



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Odontologia**

**João Vitor dos Santos Canellas**


**Avaliação tomográfica e histomorfométrica do uso da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização alveolar após extração dentária: um ensaio clínico randomizado**

Rio de Janeiro

2020

João Vitor dos Santos Canellas

**Avaliação tomográfica e histomorfométrica do uso da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização alveolar após extração dentária: um ensaio clínico randomizado**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Orientadores: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer  
Prof. Dr. Fabio Gambôa Ritto

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

C221 Canellas, João Vitor dos Santos.  
Avaliação tomográfica e histomorfométrica do uso da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização alveolar após extração dentária: um ensaio clínico randomizado / João Vitor dos Santos Canellas. – 2020.  
69 f.

Orientadores: Ricardo Guimarães Fischer, Fabio Gambôa Ritto.  
Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Fibrina rica em plaquetas. 2. Alvéolo dental. 3. Regeneração óssea. 4. Biópsia. 5. Ensaio clínico controlado aleatório como assunto. I. Fischer, Ricardo Guimarães. II. Ritto, Fabio Gambôa. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

CDU  
616.314

Kárin Cardoso CRB/7 6287

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

João Vitor dos Santos Canellas

**Avaliação tomográfica e histomorfométrica do uso da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização alveolar após extração dentária: um ensaio clínico randomizado**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.  
Área de concentração: Periodontia.

Aprovada em 09 de Março de 2020.

Orientadores:

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer  
Faculdade de Odontologia – UERJ

Prof. Dr. Fabio Gambôa Ritto  
Faculdade de Odontologia - UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Paulo Jose D’Albuquerque Medeiros  
Faculdade de Odontologia - UERJ

---

Prof. Dr. Guaracilei Maciel Vidigal Junior  
Faculdade de Odontologia - UERJ

---

Prof. Dr. Marcelo Marotta Araujo  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Alessandra Alves Thole  
Instituto de Biologia - UERJ

---

Prof. Dr. Gonçalo Sobreira Pimentel Neto  
Odontoclínica Central da Marinha

Rio de Janeiro

2020

## DEDICATÓRIA

Às pessoas mais importantes de minha vida, minha esposa Talita Canellas; meus pais Paraguassú e Naná; meu irmão Carlos Eduardo; e minha afilhada Clarinha.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por fazer minha vida todos os dias um verdadeiro milagre.

À minha amada esposa Talita, que sempre esteve presente ao meu lado preenchendo meus dias com muito amor, carinho, paciência e sabedoria, dando-me força e coragem, principalmente nos momentos de dificuldades para alcançar esta conquista.

Aos meus pais, Paraguassú e Naná, por me incentivarem nos estudos e apoiarem minhas decisões, sempre com amor e esperança. Não há palavras que possam agradecer tudo aquilo que sempre fizeram por mim.

Ao meu irmão Carlos Eduardo, que dividiu comigo muitos momentos durante minha formação, onde juntos transformamos as dificuldades em força para crescer. Hoje me presenteia ainda com minha sobrinha e afilhada Clarinha.

Aos meus sogros Tavares e Regina, e ao meu cunhado Thiago por todo apoio e incentivo.

Ao Prof. Fabio Ritto, por me orientar com dedicação, compromisso e empenho, sendo um exemplo de cirurgião e educador. Agradeço muito pela amizade e por ajudar a tornar este projeto realidade.

Ao Prof. Paulo Medeiros, pela confiança depositada e por me ajudar na realização desta importante etapa de minha vida, sendo um privilégio trabalhar ao lado de um profissional tão exemplar.

Ao Prof. Ricardo Fischer, pela confiança e parceria no desenvolvimento deste projeto, permitindo que as especialidades de Cirurgia Bucomaxilofacial e Periodontia trabalhassem juntas.

A Profa. Alessandra Thole, por todo suporte e ajuda com as análises histológicas, oferecendo os meios necessários para que pudéssemos realizar com a devida precisão e qualidade. Um exemplo de professora e pessoa.

Aos professores Carlos Marcelo e Eduardo Tinoco, por contribuírem com minha formação, tornando possível esta parceria entre a cirurgia e a periodontia.

Ao Prof. Guaracilei, por todos os ensinamentos, sempre colocando a formação em excelência de seus alunos em primeiro lugar, buscando inovar e despertar no discente uma mente observadora e crítica.

Ao Prof. Antenor Araujo, por ser um verdadeiro mestre, partilhando seu conhecimento e ajudando-me a crescer. Serei eternamente grato.

Ao Prof. Marcelo Marotta Araujo, preceptor, amigo que esteve presente durante minha formação em cirurgia Bucomaxilofacial, um exemplo a ser seguido.

À amiga Genilza, por toda a ajuda, dedicação e comprometimento com o processamento das amostras.

Aos amigos Rafael Cabral e Ricardo Breves, pela ajuda durante os procedimentos cirúrgicos e reabilitação protética dos pacientes. Quando trabalhamos entre amigos tudo torna-se mais gratificante.

Às amigas Juliana, Monike e Samira que participaram da turma DO-2018, com quem pude construir uma verdadeira amizade ao longo destes dois anos. Levar amizades tão especiais destas colegas de turma é gratificante.

Aos professores da banca pela disponibilidade em participar e por todo o conhecimento compartilhado nesta defesa.

A todos os professores da pós-graduação que através de aulas, trabalhos e dinâmicas tão importantes, ajudaram na minha formação docente.

Aos residentes do Hospital Pedro Ernesto, em especial Brunna, Rafael e Patricia por toda a ajuda e disponibilidade.

Aos pacientes por toda colaboração e disponibilidade em participar desta pesquisa, sempre dispostos a comparecer na UERJ quando chamados.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia, pelo bom convívio e amizade.

Às funcionárias da secretaria de pós-graduação da Faculdade de Odontologia, pelo empenho e eficiência no trabalho.

A todos meus amigos de trabalho, sempre dispostos a me ajudar ao longo desta jornada, Abdala, Patrícia, César, Fernando, Fabiano, Fragoso, Ingrid, Flavia, Leandro, Giongo, Sylvia, Tariza, Lívia, Leidiane, Lenir e Tanus.

A todos os Oficiais e Praças da Marinha do Brasil, que em algum momento decidiram por me ajudar, sem que fosse preciso abrir mão de meus deveres e tarefas.

À empresa TitaniumFix SP através da Sra. Ana Paula Semensato, fornecendo todos os implantes e componentes protéticos necessários para o andamento desta pesquisa.

Basta-te minha graça, porque é na fraqueza que se revela totalmente a minha força. Portanto, prefiro gloriar-me das minhas fraquezas, para que habite em mim a força de Cristo.

*2Cor 12,9*



## RESUMO

CANELLAS, João Vitor dos Santos. **Avaliação tomográfica e histomorfométrica do uso da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na cicatrização alveolar após extração dentária**: um ensaio clínico randomizado. 2020. 69 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

O uso dos concentrados plaquetários tem sido amplamente estudado em procedimentos cirúrgicos bucais. Entretanto ensaios clínicos randomizados com avaliação histomorfométrica e baixo risco de viés não são encontrados na literatura. Um ensaio clínico randomizado, controlado, cegado e paralelo foi conduzido para avaliar a eficácia da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) na preservação alveolar após extrações dentárias. Adicionalmente, o efeito do L-PRF na formação óssea foi avaliado através de análises histomorfométricas. Espécimes de biópsias foram obtidos durante a cirurgia de instalação dos implantes dentários, três meses após a exodontia. Quarenta e oito pacientes com necessidade de exodontia de um elemento dentário, incluindo pré-molares, caninos ou incisivos, foram aleatoriamente alocados em dois grupos, L-PRF (n=24) e controle (n=24). A análise por intenção de tratamento dos dados tomográficos revelou que o L-PRF reduziu a perda óssea horizontal 1mm e 3 mm abaixo da crista óssea alveolar. A perda óssea 1mm abaixo da crista foi de  $0.93 \pm 0.9$  mm para o grupo do L-PRF e  $2.27 \pm 1.2$  mm para o grupo controle ( $p=0.0001$ ). A perda óssea 3mm abaixo da crista foi  $0.85 \pm 0.8$  mm para o grupo L-PRF e  $1.67 \pm 1.1$  mm para o grupo controle ( $p=0.005$ ). Similarmente, o L-PRF reduziu a perda óssea vertical da tábua vestibular no grupo L-PRF,  $0.70 \pm 0.7$  mm comparado ao grupo controle  $1.39 \pm 1.2$  mm ( $p=0.02$ ). A neoformação óssea volumétrica medida através de análise tomográfica foi significativamente maior no grupo L-PRF  $190.90 \pm 169.90\text{mm}^3$  comparada com o grupo controle  $44.87 \pm 200.20\text{mm}^3$  ( $p=0.009$ ). A análise por intenção de tratamento dos dados histomorfométricos mostrou uma maior porcentagem de osso neoformado no grupo L-PRF comparado com o grupo controle,  $55.96 \pm 11.97\%$  e  $39.69 \pm 11.13\%$ , respectivamente ( $p=0.00001$ ). Estes resultados indicam que o uso de L-PRF reduziu a reabsorção óssea alveolar após a extração dentária, e melhorou a qualidade do osso neoformado. Portanto devemos sempre considerar o uso de L-PRF quando a preservação alveolar estiver sendo planejada. (Clinicaltrials.gov NCT03408418).

Palavras-chave: Fibrina rica em plaqueta. Preservação alveolar. Cicatrização óssea. Biópsia. Histomorfometria.

## ABSTRACT

CANELLAS, João Vitor dos Santos. **Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin**: a randomized, single-blind, controlled clinical trial. 2020. 69 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

The use of platelet concentrate in alveolar ridge preservation has been broadly studied in oral surgical procedures. However, no randomized clinical trial with histomorphometric analysis and low risk of bias are available in the literature. We conducted a prospective, single-blind, parallel, randomized, controlled clinical trial to evaluate the efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) in socket preservation after tooth extraction. Additionally, the effect of L-PRF on bone formation was analyzed histologically using bone biopsy specimens obtained during implant placement. A total of 48 subjects who underwent a non-molar tooth extraction were randomly assigned to the L-PRF group (n=24) or the control group (n=24). Cone-beam computed tomographies were performed immediately after tooth extraction and at 3 months after tooth extraction, prior to implant surgery. The intention-to-treat analysis of data from tomographies showed that L-PRF reduced horizontal bone loss at 1 mm below the alveolar crest, means of  $0.93 \pm 0.9$  mm for the L-PRF group and  $2.27 \pm 1.2$  mm for the control group ( $p=0.0001$ ), and at 3 mm below the alveolar crest, means of  $0.85 \pm 0.8$  mm for the L-PRF group and  $1.67 \pm 1.1$  mm for the control group ( $p=0.005$ ). Similarly, L-PRF reduced vertical bone loss at the buccal bone wall, means of  $0.70 \pm 0.7$  mm for the L-PRF group and  $1.39 \pm 1.2$  mm for the control group ( $p=0.02$ ). The mean value of new bone formation in the L-PRF group ( $190.90 \pm 169.90\text{mm}^3$ ) was significantly higher when compared with the control group ( $44.87 \pm 200.20\text{mm}^3$ )  $p=0.009$ . Histomorphometric analysis showed a higher percentage of new bone formation in the L-PRF group compared with the control group. The values were  $55.96 \pm 11.97\%$  and  $39.69 \pm 11.13\%$ , respectively ( $p=0.00001$ ). These findings indicate that the administration of L-PRF reduce the bone resorption after tooth extraction and improve the new bone formation. Therefore it should always be considered when socket preservation is planned (Clinicaltrials.gov NCT03408418).

Keywords: Platelet-rich fibrin. Alveolar preservation. Bone Healing. Biopsy.

Histomorphometry.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma mostrando a formação do coágulo de L-PRF .....	22
Figura 2 - Envelopes opacos numerados sequencialmente .....	28
Figura 3 - Preparo das membranas e <i>plugs</i> de L-PRF .....	30
Figura 4 - Sequência cirúrgica realizada nos pacientes do grupo L-PRF.....	31
Figura 5 - Implantes b-fix profile® TitaniumFix-SP Brasil .....	32
Figura 6 - Tomógrafo utilizado na captura dos volumes.....	33
Figura 7 - Cortes tomográficos utilizados na mensuração linear do alvéolo .....	35
Figura 8 - Avaliação tomográfica volumétrica da neoformação óssea.....	37
Figura 9 - Fluxograma CONSORT .....	39
Figura 10 - Box plot dos dados tomográficos .....	43
Figura 11 - Amostras histológicas representativas do grupo L-PRF .....	47
Figura 12 - Amostras histológicas representativas do grupo controle .....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores da Coagulação.....	19
Tabela 2 - Critérios para interpretação do CCl.....	34
Tabela 3 - Características da população estudada.....	40
Tabela 4 - Confiabilidade intra e inter-examinador dos dados tomográficos.....	41
Tabela 5 - Confiabilidade intra e inter-examinador dos dados histológicos.....	42
Tabela 6 - Análise tomográfica - ITT.....	44
Tabela 7 - Análise tomográfica - CC.....	45
Tabela 8 - Análise histomorfométrica - ITT (% área total da amostra) .....	46
Tabela 9 - Análise histomorfométrica - CC (% área total da amostra) .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC	Análise completa dos casos
CCI	Coeficiente de correlação intraclasse
CONSORT	<i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i>
DICOM	<i>Digital images and communication in medicine</i>
DP	Desvio padrão
EGF	Fator de crescimento epidérmico
FGF	Fator de crescimento derivado dos fibroblastos
HW-1mm	Largura do alvéolo dentário 1 mm abaixo da crista óssea
HW-3mm	Largura do alvéolo dentário 3 mm abaixo da crista óssea
HW-5mm	Largura do alvéolo dentário 5 mm abaixo da crista óssea
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
ITT	Análise por intenção de tratamento
L-PRF	Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
LOCF	<i>Last observation carried forward</i>
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
PRF	Fibrina rica em plaquetas
mm	Milímetro
MOTH	<i>Imputation of the mean of the other group</i>
PK	Pré-caliceína
TGF- $\beta$	Fator de crescimento de transformação beta
TCFC	Tomografia computadorizada por feixe cônico
T0	Avaliação realizada imediatamente após a exodontia
T1	Avaliação realizada 3 meses pós-exodontia
RCT	Ensaio Clínico Randomizado
RTP/L	Reabsorção vertical da tábua óssea palatina/ lingual
RTV	Reabsorção vertical da tábua óssea vestibular
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
1	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	25
3	<b>PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	26
4	<b>RESULTADOS</b> .....	38
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	49
	<b>CONCLUSÕES</b> .....	54
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	55
	<b>ANEXO A – Cálculo da amostra</b> .....	63
	<b>ANEXO B – Termo de consentimento informado</b> .....	64
	<b>ANEXO C – Parecer do comitê de ética</b> .....	66
	<b>ANEXO D – Protocolo para venopunção</b> .....	68
	<b>ANEXO E – Protocolo utilizado no preparo histológico</b> .....	69

## INTRODUÇÃO

O Brasil registrou em 2013 mais de 16 milhões de pessoas com edentulismo total ou parcial. Isto corresponde aproximadamente a 11% de sua população com mais de 18 anos de idade na época, segundo dados da pesquisa realizada pelo IBGE<sup>1</sup>. Aproximadamente 41,5% das pessoas com 60 anos ou mais perderam todos os dentes<sup>1</sup>. O atendimento odontológico no Brasil, segundo dados desta pesquisa, ocorreu de forma predominante no consultório particular e na clínica privada, totalizando 74,3% dos atendimentos. As unidades básicas de saúde foram responsáveis por apenas 19,6% dos atendimentos realizados<sup>1</sup>. Desta forma, a busca por métodos terapêuticos para reabilitação da saúde bucal com menor custo, e conseqüentemente maior oportunidade de acesso, se tornam cada dia mais desejáveis em nosso país.

Com o advento dos implantes osseointegrados é possível restaurar a condição bucal do paciente, devolvendo a função mastigatória, estética do sorriso e principalmente uma melhor saúde bucal<sup>2, 3</sup>. Um grande desafio da reabilitação é propiciar condições de suporte ósseo adequado para instalação de implantes. Sabemos atualmente que importantes modificações ocorrem na estrutura do osso alveolar após as extrações dentárias<sup>4, 5</sup>, e que um grande número de pesquisas utilizando enxertos ósseos, barreiras, membranas, esponjas de colágeno, entre outros biomateriais, vêm sendo desenvolvidas para reduzir esta perda óssea subsequente à exodontia.

Mesmo sabendo que é possível limitar a perda óssea a partir do manejo alveolar após a extração dentária, atualmente não há uma técnica que isoladamente previna completamente as modificações no alvéolo dentário<sup>6</sup>. Diversos tipos de enxertos ósseos são utilizados nos alvéolos recém extraídos, resultando numa perda óssea horizontal e vertical de aproximadamente 0,5 a 1mm<sup>6</sup>. A principal redução ocorre na tábua óssea vestibular, provavelmente devido a diminuição da vascularização associada ao ligamento periodontal, que corresponde até 90% do seu suprimento<sup>7</sup>. Conseqüentemente, na ausência de um fluxo sanguíneo adequado, a tábua óssea vestibular reduz drasticamente.

