



**MARILIA COMPAGNONI MARTINS**

**UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM  
PLAQUETAS NOS PROCEDIMENTOS  
CIRÚRGICOS DE ELEVAÇÃO DE SEIO  
MAXILAR.**

**ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM  
HUMANOS.**

**ARARAQUARA**

**2003**



## **MARILIA COMPAGNONI MARTINS**

**Utilização do Plasma Rico em Plaquetas nos  
procedimentos cirúrgicos de elevação de seio  
maxilar.**

**Estudo histomorfométrico em humanos.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Araraquara, Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de Doutor  
em Odontologia, Área de Concentração -  
Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi  
Rached

Co-Orientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

ARARAQUARA

2003

**MARTINS**, Marilia Compagnoni

UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS NOS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS DE ELEVAÇÃO DE SEIO MAXILAR. ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM HUMANOS. Araraquara, 2003.

Tese de Doutorado - Faculdade de Odontologia - Campus de Araraquara - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

1. Plasma Rico em Plaquetas
2. Seio Maxilar
3. Enxerto Ósseo
4. Fator de Crescimento

## Dados Curriculares

Marilia Compagnoni Martins

- Nascimento 13 de Setembro de 1975 - Araraquara.
- Filiação Vanderlei de Jorge Martins  
Maria Bernadete Compagnoni Martins
- 1993/1996 Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
- 1998/2000 Curso de Pós-graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.
- 2000/2003 Curso de Pós-graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

**Agradeço a DEUS, por estar sempre presente em minha vida, orientando meus passos nesse caminho que eu escolhi.**

## ***Dedico esse Trabalho a minha Família***

Meus pais, Vanderlei e Maria Bernadete, por estarem sempre lutando comigo, pelo apoio incondicional, pelos atos de incentivo e pelas palavras de conforto, sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui.

Meu irmão, Silvio, e minha cunhada Ana Carla, pelo apoio, pela ajuda em todos meus trabalhos, pelas diferenças entre nós. Silvio, você é um amigo muito especial, sem você esse e outros trabalhos não existiriam.

Minhas avós, Anna Laura, Serafina e Luzia, por aceitarem, a contra gosto, a minha ausência do nosso intenso convívio, espero um dia poder recompensa-los. Ao meu avô Hermes, sua ausência me faz muita falta, espero nunca tê-lo desapontado.

A minha família, pelo apoio e confiança a mim depositados.

## ***Agradecimentos especiais***

Ao Prof. Dr. Ricardo Samih Geoges Abi Rached, pela grande amizade e confiança depositada em mim, exemplo de profissionalismo e entusiasmo, pelas lições de vida, pelo carinho e compreensão.

Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, essa jornada não teria sentido sem seus ensinamentos, sua amizade, e sua paciência. Espero não tê-lo decepcionado em suas expectativas e ser merecedora, mais uma vez de sua confiança.

À Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup> Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, responsável por mostrar-me esse caminho, lhe devo meus conhecimentos, desde à Graduação e agora à Pós-graduação. Em nosso convívio, sempre houve muito respeito e amizade, algo de muito valor, fazendo de você uma grande amiga.

Ao Prof. Elcio Marcantonio, por sua valiosa experiência, humildade e grande colaboração não só neste trabalho, mas também em minha formação. O convívio com o senhor é um aprendizado contínuo, obrigada pela compreensão.

Ao Prof. Dr. Luis Carlos Spolidório, pela disposição em interpretar os resultados, pela amizade, pelo apoio, dedicação e entusiasmo científico dispensados em nosso convívio.

*"O mestre só pode modelar o aluno que nele confia."*

Às funcionárias do Curso de Especialização em Implantes Neuza, Susana, Rosângela e Marlene, não existem palavras para agradecer o carinho, a atenção e a disponibilidade de vocês em me ajudar. Sem vocês esse trabalho não existiria.

### **Aos Amigos**

Solange pela grande paciência, cumplicidade, apoio e confiança em todos os momentos, e Rubens pela enorme compreensão.

Jamil, meu maior sócio, e Susana pelo incentivo em nossa convivência.

Andrea, Cristiane, Hewerson, Juliana Rico, Rafaela por todos os momentos compartilhados, especialmente aos finais de tarde e às quartas-feiras.

Beatriz, Carlos, Juliana Moraes, Maurício, Patrícia, Rodrigo pelo companheirismo neste período, pela ajuda no trabalho, pelos bons momentos compartilhados.

