizando 108 extrações. Avaliou a dor após a cirurgia através da Escala Analógica Visual (VAS) apresentando resultados na redução da dor no grupo teste, bem como, melhor cicatrização de tecidos moles também foi observada através da avaliação clínica utilizando o Índice de Cura Modificado, que avalia sangramento, supuração, cor do tecido e consistência do tecido cicatricial. Os autores concluem que os resultados relatados sugerem que o uso de PRF é eficiente e útil para gerenciar a dor pós-operatória e melhorar o processo de cicatrização de tecidos moles alveolares, especialmente no primeiro dias após as extrações, reduzindo os efeitos adversos iniciais da inflamação.

Temmerman *et al.*, (2016) selecionaram 22 pacientes com extrações bilaterais para estudo do tipo boca dividida, para avaliar o PRF como material de preservação alveolar no grupo teste, e no grupo controle o reparo natural. Neste estudo também foi avaliado a dor e edema pós-operatório por meio do questionário de dor de McGill (MPQ-DLV) e cada participante preenchia o questionário a cada 4 horas durante 7 dias da qual pode-se constatar menor quantidade de dor no grupo teste. Os autores concluíram que o uso do PRF é eficiente como material de preenchimento do alvéolo para preservação de dimensão horizontal e vertical, três meses após a extração do dente.

Kumar *et al.* (2015) também avaliaram o efeito da PRF na dor pós-operatória e na regeneração óssea em 31 pacientes sujeitos a exodontia do terceiro molar mandibular. No grupo teste foi colocado o PRF e no grupo controle cicatrização ocorreu de forma natural. A dor, o

inchaço e o trismo foram menores no grupo teste em comparação com o grupo controle no primeiro dia pós-operatório. O reparo periodontal foi mais rápido no grupo teste com redução da profundidade de bolsa periodontal. Os escores de densidade óssea nos três meses pós-operatórios foram maiores no grupo teste em comparação com o grupo controle, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa. Os autores concluíram que a aplicação de PRF reduz a gravidade das sequelas pós-operatórias imediatas, reduz a profundidade da bolsa periodontal e acelera a formação óssea.

O ensaio clínico de Anwandter *et al.*, (2016) avaliou as alterações dimensionais clínicas e radiográficas da crista alveolar nos primeiros 4 meses após preservação alveolar com L-PRF em 18 pacientes. Concluiu-se que o PRF trouxe benefícios como a qualidade do osso regenerado e menor reabsorção óssea quando comparado com a literatura existente.

Bains *et al.*, (2016) avaliaram a associação de PRF com Fosfato de Beta Tricálcio com Colágeno (B-TCP-CI) na preservação alveolar de 26 pacientes. Para isso realizaram medições clínicas com um *stent* de acrílico, confeccionaram modelos de gessos para medição das dimensões horizontais e verticais e foram realizadas tomografias computadorizadas às 24h e 6 meses. No final de 6 meses foram realizadas biópsias dos dois grupos. Os dois materiais foram eficazes na preservação alveolar, obtendo-se resultados semelhantes. Porém, por se tratar de um material autólogo, econômico e imunomodulatório favorece a utilização do PRF revelando uma visão melhor do futuro.

Peck, Marnewick, Stephen (2011) obtiveram sucesso clínico com o uso do PRF na preservação do rebordo alveolar após exodontia. Após 1 semana não havia sinais de inflamação e a membrana de PRF estava exposta ao ambiente oral e não houve nenhum sinal de desintegração. E após 6 semanas foi realizada a colocação de implante e a qualidade do osso formada permitiu torque de inserção do implante superior a 35 N e carga imediata.

Quadro 1: Sucesso Cirúrgico com Fibrina Rica em Plaquetas. Legenda: Ensaio Clínico Randomizado (ECR); Profundidade de Sondagem (PS); índice de sangramento do sulco (SBI); Ganho de Nível de Inserção (CAL); Fosfato de Beta Tricálcio com Colágeno (B-TCP-Cl); Aloenxerto de Osso liofilizado Desmineralizado (DFDBA); Sem marca S/M; Sem protocolo S/P; RCA (Raspagem a campo Aberto).

Artigo (autor e ano)	Tipo de estudo	Grupos	Tipo de cirurgia	Preparo do PRF	Medicação anti-inflamatória	Avaliação pós-operatória	Sucesso Clínico
SHARMA; PRADEEP, (2011)	ECR Boca dividida	Teste: RCA e PRF Controle: RCA (18 pacientes)	Tratamento de defeitos de furca grau II mandibulares	3.000 rpm/ 10min S/M	Ibuprofeno 800mg 8/8h	9 meses	Teste: Redução da PS, aumento de CAL e preenchimento vertical maior.
PATIL; KAPADIA, (2015)	Relato de Casos	PRF + DFDBA (2 pacientes)	Tratamento de defeito ósseo periodontal	2.700 rpm/ 10min S/M	Piroxican 12/12h por 5 dias	1 semana, 6 meses	Redução da PS. Ausência de sangramento. Grande preenchimento ósseo radiograficamente.
BHARTI; BANSAL, (2013)	ECR Boca dividida	Teste: PRF + DFDBA Controle: DFDBA (10 pacientes)	Tratamento de defeito ósseo periodontal	3.000 rpm/ 10min S/M	Ibuprofeno 400mg 8/8h	3 meses, 6 meses	Teste: Redução de PS e ganho de inserção clínica.