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) é um concentrado de plaqueta de segunda geração desenvolvido inicialmente por Choukroun e col. na

França<sup>8</sup>. Este biomaterial autógeno, de baixo custo para obtenção, é produzido através de um único processo de centrifugação, sem adição de anticoagulantes ou agentes gelificantes<sup>8-13</sup>. O uso do L-PRF tem mostrado acelerar o processo de cicatrização através da liberação lenta e gradativa de fatores de crescimento e citocinas derivadas das plaquetas e dos leucócitos<sup>11</sup>. Outra importante característica deste biomaterial é a sua matriz de fibrina produzida por um processo de polimerização natural<sup>14</sup>. Esta arquitetura única da matriz de fibrina, juntamente com seu conteúdo leucocitário, pode desempenhar um papel determinante no processo de cicatrização, reduzindo a morbidade associada a cirurgia<sup>15, 16</sup>.

Uma das principais vantagens do L-PRF sobre os concentrados plaquetários de primeira geração, conhecidos como plasma rico em plaquetas (PRP), é a estrutura complexa e resiliente da matriz de fibrina; esta matriz apresenta significativa quantidade de citocinas dentro de sua estrutura, as quais são liberadas lentamente durante o processo de cicatrização<sup>17</sup>. O coágulo de fibrina de L-PRF apresenta em sua constituição quase a totalidade de plaquetas da amostra de sangue inicialmente coletada, assim como mais da metade dos leucócitos presentes na amostra de sangue centrifugada<sup>14</sup>.

Estudos *in vitro* observaram que a forma de membrana de L-PRF apresentou um forte efeito na estimulação de diversos tipos de células, tais como fibroblastos, queratinócitos, adipócitos, osteoblastos e células tronco mesenquimais<sup>18, 19</sup>, atuando no processo de diferenciação de osteoblastos<sup>18</sup>. Este fenômeno pode ser explicado pela presença dos fatores de crescimento confinados na matriz de fibrina, e pelo conteúdo celular presente na arquitetura da matriz. A liberação lenta e gradativa destas substâncias, associada a ação celular, promovem a otimização do processo de cicatrização<sup>20, 21</sup>.

O uso do L-PRF em cirurgias odontológicas tem sido proposto em diversos tipos de procedimentos. Algumas das aplicações encontradas na literatura incluem o preenchimento alveolar após exodontia, tratamento de defeitos periodontais, cirurgia de elevação do seio maxilar, cirurgias de extração dos sisos, no tratamento de pacientes com lesão óssea induzida por medicamentos<sup>22-31</sup>.

Diversos estudos buscaram avaliar o efeito dos concentrados plaquetários no preenchimento do alveolar após a exodontia<sup>32</sup>, e de acordo com último consenso da European Association for Osseointegration estes podem ser



utilizados para este fim.<sup>33</sup> Embora uma das principais indicações para o uso do L-PRF seja a preservação alveolar após exodontia, estudos clínicos controlados com baixo risco de viés e avaliação histológica não estão disponíveis na literatura.<sup>34</sup>

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### Cicatrização das feridas

A utilização dos concentrados plaquetários para otimizar o processo de cicatrização tecidual foi inicialmente descrita na literatura há mais de 20 anos.<sup>8, 13</sup> Os primeiros relatos buscavam prevenir hemorragias em casos de trombocitopenia severa. A ideia inicial do uso dos concentrados plaquetários no processo de cicatrização era substituir as colas de fibrina homogêneas que vinham perdendo popularidade por conta dos altos riscos de infecção cruzada, assim como em razão dos custos elevados de fabricação.<sup>13, 35</sup>

O conceito teórico envolvido no uso dos concentrados plaquetários decorre da presença de mediadores biológicos. Estes interferem em diversos mecanismos celulares e moleculares importantes no processo de regeneração dos tecidos. Assim, as substâncias, conhecidas como fatores de crescimento, são capazes de atuar promovendo a proliferação celular, angiogênese e a remodelação da matriz durante a cicatrização.<sup>14, 36, 37</sup>

A compreensão do processo de cicatrização dos alvéolos passa pelo entendimento das 3 fases básicas que ocorrem após a lesão tecidual: 1) Inflamação; 2) Proliferação e 3) Maturação. Embora seja importante didaticamente esta divisão, devemos destacar que a cicatrização das feridas é um processo complexo, envolvendo uma série de reações e interações entre células e mediadores químicos específicos.<sup>37</sup>

### Fase Inflamatória

A fase inflamatória que se inicia imediatamente após a lesão tecidual caracteriza-se pela liberação de algumas substâncias vasoativas, tais como o tromboxano A<sub>2</sub> e as prostaglandinas. As plaquetas têm papel fundamental neste processo para que ocorra a hemostasia. Diversos grânulos são liberados pelas plaquetas, sendo os principais o fator de crescimento de transformação beta [TGF- $\beta$ ], fator de crescimento derivado das plaquetas [PDGF], fator de crescimento derivado dos fibroblastos [FGF] e fator de crescimento epidérmico [EGF], que juntamente com os tromboxanos e prostaglandinas irão atrair neutrófilos à ferida.<sup>38</sup>

Os neutrófilos são, após as plaquetas, as primeiras células a chegar ao local da injúria tecidual, atraídos por quimiotaxia direta e apresentando maior

concentração 24 horas após a lesão. São responsáveis pela remoção inicial de bactérias, restos celulares e tecido não vital, através da liberação de enzimas cáusticas proteolíticas. Os neutrófilos se aderem à parede do endotélio produzindo radicais livres que auxiliam na destruição bacteriana, sendo então gradativamente substituídos por macrófagos. Os monócitos, por sua vez, são atraídos para a área da lesão e transformados em macrófagos, normalmente por volta de 48 a 96 horas após a injúria.<sup>39</sup>

Os macrófagos iniciam a migração para a ferida após 24 horas da lesão, e possuem sua maior concentração tecidual por volta do quarto dia. São consideradas células fundamentais no processo de desbridamento iniciado pelos neutrófilos, contribuindo ainda para angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular, fechando assim o ciclo da fase inflamatória e introduzindo a fase proliferativa.<sup>38</sup>

#### Fase Proliferativa

A fase proliferativa é composta por quatro etapas a saber: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e síntese da matriz provisória. Inicia-se ao redor do quinto dia e estende-se até aproximadamente a segunda semana. Os fibroblastos e as células endoteliais são as mais encontradas durante a fase proliferativa. Os fibroblastos migram dos tecidos vizinhos, e uma vez ativados, iniciam a síntese de colágeno. O PDGF e o EGF são os principais sinais derivados das plaquetas e macrófagos, para ativação dos fibroblastos no tecido lesado. Desta forma, em resposta, inicia-se a síntese da matriz provisória composta de colágeno tipo III, glicosaminoglicanos e fibronectina, servindo de arcabouço celular temporário no tecido lesado.<sup>39</sup>

#### Fase de Maturação (Remodelação)

A fase de maturação, ou remodelação, é caracterizada pela deposição organizada das fibras de colágeno tipo I. O colágeno tipo III produzido inicialmente é gradativamente substituído pelo do tipo I (mais espesso e organizado ao longo das linhas de tensão). Nesta última fase do processo que pode durar meses, a quantidade de células atraídas por quimiotaxia, assim como a vascularização local são diminuídas, resultando na remodelação do tecido cicatricial. As fibras por fim são realinhadas aumentando a resistência do tecido.<sup>39</sup>

#### Coagulação

A cascata da coagulação constitui uma sequência de eventos que levam à hemostasia. Podemos definir a hemostasia em dois tipos, primária ou secundária. A

hemostasia primária é aquela que ocorre logo após o dano tecidual, diretamente no sítio de exposição das células endoteliais. Nesta fase forma-se um tampão plaquetário para obliteração da parede tecidual danificada pela injúria. Sequencialmente, a hemostasia secundária ocorrerá sobre o tampão plaquetário a partir da inclusão das fibras de fibrina que estabilizam o *plug* plaquetário. O processo de hemostasia secundária inclui duas vias da coagulação independentes a saber: a intrínseca (via da ativação de contato) e extrínseca (via do fator tissular), sendo ambas de grande importância para formação da matriz de fibrina.<sup>40, 41</sup>

Os fatores da coagulação são numerados por algarismos romanos, e a adição da letra *a* indica que estes estão na forma ativada. Eles atuam nas duas importantes vias da coagulação. Embora ambas se originem por mecanismos independentes, as vias são confluentes, e juntas culminam na formação do coágulo. Os fatores pertencentes a via intrínseca são os fatores I, II, IV, V, VI, VIII, IX, X, XI e XII; já os pertencentes a via extrínseca são os fatores I, II, III, IV, V, VII, VIII e X. Observe que alguns fatores participam de ambas as vias. A tabela 1 apresenta a lista detalhada de todos os fatores como seu nome convencional, via a qual pertence e respectiva função.<sup>40</sup>

Em sua maioria, os fatores da coagulação são enzimas conhecidas como serina endopeptidases (enzimas que cortam ligações peptídicas das proteínas) com exceção do fator IV que é um íon, dos fatores V, VI e VIII que são glicoproteínas, e do fator XIII que é uma transglutaminase. As serinas endopeptidases circulam no sangue na forma de zimógeno (forma enzimática inativa), para posteriormente serem catalisadas e convertidas na forma ativa.<sup>42</sup>

Tabela 1 - Fatores da Coagulação			
Fator	Nome Convencional	Via da Coagulação	Principais Funções
Pré-caliceína	Fator de Fletcher	Intrínseca	Ativar o fator XII e XI
Cinogênio de Alto Peso Molecular	Fator HMWK	Intrínseca	Participa do complexo de ativação do fator XII
Fator I	Fibrinogênio	Comum	Molécula pré-cursora do monômero de fibrina
Fator II	Protrombina	Comum	Converte fibrinogênio em fibrina
Fator III	Tromboplastina (Fator Tissular)	Extrínseca	Transformar protrombina em trombina
Fator IV	Íon Cálcio	Comum	Participa da transformação da protrombina em trombina
Fator V	Proacelerina ou protromboquina	Comum	Pré-cursor da acelerina
Fator VI	Acelerina	Comum	Participa da transformação da protrombina em trombina
Fator VII	Proconvertina	Extrínseca	Ativar os fatores IX e X
Fator VIII	Fator Anti-hemofílico A	Intrínseca	Ativar o fator X
Fator IX	Fator Anti-hemofílico B (Fator de Christmans)	Intrínseca	Ativar o fator X
Fator X	Fator de Stuart-Prower	Comum	Transformar protrombina em trombina
Fator XI	Antecedente de Tromboplastina Plasmática	Intrínseca	Ativar o fator IX
Fator XII	Fator de Hageman	Intrínseca	Ativar o fator XIII
Fator XIII	Fator Estabilizador da Fibrina	Intrínseca	Estabilização das fibras de fibrina
Fator XIV	Proteína C	-	Evitar a degradação dos fatores Va e VIIIa

Fonte: O autor, 2020.

### Via intrínseca da coagulação

A via intrínseca da coagulação inicia-se quando a pré-caliceína, o cininogênio de alto peso molecular e os fatores XI e XII são expostos à cargas negativas. A pré-caliceína é convertida em caliceína que, após o dano e exposição epitelial, ativa o fator XII (um zimógeno) em fator XIIa (uma serina endopeptidase). O fator XIIa funciona como um catalisador para ativar o fator XI em XIa, que na presença do íon cálcio, ativa o fator IX em IXa. O fator IXa em conjunto com o fator VIIIa transforma então o fator X em Xa. O complexo formado pelo fator Xa, fator Va e cálcio, denomina-se protrombinase, uma enzima que catalisa a transformação de protrombina em trombina. Este fenômeno é conhecido como cascata da coagulação, onde cada fator ativado passa a ativar outros fatores nas próximas etapas do processo. Como descrito anteriormente, a via intrínseca necessita dos fatores VII, IX, X, XI e XII, além das proteínas pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular, assim como o cálcio e outras proteínas secretadas pelas plaquetas.<sup>40, 41, 43</sup>

### Via extrínseca da coagulação

Após a lesão vascular, o fator III juntamente com o Fator VIIa formam um complexo que ativará os fatores IX e X em IXa e Xa. Ao fim, o produto final é o mesmo da via intrínseca, o fator Xa. A ativação do fator VII em VIIa ocorre por ação da trombina ou do fator Xa. Assim, a cascata da coagulação desenvolve um mecanismo de feedback positivo, uma vez desencadeado o processo. Além disso, a capacidade de ativação do fator VII por ação do fator Xa cria uma ligação entre as vias intrínseca e extrínseca. Outra conexão entre as vias ocorre pela capacidade do fator III e do fator VIIa ativar o fator IX.<sup>44</sup>

### Formação do Coágulo de Fibrina

Durante a produção do coágulo de L-PRF, a amostra de sangue coletada do paciente passará por um processo de centrifugação sem adição de nenhum tipo de anticoagulante. Desta forma, uma vez que a amostra de sangue é coletada, inicia-se o processo de coagulação. A ativação plaquetária precede a formação do coágulo de fibrina. Entretanto, na formação do coágulo de L-PRF, o mecanismo é um pouco diferente. Dois tipos de tubo coletor podem ser utilizados no preparo dos coágulos de L-PRF, o tubo de vidro e o tubo de plástico jateado internamente com ativador da coagulação (sílica). O contato da amostra de sangue com a superfície de vidro do tubo coletor, ou o contato com o ativador da coagulação nos tubos de plástico, desencadeia a ativação do fator XII em XIIa, dando assim início a via intrínseca da

cascata da coagulação<sup>41</sup> (Figura 1). Consequentemente, a conversão de fibrinogênio em fibrina precede a ativação plaquetária, fazendo com que as plaquetas sejam agregadas e aderidas sobre as fibras da matriz de fibrina, preferencialmente na região próxima ao trombo de hemácias (porção inferior do coágulo). Entretanto, a distribuição celular no coágulo de fibrina varia de acordo com o protocolo de centrifugação.<sup>45, 46</sup>

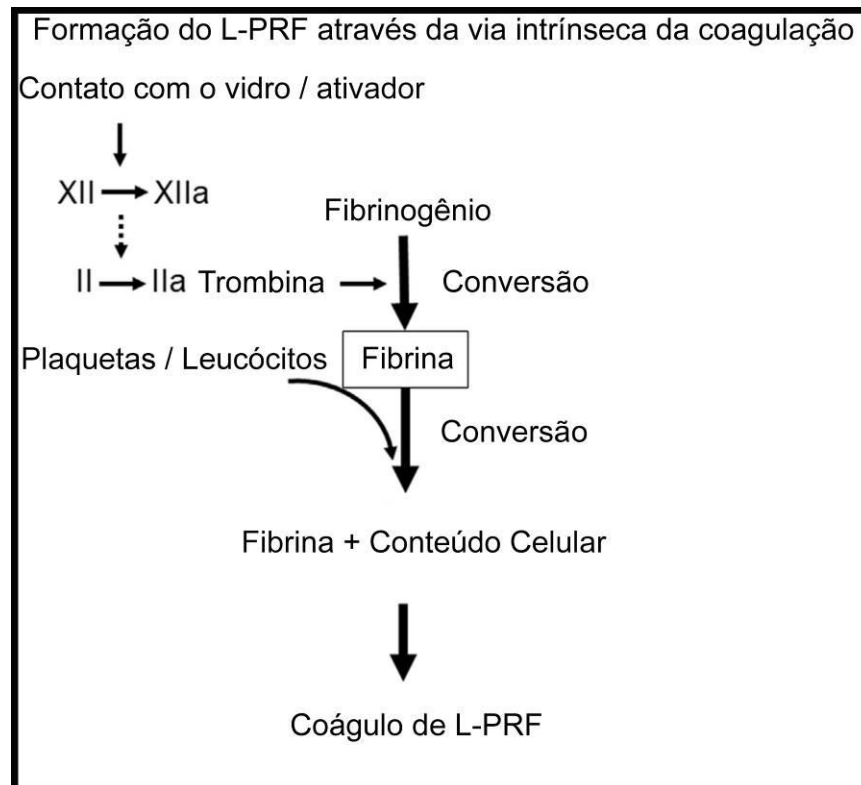
A interação mediada pelo contato com a superfície do tubo na ativação da coagulação plasmática, permite que o sangue coagule em aproximadamente 6 minutos. Este processo é decorrente da via intrínseca da coagulação e envolve algumas importantes proteínas já descritas: pré-caliceína (PK) o cininogênio de alto peso molecular e o fator XII. A ligação entre grupos funcionais carregados negativamente induz uma mudança conformacional no fator XII, levando a sua ativação através do processo conhecido como autoativação. Por sua vez, o fator XIIa gerado no contato com a superfície do vidro, pode converter a pré-caliceína em caliceína, formando assim, juntamente com o cininogênio de alto peso molecular, um complexo de ativação da coagulação. Esta ativação mútua da pré-caliceína e do fator XII é referida como ampliação recíproca. O fator XIIa aparentemente pode também hidrolisar o próprio fator XII por uma reação de autohidrólise, por vezes referida como autoampliação. Em última análise, o fator XIIa ativa o fator XI em XIa levando à propagação das reações da cascata da coagulação previamente descritas.<sup>41</sup>

Uma das principais características dos concentrados plaquetários de segunda geração desenvolvidos por Choukroun e col<sup>8</sup>, há quase duas décadas, decorre do fato deste biomaterial ser formado por um processo livre de adição de substâncias químicas. Assim, nenhum anticoagulante ou agente gelificante é utilizado, e a cascata da coagulação ocorre de forma natural pela via intrínseca. A formação da matriz de fibrina pelo processo da autoativação gera um conjunto de fibras em feixes tridimensionalmente organizados e resilientes, servindo como um reservatório para diversos tipos de células e fatores de crescimento.<sup>11</sup> A ativação do fator da coagulação XIII em XIIIa permite a ligação cruzada entre as moléculas de fibronectina e a fibra de fibrina, formando assim uma rede de ligações cruzadas altamente resistente.