Rodolfo, Luis Borelli e Rogério por confiarem em mim, pelos ensinamentos e bons momentos nas clínicas de especialização em implantes.



Também aos amigos de longa data... Daniela, minha “irmã”, não existem palavras para agradecer seu companheirismo e sua amizade, Juliana e Humberto pelos momentos culturais e descontraídos, Juliana Maia por me fazer ver que na vida também há tempo para o divertimento.

*"Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, pois cada pessoa é única para nós e nenhuma substitui a outra.*

*Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha mas não se vai só, nem nos deixa só, leva um pouco de nós e deixa um pouco de si mesma.*

*Há as que deixam muito, mas não há as que deixam nada.*

*Há as que levam muito, mas não há as que não levam nada.*

*Essa é a mais bela responsabilidade de nossas vidas e a prova tremenda de que as almas não se aproximam por acaso."*

CHARLES CHAPLIN

## ***Agradecimentos***

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, nas pessoas de seu Diretor, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached, e vice-diretor, Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard.

À coordenadora do Curso de Pós-Graduação - Área de Periodontia, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, e a todos os docentes do Curso de Pós-Graduação, pela formação e exemplo.

Aos Docentes da Disciplina de Periodontia, Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached, Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Regina Perez Orrico, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. Carlos Rossa Junior, pela formação e orientação.

Às Docentes da Disciplina de Medicina Bucal Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Regina Sposto, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Claudia Navarro, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Míriam Onofre e Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elaine Massucato, pelo convívio e aprendizado.

Aos funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, da Seção de Pós-Graduação e da Biblioteca pelo convívio e amizade em todos esses anos.

A todos os colegas do curso de Pós-graduação em Periodontia, pelos momentos compartilhados.

A todos os pacientes que colaboraram de maneira imprescindível para execução desse trabalho.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACD	Anti-coagulante: Ácido-cítrico, Citrato e Dextrose
ADP	Difosfato de Adenosina
BC	<i>Buffy coat</i> - Camada Tampão
BC-PC	Concentrado de Plaquetas derivado do <i>Buffy coat</i>
BMP	Proteína Óssea Morfogenética
DFDBA	Osso Desmineralizado, Congelado e Seco Alógeno
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EGF	Fator de Crescimento Epitelial
FC	Fator de Crescimento
FDBA	Osso Congelado e Seco Alógeno
FGF	Fator de Crescimento Fibroblástico
HA	Hidroxiapatita
IGF	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
OP-1	Proteína Osteogênica - 1, outra denominação da BMP-7
PC	Concentrado de Plaquetas
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PPP	Plasma Pobre em Plaquetas
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
PRP-PC	Concentrado de Plaquetas derivado do Plasma Rico em Plaquetas
rh	Recombinante Humano

rhBMP-2	Recombinante Humano da Proteína Óssea Morfogenética 2
rhOP-1	Recombinante Humano da Proteína Osteogênica - 1
ROG	Regeneração Óssea Guiada
TGF	Fator de Crescimento de Transformação

## **LISTA DE FIGURAS – METODOLOGIA**

FIGURA 1	Centrífuga Modelo PRP - GAC Medicales
FIGURA 2	Tubos em equilíbrio no rotor da centrífuga
FIGURA 3	Tubo após a centrifugação
FIGURA 4	Fracionamento do PRP
FIGURA 5	Pipetagem do PRP
FIGURA 6	Associação do PRP ao osso autógeno
FIGURA 7	Radiografia inicial
FIGURA 8	Osteotomia - Cavidade sinusal
FIGURA 9	Elevação da mucosa sinusal
FIGURA 10	Osteotomia - Área doadora
FIGURA 11	Enxerto posicionado
FIGURA 12	Membrana posicionada
FIGURA 13	Sutura da área
FIGURA 14	Pós operatório - 7 dias
FIGURA 15	Radiografia após período de cicatrização
FIGURA 16	Biópsia coletada

## LISTA DE FIGURAS – RESULTADOS

FIGURA 17 Grupo 1. Biópsia óssea. Observa-se traves ósseas envolvendo tecido medular e material de enxerto remanescente (setas). H/E, 25x.

FIGURA 18 Grupo 1. Corte longitudinal de biópsia óssea mostrando traves ósseas com características de neoformação por apresentar linhas de repouso, inúmeros osteócitos, envolvendo tecido medular. As setas indicam presença de material de enxerto. Azul de Toluidina, 40x.