Artigo (autor e ano)	Tipo de estudo	Grupos	Tipo de cirurgia	Preparo do PRF	Medicação anti-inflamatória	Avaliação pós-operatória	Sucesso Clínico
MARENZI et al., (2015)	ECR Boca dividida	Teste: PRF Controle: Coágulo (26 Pacientes)	Exodontia bilateral	2.700 rpm/ 12min (Intra-Spin L-PRF, Intra-Lock)	Não utilizou AINES	Dor: 24, 48 e 72 horas Cicatrização do tecido: 3, 7, 14, 21 dias	Teste: Menor dor pós-operatória, cicatrização maior e fechamento do alvéolo mais rápido.
TEMMERMAN, (2016)	ECR Boca dividida	Teste: PRF Controle: Coágulo (22 pacientes)	Exodontia bilateral	2700 rpm/ 12min (IntraSpin, IntraLock, Boca Raton, Flórida, EUA)	Ibuprofen 600 mg 8/8h durante 2 dias	Inicial, 3 meses	Teste: Menor desconforto e dor pós-operatória e maior preservação alveolar.
KUMAR et al., (2015)	ECR Caso Controle	Teste: PRF (16 pacientes) Controle: Coágulo (15 pacientes) (31 pacientes)	Exodontia	3000 rpm/ 10 min S/M	Aceclofenaco 12/12h;	1 dia, 1 mês e 3 meses	Teste: Menor dor pós operatória e redução do edema no pós operatório. Redução da PS e maior densidade óssea.

Artigo (autor e ano)	Tipo de estudo	Grupos	Tipo de cirurgia	Preparo do PRF	Medicação anti-inflamatória	Avaliação pós-operatória	Sucesso Clínico
ANWANDTER et al., (2016)	Estudo Clínico não controlado	PRF (18 pacientes)	Exodontia	2700 rpm/ 12 min (Process PCO2 PC-021, Process Ltd.1, Nice, França)	Ketoprofen 100 mg	Dia da cirurgia e 4 meses após	Preservação da crista alveolar, qualidade do osso regenerado, reabsorção óssea menor quando comparado com a literatura.
BAINS et al., (2016)	ECR	Teste: PRF (14 pacientes) Controle: (B-TCP-Cl) (12 pacientes) (26 pacientes)	Exodontia	S/P (REMI Laboratorios Índia)	Ibuprofeno 500mg	24h, 6 meses	PRF com resultados semelhante ao fosfato de beta-tri-cálcio com colágeno.
PECK; MARNEWICK; STEPHEN, (2011)	Relato de caso	PRF (1 paciente)	Exodontia	S/P (PLC-03, Hi-care International Taiwan)	Não utilizou AINES	1 semana, 6 semanas	Sem evidência de inflamação na primeira semana. Sucesso na preservação alveolar e qualidade de osso formada.

5. DISCUSSÃO

Importante esclarecer inicialmente, que a pesquisa bibliográfica, conforme os critérios estabelecidos na metodologia, resultou em um número significativo de pesquisas, porém, com pouca aderência ou foco na avaliação ou relação da terapia sistêmica anti-inflamatória e uso do PRF no local cirúrgico. Devido a isso, foram selecionados trabalhos que possuem semelhanças para análise e comparação dos seus resultados e possíveis interferências medicamentosa no sucesso cirúrgico e os mesmos, são apresentados e discutidos na sequência.

No que tange a importância dos componentes sanguíneos, observou-se que entre as propriedades das células do sangue exploradas pelos agregados plaquetários, as plaquetas são peça chave, uma vez que, atuam na hemostasia, defesa do hospedeiro e reparo de tecidos. As membranas das plaquetas possuem grânulos, entre eles, os α -grânulos, que irão permitir a liberação de fatores de crescimento, entre eles, VEGF, PDGF, IGF, TGF- β , PDAF, esses fatores irão favorecer a cicatrização e restauração da integridade vascular e, em comparação com outros concentrados de plaquetas, o PRF libera esses FCs por um período mais longo, otimizando assim a cicatrização das feridas (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001; BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009).

Devido ao uso para diferentes fins terapêuticos, aliado aos resultados positivos conforme a aplicação, mas também devido a sua estrutura, fácil obtenção e manuseio (DOHAN *et al.*, 2006a; DOHAN *et al.*, 2006b) observa-se na literatura uma soberania do PRF em comparação aos outros agregados plaquetários de primeira geração. Em relação a sua estrutura, conforme afirmado por Dohan *et al.*, (2006b), a mesma possui capacidade de estimular tanto o crescimento de osteoblasto, quanto de células do ligamento periodontal, ambos significativos para a regeneração de defeitos periodontais (TSAI *et al.*, 2009; EHRENFEST *et al.*, 2010a).

Analisando os resultados positivos nas diferentes aplicações do PRF, os autores Choukroun *et al.*, (2006a) afirmaram que o PRF pode ser considerado como um biomaterial de cicatrização por possuir todos os parâmetros necessários permitindo o reparo ideal. Corroborando o descrito desses autores, as pesquisas analisadas mostraram sucesso cirúrgico com PRF nos defeitos ósseos periodontais (SHARMA; PRADEEP, 2011; BHARTI; BANSAL, 2013; PATIL; KAPADIA, 2015), preservação alveolar (MARNEWICK; STEPHEN, 2011; MARENZI, 2015; KUMAR *et al.*, 2015; ANWANDTER *et al.*, 2016; BAINS *et al.*, 2016; PECK; TEMMERMAN, 2016), diminuição da dor pós-operatória (MARENZI *et al.*, 2015; TEMMERMAN, 2016; KUMAR *et al.*, 2015), tratamento de leões endodônticas e periodontais

e no levantamento de seio maxilar (PRAKASH; THAKUR, 2011), entre outros.

Independentemente das limitações de comparação, observou-se a diminuição da dor pós-operatória nos estudos de Temmerman *et al.*, (2016) Kumar *et al.* (2015) e Marenzi *et al.*, (2015) afirmando a influência positiva do PRF na redução dos efeitos adversos iniciais da inflamação durante os primeiros dias. As principais explicações para esse fato incluem o efeito de apoio do sistema imunológico, a proteção de fatores de crescimento que estimulam as funções biológicas (quimiotaxia, angiogênese, diferenciação e modulação) descritas por Dohan *et al.*, (2006c).