Contrariamente, a estrutura da fibrina produzida por um processo quimicamente induzido, como nos concentrados de primeira geração (PRP) é

gerada por uma polimerização rápida durante adição do cloreto de cálcio, o que dificulta a incorporação celular e molecular na matriz de fibrina e prejudica a ligação das fibras de fibrina com a fibronectina, gerando assim uma matriz mais fracas e que, conseqüentemente, dissolve em menos tempo.<sup>14, 17</sup>

Figura 1 - Fluxograma mostrando a formação do coágulo de L-PRF



Fonte: O autor, 2020.

A coagulação é um fenômeno complexo que envolve diversas proteínas plasmáticas. A hemostasia secundária *in vivo* apresenta como descrito anteriormente, dois tipos de vias responsáveis pela transformação do fibrinogênio em fibrina, a via intrínseca e a via extrínseca. O processo de formação do coágulo de fibrina está diretamente relacionado ao fenômeno da autoativação que ocorre quando o sangue entra em contato com a superfície do tubo coletor.<sup>47, 48</sup> O fator XII da coagulação juntamente com algumas proteínas plasmáticas, desencadeiam a ativação da via intrínseca, responsável pela coagulação *in vitro*. O resultado deste fenômeno é a transformação do fator XI em XIa, dando início a cascata da coagulação, que possibilitará a conversão da protrombina em trombina, e esta a conversão do fibrinogênio em fibrina ao final do processo.<sup>48</sup> A qualidade da fibra de fibrina que se forma é diretamente relacionada ao método de preparo. Inclusão de



anticoagulantes ou agentes químicos para induzir a transformação da protrombina em trombina, reduzem drasticamente a qualidade e a quantidade de células na matriz de fibrina.<sup>45, 46, 48</sup>

#### Uso do L-PRF na preservação alveolar

Uma das principais modificações que ocorrem após as extrações dentárias é a diminuição das dimensões alveolares. Estas modificações podem ser um fator limitante para a subsequente reabilitação com implantes dentários, portanto biomateriais com capacidade de restringir a perda óssea tornam-se de grande valia. Estudos prévios relacionaram a perda óssea após a exodontia com a diminuição da vascularização na região alveolar, principalmente na tábua óssea vestibular.<sup>7</sup> Pesquisas em animais e ensaios clínicos têm investigado as mudanças que ocorrem após a exodontia mostrando uma redução significativa durante as primeiras 8 a 12 semanas.<sup>49-52</sup> Provavelmente, um dos estudos pré-clínicos mais citados é o trabalho de Lindhe e col.<sup>53</sup> que mostrou a partir de cortes histológicos, utilizando um modelo animal, as rápidas modificações na estrutura do osso alveolar após exodontia, principalmente na tábua óssea vestibular fina. Dentre os fatores responsáveis por estas alterações, a drástica redução no suprimento sanguíneo resultante da perda do ligamento periodontal, foi apontada como responsável pela redução da vascularização.<sup>7</sup>

Embora a perda do suprimento vascular seja um dos fatores responsáveis pela perda óssea após a exodontia, muitos outros fatores podem influenciar no processo. Alguns dos exemplos incluem o número de dentes extraídos, a morfologia do osso alveolar, a realização de retalhos ou descolamentos excessivos e algumas alterações sistêmicas.<sup>54</sup> Frente a este cenário, muitas técnicas vêm sendo propostas para reduzir a quantidade de perda óssea após a extração dentária. Possivelmente, por ser a perda óssea de origem multifatorial, nenhum método isoladamente pode preveni-la totalmente, e algum grau de reabsorção é sempre esperado.<sup>54, 55</sup> Assim, importantes fatores que influenciam na escolha do biomaterial para preservação alveolar após extrações dentárias incluem: a forma e extensão do defeito; a relação custo/ benefício; e a influência do enxerto no resultado final dos implantes instalados na área reabilitada.<sup>56</sup> Neste cenário complexo, a escolha da melhor técnica para a preservação alveolar permanece um desafio na odontologia.

O L-PRF é um concentrado plaquetário de segunda geração utilizado para promover angiogênese e melhorar o processo de cicatrização.<sup>11-13</sup> Tais

características o elegeram como uma opção para diversos procedimentos cirúrgicos bucais, recebendo especial atenção na preservação alveolar.<sup>32, 57-60</sup> Baseado em achados de estudos *in vitro* que sugeriram uma melhor liberação de fatores de crescimento pelo L-PRF comparado com os concentrados de primeira geração, conhecidos como PRP, o L-PRF ganhou destaque em diversas publicações nos principais periódicos da odontologia nos últimos anos.<sup>32, 58, 60-62</sup> Uma das principais vantagens relaciona-se a uma liberação lenta dos fatores de crescimento pela matriz de fibrina do L-PRF ao longo das fases inflamatória e proliferativa da cicatrização.<sup>11,</sup>

13

Alguns estudos prévios foram desenvolvidos para avaliar o efeito dos concentrados plaquetários na cicatrização óssea.<sup>58, 63-65</sup> Embora os resultados preliminares tenham mostrado eficácia da técnica, recentes revisões sistemáticas concluíram que existem muitas limitações metodológicas nos estudos primários disponíveis, sugerindo um risco de viés incerto ou alto em muitos dos estudos selecionados. As principais limitações incluíram a falta de um método adequado de randomização, falta de cegamento da alocação de randomização, cegamento dos avaliadores, viés na descrição dos resultados e falta de análises histológicas.<sup>32, 34, 66</sup>

Neste contexto, a evidência atual disponível quanto a indicação do L-PRF como material de preenchimento alveolar após exodontia permanece escassa. Estudos com rigor metodológico, amostra adequada e presença de análises histológicas não são encontrados na literatura.

## **2 PROPOSIÇÃO**

Os objetivos deste estudo foram: (1) avaliar o efeito do L-PRF como material de preenchimento na preservação óssea do rebordo alveolar três meses após extração dentária; (2) avaliar o efeito do L-PRF na formação óssea volumétrica alveolar três meses após extração dentária. (3) Avaliar a quantidade e a qualidade de osso formado dentro do alvéolo três meses após extração dentária utilizando análises histológicas.

### 3 PACIENTES E MÉTODOS

O presente estudo<sup>67</sup> foi conduzido no modelo experimental, através de um ensaio clínico randomizado (RCT), com delineamento paralelo, e cegamento dos avaliadores. Os pacientes foram recrutados para participar da pesquisa na clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). As orientações CONSORT<sup>68</sup> (Consolidated Standards of Reporting Trials) foram seguidas com o objetivo de assegurar uma maior qualidade e transparência metodológica.

Um total de 48 pacientes consecutivos foram selecionados em um período de 10 meses para participar da presente pesquisa. O número de indivíduos considerou o mínimo necessário para estimar o efeito do tratamento testado, e foi determinado de acordo com cálculo da amostra previamente realizado, evitando assim desperdício de recursos para a resposta ao questionamento clínico.

A metodologia para a estimativa do tamanho da amostra está apresentada nas etapas descritas a seguir: 1) hipótese nula: O uso do L-PRF, como biomaterial de preenchimento alveolar pós-exodontia, não influencia na capacidade de preservação das dimensões alveolares, quando comparada à cicatrização natural sem uso de enxertos; 2) o uso do L-PRF, como biomaterial de preenchimento alveolar pós-exodontia, apresenta maior capacidade de preservação das dimensões alveolares, quando comparada à cicatrização natural sem uso de enxertos (hipótese bilateral); 3) tipo de teste estatístico para estimar o tamanho da amostra: por apresentar uma variável predictorica dicotômica (L-PRF x controle) relacionada a uma variável de desfecho contínua (medida em milímetros da largura alveolar), utilizamos o teste t para estimar o tamanho da amostra, seguindo a seguinte fórmula:  $N = [(1/q_1 + 1/q_2)DP^2(Z_\alpha + Z_\beta)^2] \div E^2$ ; 4) a magnitude de efeito (E) igual a 3 mm foi calculada de acordo com a diferença dos valores médios da variável contínua do desfecho primário entre os grupos no estudo de Temmerman e col.<sup>58</sup>; 5) a variabilidade, representada pelo desvio padrão (DP) igual a 2.3mm foi obtida a partir da análise do desvio padrão da variável de desfecho do estudo de Temmerman e col.<sup>58</sup>; 6) um alfa igual a 0,05 e um beta  $1 - 0,80 = 0,20$  foi considerado. 7) A proporção esperada de sujeitos em

cada grupo foi de 50%, portanto  $q_1 = q_2 = 0.5$ . 8). Os valores de  $Z_\alpha = 1,96$  e  $Z_\beta = 0,84$  foram obtidos seguindo os valores correspondentes aos previamente atribuídos de alfa e beta. Diante da possibilidade de perda de parte da amostra durante o estudo, foi acrescido no cálculo da amostra um fator de 20% seguindo a fórmula  $N_f = N[1 \div (1 - 0,20)]$ . O cálculo da amostra completo está apresentado no anexo A.

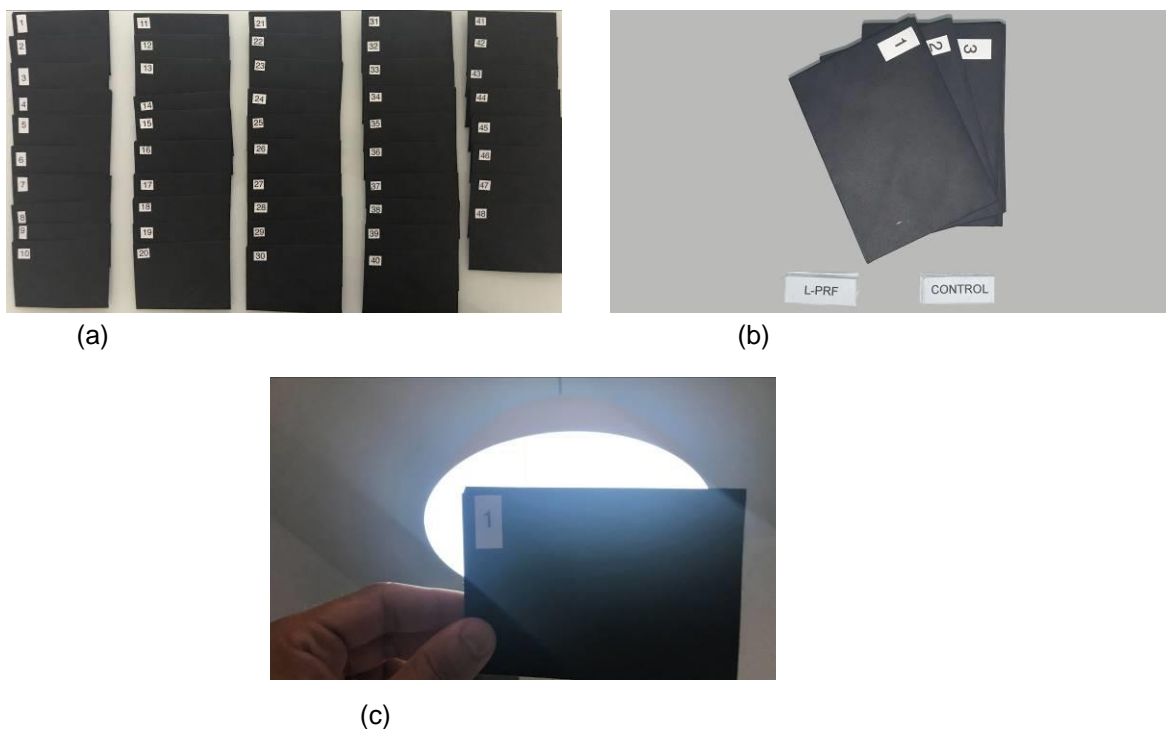
Todos os pacientes receberam um termo de consentimento informado (anexo B), e participaram da pesquisa de forma voluntária. O trabalho foi enviado previamente ao comitê de ética desta instituição, tendo sido aprovado sob o parecer número 2.281.456 (anexo C). Adicionalmente, a pesquisa foi cadastrada na plataforma clinicaltrial.gov sob o número do protocolo NCT03408418, tendo sido realizada a última atualização nesta plataforma em 26 de março de 2019. Para seleção dos pacientes, o pesquisador responsável pela triagem utilizou além do exame clínico, radiografias periapicais da região de interesse e sondagem periodontal. Os pacientes tiveram sua identificação protegida por códigos alfanuméricos e os critérios de inclusão utilizados foram os seguintes: (1) ser saudável, ASA I ou II segundo os critérios da Sociedade Americana de Anestesiologia, (2) ter idade entre 18 e 70 anos no momento da triagem, (3) apresentar necessidade de extração de um elemento dentário (incisivos, caninos ou pré-molares) em condições potenciais para receber a instalação de implante 3 meses após a exodontia.

Os pacientes foram excluídos do presente estudo quando identificado qualquer um dos seguintes critérios de exclusão: (1) quadro de periodontite sem tratamento, (2) higiene bucal deficiente, (3) fumantes (4) usuários de bisfosfonatos ou drogas indutoras de osteonecrose por via endovenosa, (5) gestantes ou lactantes e (6) complicações na cirurgia que exigissem abertura de retalho com exposição da tábua óssea.

Os pacientes foram divididos por um processo de randomização utilizando uma tabela de números aleatórios gerada por um programa de computador. Os números foram incluídos em envelopes selados, opacos e numerados sequencialmente, sem o conhecimento do pesquisador que selecionou os pacientes, garantido desta forma a geração de uma sequência de alocação imprevisível, e o cegamento desta sequência (Fig. 2). O envelope contendo o

número foi aberto pelo cirurgião após a exodontia, indicando assim o tipo de abordagem cirúrgica a ser executada após a extração. O número ímpar correspondeu ao grupo L-PRF (pacientes submetidos ao enxerto com L-PRF) e o número par ao grupo controle (pacientes submetidos à sutura convencional sem adição de enxerto).

Figura 2 - Envelopes opacos numerados sequencialmente.



Legenda: (a) e (b) - Envelopes numerados sequencialmente com os nomes dos grupos; (c) - opacidade preservada mesmo em presença de fonte luminosa.

Todos os participantes alocados foram incluídos na análise do grupo, análise por intenção de tratamento (ITT) independente do tratamento recebido, ou de ter os desfechos primários e secundários obtidos ou não. Para fins de comparação, os resultados obtidos pela análise por intenção de tratamento foram confrontados com a análise completa dos dados obtidos (CC).

Os pacientes não foram cegados com relação ao tipo de tratamento administrado, uma vez que apenas aqueles do grupo L-PRF foram submetidos à venopunção para coleta da amostra de sangue necessária ao preparo do enxerto. Entretanto, tanto o desfecho primário quanto os secundários foram categorizados como não passíveis de influência pela subjetividade da eficácia por parte dos paciente. Os pesquisadores responsáveis pelas mensurações tomográficas e análises histológicas foram cegados com relação ao tipo de tratamento realizado.

A remoção da amostra de sangue do paciente para confecção do concentrado plaquetário foi realizada por punção venosa periférica seguindo um protocolo pré-estabelecido (anexo D). As veias antecubitais foram preferencialmente escolhidas. Outras alternativas adequadas foram as veias cefálicas e basilicas. Foram realizadas, para promover a distensão venosa, massagem da extremidade da porção distal e/ou aplicação de leve aquecimento com compressa morna na região. Os dispositivos de punção contaram com sistema de proteção para descarte com intuito de prevenir qualquer tipo de acidente biológico.

O método de preparo do concentrado plaquetário foi feito utilizando o seguinte protocolo: uma amostra de até 54ml de sangue foi coletada diretamente em 6 tubos de plástico reforçados internamente por sílica, a partir de punção venosa braquial. A amostra foi submetida imediatamente a centrifugação com velocidade de 2700 RPM (aproximadamente 400g) por no mínimo 12 minutos, utilizando como centrífuga de bancada a IntraSpin System (33° de angulação do rotor, 50 mm de raio no local do coágulo, 80mm de raio na base do tubo; Intra-Lock, Boca Raton, Florida). Tal processo foi realizado sem a inclusão de nenhum tipo de anticoagulante, e o tempo entre a realização da venopunção e o início da centrifugação da amostra foi sempre menor que 1 minuto.