FIGURA 19 Grupo 1. . Maior aumento da figura anterior mostrando área de aposição óssea, ilustrada por osso lamelar, osteócitos e acentuadas linhas de repouso (setas). Azul de Toluidina, 100x.

FIGURA 20 Grupo 1. Tecido amorfo (seta) envolto por tecido ósseo neoformado. Azul de Toluidina, 200x.

FIGURA 21 Grupo 2. Corte longitudinal de biópsia óssea mostrando traves ósseas a qual apresenta figuras vasculares de diversos calibres (setas), e grande quantidade de material amorfo ( ☆ ). H/E, 25x.

- FIGURA 22 Grupo 2. Biópsia óssea mostrando traves ósseas com aspecto de normalidade, apresentando características de neoformação. Observa-se grandes quantidades de linhas de repouso. Espaços medulares amplos, preenchidos por tecido adiposo e tecido fibroso envolvendo material remanescente (☆). Azul de Toluidina, 40x.
- FIGURA 23 Grupo 2. Matriz óssea com inúmeros osteócitos. Linhas de aposição de diversas orientações (seta). Azul de Toluidina, 100x.
- FIGURA 24 Grupo 2. Tecido ósseo neoformado justaposto ao material remanescente (seta) caracterizado por desorganização da matriz óssea, lacunas de osteócitos vazias. O tecido ósseo neoformado apresenta osteócitos arredondados e matriz óssea ainda pouco orientada em lamelas (☆). H/E, 200x.
- FIGURA 25 Grupo 2. Osteoblastos adjacentes a matriz osteóide (seta). Observar neoformação óssea caracterizada pela presença de osteócitos arredondados e matriz óssea ainda pouco orientada em lamelas (☆). H/E, 200x.
- FIGURA 26 Grupo 3. Biópsia óssea mostrando área remanescente (☆) composta por tecido ósseo compacto. Adjacente, observa-se osso menos compacto, composto por trabéculas irregulares envolvendo material amorfo (setas). H/E, 25x.

FIGURA 27 Grupo 3. Biópsia óssea mostrando trabéculas ósseas com características de neoformação (☆), envolvendo tecido medular e áreas de material remanescente. Azul de Toluidina, 40x.

FIGURA 28 Grupo 3. Partículas remanescentes do material de enxerto, ora englobadas no tecido ósseo neoformado (seta menor), ora envoltas no tecido fibroso (seta maior). Azul de Toluidina, 100x.

FIGURA 29 Grupo 3. FIG 29 - Osteoblastos adjacentes a matriz osteóide, reparar que na região osteóide (seta) não há presença de lamelas. Azul de Toluidina, 400x.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	05
3. PROPOSIÇÃO	57
4. METODOLOGIA	58
5. RESULTADO	71
6. DISCUSSÃO	85
7. CONCLUSÃO	100
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
9. ANEXO	117
10. RESUMO	121
11. ABSTRACT	123

## 1. Introdução

Cada vez mais os implantes osseointegrados estão se tornando parte integrante do tratamento odontológico, isto porque, com a evolução científica associada tanto a sua composição como também a sua credibilidade na classe odontológica, atestam a sua eficiência e consolidam a sua prática e indicação. O sucesso clínico e biológico dos implantes osseointegrados nas últimas décadas vem proporcionando um aumento do número de próteses implanto-suportadas, restabelecendo a estética e a funcionalidade dos pacientes desdentados totais e parciais. (ADELL *et al.*, 1981; FIORELLINI & WEBER, 1994).

Casos considerados críticos para a reabilitação como, por exemplo, a região posterior de maxila que, quando desdentada, provoca diminuição do volume ósseo podendo muitas vezes resultar na pneumatização do seio maxilar, são muito pesquisados buscando sempre melhorar a situação do paciente.

MISCH, 1996, descreveu como 10mm a altura remanescente mínima para a instalação de implantes nessa área. Alturas de até 5mm poderiam permitir a utilização de implantes concomitante com a realização de enxertia óssea para aumento da altura. Quando a disponibilidade óssea fosse inferior a 5mm, deve-se lançar mão de procedimentos cirúrgicos para elevação da membrana do seio maxilar com realização concomitante de enxertos ósseos, e aguardar a consolidação dos mesmos.