Castro (2016) em sua revisão sistemática e meta análise encontrou resultados favoráveis na cicatrização de tecido duro e macio e redução do desconforto pós-operatório no tratamento com PRF. Ademais, para obter um efeito ótimo do PRF são essenciais a padronização dos protocolo de obtenção, tempo de manejo rápido a fim de evitar a coagulação do sangue, bem como, da experiência do clínico para sua manipulação e técnica cirúrgica minimamente traumática (LEKOVIC *et al.*, 1997; DOHAN *et al.*, 2006; GUPTA *et al.*, 2011). No entanto, a disponibilidade de grande quantidade de material para PRF pode limitar seu uso (BAINS *et al.*, 2016).

Os estudos de Patil e Kapadia (2015) e de Bharti e Bansal (2013) avaliaram o PRF associado ao DFDBA obtendo resultados positivos, Bains *et al.*, (2016) avaliou o PRF comparado com o B-TCP-Cl e a eficácia dos dois materiais foi comprovada, porém, o PRF se destaca devido a sua vantagem ao ser autólogo, barato, imunomodulatório e não deixa partículas residuais nos locais preservados (ANWANDTER *et al.*, 2016).

O grande diferencial do PRF quando comparado com os outros agregados plaquetários é a sua estrutura 3D, isso é devido ao seu processo de centrifugação que leva a formação de uma rede de fibrina flexível que permite uma maior incorporação de citocinas plaquetárias em suas malhas de fibrina (DOHAN, 2006b). Segundo Ehrenfest *et al.* (2009) essa rede libera uma quantidade significativa de FCs, citocinas pró-inflamatórias e proteínas de cicatrização, durante 7 dias no protocolo de obtenção do PRF padrão e os estudos de Kobayashi *et al.*, (2016) identificaram essa liberação até 10 dias pelo método de obtenção do A-PRF. Desta forma, o PRF pode ser considerado imunomodulatório favorável para uma cicatrização sem excesso inflamatório (DOHAN, 2006c).

Com exposto e em referência a desmitificação do processo de obtenção do PRF, os seus diferentes protocolos de obtenção influenciará diretamente sobre as características do produto final obtido. Por exemplo, por exemplo, diminuir o rpm enquanto aumenta o tempo de centrifugação gerou maior presença granulócitos neutrofílicos no PRF

(CHOUKROUN, 2014), se utilizar uma velocidade alternada da centrífuga produzirá uma fibrina mais densa e rica em fatores de crescimento (SOHN *et al.*, 2015), aumentando a velocidade e o tempo de centrifugação irá gerar uma forma líquida de PRF (MOURÃO *et al.*, 2015). Por tanto, Ehrenfest *et al.*, (2017) descreveram que os tamanhos e pesos diferentes das centrifugas levam a uma intensidade diferente de vibração e ressonância e isso influencia diretamente na arquitetura da fibrina.

O sucesso da técnica do PRF é depende do seu correto protocolo de obtenção, tempo de manejo rápido a fim de evitar a coagulação do sangue, bem como, da experiência do clínico para sua manipulação e técnica cirúrgica minimamente traumática (LEKOVIC *et al.*, 1997; DOHAN *et al.*, 2006; GUPTA *et al.*, 2011). No entanto, a disponibilidade de grande quantidade de material para PRF pode limitar seu uso (BAINS *et al.*, 2016).

Choukroun (2014) identificou técnicas de obtenção do PRF que visam aproveitar o máximo das propriedades de todas as células do sangue, células brancas, plaquetas, células estaminais circulantes e células endoteliais. Desta forma, o PRF surge como um coágulo potencializado e otimizado.

Explorar o processo inflamatório possibilitou o entendimento desse mecanismo de defesa tecidual mediado por seus agentes efetores e a ação e mecanismo dos anti-inflamatórios (Consolaro, 2009), bem como, a evolução desse processo para o reparo e reconstrução tecidual (Faria, 2008). Na otimização do processo de cicatrização surge a bioengenharia tecidual com utilização de biomateriais objetivando a melhor reconstrução tecidual (CONSOLARO, 2009; SILVA; JOLY; CARVALHO, 2010), entre eles, os derivados do plasma sanguíneo (MARX *et al.*, 1998).

O processo inflamatório surge como um mecanismo de defesa tecidual (Consolaro, 2009). Os mediadores químicos da infamação são diversos, entre eles, os derivados sistema de coagulação resultando em uma rede de locomoção de células, permitindo a adesão plaquetária, impedindo a disseminação do agente agressor e a formação de uma rede de fibrina formando pela sistema de coagulação (GOTTRUP; ANDREASEN, 2001). Os mediadores químicos derivados do ácido araquidônico irão influenciam na agregação plaquetária, permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos polimorfonucleares (YORK, 2002). Os anti-inflamatórios irão atuar em algum ponto do ciclo do ácido araquidônico modulando os seus subprodutos e controlando os efeitos indesejáveis da ação excessiva das células que constituem esse mecanismo de defesa (Consolaro, 2009).

Um dos principais AINEs com ação antiagregantes plaquetários descritos na literatura é a aspirina, ao se ligar ao receptor específico das plaquetas, ela inibe a ligação do fibrinogênio e fator vWF a esses

receptores impedindo a formação do coágulo e adesão das plaquetas ao subendotélio lesado, respectivamente (WHITE; JENNINGS, 1999b).