Após serem removidos da centrífuga de bancada, as amostras de sangue obtidas apresentaram separação em três camadas, sendo a mais superior representada pelo plasma pobre em plaquetas (PPP), a porção média pelo coágulo de fibrina (L-PRF), e a porção inferior pelas hemácias (Fig. 3a). Os coágulos de fibrina foram retirados dos tubos utilizando uma pinça reta. Iniciou-se o processo de formação do biomaterial a partir da desidratação do coágulo de fibrina. A porção inferior foi cuidadosamente separada da matriz de fibrina, evitando-se a remoção excessiva na região da base do coágulo. Utilizando um kit Xpression™, os coágulos foram comprimidos por uma placa metálica sob ação única da força da gravidade (Fig. 3b). Transcorridos aproximadamente 5 minutos, os coágulos estavam suficientemente desidratados e transformados em membranas para cobrir o alvéolo (Fig. 3c). Já os *plugs* de L-PRF foram produzidos utilizando cilindros plásticos e um pilão do kit, podendo estes ser imediatamente utilizados após a desidratação por compressão (Fig. 3d).

Figura 3 - Preparo das membranas e *plugs* de L-PRF utilizadas no alvéolo.



(a)



(b)



(c)



(d)

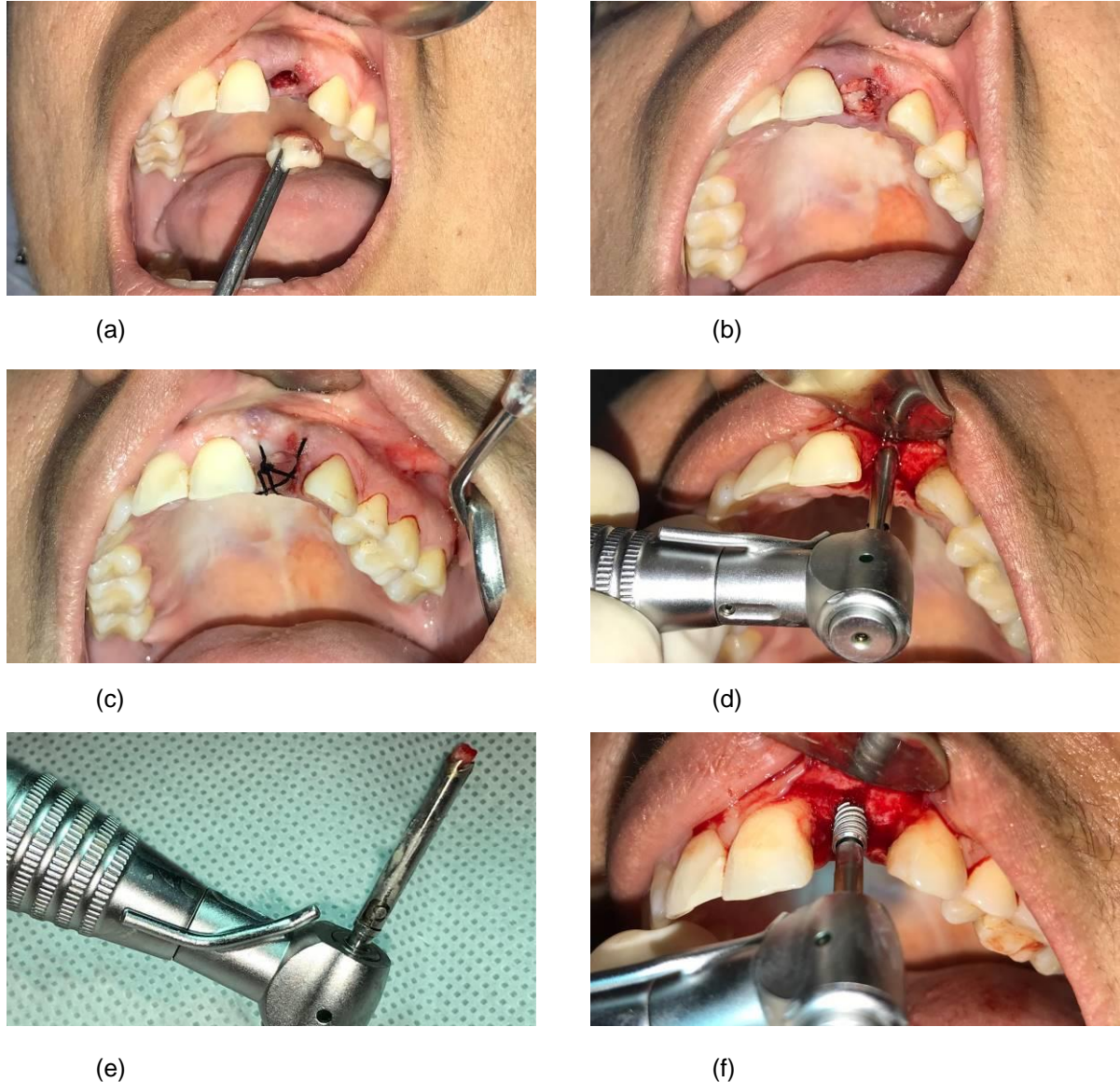
Legenda: (a) e (b) - Coágulos de L-PRF após a centrifugação; (c) - membrana de L-PRF após desidratação do coágulo; (d) - *Plug* de L-PRF após desidratação do coágulo.

As exodontias foram cuidadosamente realizadas através de uma técnica minimamente invasiva, sem realização de retalhos ou descolamentos mucoperiosteais excessivos, preservando assim a vascularização periosteal. Após a exodontia, o alvéolo foi examinado quanto à integridade das suas quatro paredes e do assoalho, garantindo assim a presença de defeitos de 5 paredes. Procedeu-se a irrigação com solução de soro fisiológico para posterior preenchimento com L-PRF, ou apenas a realização de sutura, a depender do grupo no qual o paciente foi alocado. O preenchimento da cavidade alveolar foi realizado comprimindo o maior número de *plugs* possível dentro do alvéolo (máximo de quatro *plugs*) (Fig.4a e 4b) e cobrindo o enxerto com uma camada



dupla de membrana de L-PRF (Fig. 4c). Após foi realizada sutura em x utilizando fio de sutura Ethicon seda 3-0 com agulha de 24 1,7cm Johnson e Johnson.

Figura 4 - Sequência cirúrgica realizada nos pacientes do grupo L-PRF.



Legenda: (a) e (b) - preenchimento da cavidade alveolar com *plugs* de L-PRF; (c) - recobrimento com camada dupla de membrana de L-PRF e sutura; (d) e (e) - biópsia realizada 3 meses após a exodontia com trefina de 2mm de diâmetro interno; (f) instalação do implante.

Transcorrido um período de 3 meses de cicatrização foram realizados os implantes dentários para reabilitação dos pacientes. Neste momento foi obtida uma amostra do tecido ósseo formado dentro da cavidade alveolar para avaliação histológica da neoformação óssea (Fig. 4d e 4e). Os implantes foram selecionados e posicionados de maneira a permitir uma adequada reabilitação protética, respeitando os princípios biomecânicos para posterior reabilitação protética dos pacientes (Fig. 4f).

Um total de 45 implantes b-fix profile® (TitaniumFix implant system - AS Technology, São Jose dos Campos, SP, Brazil) foram instalados (Fig. 5). Todos os pacientes foram acompanhados durante a reabilitação protética, ficando os participantes responsáveis pelo custo da confecção da prótese final conforme termo de consentimento informado (ANEXO B).

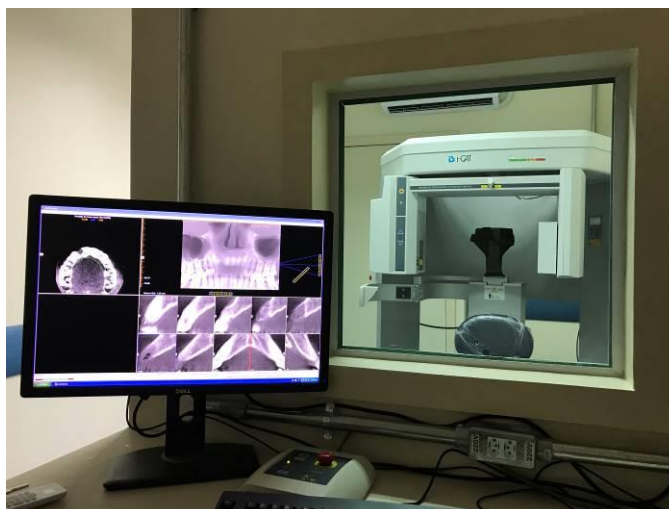
Figura 5 - Implantes b-fix profile® TitaniumFix-SP Brasil.



Legenda: implantes auto-rosqueáveis profile de plataforma estreita variando de 3,5 a 4 mm em diâmetro e 8,5 a 10mm em comprimento.

Para a avaliar os desfecho da presente pesquisa, relacionados às dimensões alveolares, foram utilizadas tomografias computadorizadas por feixe cônico (TCFC). Todas as imagens foram realizadas no mesmo tipo de aparelho (i-CATVision 1.9.3) pertencente ao serviço de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE (Fig.6). Um único operador foi responsável pela captura das imagens de todos os pacientes, seguindo as mesma especificações técnicas de calibragem para a captura do volume (Fig. 6). A mensuração foi feita em dois tempos, T0 (imediatamente após a exodontia) e T1 (3 meses pós-exodontia, antes da instalação do implante). Os arquivos no formato DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) foram então transferidos para um software de análise das imagens, e avaliados por um examinador devidamente treinado e cegado quanto ao tipo de tratamento executado.

Figura 6 - Tomógrafo utilizado na captura dos volumes.



Legenda: as especificações de volume foram KVP = 120 , mA = 5, mAs = 37.07, diâmetro = 8 cm, altura = 9 cm, voxel = 0,125 em 26,9 segundos.

As seguintes mensurações foram realizadas de acordo com a análise descrita por Jung et al.<sup>69</sup>: 1) largura do alvéolo dentário 1 mm abaixo da crista óssea (HW-1mm); 2) largura do alvéolo dentário 3 mm abaixo da crista óssea (HW-3mm); 3) largura do alvéolo dentário 5 mm abaixo da crista óssea (HW-5mm); e 4) reabsorção vertical da tábua óssea vestibular e palatina/lingual (RTV e RTP/L) de acordo com a metodologia descrita por Temmerman et al.<sup>58</sup> (Fig. 6). Adicionalmente, o volume ósseo neoformado foi determinado com base nos limites pré-definidos pelos planos axial, coronal e sagital, utilizando a menor área contendo todo o alvéolo dentário. O volume, então, foi obtido por uma análise semi-automática utilizando o ITK-SNAP. A quantidade de osso neoformado foi então determinada em milímetros cúbicos através da diferença entre os volumes pré e pós-operatórios (Fig. 8). Dois examinadores cegados realizaram todas as análises tomográficas, sendo realizada a mensuração de no máximo três pacientes em um mesmo dia. Foi mensurada a confiabilidade intra e inter-examinador das medidas lineares e volumétricas dos valores obtidos pelos dois avaliadores utilizando as 10 primeiras tomografias incluídas nesta pesquisa, tendo sido realizadas duas aferições de cada TCFC por cada um dos examinadores, com intervalo mínimo de 7 dias. O método utilizado para interpretação do coeficiente de correlação infraclasse (Tabela 2) foi o descrito por Weir e col.<sup>70</sup>

Tabela 2 - Critérios para interpretação do CCI

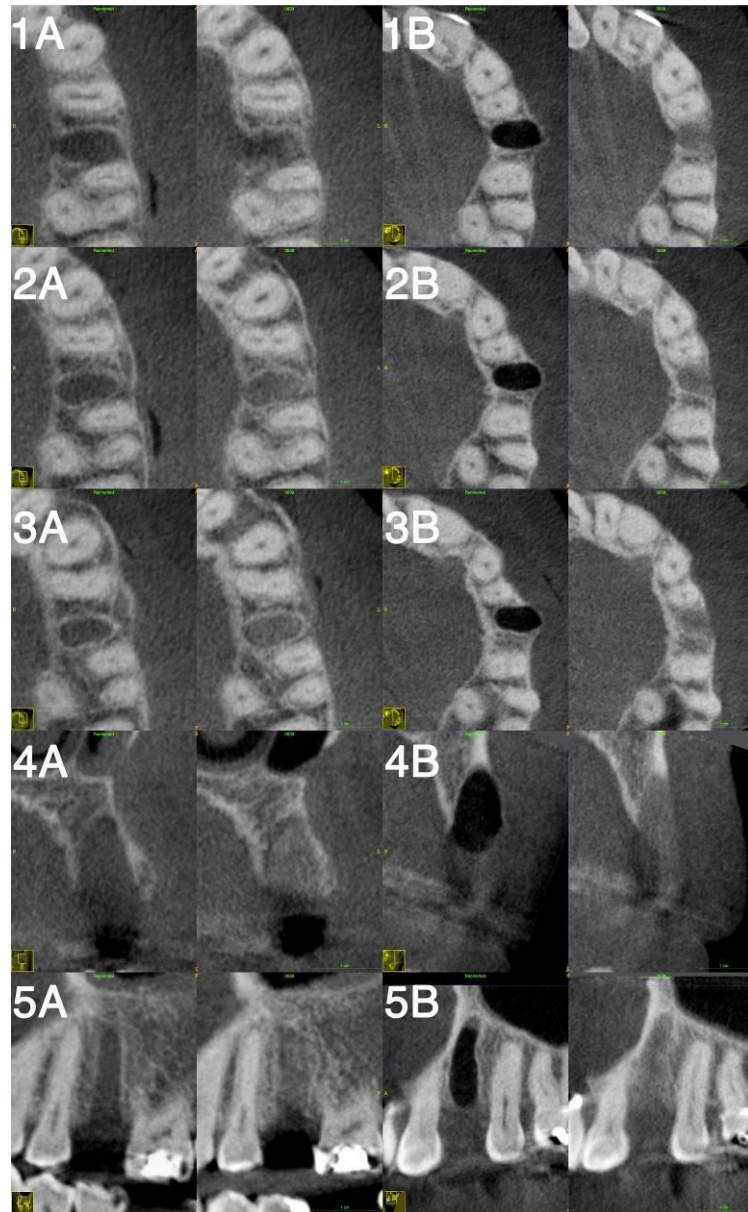
CCI	Confiabilidade
0,00 - 0,20	Pobre
0,20 - 0,40	Razoável
0,40 - 0,60	Boa
0,60 - 0,80	Muito Boa
0,80 - 1,00	Excelente

Weir JP. Quantifying test-retest reliability using the intraclass correlation coefficient and the SEM. J Strength Cond Res. 2005; 19(1):231-40

Uma semana após a segunda tomografia (T1) de cada paciente, foi realizada a cirurgia de instalação do implante. Inicialmente, um espécime de biópsia foi coletado da região alveolar utilizando uma trefina de diâmetro interno de 2mm, externo de 3.2 e comprimento de 8mm. Procedeu-se a avaliação histológica através da análise histomorfométrica dos espécimes de biópsia obtido dos pacientes. As amostras foram preparadas dentro dos mesmos padrões de processamento para a obtenção de informações quantitativas (anexo E). Os espécimes foram desidratados, embebidos em blocos de parafina e posteriormente cortados e analisados microscopicamente. Após a descalcificação foi utilizada uma secção central representativa de cada espécime para ser submetido à coloração pelos métodos Tricrômico de Goldner e Hematoxilina-Eosina. A coloração Tricrômico de Goldner foi utilizada para visualização dos tecidos não mineralizados, da porção orgânica óssea e da porção da matriz óssea mineral. Os osteóides foram identificados pela cor vermelha/ rosa enquanto a área de osso maduro foi identificado pela cor verde. Fotografias padronizadas utilizando a magnitude de x4 e x20 foram realizadas e inseridas no software ImageJ (1.52 k; National Institutes of Health, USA) para avaliação histomorfométrica. Dois examinadores cegados realizaram as análises histológicas das lâminas através de microscópio de luz polarizada. Em cada espécime, 5 campos na magnitude x20 foram aleatoriamente escolhidos para a avaliação óssea quantitativa.



Figura 7 - Cortes tomográficos utilizados na mensuração linear do alvéolo.