A cirurgia de elevação de seio maxilar foi descrita por BOYNE & JAMES, 1980, como um procedimento cujo objetivo era elevar a mucosa subantral interpondo entre a mucosa e o assoalho da maxila enxertos ósseo associados ou não a outros materiais osteocondutores.

Tal procedimento tornou-se de rotina na clínica de implantodontia, para promoção de adequada altura óssea visando a reabilitação por meio de implantes osseointegrados. Vários autores (BÖECK-NETO *et al.*, 2002, CORDIOLI *et al.*, 2001; FROUM *et al.*, 1998; HALLMAN *et al.*, 2001; HÜRZELER *et al.*, 1997b; JENSEN, 1999; YILDIRIM *et al.*, 2001) estudaram a associação do osso autógeno a diferentes tipos de biomateriais com o objetivo de diminuir a quantidade de osso autógeno necessária para a cirurgia. Tais estudos relatam que osso homogêneo, osso heterogêneo, fosfato de cálcio, hidroxiapatita e vidros bioativos apresentam boa previsibilidade, porém o osso autógeno continua sendo considerado o padrão mais adotado.

Atualmente o plasma rico em plaquetas (PRP) tem sido associado aos materiais de enxertia. O PRP é considerado uma fonte de fatores de crescimento tais como PDGF - fator de crescimento derivado de plaquetas, TGF- $\beta$  - fator de crescimento de transformação- $\beta$ , IGF - fator de crescimento semelhante à insulina e VEGF - fator de crescimento endotelial vascular.

O gel de PRP é formado através da centrifugação do sangue autógeno. O concentrado de plaquetas é ativado através do cloreto de

cálcio, e o resultado dessa ativação é a liberação de uma cascata de fatores de coagulação e de fatores de crescimento (FC) presentes nos grânulos das plaquetas (SÁNCHEZ *et al.*, 2003).

Esses FC são críticos na regulação e estimulação do processo de reparo da ferida cirúrgica, além de terem um papel importante na regulação dos processos celulares, tais como mitose, quimiotaxia, diferenciação e metabolismo celular. Considerando-se essas características dos FC, o uso do PRP deve melhorar e acelerar o reparo tanto em tecidos moles como no tecido ósseo.

Baseado nos estudos apresentados na literatura, o uso do PRP tem sido recomendado para aumentar a quantidade de deposição óssea e a qualidade desse tecido em áreas que necessitam de cirurgias de aumento ósseo previamente à colocação de implantes. Na maioria dos estudos o PRP é associado a materiais de enxerto promovendo uma melhora das propriedades do material em casos de aumento de rebordo alveolar, elevação de seio maxilar e tratamento dos defeitos peri-implantares (ANITUA, 1999; ANITUA, 2001; CARLSON & ROACH, 2001; FROUM *et al.*, 2002; FÜRST *et al.*, 2003; KASSOLIS *et al.*, 2000; LOZADA *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 1999; MAIORANA *et al.*, 2003; MARX *et al.*, 1998; PETRUNGARO, 2001; PHILIPPART *et al.*, 2003; ROBIONY, M. *et al.*, 2002; ROSENBERG & TOROSIAN, 2000; SÁNCHEZ *et al.*, 2003; SHANAMAN *et al.*, 2001; TISCHLER, 2002; WILTFANG *et al.*, 2003).

No entanto ainda há dúvidas em relação à eficiência do PRP mesmo quando associado ao enxerto ósseo autógeno, pois os trabalhos apresentados na literatura são, na grande maioria das vezes, relatos de casos e/ou estudos não controlados. Sendo assim é nosso objetivo avaliar o emprego do PRP nas cirurgias de elevação de seio maxilar por meio de estudos controlados, para determinar se os resultados apresentados são em decorrência do emprego do mesmo.

## **2. Revisão da Literatura**

Devido à quantidade de assuntos abordados nessa revisão de literatura, e ainda com o intuito de organizar de maneira mais racional as idéias e facilitar a leitura, este texto foi dividido em quatro partes, agrupando os trabalhos por tópicos relacionados pelas finalidades e objetivos, a saber: 2.1- Plaquetas, 2.2- Fatores de Crescimento, 2.3- Plasma Rico em Plaquetas e 2.4- Elevação de Seio Maxilar.