A inflamação é reconhecida por promover células ao local de reparo, no entanto, estudos recentes mostraram que o TNF alfa e TNF gama produzidos pelas células T pró-inflamatórias inibem a remodelação óssea mediada pelas BMMSC, com isso, não há diferenciação de osteoblasto, adipócito e condócito (PROCKOP, 1997).

A saber, as propriedades da aspirina inibe a osteoclastogênese e melhora a osteogênese por inibir as células T pró inflamatórias descritas por Yamaza *et al.* (2008), DU *et al.*, (2017) testaram *in vitro* a aspirina juntamente com o PRF como fonte de liberação tópica dessa aspirina no local cirúrgico, e o complexo aspirina e PRF obteve resultados superiores na regeneração óssea a somente o PRF isolado. Com isso, os autores constataram que este é um procedimento seguro para pesquisas clínicas *in vivo*. Os resultados encontrados com a Aspirina não podem ser extrapolados ao uso com outros AINEs devido aos seus mecanismos de ação diferentes, a ação da aspirina pode contribuir para múltiplas vias biológicas, como a inibição das atividades de COX2 e COX1 e PG2 (YAMAZA *et al.*, 2008).

Dos trabalhos selecionados e analisados no presente estudo, as pesquisas de Marenzi *et al.*, (2015) e Peck, Marnewich e Stephen (2011) não fizeram uso do anti-inflamatório sistêmico em suas intervenções cirúrgicas com o PRF, e os dois estudos apresentaram sucesso no reparo com PRF. Porém, a comparação direta do uso do anti-inflamatório com o não uso do anti-inflamatório sistêmico não pode ser realizado devido as limitações quanto ao uso de diferentes centrífugas para preparo do PRF (EHRENFEST *et al.*, 2017), diferentes tipo de cirurgias realizadas (LEKOVIC *et al.*, 1997) e princípios ativos e mecanismos de ação diferentes dos AINEs utilizados (MONTEIRO *et al.*, 2008).

A utilização clínica do PRF é recente porém tem apresentado resultados promissores na regeneração óssea e tecidual. No entanto, o futuro apresenta possibilidades de aperfeiçoamento do produto final e as suas técnicas de obtenção, bem como, a presença de mais estudos para concluir a relação simultânea entre o anti-inflamatório de uso sistêmico aliado ao sucesso cirúrgico com o PRF.

6. CONCLUSÕES

Com exposto, o presente trabalho atendeu aos seus objetivos, ao inicialmente identificar as interações do componentes sanguíneos nos processos que levam a cicatrização, posteriormente, identificando a evolução histórica dos agregados plaquetários. A evolução histórica, aponta para a otimização dos processos de obtenção do PRF, porém, salienta-se que, como demonstrado, as alterações nos protocolos de obtenção culminam em alterações nas características do produto final obtido. Contudo, observou-se, de forma satisfatória, que o PRF apresenta bons resultados para diferentes aplicações cirúrgicas, corroborando suas vantagens em relação aos demais agregados plaquetários.

Ressalta-se que, não foi foco do trabalho o aprofundamento das diversas especialidades farmacêuticas dos AINEs, mas conclui-se que os resultados obtidos pela Aspirina *in vitro* ao estimular a osteogênese não deve ser extrapolada a outro anti-inflamatório por apresentarem princípios ativos e mecanismos de ação diferentes dos outros AINEs.

Este estudo deseja enfatizar que o presente trabalho tem limitações ao que tange a análise relacionada ao sucesso cirúrgico do PRF quando comparado com o uso sistêmico do anti-inflamatório devido a carência de literatura existente e a comparação dos estudos é limitada devido aos tipos de estudos clínicos, protocolos diferentes de obtenção do PRF. Observa-se também a possibilidade de novas pesquisas, tanto no campo teórico, quanto no prático, de novos estudos relacionadas ao objetivo principal na avaliação da medicação anti-inflamatória no sucesso cirúrgico com PRF com a finalidade da potencialização dos resultados clínicos.

7. REFERÊNCIAS

AGRAWAL, Amit Arvind. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. **World Journal Of Clinical Cases**, [s.l.], v. 5, n. 5, p.159-171, 2017. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.12998/wjcc.v5.i5.159>.

AGRAWAL, Megha; AGRAWAL, Vineet. Platelet Rich Fibrin and its Applications in Dentistry- A Review Article Platelet Rich Fibrin and its Applications in Dentistry-A Review Article. **National Journal Of Medical And Dental Research**, [s. L.], v. 2, n. 3, p.51-58, abr. 2014.

CASTRO, Ana B. et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. **Journal Of Clinical Periodontology**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.225-234, 10 jan. 2017. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12658>.

ANDRADE, Eduardo Dias de. **Terapêutica Medicamentosa em Odontologia: Procedimentos Clínicos e Uso de Medicamentos nas Principais Situações da Prática Odontológica**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2006.

ANITUA, Eduardo. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **The International Journal Of Oral & Maxillofacial Implants**, [s. L.], v. 14, n. 4, p. 529-535, 1999.

ANITUA, Eduardo; ALKHRAISAT, Mohammad H.; ORIVE, Gorka. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 157, n. 1, p. 29-38, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.004>.

ANITUA, Eduardo et al. Leukocyte Inclusion within a Platelet Rich Plasma-Derived Fibrin Scaffold Stimulates a More Pro-Inflammatory

Environment and Alters Fibrin Properties. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. 1-19, 30 mar. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0121713>.

ANWANDTER, A. et al. Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with Leukocyte- and Platelet Rich Fibrin: A clinical pilot study. **Journal of Dentistry**, v. 52, p. 23-29, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2016.06.005>>.

BAIN, Barbara J.. **Células Sanguíneas: Um Guia Prático**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 488 p.