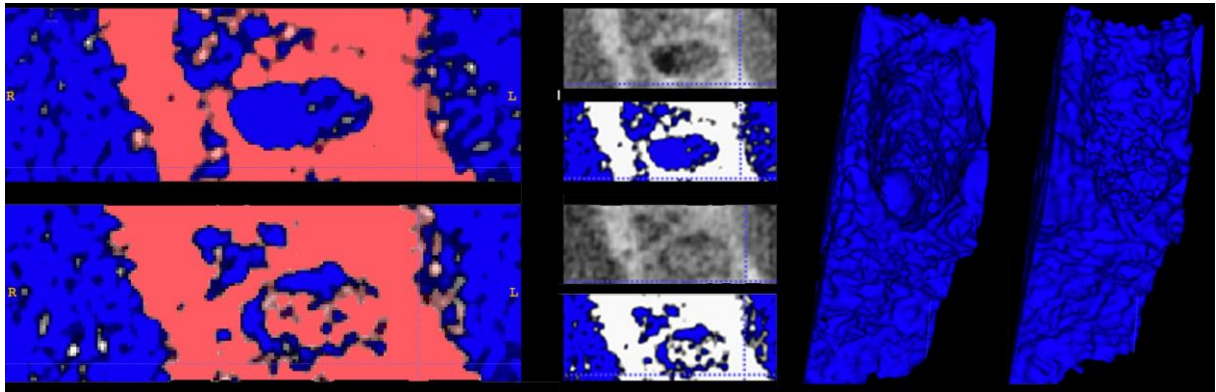
Legenda: (1A, 2A, 3A, 4A e 5A) - Cortes tomográficos em T0 e T1 nos planos axial 1mm, 3mm, 5mm abaixo da crista óssea, coronal e sagital representando um paciente do grupo L-PRF; (1B, 2B, 3B, 4B e 5B) - Cortes tomográficos em T0 e T1 nos planos axial 1mm, 3mm, 5mm abaixo da crista óssea, coronal e sagital representando um paciente do grupo controle. - (a) Cortes tomográficos representando um paciente do grupo L-PRF; (b) Cortes tomográficos representando um paciente do grupo controle.

Dois componentes eram inicialmente observados, sendo o primeiro o osso vital, e o segundo o tecido conjuntivo/tecido não mineralizado. O primeiro componente foi caracterizado pela visualização de osteócitos e tecido mineralizado, enquanto que o segundo foi definido pela presença de tecido conjuntivo fibroso ou ausência de tecido ósseo. Após três meses transcorridos da

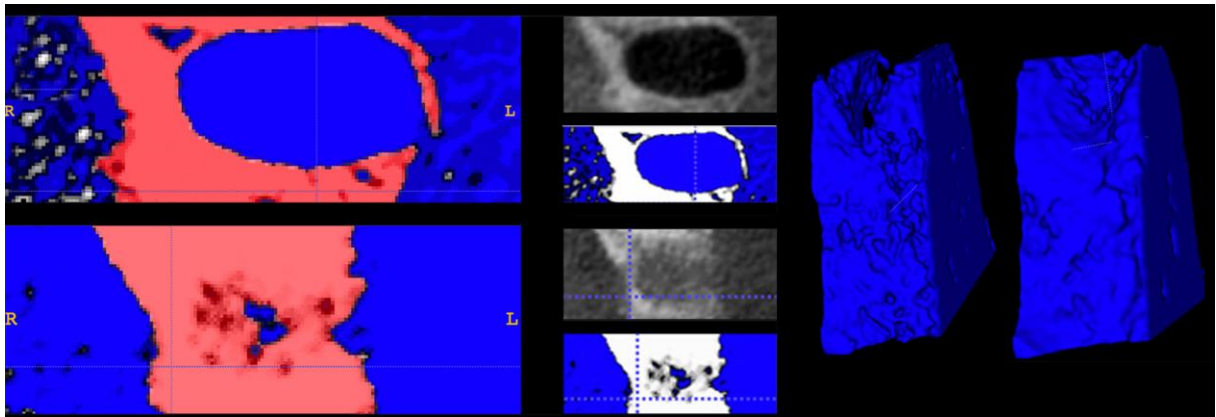
cirurgia de instalação do implante, radiografias periapicais foram realizadas para avaliar a cicatrização óssea peri-implantar.

O método principal utilizado para comparação dos tempos, tanto nos dados tomográficos quanto nos dados histomorfométricos, foi a ITT. Duas estratégias foram abordadas em caso de dados faltosos: a primeira opção foi pela última observação realizada, *last observation carried forward* (LOCF); e a segunda e alternativa, opção empregada quando não foi possível realizar a LOCF, a dedução da média a partir do grupo oposto *imputation of the mean of the other group* (MOTH). Toda análise estatística foi realizada utilizando o software R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <https://www.R-project.org/>. O teste de Kolmogorove Smirnov assim como avaliação dos histogramas foram utilizadas para analisar a distribuição dos dados e consequentemente determinar o teste estatístico adequado a ser empregado. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0.05$ ) para todas as análises.

Figura 8 - Avaliação tomográfica volumétrica da neoformação óssea.



(a)



(b)

Legenda: (a) - Cortes tomográficos representando um paciente do grupo L-PRF; (b) Cortes tomográficos representando um paciente do grupo controle. Observe à esquerda a área óssea em vermelho automaticamente determinada pela função "*segment 3D - add bubble at cursor*" no centro os cortes axiais modificados pela visualização pré-segmentação; e à direita o volume ósseo final mensurado pelo programa em azul.

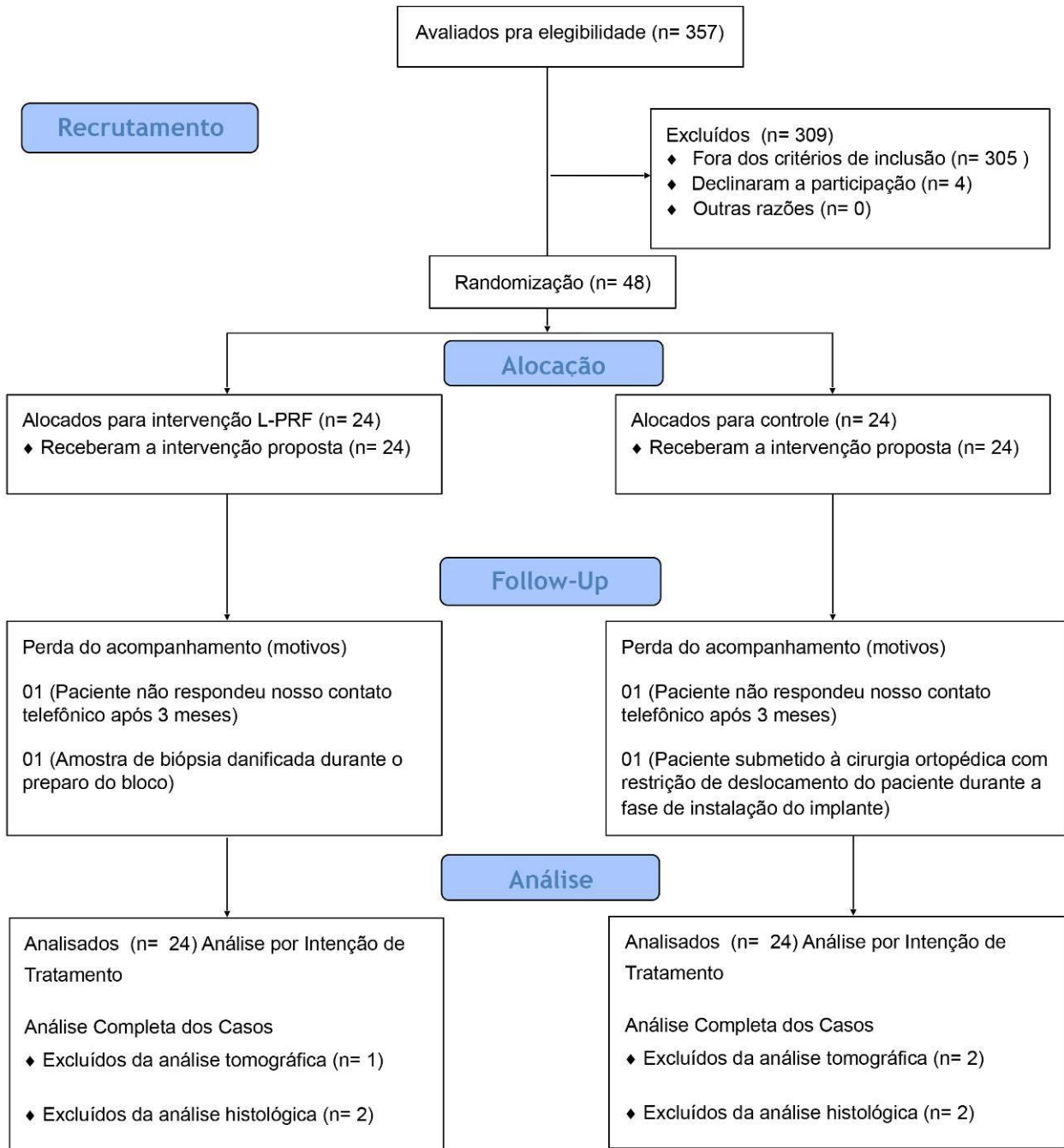
## 4 RESULTADOS

Durante o período de seleção da amostra, um total de 357 pacientes foram avaliados e selecionados de acordo com os critérios de elegibilidade. Destes, um total de 309 pacientes foram excluídos do presente estudo, dos quais 305 estavam fora dos critérios de inclusão e 4 se recusaram a participar da pesquisa. Os 48 pacientes restantes, após a randomização, foram separados em dois grupos contendo 24 pacientes cada. Durante o período de acompanhamento, três pacientes não retornaram para instalação dos implantes, sendo 1 no grupo L-PRF e 2 no grupo controle. Assim, foram obtidas 45 amostras de biópsia por ocasião da instalação do implante na região alveolar estudada. Durante o processamento dos blocos, uma amostra foi danificada, gerando um total de 44 espécimes, sendo 22 no grupo L-PRF e 22 no grupo controle, como apresentado na figura 9.

Os 48 pacientes incluídos nesta pesquisa foram recrutados entre os meses de Janeiro e Novembro de 2018, no departamento de Cirurgia da UERJ. A distribuição do número de cirurgias realizadas por grupo, gênero, média de idade e outras características da população alvo estudada estão apresentadas na Tabela 3. Observe que após uma correta randomização, as características populacionais foram distribuídas de forma equilibrada entre os grupos, com valor de  $p > 0,05$  para todas as características listadas.



Figura 9 - Fluxograma CONSORT.

**FLUXOGRAMA CONSORT**

Legenda: CONSORT, Consolidated Standards of Reporting Trials.

Um total de três pacientes não completaram este estudo, dos quais 2 pacientes não realizaram a tomografia em T1, e 1 paciente não realizou nenhum registro tomográfico. Desta forma, procedeu-se a análise por intenção de tratamento utilizando os métodos LOCF e MOTH. Os valores tomográficos das mensurações alveolares nos pacientes com apenas um registro tomográfico (T1) foram submetidos ao método LOCF. Ao contrário, as mensurações alveolares no paciente com ausência de registro tomográfico, o método MOTH foi utilizado. Após um período de acompanhamento de três meses, dentre os 44 implantes instalados, 1 necessitou ser removido por falta de osseointegração. Nenhuma outra intercorrência foi registrada durante este período de observação.

Tabela 3 - Características da população estudada

	Total	L-PRF	Controle
Pacientes	48	24	24
Média de idade (variação)	44,8 (18 a 69)	46,1 (26 a 68)	43,6 (18 a 69)
Gênero (%)			
Homens	21 (43,7)	12 (50)	9 (37,5)
Mulheres	27 (56,3)	12 (50)	15 (62,5)
Região (%)			
Maxila	36 (75)	17 (70,8)	19 (79,1)
Mandíbula	12 (25)	7 (29,2)	5 (20,9)
Elemento Dentário			
Incisivo	14 (29,1)	8 (33,3)	6 (25)
Canino	3 (6,4)	1 (4,2)	2 (8,4)
Pré-molar	31 (64,5)	15 (62,5)	16 (66,6)
Abandono (%)	3 (6,2)	2 (8,3)	1 (4,1)
Reabilitação Implantes	45 (93,8)	22 (91,7)	23 (95,9)

Os valores de confiabilidade das medidas tomográficas e histológicas indicaram uma alta confiabilidade intra e inter-examinador (Tabelas 4 e 5). A análise da confiabilidade das medidas adotando os critérios descritos por Weir e col<sup>70</sup>

apresentou excelente reprodutibilidade para todas as variáveis avaliadas tanto nos exames tomográficos quanto nas medidas histológicas.

O teste de Kolmogorov-Smirnov indicou uma distribuição normal dos dados. Portanto, os dados paramétricos foram comparados utilizando o test-t de Student para amostras independentes.

Tabela 4 - Confiabilidade intra e inter-examinador dos dados tomográficos

Confiabilidade Intra-examinador			
Variável	ICC	95% CI	p-value
Largura alveolar 1mm abaixo da crista óssea	0,895	(0,607; 0,973)	<0,01*
Largura alveolar 3mm abaixo da crista óssea	0,991	(0,957; 0,998)	<0,01*
Largura alveolar 5mm abaixo da crista óssea	0,994	(0,977; 0,999)	<0,01*
Altura óssea tábua vestibular	0,970	(0,879; 0,993)	<0,01*
Altura óssea tábua lingual/palatina	0,929	(0,711; 0,983)	<0,01*
Neoformação óssea volumétrica	0,951	(0,812; 0,988)	<0,01*
Confiabilidade Inter-examinador			
Largura alveolar 1mm abaixo da crista óssea	0,864	(0,495; 0,996)	<0,01*
Largura alveolar 3mm abaixo da crista óssea	0,987	(0,951; 0,997)	<0,01*
Largura alveolar 5mm abaixo da crista óssea	0,988	(0,953; 0,997)	<0,01*
Altura óssea tábua vestibular	0,942	(0,760; 0,986)	<0,01*
Altura óssea tábua lingual/palatina	0,904	(0,635; 0,976)	<0,01*
Neoformação óssea volumétrica	0,927	(0,711; 0,928)	<0,01*

ICC, Coeficiente de Correlação intraclass; CI, Intervalo de Confiança; \*,  $p < 0,05$

A análise por intenção de tratamento e a análise completa dos casos estão apresentadas nas Tabelas 6 e 7. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os métodos de análise dos dados, sendo a primeira a abordagem escolhida para a discussão dos resultados.

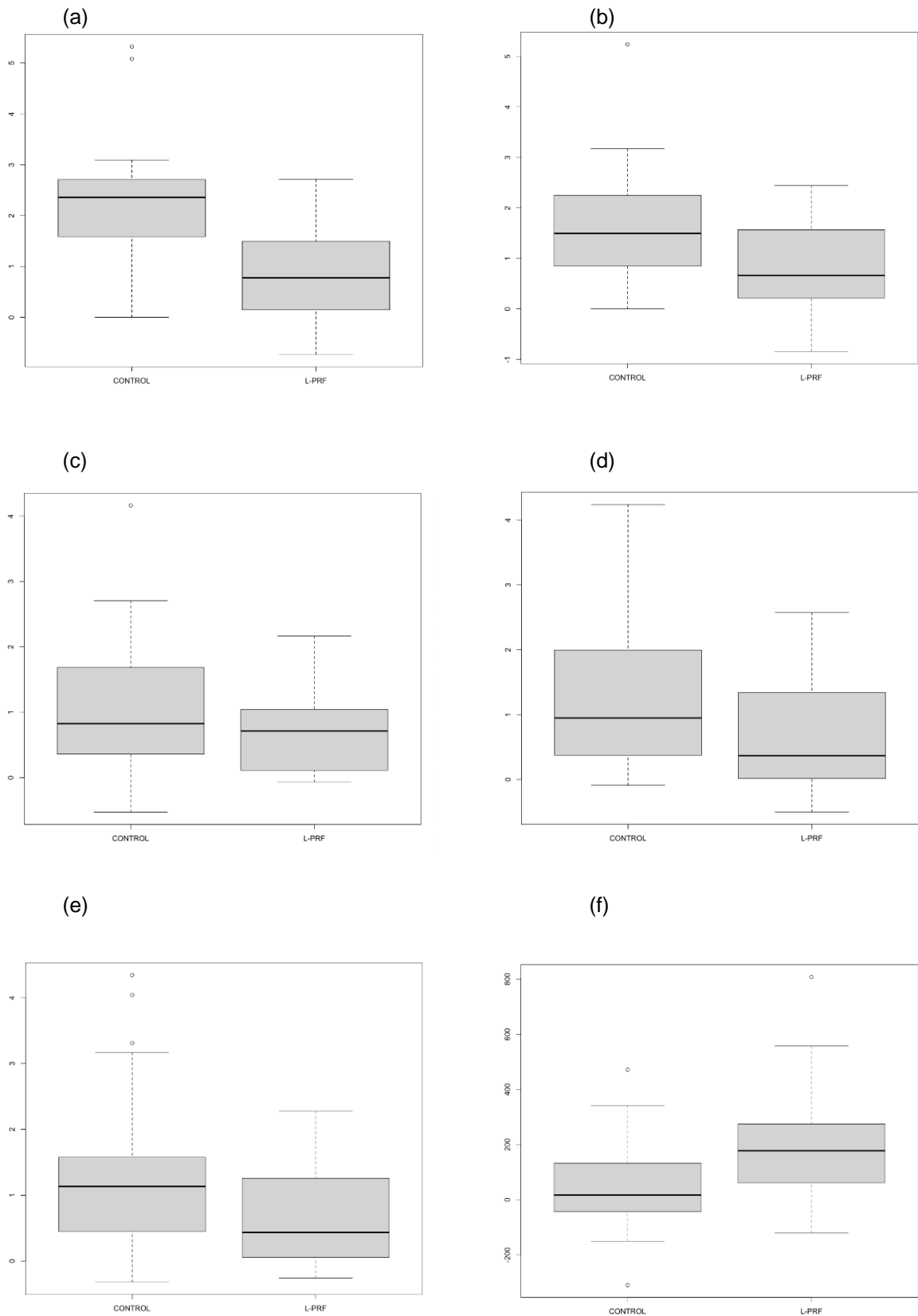
Tabela 5 - Confiabilidade intra e inter-examinador dos dados histológicos

Confiabilidade Intra-examinador			
Variável	ICC	95% CI	p-value
Ossos Imaturos (%)	0,998	(0,996; 0,999)	<0,01*
Ossos Maturados (%)	0,997	(0,995; 0,998)	<0,01*
Ossos Totais (%)	0,998	(0,997; 0,999)	<0,01*
Tecido Conectivo / Outros	0,998	(0,995; 0,999)	<0,01*
Confiabilidade Inter-examinador			
Ossos Imaturos (%)	0,996	(0,993; 0,998)	<0,01*
Ossos Maturados (%)	0,997	(0,994; 0,998)	<0,01*
Ossos Totais (%)	0,999	(0,998; 0,999)	<0,01*
Tecido Conectivo / Outros	0,997	(0,994; 0,998)	<0,01*

ICC, Coeficiente de Correlação intraclass; CI, Intervalo de Confiança; \*,  $p < 0,05$

A avaliação dos dados tomográficos mostrou uma redução da perda óssea horizontal 1 mm abaixo da crista óssea alveolar, quando comparado os grupos teste e controle (média de  $-0,93 \pm 0,9$  mm para o grupo L-PRF e  $-2,21 \pm 1,2$  mm para o grupo controle;  $p=0,0001$ ); e 3mm abaixo da crista óssea alveolar (média de  $-0,85 \pm 0,8$  mm para o grupo L-PRF e  $-1,67 \pm 1,1$  mm para o grupo controle;  $p=0,005$ ). Similarmente, o L-PRF reduziu a reabsorção da tábua óssea vestibular (média de  $-0,70 \pm 0,7$  mm para o grupo L-PRF e  $-1,39 \pm 1,2$  mm para o grupo controle;  $p=0,02$ ). Por fim, a média do volume ósseo neoformado no grupo L-PRF ( $190,9 \pm 169,9$  mm<sup>3</sup>) foi significativamente maior comparada ao grupo controle ( $44,87 \pm 200,2$ )  $p=0,009$ .