### **2.1. Plaquetas**

As plaquetas são fragmentos do citoplasma megacariócito que, por sua vez, originam-se na medula óssea. Dois terços das plaquetas circulam no sangue periférico num período de 9-11 dias, e o restante fica armazenado no baço. As plaquetas possuem um aparato de síntese de proteína rudimentar, portanto, sua função é o armazenamento e transporte de fatores de crescimento e os fatores de coagulação nela existentes, os quais são liberados quando as plaquetas são expostas a agentes tais como trombina, colágeno e ADP. Conseqüentemente a liberação desses mitógenos requer uma contínua liberação de novas plaquetas (HARKER & FINCH, 1969; WITTE *et al.*, 1978; WARSHAW *et al.*, 1967).

De acordo com LITTLE *et al.*, 1997, a estrutura das plaquetas consiste em três áreas:

1 - Zona periférica: responsável por receber e transmitir estímulos.

2 - Zona Sol Gel: possui canalículos que facilitam a secreção dos grânulos  $\alpha$  da zona de organelas.

3 - Zona de Organelas: contém principalmente grânulos densos (ADP) e grânulos  $\alpha$  (FC).

Alguns fármacos alteram a função plaquetária, entre eles pode-se destacar o ácido acetil-salicílico, antiinflamatórios não esteróides, antibióticos Beta-lactam, penicilina, e anticoagulantes.

As plaquetas são sensíveis quanto às condições de seu armazenamento, de manuseio e em relação ao tipo de anticoagulante utilizado durante a coleta sanguínea.

THOMPSON *et al.* (1983) estudaram o efeito de vários anticoagulantes no volume plaquetário. Entre os anticoagulantes estudados estavam o Citrato de Sódio e o EDTA. Após testes de efeito do pH, osmolaridade e Média do Volume Plaquetário (MVP) os autores concluíram que os anticoagulantes a base de citrato causavam menos alterações nas plaquetas, sendo que o Citrato de Sódio foi o melhor conservante para plaquetas e PRP.

Em 1989, WEHMEIER & SCHNEIDER estudaram a influência dos anticoagulantes e do armazenamento no fluxo plaquetário. Os autores compararam anticoagulantes a base de citrato e a base de EDTA. O sangue coletado foi colocado em tubos, com vários tipos de

anticoagulantes e centrifugado por 10 minutos a 150g para obtenção do PRP. Todas as amostras apresentaram alterações no pH, sendo que a menor alteração ocorreu no citrato (1,8%) e a maior no EDTA (8,2%). O EDTA apresentou o maior aumento no volume plaquetário (28%), mas esse aumento significa uma alteração na forma da plaqueta e sugere uma ativação precoce da mesma.

GOLANSKI *et al.* (1996), seguindo essa linha de pesquisa, compararam o efeito de vários anticoagulantes em relação a ativação espontânea das plaquetas. Os autores relataram que os anticoagulantes a base de citrato são superiores aos anticoagulantes a base de EDTA, e que este último prejudica a estrutura e a função das plaquetas. Os autores ainda relataram que tanto o EDTA como a heparina não são apropriados como anticoagulantes para plaquetas pois eles promovem a ativação espontânea das mesmas, liberando os grânulos  $\alpha$  e os densos, alterando a composição do plasma.

Em 1996, PIGNATELLI *et al.*, estudaram o efeito do armazenamento na resposta das plaquetas. Amostras de sangue foram coletadas em tubos com anticoagulantes a base de citrato: 1- ACD (Ácido cítrico, citrato, dextrose) e 2- Citrato de Sódio a 3,8%. O PRP foi preparado através de centrifugação (160g/15 minutos) e as amostras foram avaliadas em três períodos de tempos: inicial, 6 e 8 horas pós-centrifugação (T0, T6 e T8). Os autores não observaram alterações em relação a contagem e volume das plaquetas entre os anticoagulantes nos



três períodos. Em relação a respostas das plaquetas, os autores observaram que no período T0 ambas as amostras tiveram o mesmo comportamento; em T6 as amostra com Citrato de Sódio apresentavam menor resposta plaquetária, e em T8 ambas amostras apresentavam uma menor resposta plaquetária em relação a T6, mas ainda assim as amostras com ACD eram superiores. Os autores concluíram que o armazenamento adequado do PRP, em anticoagulantes a base de citrato, deve ser em temperatura ambiente (20-22° C) e num período de até 4 horas pós-coleta.