BAINS, Vivekkumar et al. Socket preservation by beta-tri-calcium phosphate with collagen compared to platelet-rich fibrin: A clinico-radiographic study. **European Journal Of Dentistry**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 264-276, 2016. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1305-7456.178298>.

BHARTI, Vipin; BANSAL, Chhaya. Evaluation of efficacy of autologous platelet-rich fibrin with demineralized-freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intrabony defects. **Journal Of Indian Society Of Periodontology**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.361-366, 2013. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-124x.115663>.

BLAIR, Price; FLAUMENHAFT, Robert. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. **Blood Reviews**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 177-189, jul. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2009.04.001>. Disponível em: <[http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X\(09\)00029-0/fulltext](http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X(09)00029-0/fulltext)>. Acesso em: 30 ago. 2017.

BORIE, Eduardo et al. Platelet-Rich Fibrin Application in Dentistry: A Literature Review. **International Journal Of Clinical And Experimental Medicine**, [s. L.], v. 8, n. 5, p.7922-7929, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4509294/>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

CASTRO, Ana B. et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. **Journal Of Clinical Periodontology**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.67-82, 24 nov. 2016. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12643>.

CHOUKROUN, Joseph et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 101, n. 3, p.56-60, mar. 2006a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.011>.

CHOUKROUN, Joseph et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. 299–303, 2006b..

CHOUKROUN, Joseph. Advanced PRF e i-PRF: Platelet Concentrates or Blood Concentrates? **Journal Of Periodontal Medicine e Clinical Practice**, [s.i], v. 1, n. 1, p.3-3, jan. 2014. Disponível em: <https://www.jpmpc.com/pdf/fo_rnet/3.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2017.

CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. Assembleia Legislativa. Atos Normativos nº 158, de 8 de junho de 2015. Regulamenta O Uso de Agregados Plaquetários Autólogos Para Fins Não Transfusionais no âmbito da Odontologia.. Brasília, Disponível em: <<http://cfo.org.br/legislacao/ato-normativo/?id=1927>>. Acesso em: 25 ago. 2017.

CONSOLARO, Alberto. **Inflamação e Reparo**: Um silabo para compreensão clinicas e implicações terapêuticas. Maringá: Dental Press International, 2009. 352 p.

DAVID, M Dohan Ehrenfest. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus,

clinical implications and perspectives. **Muscle, Ligaments And Tendons Journal**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.3-9, 2014. CIC Edizioni Internazionali. <http://dx.doi.org/10.11138/mltj/2014.4.1.0013>.

DAVIE, Earl W.; FUJIKAWA, Kazuo; KISIEL, Walter. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. **Biochemistry**, [s.l.], v. 30, n. 43, p.10363-10370, out. 1991. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi00107a001>.

DAVOREN, J. Ben; WANG, Sunny. Distúrbios do Sangue. In: HAMMER, Gary D.; MCPHEE, Stephen J.. **Fisiopatologia da Doença: Uma introdução à medicina clínica**. 7. ed. Porto Alegre: Amgh, 2016. Cap. 6. p. 114-144.

DOHAN, David M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 101, n. 3, p.37-44, mar. 2006a. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>>.

DOHAN, David M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 101, n. 3, p.45-50, mar. 2006b. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>.

DOHAN, David M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 101, n. 3, p.51-55, mar. 2006c. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.010>.

DU, J. et al. Platelet-rich fibrin/aspirin complex promotes alveolar bone regeneration in periodontal defect in rats. **Journal Of Periodontal Research**, [s.l.], p.1-10, 1 set. 2017. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jre.12485>.

DUGRILLON, A. et al. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. **International Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [s.l.], v. 31, n. 6, p. 615-619, dez. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1054/ijom.2002.0322>.

EHRENFEST, David M. Dohan; RASMUSSEN, Lars; ALBREKTSSON, Tomas. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). **Trends In Biotechnology**, [s.l.], v. 27, n. 3, p.158-167, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>.

EHRENFEST, David M. Dohan et al. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. **Growth Factors**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.63-69, jan. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/08977190802636713>.

EHRENFEST, David M. Dohan et al. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. **Archives Of Oral Biology**, [s.l.], v. 55, n. 3, p.185-194, mar. 2010a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.01.004>.

EHRENFEST, David M. Dohan et al. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. **Journal Of Periodontology**, [s.l.], v. 81, n. 4, p.546-555, abr. 2010b. American Academy of Periodontology (AAP). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1902/jop.2009.090531>>.

EHRENFEST, David M. Dohan et al. In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [s.l.], v. 13, n. 7, p.1131-1137, 1 maio 2012. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/138920112800624328>.

EHRENFEST, David M. Dohan 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**, [s.l.], p.1-14, 24 abr. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09537104.2017.1293812>. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537104.2017.1293812>>. Acesso em: 30 ago. 2017.

FARIA, José Lopes. **Patologia Geral: Fundamentos das Doenças, com Aplicações Clínicas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.a, 2008. 298 p.

FERREIRA, S. H.; MONCADA, S.; VANE, J. R.. Prostaglandins and the mechanism of analgesia produced by aspirin-like drugs. **British Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 120, n. 1, p.401-412, fev. 1997. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.1997.tb06823.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3224318/>>. Acesso em: 30 ago. 2017.

FRANCO, Rendrik F.. FISILOGIA DA COAGULAÇÃO, ANTICOAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, [s.l.], v. 34, n. 3/4, p.229-237, 30 dez. 2001. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v34i3/4p229-237>. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/3998/4689>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

FURIE, Bruce; FURIE, Barbara C.. The molecular basis of blood coagulation. **Cell**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.505-518, maio 1988. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90567-3](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(88)90567-3). Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0092867488905673?via=ihub>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

GERHARDT, Tatiana Engel; SILVEIRA, Denise Tolfo. **Métodos de pesquisa**. Porto Alegre: Editora Ufrgs, 2009. 120 p. (Educação a Distância). ISBN 978-85-386-0071-8.