Figura 10 - Box plot dos dados tomográficos.



Legenda: (a) - Reabsorção óssea 1mm abaixo da crista alveolar; (b) Reabsorção óssea 3mm abaixo da crista alveolar; (c) Reabsorção óssea 5mm abaixo da crista alveolar; (d) Reabsorção óssea da tábua óssea vestibular; (e) Reabsorção óssea da tábua óssea palatina/lingual; (f) Neoformação óssea volumétrica.

As diferenças entre o grupo L-PRF e controle para a perda óssea horizontal 5mm abaixo da crista e para a tábua óssea palatina/ lingual não foram estatisticamente significantes. A Figura 10 apresenta uma análise visual da posição, dispersão, simetria, caudas e valores discrepantes (outliers) do conjunto de dados tomográficos.

Tabela 6 - Análise tomográfica - ITT

Variável	L-PRF (24 alvéolos)	Controle (24 alvéolos)	p-value
	Média ± DP	Média ± DP	
Largura alveolar 1mm abaixo da crista óssea	-0,93 ± 0,93	-2,27 ± 1,21	<0,01*
Largura alveolar 3mm abaixo da crista óssea	-0,85 ± 0,81	-1,67 ± 1,10	<0,01*
Largura alveolar 5mm abaixo da crista óssea	-0,67 ± 0,56	-1,08 ± 1,04	p=0,094
Altura óssea tábua vestibular	-0,70 ± 0,77	-1,39 ± 1,28	<0,05*
Altura óssea tábua lingual/ palatina	-0,67 ± 0,90	-1,24 ± 1,15	p=0,064
Neoformação óssea volumétrica	190,98 ± 169,9	44,87 ± 200,2	<0,01*

ITT, Análise por Intenção de Tratamento; DP, Desvio padrão; \*,  $p < 0,05$ .

Tabela 7 - Análise tomográfica - CC

Variável	L-PRF (24 alvéolos)	Controle (24 alvéolos)	<i>p</i> -value
	Média ± DP	Média ± DP	
Largura alveolar 1mm abaixo da crista óssea	-0,97 ± 0,92	-2,43 ± 1,12	<0,01*
Largura alveolar 3mm abaixo da crista óssea	-0,89 ± 0,81	-1,78 ± 1,10	<0,01*
Largura alveolar 5mm abaixo da crista óssea	-0,70 ± 0,55	-1,15 ± 1,05	<i>p</i> =0,096
Altura óssea tábua vestibular	-0,73 ± 0,77	-1,49 ± 1,30	<0,05*
Altura óssea tábua lingual/ palatina	-0,70 ± 0,90	-1,32 ± 1,16	<i>p</i> =0,054
Neoformação óssea volumétrica	199,28 ± 200,43	40,28 ± 174,59	<0,01*

CC, Análise Completa dos Casos; DP, Desvio padrão; \*,  $p < 0,05$ .

A análise dos dados histomorfométricos através do método de intenção de tratamento, assim como a análise completa dos dados, estão apresentadas nas Tabelas 8 e 9. Similarmente aos resultados tomográficos, os métodos não apresentaram resultados significativamente diferentes. Em síntese, o L-PRF melhorou a porcentagem de osso neoformado após três meses (média de  $55,96 \pm 11,97$  para o grupo L-PRF, e  $39,69 \pm 11,13$  para o grupo controle  $p=0,00001$ ). A diferença entre os grupos para a porcentagem de osso imaturo não foi estatisticamente significativa ( $p=0,094$ ).

Tabela 8 - Análise histomorfométrica - ITT (% área total da amostra)

Variável	L-PRF (24 alvéolos)	Controle (24 alvéolos)	<i>p</i> -value
	Média ± DP	Média ± DP	
Osso Imaturo (%)	10.75 ± 6.58	7.74 ± 5.55	<i>p</i> =0.094
Osso Maduro (%)	45.22 ± 11.98	32.10 ± 10.90	<0.01*
Osso Total (%)	55.96 ± 11.97	39.69 ± 11.13	<0.01*
Tecido Conectivo / Outros	43.90 ± 12.01	60.51 ± 11.18	<0.01*

ITT, Análise por Intenção de Tratamento; DP, Desvio padrão; \*, *p* < 0.05 statistically significant.

Tabela 9 - Análise histomorfométrica - CC (% área total da amostra)

Variável	L-PRF (24 alvéolos)	Controle (24 alvéolos)	<i>p</i> -value
	Média ± DP	Média ± DP	
Osso Imaturo (%)	11.05 ± 6.80	7.74 ± 5.71	<i>p</i> =0.063
Osso Maduro (%)	46.53 ± 11.64	30.79 ± 10.42	<0.01*
Osso Total (%)	57.58 ± 11.12	38.07 ± 10.13	<0.01*
Tecido Conectivo / Outros	42.24 ± 11.11	62.18 ± 10.11	<0.01*

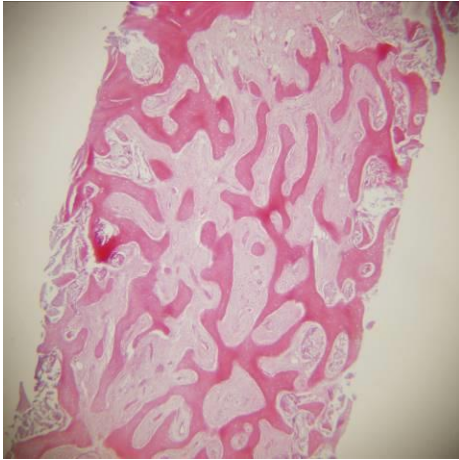
CC, Análise Completa dos Casos; DP, Desvio padrão; \*, *p* < 0.05 statistically significant.

Os cortes histológicos representativos dos grupos L-PRF e controle corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Goldner estão exemplificados por diferentes aumentos nas Figuras 11 e 12.

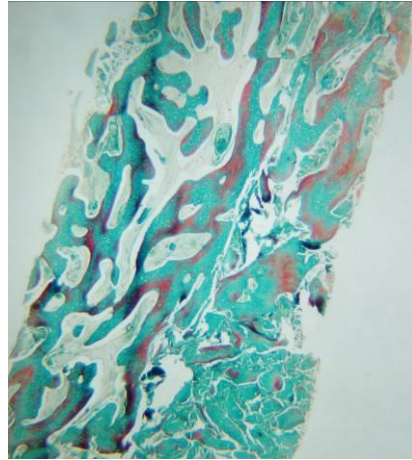


Figura 11 - Amostras histológicas representativas do grupo L-PRF.

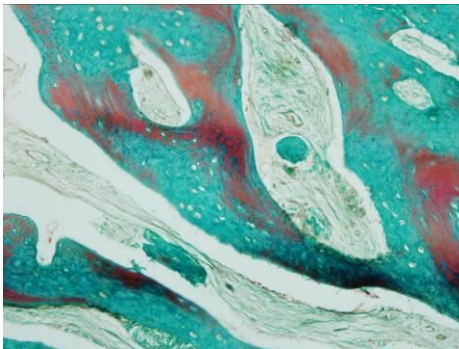
(a)



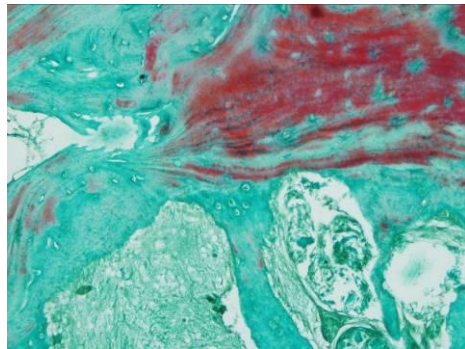
(b)



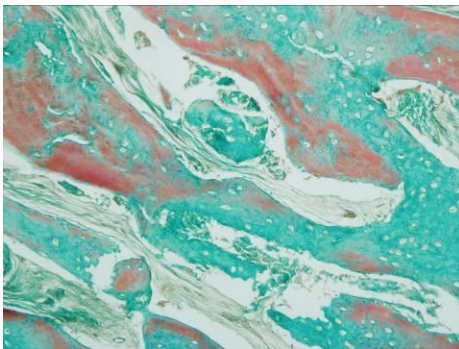
(c)



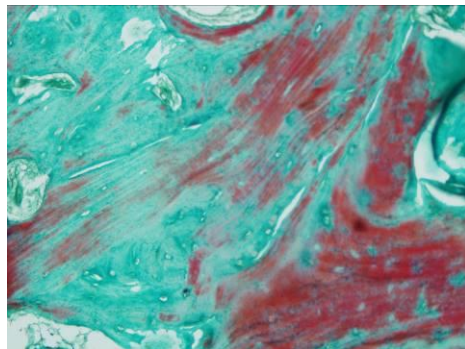
(d)



(e)

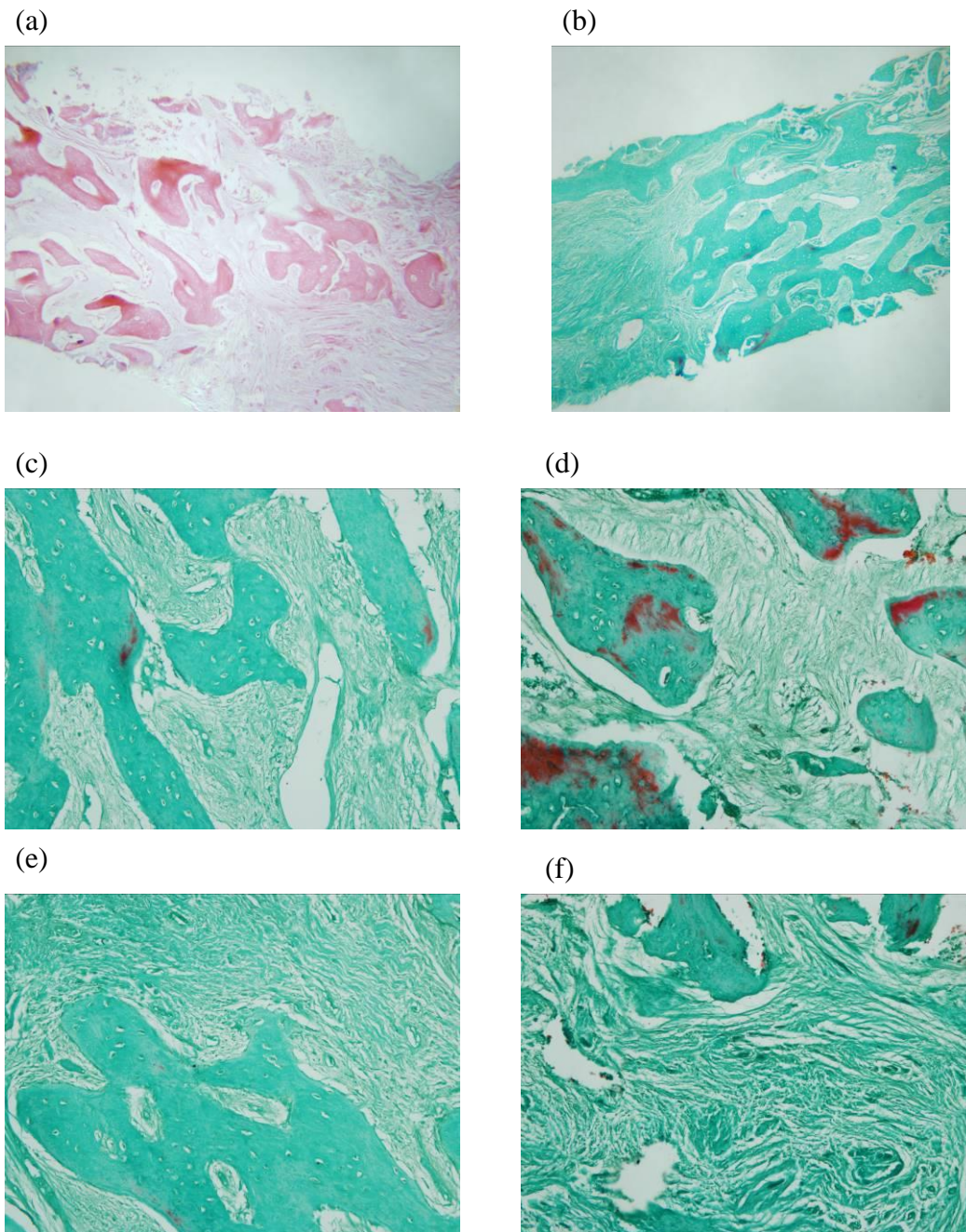


(f)



Legenda: Cortes histológicos representativos do grupo L-PRF (a-f); (a) Coloração Hematoxilina-Eosina x4 (b) Coloração Tricrômico de Goldner x4; (c,d,e,f). Note a diferenciação da matriz óssea madura representada na coloração Tricrômico de Goldner pela cor verde e imatura representada pela cor vermelho grená;

Figura 12 - Amostras histológicas representativas do grupo controle.



Legenda: (a) - Cortes histológicos representativos do grupo controle (a-f); (a) Coloração Hematoxilina-Eosina x4 (b) Coloração Tricrômico de Goldner x4; (c,d,e,f) Coloração Tricrômico de Goldner x20.

## 5 DISCUSSÃO

A tese de que o L-PRF pode ser utilizado para preservação alveolar após extrações dentárias foi testada no presente RCT<sup>67</sup>. Adicionalmente, três estudos foram desenvolvidos nos últimos dois anos: duas revisões sistemáticas com meta-análise<sup>32, 56</sup> e uma revisão sistemática com *network* meta-análise<sup>71</sup>. Juntos, estes estudos fornecem a mais robusta evidência para a utilização do L-PRF na preservação alveolar, corroborando estudos *in vitro*<sup>13, 18, 72</sup> e ensaios clínicos<sup>58, 60, 62, 63, 73</sup> prévios que sugerem uma possível melhora no processo de cicatrização do tecido ósseo.

A primeira revisão sistemática publicada<sup>32</sup> buscou avaliar em quais intervenções cirúrgicas bucais o L-PRF havia sido testado. O estudo avaliou um total de 559 artigos, dos quais 30 foram incluídos na análise qualitativa. Assim, foi possível identificar os ensaios clínicos randomizados em diversas intervenções cirúrgicas, incluindo a preservação alveolar após exodontia. Embora o estudo tenha encontrado uma possível melhora na preservação alveolar, foi destacada a falta de ensaios clínicos com baixo risco de viés e análises histológicas para confirmar os achados imaginológicos.