GHANAATI, Shahram et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. **Journal Of Oral Implantology**, [s.l.], v. 40, n. 6, p.679-689, dez. 2014. American Academy of Implant Dentistry. <http://dx.doi.org/10.1563/aaid-joi-d-14-00138>. Disponível em: <http://www.joionline.org/doi/10.1563/aaid-joi-D-14-00138?url_ver=Z39.88-2003&rfr_dat=cr_pub=pubmed&rfr_id=ori:rid:crossref.org&code=aaid-premdev>. Acesso em: 20 ago. 2017.

GIBBLE, Jw; NESS, Pm. Fibrin glue: the perfect operative sealant?. **Transfusion**, [s.l.], v. 30, n. 8, p.741-747, out. 1990. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1537-2995.1990.30891020337.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2219264>>. Acesso em: 13 abr. 2017.

GOTTRUP, F.; ANDREASEN, J. O.. Cicatrização da Lesão Após Trauma. In: ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M.. **Texto e atlas colorido de traumatismo dental**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. Cap. 1. p. 13-64.

GUPTA, Vivek et al. Regenerative Potential of Platelet Rich Fibrin In Dentistry: Literature Review. **Asian Journal Of Oral Health & Allied Sciences**, [s. L.], v. 1, n. 1, p.23-28, jan. 2011.

HALL, John E.. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 1216 p.

HE, Ling et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 108, n. 5, p.707-713, nov. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.06.044>.

HOAGLIN, Donald R.; LINES, Gary K.. Prevention of Localized Osteitis in Mandibular Third-Molar Sites Using Platelet-Rich Fibrin. **International Journal Of Dentistry**, [s.l.], v. 2013, p.1-4, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/875380>. Disponível

em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijd/2013/875380/>>. Acesso em: 30 ago. 2017.

HU, Zhuowei. As Drogas e o Sangue. In: PAGE, Clive et al. **Farmacologia**: Integrada. 2. ed. Barueri: Manole, 2004. Cap. 13. p. 191-217.

IWAMOTO, Itsuo. As Drogas e as Respostas Inflamatória e Imune. In: PAGE, Clive et al. **Farmacologia Integrada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2004. Cap. 16. p. 327-341.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427 p. ISBN 8527705168.

JULIUS, David; BASBAUM, Allan I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, [s.l.], v. 413, n. 6852, p.203-210, 13 set. 2001. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/35093019>.

KANG, Young-ho et al. Platelet-Rich Fibrin is a Bioscaffold and Reservoir of Growth Factors for Tissue Regeneration. **Tissue Engineering Part A**, [s.l.], v. 17, n. 3-4, p.349-359, fev. 2011. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0327>.

KARRING, Thorkild; LINDHE, Jan. Conceitos em Regeneração Tecidual Periodontal. In: LINDHE, Jan; LANG, Niklaus P.; KARRING, Thorkild. **Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.a, 2010. Cap. 25. p. 519-540.

KIERSZENBAUM, Abraham L.; TRES, Laura L.. **Histologia e Biologia Celular**: Uma introdução à Patologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 704 p.

KINGSLEY, C. S.. Blood Coagulation: Evidence of an Antagonist to Factor VI in Platelet-Rich Human Plasma. **Nature**, [s.l.], v. 173, n.

4407, p.723-724, abr. 1954. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/173723a0>.

KLOKKEVOLD, Perry R.. Enxerto Ósseo Localizado e Desenvolvimento do Sítio do Implante. In: NEWMAN, Michael G.; TAKEY, Henry H.; KLOKKEVOLD, Perry R.. **Periodontia Clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap. 77. p. 1133-1146.

KNIGHTON, David R. et al. Classification and Treatment of Chronic Nonhealing Wounds: Successful Treatment with Autologous Platelet-derived Wound Healing Factors (PDWHF). **Annals Of Surgery**, Minnesota, v. 204, n. 3, p.322-330, 1986. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1251286/pdf/annsurg00091-0126.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2017.

KOBAYASHI, Eizaburo et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. **Clinical Oral Investigations**, [s.l.], v. 20, n. 9, p.2353-2360, 25 jan. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-016-1719-1>.

KUMAR, Nilima et al. Evaluation of Treatment Outcome After Impacted Mandibular Third Molar Surgery With the Use of Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Study. **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [s.l.], v. 73, n. 6, p.1042-1049, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joms.2014.11.013>.

KWON, Min-soo et al. Effect of Aspirin and Acetaminophen on Proinflammatory Cytokine-Induced Pain Behavior in Mice. **Pharmacology**, [s.l.], v. 74, n. 3, p.152-156, 2 jun. 2005. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000084548>. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/Abstract/84548>>. Acesso em: 11 out. 2017.

LEKOVIC, V. et al. A Bone Regenerative Approach to Alveolar Ridge Maintenance Following Tooth Extraction. Report of 10 Cases. **Journal Of Periodontology**, [s.l.], v. 68, n. 6, p.563-570, jun. 1997. American Academy of Periodontology (AAP). <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1997.68.6.563>.

LIU, Yi et al. Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN- γ and TNF- α . **Nature Medicine**, [s.l.], v. 17, n. 12, p.1594-1601, 20 nov. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2542>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3233650/>>. Acesso em: 11 out. 2017.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 710 p. ISBN 978-85-277-123-8.

MATRAS. Effect of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skin. **Osterr Z Stomatologie**, [s. L.], v. 67, p.338-359, jan. 1970.

MARENZI, Gaetano et al. Influence of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of Simple Postextraction Sockets: A Split-Mouth Study. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2015, p.1-6, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/369273>.

MARSHALL, Caroline J.; THRASHER, Adrian J.. The embryonic origins of human haematopoiesis. **British Journal Of Haematology**, [s.l.], v. 112, n. 4, p.838-850, mar. 2001. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2141.2001.02537.x>. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2141.2001.02537.x/full>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

MARX, Robert e et al. Platelet-rich plasma. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 85, n. 6, p.638-646, jun. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1079-2104\(98\)90029-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1079-2104(98)90029-4).

MCFARLAND, David C. et al. Confounding effects of platelets on flow cytometric analysis and cell-sorting experiments using blood-derived cells. **Cytometry Part A**, [s.l.], v. 69, n. 2, p.86-94, 2006. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.a.20207>. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cyto.a.20207/full>>. Acesso em: 09 set. 2017.

MONTEIRO, Elaine Cristina Almeida et al. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **RBM - Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 9, n. 2, p.53-63, maio 2008. ISSN 0034-7264. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3744>. Acesso em: 01 set. 2017.

MOURÃO, Carlos Fernando de Almeida Barros et al. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [s.l.], v. 42, n. 6, p.421-423, dez. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-69912015006013>.

MURPHY, Kemmeth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark. **Imunobiologia**: de Janeway. 7. ed. São Paulo: Artmed, 2010. 908 p. Tradução de Ana Paula Franco Lambert.

O'CONNELL, Sean M.. Safety Issues Associated With Platelet-Rich Fibrin Method. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 103, n. 5, p.587, maio 2007. Disponível em: <[http://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(07\)00243-0/abstract](http://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(07)00243-0/abstract)>. Acesso em: 20 nov. 2016.

PANEPUCCI, Rodrigo Alexandre. Bases moleculares da biologia de células-tronco adultas do sistema hematopoético. In: CIENTISTA, Prêmio Jovem. **Sangue**: Fluido da Vida. Porto Alegre: Comunicação Impressa, 2006. p. 77-82.

PASSARETTI, F. et al. Growth-promoting action and growth factor release by different platelet derivatives. **Platelets**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 252-256, 15 jul. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/09537104.2013.809060>.

PATIL, Nehaa; BHEDASGAONKAR, Surekhay; KAPADIA, Janak. Treatment of infrabony defects with platelet-rich fibrin along with bone graft: Case report. **Journal Of The International Clinical Dental Research Organization**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.69-74, 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/2231-0754.153504>. Disponível em: <<http://www.jicdro.org/temple/>>

JIntClinDentResOrgan7169-4084202_112042.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2017.

PATTON, Lauren L.. Distúrbios de Sangramento e Coagulação. In: GREENBERG, Martin S.; GLICK, Michael. **Medicina Oral de Burket: Diagnóstico e Tratamento**. 10. ed. São Paulo: Editora Santos, 2008. p. 454-473.

PECK, Mogammad Thabit; MARNEWICK, Johan; STEPHEN, Lawrence. Alveolar Ridge Preservation Using Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin: A Report of a Case. **Case Reports In Dentistry**, [s.l.], v. 2011, p.1-5, 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/345048>.

PINHEIRO, Rafael Mota; WANNMACHER, Lenita. Farmacologia dos autacóides. In: WANNMACHER, Lenita; FERREIRA, Maria Beatriz Cardoso. **Farmacologia Clínica para Dentistas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.a, 2007. Cap. 16. p. 129-144.

PRAKASH, Shobha; THAKUR, Aditi. Platelet Concentrates: Past, Present and Future. **Journal Of Maxillofacial And Oral Surgery**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.45-49, 25 fev. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12663-011-0182-4>.

PROCKOP, D. J.. Marrow Stromal Cells as Stem Cells for Nonhematopoietic Tissues. **Science**, [s.l.], v. 276, n. 5309, p.71-74, 4 abr. 1997. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.276.5309.71>.

RATNER, Buddy D.; BRYANT, Stephanie J.. Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. **Annual Review Of Biomedical Engineering**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.41-75, 15 ago. 2004. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>.

REZENDE, Suely Meireles. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas: Disorders of homeostasis: bleeding disorders. **Rev Med Minas Gerais**, [s. L.], v. 20, n. 4, p.534-553, 2010.

RIBEIRO, Andréia Sofia Gonçalo. **Engenharia de tecido para regeneração óssea: retrospectivas futuras**. 2012. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade Ciências da Saúde, Porto, 2012.

RODELLA, Luigi Fabrizio et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. **Microscopy Research And Technique**, [s.l.], v. 74, n. 8, p.772-777, 21 jul. 2011. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/jemt.20968>.

ROSS, Russell et al. A Platelet-Dependent, Serum Factor That Stimulates the Proliferation of Arterial Smooth Muscle Cells In Vitro: (primate/cell culture/atherosclerosis). **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, Usa, v. 71, n. 4, p.1207-1210, abr. 1974.

SALGADO, José Fernando Mendes. **Avaliação da Velocidade do Processo de Regeneração Óssea Primária, Conjugada a Técnica de Regeneração Óssea Guiada com Membrana de Colágeno Aniônico e Terapia Laser de Baixa Potência**.2002. 10 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioengenharia, Universidade do Vale do Paraíba Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, São José dos Campos, 2002.

SAMMARTINO, Gilberto et al. Prevention of Hemorrhagic Complications After Dental Extractions Into Open Heart Surgery Patients Under Anticoagulant Therapy: The Use of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin. **Journal Of Oral Implantology**, [s.l.], v. 37, n. 6, p.681-690, dez. 2011. American Academy of Implant Dentistry. <http://dx.doi.org/10.1563/aaid-joi-d-11-00001>.

SHARMA, Anuj; PRADEEP, A.r.. Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Mandibular Degree II Furcation Defects: A Randomized Clinical Trial. **Journal Of Periodontology**, [s.l.], v. 82, n. 10, p.1396-1403, out. 2011. American Academy of Periodontology (AAP). <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2011.100731>.