Dentre os quatro ensaios clínicos avaliados por Canellas e col.<sup>32</sup>, três<sup>58, 63, 74</sup> mostraram um efeito positivo do L-PRF na preservação alveolar. Um estudo<sup>75</sup> comparou o L-PRF com fosfato beta-tricálcio, mostrando resultados similares para ambos os biomateriais na preservação alveolar. Dois estudos<sup>58, 63</sup> compararam o L-PRF com a cicatrização espontânea, encontrando um efeito favorável à intervenção. Por fim, o último estudo<sup>76</sup>, embora não tenha encontrado uma diferença estatisticamente significativa entre o L-PRF e o controle, demonstrou uma cicatrização mais rápida no grupo L-PRF.

A segunda revisão sistemática<sup>56</sup> buscou identificar qual a melhor abordagem após as extrações dentárias, o implante imediato ou a preservação alveolar seguida da instalação do implante. Dentre os principais achados deste estudo, a preservação alveolar mostrou uma melhor taxa de sobrevivência dos implantes nos primeiros 12 meses. Entretanto, a taxa de sucesso, levando-se em consideração parâmetros estéticos (Pink Esthetic Score), foi maior quando realizada a instalação imediata dos implantes na região anterior. Diante destes

resultados, futuros estudos avaliando o uso de L-PRF associado à instalação imediata do implante são desejáveis.

A terceira revisão sistemática<sup>71</sup> buscou avaliar o efeito dos principais biomateriais utilizados na preservação alveolar através de análises histomorfométricas da cicatrização óssea. Uma meta-análise em rede combinando toda evidência direta e indireta dos RCTs disponíveis na literatura foi conduzida. Um total de 1526 estudos foram avaliados, dos quais 38 incluídos na análise quantitativa. Os resultados mostraram não haver disponíveis na literatura RCTs com análise histológica avaliando o L-PRF, e que diferentes protocolos produzem resultados histológicos distintos.

Contrariamente aos achados do presente RCT<sup>67</sup>, Al-Hamed e col<sup>77</sup> concluíram que o PRF não apresentava efeitos favoráveis na cicatrização óssea após extrações dentárias. Os autores realizaram uma revisão sistemática incluindo um total de 335 cirurgias de terceiros molares. Entretanto, importantes falhas metodológicas estavam presentes, sendo estas inicialmente descritas por Canellas e col<sup>78</sup> e, posteriormente, por Brignardello-Petersen<sup>79</sup>. Os principais pontos foram a ausência de um protocolo prévio, uma estrutura de busca dos estudos primários pouco abrangente, erros de interpretação da classificação do viés nos estudos primários e conclusões fundamentadas em desfechos secundários. Assim, estudos utilizando exames radiográficos e cintilografia para avaliação da cicatrização óssea devem ser interpretados com cautela. O presente RCT<sup>67</sup> utilizou métodos histológicos, com avaliadores cegados, para quantificar a formação óssea induzido pelo L-PRF, garantindo assim resultados mais seguros.

Lin e col<sup>34</sup> publicaram uma revisão sistemática avaliando o efeito do PRF na preservação alveolar após exodontia. Os autores encontraram cinco artigos, dos quais quatro mostraram efeito favorável a intervenção. A análise quantitativa realizada combinando dois destes estudos não encontrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos PRF e controle. Entretanto, os autores sugeriram a necessidade de mais RCTs com baixo risco de viés para confirmar ou refutar os resultados encontrados. Dentre as principais limitações do estudo estão a falta de critério definido para inclusão e exclusão de alguns protocolos de centrifugação, assim como a falta de um registro prévio para o estudo.



Diferentemente dos achados de Lin e col<sup>34</sup>, outras três revisões sistemáticas recentes avaliando o efeito do PRF na cicatrização óssea encontram resultados favoráveis à intervenção<sup>32, 80, 81</sup>. Entretanto, os autores também confirmaram a necessidade de mais RCTs. Na mesma direção, a European Association for Osseointegration concluiu que o uso de PRF pode ser indicado para a preservação alveolar após exodontia. Uma conferência de consenso é realizada de três em três anos durante a qual especialistas debatem áreas da prática dentária, sendo esta livre de financiamentos ou influência comercial. Embora as evidências para o uso dos concentrados plaquetários como um todo seja limitada, não foram relatados efeitos secundários negativos associados à sua utilização.<sup>33</sup>

Importantes aspectos devem ser considerados nos RCTs, avaliando a eficácia de diferentes concentrados plaquetários. As características biológicas do biomaterial, assim como sua resposta clínica, podem ser diferentes quando o protocolo de centrifugação é modificado. Dohan e col<sup>45</sup> mostraram, através de microscopia eletrônica, diferentes características celulares nas membranas produzidas a partir de diferentes protocolos. Recentemente, Miron e col<sup>46</sup> reafirmaram a importância da descrição detalhada do protocolo de centrifugação nas publicações científicas para garantir resultados reprodutíveis. Nosso estudo utilizou o protocolo com os melhores resultados *in vitro*<sup>45</sup> (2,700 RPM por 12 minutos, Centrífuga IntraSpin, com força centrífuga relativa de 408g no nível do coágulo) para produção do concentrado plaquetário.

O uso de L-PRF na preservação alveolar foi avaliado previamente por Temmerman e col<sup>58</sup> em 24 pacientes. Os valores da magnitude de efeito e DP deste estudo foram utilizados para o cálculo da amostra do nosso RCT<sup>67</sup>. Algumas importantes limitações metodológicas são observadas no trabalho de Temmerman e col<sup>58</sup>. Os autores não confirmaram histologicamente os achados tomográficos que mostraram um resultado favorável ao L-PRF, quando comparado à cicatrização espontânea. Outro importante ponto foi a falta de avaliadores cegados para avaliação dos resultados, podendo ser um importante fator para introdução de viés. Por fim, o estudo não apresentou cadastro prévio, sendo impossível determinar se houve ou não viés de seleção dos desfechos. Resultados semelhantes foram encontrados em nosso estudo<sup>67</sup> com efeito estatisticamente significativo, e clinicamente relevante, favoráveis ao L-PRF sobre

a cicatrização alveolar não-assistida. Adicionalmente, análises histomorfométricas com avaliadores cegados, cadastro prévio do estudo disponível e adequado cálculo da amostra de pacientes foram realizados no presente RCT<sup>67</sup>.

Quatro RCTs<sup>60, 64, 82, 83</sup> avaliando histomorfometricamente o efeito dos concentrados plaquetários como materiais de preenchimento alveolar foram encontrados por Canellas e col<sup>71</sup> em uma recente revisão sistemática. Apenas dois estudos testaram os concentrados plaquetários como material único de preenchimento.<sup>60, 64</sup> Similarmente aos nossos resultados, Clark e col<sup>60</sup> encontraram um aumento da formação óssea durante os primeiros três meses quando o protocolo A-PRF foi utilizado (1,300 RPM por 8 minutos utilizando a centrífuga do sistema Duo Quattro, força centrífuga relativa de 208g). Anitua e col<sup>64</sup> por sua vez também encontraram resultados favoráveis para o protocolo PRGF (força centrífuga relativa de 580g por 8 minutos, utilizando a centrífuga do sistema BTI Biotechnology). Entretanto, os autores avaliaram apenas 5 dos 24 espécimes de biópsia no grupo controle. A perda grande de parte dos resultados faz com que a estimativa de efeito possa estar equivocadamente mensurada. Nosso estudo<sup>67</sup> avaliou 48 espécimes de biópsia com um total de 4 amostras perdidas, estando estas perdas equilibradas entre os grupos. Os dados perdidos foram incluídos por uma análise estatística ITT fornecendo assim resultados mais confiáveis e conservadores.

O uso de retalhos mucoperiosteais nas extrações dentárias é descrito na literatura como potencialmente prejudicial à cicatrização alveolar. Hauser e col<sup>63</sup> usando imagens de micro-tomografias confirmaram que descolamentos excessivos podem reduzir significativamente o efeito do concentrado plaquetário na cicatrização alveolar. Possivelmente, o efeito angiogênico pode ser anulado por uma perda de suprimento vascular periosteal durante o descolamento. Portanto, o presente RCT<sup>67</sup> seguiu dois importantes critérios para condução do ensaio: 1) todos os pacientes foram submetidos a cirurgia minimamente invasiva; 2) a inclusão dos pacientes com a abertura do envelope opaco lacrado ocorreu apenas após a extração, garantindo o cegamento da sequência de randomização e condições iguais entre os grupos.

Miron e col<sup>84</sup> analisaram recentemente o efeito do tempo transcorrido entre a coleta da amostra de sangue e o início da centrifugação. Os autores encontraram resultados importantes relacionados à macroscopia e à morfologia

do A-PRF. Um intervalo de tempo de 60 a 90 segundos deve ser realizado com o objetivo de otimizar o protocolo de centrifugação. Intervalos maiores que 90 segundos reduziram o tamanho das membranas assim como a quantidade de fatores de crescimento e o conteúdo celular. Todas as amostras obtidas em nosso estudo<sup>67</sup> foram coletadas em menos de 60 segundos.

O cegamento dos participantes é um fator importante na elaboração dos RCTs, especialmente quando desfechos subjetivos são avaliados.<sup>85</sup> Os concentrados plaquetários são preparados com amostra de sangue autógeno; portanto, é impossível realizar o cegamento dos pacientes, uma vez que apenas aqueles submetidos ao preenchimento com L-PRF receberam a venopunção. Entretanto, os desfechos tomográficos e histológicos avaliados no presente estudo não sofrem influência da falta de cegamento e, conseqüentemente, um baixo risco de viés é esperado, mesmo estando os pacientes cientes da intervenção recebida.

Hartlev e col<sup>62</sup> avaliaram as alterações volumétricas após enxerto ósseo autógeno utilizando membranas de PRF no recobrimento (grupo teste), ou usando osso bovino inorgânico associado à camada dupla de membrana de colágeno (grupo controle). Os autores encontraram melhores resultados no grupo teste, onde a reabsorção do osso enxertado foi menor, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. O presente RCT<sup>67</sup> mostrou nas análises volumétricas dos alvéolos uma maior formação óssea no grupo L-PRF comparado à cicatrização espontânea. A diferença foi estatisticamente significativa segundo a análise ITT, confirmando que o L-PRF melhora não só a preservação das dimensões alveolares como também a quantidade de osso formado dentro do alvéolo.

## CONCLUSÕES

Após a realização deste estudo podemos concluir que:

- 1) O L-PRF reduziu significativamente a perda óssea alveolar horizontal 1 e 3mm abaixo da crista óssea, assim como a reabsorção vertical da tábua óssea vestibular após 3 meses de cicatrização.
- 2) A formação óssea volumétrica alveolar foi significativamente maior no grupo L-PRF comparado ao grupo controle, após 3 meses de cicatrização.
- 3) A porcentagem de osso total formado no alvéolo, avaliada histomorfometricamente, foi significativamente maior no grupo L-PRF. Qualitativamente o grupo L-PRF apresentou maior formação de osso maduro comparada ao grupo controle.

Baseado nestes resultados, conclui-se que o uso de L-PRF deve sempre ser levado em consideração quando se planeja a preservação alveolar após extração dentária.



## REFERÊNCIAS

1. Pesquisa nacional de saúde : 2013 : acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências : Brasil, grandes regiões e unidades da federação / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. – Rio de Janeiro [Internet]. 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>.
2. Derks J, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Larsson M, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: early and late implant loss. *J Dent Res*. 2015;94(3 Suppl):44S-51S.
3. Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of Implant Therapy Analyzed in a Swedish Population: Prevalence of Peri-implantitis. *J Dent Res*. 2016;95(1):43-9.
4. Schropp L, Kostopoulos L, Wenzel A. Bone healing following immediate versus delayed placement of titanium implants into extraction sockets: a prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(2):189-99.
5. Botticelli D, Persson LG, Lindhe J, Berglundh T. Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(4):351-8.
6. Morjaria KR, Wilson R, Palmer RM. Bone healing after tooth extraction with or without an intervention: a systematic review of randomized controlled trials. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014;16(1):1-20.
7. Mormann W, Ciancio SG. Blood supply of human gingiva following periodontal surgery. A fluorescein angiographic study. *J Periodontol*. 1977;48(11):681-92.
8. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*. 2000;42:55-62.
9. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e56-60.
10. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):299-303.
11. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2006;101(3):e45-50.

12. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e51-5.
13. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e37-44.
14. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol.* 2010;81(4):546-55.
15. Eshghpour M, Dastmalchi P, Nekooei AH, Nejat A. Effect of platelet-rich fibrin on frequency of alveolar osteitis following mandibular third molar surgery: a double-blinded randomized clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(8):1463-7.
16. Kumar N, Prasad K, Ramanujam L, K R, Dexith J, Chauhan A. 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.* 2015;73(6):1042-9.
17. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009;27(3):158-67.
18. Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(3):341-52.
19. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol.* 2010;55(3):185-94.
20. Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM, Everts PA, Wiczkowski A. The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Current pharmaceutical biotechnology.* 2012;13(7):1153-62.
21. Cieslik-Bielecka A, Dohan Ehrenfest DM, Lubkowska A, Bielecki T. Microbicidal properties of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma/Fibrin (L-PRP/L-PRF): new perspectives. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2012;26(2 Suppl 1):43S-52S.
22. Bashutski JD, Wang HL. Role of platelet-rich plasma in soft tissue root-coverage procedures: a review. *Quintessence Int.* 2008;39(6):473-83.

23. Bansal C, Bharti V. Evaluation of efficacy of autologous platelet-rich fibrin with demineralized-freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intrabony defects. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(3):361-6.
24. Gassling V, Hedderich J, Acil Y, Purcz N, Wiltfang J, Douglas T. Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(3):320-8.
25. Soydan SS, Uckan S. Management of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw With a Platelet-Rich Fibrin Membrane: Technical Report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(2):322-6.
26. Kotsakis GA, Boufidou F, Hinrichs JE, Prasad HS, Rohrer M, Tosios KI. Extraction Socket Management Utilizing Platelet Rich Fibrin: A Proof-of-Principle Study of the "Accelerated-Early Implant Placement" Concept. *J Oral Implantol*. 2016;42(2):164-8.
27. Kumar YR, Mohanty S, Verma M, Kaur RR, Bhatia P, Kumar VR, et al. Platelet-rich fibrin: the benefits. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2016;54(1):57-61.
28. Norholt SE, Hartlev J. Surgical treatment of osteonecrosis of the jaw with the use of platelet-rich fibrin: a prospective study of 15 patients. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45(10):1256-60.
29. Canellas JVDS, Ritto FG, Medeiros PJD. Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: a systematic review and meta-analysis. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2017;46(9):1138-46.
30. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2017;44(2):225-34.
31. Ritto FG, Pimentel T, Canellas JVdS, Junger B, Cruz M, Medeiros PJ. Randomized double-blind clinical trial evaluation of bone healing after third molar surgery with the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2019;48(8):1088-93.
32. Canellas JVDS, Medeiros PJD, Figueredo CMDS, Fischer RG, Ritto FG. Platelet-rich fibrin in oral surgical procedures: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2019;48(3):395-414.
33. Hammerle CHF, Cordaro L, Alccayhuaman KAA, Botticelli D, Esposito M, Colomina LE, et al. Biomechanical aspects: Summary and consensus statements of group 4. The 5(th) EAO Consensus Conference 2018. *Clin Oral Implants Res*. 2018;29 Suppl 18:326-31.

34. Lin CY, Chen Z, Pan WL, Wang HL. Effect of platelet-rich fibrin on ridge preservation in perspective of bone healing: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 2019;34(4):845-54a.
35. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997;55(11):1294-9.
36. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219-29.
37. Upputuri PK, Sivasubramanian K, Mark CS, Pramanik M. Recent developments in vascular imaging techniques in tissue engineering and regenerative medicine. *Biomed Res Int*. 2015;2015:783983.
38. Rouwkema J, Khademhosseini A. Vascularization and Angiogenesis in Tissue Engineering: Beyond Creating Static Networks. *Trends Biotechnol*. 2016;34(9):733-45.
39. Gonzalez AC, Costa TF, Andrade ZA, Medrado AR. Wound healing - A literature review. *An Bras Dermatol*. 2016;91(5):614-20.
40. Jenny NM, KG. Jenny, NS.; Mann, KG. Coagulation Cascade: An Overview. In: Loscalzo, J.; Schafer, A., editors. *Thrombosis and Hemorrhage*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2002. p. 1-21.
41. Vogler EA, Siedlecki CA. Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*. 2009;30(10):1857-69.
42. Lefkovits J, Plow EF, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med*. 1995;332(23):1553-9.
43. Maas C, Govers-Riemslog JW, Bouma B, Schiks B, Hazenberg BP, Lokhorst HM, et al. Misfolded proteins activate factor XII in humans, leading to kallikrein formation without initiating coagulation. *J Clin Invest*. 2008;118(9):3208-18.
44. Colman RM, VJ.; Salzman, EW.; Hirsh, J. Overview of Hemostasis. In: Colman, RW.; Marder, VJ.; Salzman, EW.; Hirsh, J., editors. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Vol. Third ed. Philadelphia: J.B Lippincott Company; 1994. p. 3-18.
45. Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jimenez P, Corso MD, Kang BS, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*. 2017:1-14.
46. Miron RJ, Pinto NR, Quirynen M, Ghanaati S. Standardization of relative centrifugal forces in studies related to platelet-rich fibrin. *Journal of periodontology*. 2019.

47. Choukroun J, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan S, Dohan D. Platelet concentrates: Technologies, associated biology, clinical applications, histological analysis: 4th part: Histological analysis. *Implantodontie*. 2004;13(3):167-72.
48. Kitamura Y, Watanabe T, Nakamura M, Isobe K, Kawabata H, Uematsu K, et al. Platelet Counts in Insoluble Platelet-Rich Fibrin Clots: A Direct Method for Accurate Determination. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018;6:4.
49. Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, Gaveglio L, Cardaropoli G. Socket preservation using bovine bone mineral and collagen membrane: a randomized controlled clinical trial with histologic analysis. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*. 2012;32(4):421-30.
50. Scala A, Lang NP, Schweikert MT, de Oliveira JA, Rangel-Garcia I, Jr., Botticelli D. Sequential healing of open extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(3):288-95.
51. Araujo MG, da Silva JCC, de Mendonca AF, Lindhe J. Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. *Clinical oral implants research*. 2015;26(4):407-12.
52. Chappuis V, Engel O, Shahim K, Reyes M, Katsaros C, Buser D. Soft Tissue Alterations in Esthetic Postextraction Sites: A 3-Dimensional Analysis. *Journal of dental research*. 2015;94(9):187S-93S.
53. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(2):212-8.
54. Avila-Ortiz G, Elangovan S, Kramer KWO, Blanchette D, Dawson DV. Effect of Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of dental research*. 2014;93(10):950-8.
55. Morjaria KR, Wilson R, Palmer RM. Bone Healing after Tooth Extraction with or without an Intervention: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2014;16(1):1-20.
56. Canellas JVDS, Medeiros PJD, Figueredo C, Fischer RG, Ritto FG. Which is the best choice after tooth extraction, immediate implant placement or delayed placement with alveolar ridge preservation? A systematic review and meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg*. 2019;47(11):1793-802.
57. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant dentistry*. 2013;22(3):295-303.

58. Temmerman A, Vandessel J, Castro A, Jacobs R, Teughels W, Pinto N, 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*. 2016;43(11):990-9.
59. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J. Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*. 2017;23(1):83-99.
60. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al. Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. 2018;89(4):379-87.
61. Temmerman A, Van Dessel J, Cortellini S, Jacobs R, Teughels W, Quirynen M. Volumetric changes of grafted volumes and the Schneiderian membrane after transcrestal and lateral sinus floor elevation procedures: A clinical, pilot study. *Journal of clinical periodontology*. 2017;44(6):660-71.
62. Hartlev J, Spin-Neto R, Schou S, Isidor F, Norholt SE. Cone beam computed tomography evaluation of staged lateral ridge augmentation using platelet-rich fibrin or resorbable collagen membranes in a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2019;30(3):277-84.
63. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: A prospective randomized controlled study. *Implant dentistry*. 2013;22(3):295-303.
64. Anitua E, Murias-Freijo A, Alkhraisat MH, Orive G. Clinical, radiographical, and histological outcomes of plasma rich in growth factors in extraction socket: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*. 2015;19(3):589-600.
65. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al. Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. 2018;89(4):379-87.
66. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations*. 2017;21(6):1913-27.
67. Canellas JVDS, da Costa RC, Breves RC, de Oliveira GP, Figueredo C, Fischer RG, et al. Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin: A randomized, single-blind, controlled clinical trial. *J Craniomaxillofac Surg*. 2020;48(1):24-32.

68. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gotzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 2010;340:c869.
69. Jung RE, Philipp A, Annen BM, Signorelli L, Thoma DS, Hammerle CH, et al. Radiographic evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40(1):90-8.
70. Weir JP. Quantifying test-retest reliability using the intraclass correlation coefficient and the SEM. *J Strength Cond Res*. 2005;19(1):231-40.
71. Canellas JVDS, Ritto FG, Figueredo C, Fischer RG, de Oliveira GP, Thole AA, et al. Histomorphometric evaluation of different grafting materials used for alveolar ridge preservation: a systematic review and network meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2019.
72. Kargarpour Z, Nasirzade J, Strauss FJ, Di Summa F, Hasannia S, Muller HD, et al. Platelet-rich fibrin suppresses in vitro osteoclastogenesis. *J Periodontol*. 2019.
73. Norholt SE, Hartlev J. Surgical treatment of osteonecrosis of the jaw with the use of platelet-rich fibrin: a prospective study of 15 patients. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2016;45(10):1256-60.
74. Das S, Jhingran R, Bains VK, Madan R, Srivastava R, Rizvi I. Socket preservation by beta-tri-calcium phosphate with collagen compared to platelet-rich fibrin: A clinico-radiographic study. *European journal of dentistry*. 2016;10(2):264-76.
75. Thakkar DJ, Deshpande NC, Dave DH, Narayankar SD. A comparative evaluation of extraction socket preservation with demineralized freeze-dried bone allograft alone and along with platelet-rich fibrin: A clinical and radiographic study. *Contemporary clinical dentistry*. 2016;7(3):371-6.
76. Suttapreyasri S, Leepong N. Influence of platelet-rich fibrin on alveolar ridge preservation. *The Journal of craniofacial surgery*. 2013;24(4):1088-94.
77. Al-Hamed FS, Al-Saleh MAQ, Tawfik MA, Abdelfadil E. Efficacy of Platelet-Rich Fibrin after Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis Reply. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2017;75(8):1577-8.
78. Canellas JVDS, Ritto FG, Medeiros PJD. Efficacy of Platelet-Rich Fibrin After Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017;75(8):1576-7.
79. Brignardello-Petersen R. Platelet-rich fibrin might not provide a benefit in healing and complications after third-molar extraction. *J Am Dent Assoc*. 2017;148(6):e73.

80. Strauss FJ, Stähli A, Gruber R. The use of platelet-rich fibrin to enhance the outcomes of implant therapy: A systematic review. *Clinical oral implants research*. 2018;29:6-19.
81. Dragonas P, Katsaros T, Avila-Ortiz G, Chambrone L, Schiavo JH, Palaiologou A. Effects of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2019;48(2):250-62.
82. Kutkut A, Andreana S, Kim HL, Monaco E, Jr. Extraction socket preservation graft before implant placement with calcium sulfate hemihydrate and platelet-rich plasma: a clinical and histomorphometric study in humans. *J Periodontol*. 2012;83(4):401-9.
83. Nevins ML, Said S. Minimally invasive esthetic ridge preservation with growth-factor enhanced bone matrix. *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry [et al]*. 2018;30(3):180-6.
84. Miron RJ, Dham A, Dham U, Zhang Y, Pikos MA, Sculean A. The effect of age, gender, and time between blood draw and start of centrifugation on the size outcomes of platelet-rich fibrin (PRF) membranes. *Clinical oral investigations*. 2019;23(5):2179-85.
85. Higgins JP, Altman DG, Gotzsche PC, Juni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011;343:d5928.



**ANEXO A - Cálculo da amostra**

$$N = [(1/q_1 + 1/q_2)DP^2(Z_\alpha + Z_\beta)^2] \div E^2$$

$$N = [(1/0.5 + 1/0.5) (2.3)^2 (1.96 + 0.84)^2] \div 3^2$$

$$N = [(4)(5.29)(2.8)^2] \div 9$$

$$N = [(4)(5.29)(7.84)] \div 9$$

$$N = 165.89 \div 9$$

$$N = 18.43 \quad N = 19 \text{ (POR GRUPO)}$$

$$\mathbf{AMOSTRA = 2 (19) = 38}$$

$$N_f = N[1 \div (1 - 0.20)]$$

$$N_f = 38 [1 \div 0.80]$$

$$N_f = 38 [1.25]$$

$$N_f = 47.5 \quad \mathbf{N_f = 48 \text{ PACIENTES}}$$

**ANEXO B - Termo de consentimento informado****TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO**

O presente termo refere-se a um convite a participação para o(a) Sr. (a) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_ anos, sexo \_\_\_\_\_, a participar como sujeito de pesquisa intitulado: "Efeito da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na preservação alveolar após cirurgia de extração dentária: ensaio clínico aleatório". A pesquisa tem como objetivo avaliar o uso do concentrado plaquetário (fibrina rica em plaquetas e leucócitos) como biomaterial no preenchimento alveolar, imediatamente após a extração dentária. Os voluntários serão divididos em dois grupos, e aqueles selecionados para o grupo 1 serão submetidos a punção venosa para remoção de amostras de sangue que serão usados para produzir o material de enxerto. Os pacientes selecionados para o grupo 2 receberão extração dentária convencional. Todo o material utilizado no preparo do concentrado plaquetário será autógeno, ou seja, feito com o sangue do próprio paciente. Será instalado um único implante dentário, exclusivamente na região que corresponde ao interesse da pesquisa após um período de 12 semanas da exodontia. **NÃO SERÃO REALIZADOS NENHUM TIPO DE TRABALHO PROTÉTICO SOBRE O IMPLANTE. O PACIENTE SERÁ AO FIM DA PESQUISA ENCAMINHADO PARA SERVIÇOS ESPECIALIZADOS EM PRÓTESE SOBRE IMPLANTE PARA CONCLUIR SEU TRATAMENTO, NÃO SENDO RESPONSABILIDADE DESTA PESQUISA CONFECIONAR QUALQUER TIPO DE PRÓTESE SOBRE O IMPLANTE, SEJA ELA DEFINITIVA OU PROVISÓRIA.** Existe a possibilidade de não ocorrer condições para a instalação posterior do implante. Infelizmente, por questões orçamentárias, estes pacientes perderão o benefício da instalação de implante e material regenerador sem custo. Algumas possíveis complicações relacionada ao procedimento incluem: infecção pós-operatória, manchas roxas na face e pescoço, sensação de dormência prolongada ou permanente em lábios, queixo, gengiva, dentes e língua, perda do implante, dor e edema no pós-operatório, dificuldade de mastigação após a cirurgia, manchas roxas na região de punção venosa para a coleta do sangue, dentre outras não listada. No caso de ocorrer qualquer complicação trans- ou pós-operatória, em que seja

necessária a remoção do implante, não será realizado nenhum tipo de cirurgia adicional de instalação novo implante, sendo o paciente encaminhado a serviços de implantodontia para seguir seu tratamento. Não há garantias de sucesso no tratamento. O paciente não terá nenhum gasto adicional relacionado à cirurgia, como compra de materiais específicos e exames pré ou pós-operatórios. A pesquisa será realizada pelo pesquisador João Vitor dos Santos Canellas. Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados desta pesquisa serão enviados para publicação em revistas especializadas na área, apresentada a banca de defesa de título de doutorado, e exposta em eventos científicos. Caso interesse ao participante, ele poderá ter acesso aos resultados a qualquer momento. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento será arquivada pelo pesquisador responsável e outra será fornecida a você. Assim se o (a) Sr. (a) aceitar o convite para participar da pesquisa, sabendo que a qualquer momento poderá deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu cuidado e tratamento na instituição, por favor, preencha os espaços abaixo:

Eu, \_\_\_\_\_,

RG \_\_\_\_\_, fui devidamente esclarecido(a) e informado(a) do projeto de pesquisa acima citado e aceito o convite para participar.

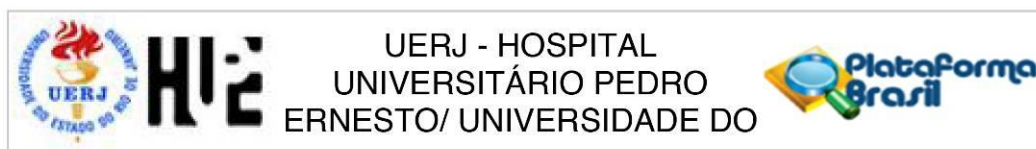
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

(tel. 021 971507053)

## ANEXO C - Parecer do comitê de ética



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Efeito do L-PRF na preservação alveolar após cirurgia de extração dentária: ensaio clínico aleatório

**Pesquisador:** João Vitor dos Santos Canellas

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 72596717.3.0000.5259

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Pedro Ernesto

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.385.379

**Apresentação do Projeto:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Objetivo da Pesquisa:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Justificativa da Emenda:

Diante da indisponibilidade de recursos foi necessário modificar o projeto para torná-lo factível. Nesta nova versão os pacientes receberão os implantes após 12 semanas e assim será possível realizar a análise histológica nos espécimes removido por necessidade da instalação do implante dentário. Menor custo e mais informações relevantes disponíveis na análise dos resultados.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos eminentes aos participantes envolvidos de pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A emenda apresenta todas as informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO.

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

**Bairro:** Vila Isabel

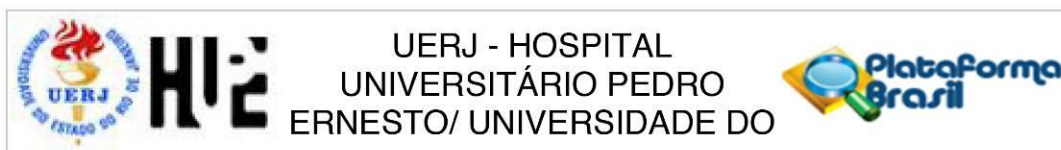
**CEP:** 20.551-030

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2868-8253

**E-mail:** cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.385.379

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1011051_E1.pdf	21/10/2017 21:58:00		Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_2281456.pdf	21/10/2017 21:34:15	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	21/10/2017 21:30:38	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento.doc	21/10/2017 21:29:11	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracao_de_ciencia.pdf	21/10/2017 21:28:48	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	21/10/2017 21:27:25	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito
Cronograma	Cronograma.doc	19/07/2017 23:26:21	João Vitor dos Santos Canellas	Aceito

#### Situação do Parecer:

Aprovado

#### Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 17 de Novembro de 2017

Assinado por:  
DENIZAR VIANNA ARAÚJO  
(Coordenador)

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **E-mail:** cep.hupe.interno@gmail.com

**ANEXO D - Protocolo para venopunção**

- 1) Explicar o procedimento ao paciente
- 2) Lavagem das mãos.
- 3) Calçar as luvas de procedimento.
- 4) Escolher o local do acesso venoso, expondo a área de aplicação e verificando as condições das veias disponíveis.
- 5) Garrotear o local a ser puncionado (15 a 20 cm acima do local da punção venosa), a fim de propiciar leve dilatação da veia.
- 6) Fazer anti-sepsia no local com algodão embebido em álcool 70%, com movimentos circulares do centro para as extremidades.
- 7) Manter um algodão seco ao alcance das mãos.
- 8) Tracionar a pele para baixo, com o polegar, abaixo do local a ser puncionado.
- 9) Introduzir o SCALP venoso na pele com o bisel voltado para cima, a um ângulo aproximado de 30 a 45 graus.
- 10) Uma vez introduzido na pele redirecionar o SCALP em direção a veia, introduzindo-o.
- 11) Introduzir o tubo coletor no dispositivo contrário a punção iniciando a coleta do sangue.
- 12) Soltar o garrote.
- 13) Após a coleta, remover o dispositivo e colocar uma pequena fita adesiva, orientando o paciente a comprimir por alguns minutos a área.

**ANEXO E - Protocolo utilizado no preparo histológico**

- 1) **Fixação** em formol 10% no mínimo por 48h / Lavar com água corrente.
- 2) **Descalcificação** (5 dias a 7 dias).
- 3) **Desidratação**: Álcool 70% overnight (24h)/ Álcool 90% por 30 min/ Álcool 100% por 30 min (1º banho)/ Álcool 100% por 30 min (2º banho).
- 4) **Clarificação**: Xilol 30 min (1º banho) / Xilol 30 min (2º banho) / 1º Banho de parafina- 15min / 2º Banho de parafina- 20min.
- 5) **Inclusão** em parafina até seu resfriamento em formas por 12h.
- 6) **Microtomia**: Obtenção dos cortes dos tecidos.
- 7) **Coloração com Tricômico de Goldner - desparafinização**: Deixar na estufa de 60°C por 20 min / 1º banho de Xilol – 2min / 2º banho de Xilol – 2min / 3º banho de Xilol – 2min.
- 8) **Hidratação**: Álcool 100% - 2min / Álcool 90% - 2 min / Álcool 70% - 2min / Água destilada – 2min.
- 9) **Coloração**: Hematoxilina Férrica Weigert – 5min / Lavar em água destilada corrente – 40 segundos / Ponceau Acid Fuchsin – 5 min / Lavar em ácido acético 1% em mergulhos para retirar o excesso de corante – no máximo 5 segundos / Descoloração do colágeno em ácido fosfomolibidico – 5min a 10min / Lavar com água corrente – 40 segundos / Lavar em ácido acético 1% em mergulhos para retirar o excesso de corante – no máximo 5 segundos / Light Green Stock Solution – 3 a 4 min / Lavar com água destilada / Lavar em ácido acético 1% em mergulhos para retirar o excesso de corante – no máximo 5 segundos / Secar as lâminas / Mergulhar rapidamente no álcool 100% (2 banhos) / Mergulhar no xilol (2 banhos) – 1min / Montar a lâmina com Entellan / Após secar, observe no microscópio.