SILVA, Robert Carvalho da; JOLY, Julio Cesar; CARVALHO, Paulo Fernando Mesquita de. Características biológicas e aplicações clínicas dos biomateriais. In: SILVA, Robert Carvalho da; JOLY, Julio Cesar; CARVALHO, Paulo Fernando Mesquita de. **Reconstrução Tecidual Estética: Procedimentos plásticos e regenerativos periodontais e Peri-implantares**. São Paulo: Artes Médicas, 2010. Cap. 5. p. 189-217.

SIMONPIERI, Alain et al. Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 2: Bone Graft, Implant and Reconstructive Surgery. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [s.l.], v. 13, n. 7, p.1231-1256, 1 maio 2012. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/138920112800624472>.

SOFFER, Emmanuel; OUHAYOUN, Jean Pierre; ANAGNOSTOU, Fani. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 95, n. 5, p.521-528, maio 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1067/moe.2003.152>.

SOHN, Dong Seok et al. Utilization of Autologous Concentrated Growth Factors (CGF) Enriched Bone Graft Matrix (Sticky Bone) and CGF-Enriched Fibrin Membrane in Implant Dentistry. **The Journal Of Implant & Advanced Clinical Dentistry**., [s. L.], v. 7, n. 10, p.11-29, dez. 2015.

TAYAPONGSAK, Pairot et al. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [s.l.], v. 52, n. 2, p. 161-165, fev. 1994. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0278-2391\(94\)90401-4](http://dx.doi.org/10.1016/0278-2391(94)90401-4).

TAWES, Roy L.; SYDORAK, Gerald R.; DUVALL, Thomas B.. Autologous fibrin glue: The last step in operative hemostasis. **The American Journal Of Surgery**, [s.l.], v. 168, n. 2, p.120-122, ago. 1994. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9610\(94\)80049-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9610(94)80049-9). Disponível em: <[http://www.americanjournalofsurgery.com/article/S0002-9610\(94\)80049-9/pdf](http://www.americanjournalofsurgery.com/article/S0002-9610(94)80049-9/pdf)>. Acesso em: 15 ago. 2017.

TEMMERMAN, Andy et al. The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. **Journal Of Clinical Periodontology**, [s.l.], v. 43, n. 11, p.990-999, 21 set. 2016. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12612>.

TORTAMANO, Nicolau; ARMONIA, Paschoal Laercio. **GTO – Guia Terapêutico Odontológico**. 14. ed. São Paulo: Santos Editora Ltda, 2001. 200 p.

TSAI, Chung-hung et al. Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro. **Journal Of Dental Sciences**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.130-135, set. 2009. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1991-7902\(09\)60018-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1991-7902(09)60018-0).

VENDRAMIN, Fabiel Spani et al. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.24-28, fev. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912006000100007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 20 nov. 2016.

WANI, Ab Latif; ARA, Anjum; BHAT, Sajad Ahmad. Blood Injury and Injection Phobia: The Neglected One. **Behavioural Neurology**, [s.l.], v. 2014, p.1-7, 2014. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/471340>. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bn/2014/471340/>>. Acesso em: 20 nov. 2016.

WANNMACHER, Lenita. Antiinflamatórios não-esteróides. In: WANNMACHER, Lenita; FERREIRA, Maria Beatriz Cardoso. **Farmacologia Clínica Para Dentistas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. Cap. 24. p. 254-260.

WILLIAMS, David F. **Definitions in Biomaterials.:** Progress in Biomedical Engineering,. 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 1997. 72 p.

WHITE, Melanie McCabe; JENNINGS, Lisa K.; CONDRY, Michael P. Basic Introduction to Platelets. **Platelet Protocols**, [s.l.], p.1-25, 1999a. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012384260-2/50010-1>.

WHITE, Melanie McCabe; JENNINGS, Lisa K.; CONDRY, Michael P. Therapeutic Approaches to Inhibition of Platelet Function. **Platelet Protocols**, [s.l.], p.79-91, 1999b. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012384260-2/50013-7>.

WU, C-l et al. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. **Australian Dental Journal**, [s.l.], v. 57, n. 2, p.207-212, 25 maio 2012. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1834-7819.2012.01686.x>.

YAMAZA, Takayoshi et al. Pharmacologic Stem Cell Based Intervention as a New Approach to Osteoporosis Treatment in Rodents. **Plos One**, [s.l.], v. 3, n. 7, p.2615-2625, 9 jul. 2008. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002615>.

YORK, J. Lyndal. Enzymes: Classification, Kinetics, and Control. In: DEVLIN, Thomas. **Textbook of Biochemistry: with Clinical Correlations**. 5. ed. New York: Wiley-liss, 2002. Cap. 10. p. 413-460. Disponível em: <<https://archive.org/details/TextbookOfBiochemistryWithClinicalCorrelationsDevlinThomas5thEdition>>. Acesso em: 31 ago. 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 17 dias do mês de OUTUBRO de 2017, às 16:30 horas, em sessão pública no (a) SALA 910, desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Prof., Dr. Ricardo de Souza Magini e pelos examinadores:

1 -Prof., Me. Edwin Andrés Ruales Carrera,

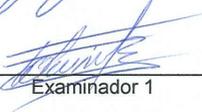
2 - Prof., Me. Leticia Moro Bins Ely,

o aluno Juliana Borges Müller

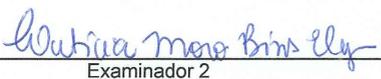
apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado: Influência da Medicação Anti-inflamatória no Sucesso Cirúrgico da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.



Presidente da Banca Examinadora



Examinador 1



Examinador 2



Aluno