Em relação à centrifugação, o procedimento deve ser preciso e padronizado para a preparação do PRP. A centrifugação do sangue numa força de 1000g por 9 minutos (números variáveis de acordo com o rotor de cada centrífuga) promove o valor máximo de plaquetas viáveis no PRP. Uma nova centrifugação do PRP pode influenciar na viabilidade das plaquetas (SLICHTER & HARKER, 1976).

LEDENT *et al.* (1995) estudaram a liberação de FC durante a preparação do Concentrado de Plaquetas (PC). Amostras de sangue foram coletadas em bolsas e o PRP foi obtido através de centrifugação (1500g/90s), o PRP foi transferido para outra bolsa e o PC foi preparado (2500g/7min). O PC também foi obtido através do *Buffy Coat* (BC). O sangue foi centrifugado (2500g/11 min), o BC separado e diluído num meio de plaquetas de 300mL, sendo essa solução centrifugada (490g/7min) e o sobrenadante BC-PC extraído. Quando o PC foi

preparado do PRP observou-se que a segunda centrifugação promoveu a perda das proteínas dos grânulos  $\alpha$ . A preparação do PC do BC é recente, e tem a vantagem de apresentar menor contaminação por leucócitos em relação ao PRP-PC, porém o BC-PC libera uma menor quantidade de proteínas dos grânulos  $\alpha$ . Os autores concluíram que a preparação do PC em ambos casos diminua a liberação do PDGF. O PRP apresentou a maior liberação de PDGF.

REBULLA (1998) comparou o PC preparado através da coleta em bolsas, usando o método do BC, com o PC obtido por aférese. O autor concluiu, que as diferenças entre os métodos não eram significantes, e que o método da aférese era mais indicado para pacientes refratários a outros doadores.

Em 1999 LOZANO *et al.* estudaram a ativação das plaquetas no preparo do PC derivado do PRP ou do BC. Os autores observaram que o PRP-PC provocou intensa ativação das plaquetas, em contraste com o BC-PC que apresentou leve ativação plaquetária.

## **2.2. Fatores de Crescimento**

Os Fatores de crescimento (FC) são uma subclasse das citocinas os quais especificamente estimulam a proliferação de células. As citocinas são moléculas de proteínas secretadas por uma célula em pequenas quantidades, as quais irão se ligar a receptores presentes em uma outra célula, permitindo assim uma comunicação entre as mesmas.

Quando esta proteína é liberada na circulação sanguínea e afeta células em áreas distantes têm-se uma resposta endócrina. Quando a célula secreta uma proteína para estimular uma célula da vizinhança, a resposta é chamada de parácrina. Proteínas podem ser liberadas por uma célula e se ligar aos receptores da própria célula numa resposta autócrina. A denominação FC é mal empregada para descrever essas citocinas, pois embora elas apresentem a propriedade de proliferação celular, possuem outras funções tais como: diferenciação celular, síntese de DNA, quimiotaxia por outras células, síntese de matriz e, em alguns casos, um determinado FC pode ter uma ação inibitória sobre as células. Essencialmente os FC têm a habilidade de afetar todos os aspectos do fenótipo celular (GREENHALGH, 1996).

Os FC têm o potencial de melhorar o reparo de feridas através de vários mecanismos: 1- apresentam quimiotaxia para células inflamatórias e fibroblastos na região da ferida; 2- estimulam a mitose; 3- estimulam a angiogênese; 4- atuam na produção e degradação da matriz extracelular e 5- influenciam na síntese de citocinas e FC pelas células adjacentes (GREENHALGH, 1996).

Vários são os FC, os mais comuns serão revistos, e suas propriedades serão apresentadas.

### 2.2.1. Fator De Crescimento Derivado De Plaquetas - PDGF

O Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF) é uma das várias citocinas que controlam o crescimento, a diferenciação e a ativação de uma variedade de células (PIERCE *et al.*, 1991). O PDGF é secretado por várias células: plaquetas, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais, e participa de várias atividades celulares tais como: reparo tecidual, reparo ósseo e regeneração epitelial (PIERCE *et al.*, 1991).

O PDGF é uma proteína catiônica, estável ao calor, armazenada nos grânulos das plaquetas em circulação e liberada das plaquetas para o soro durante a formação do coágulo. O PDGF é o maior FC polipeptídico presente no soro e é um potente mitógeno para células de origem mesenquimal. Ele estimula vários processos metabólicos, incluindo a síntese de proteínas e de colágeno, atividade da colagenase, e quimiotaxia por fibroblastos, neutrófilos e monócitos. Além disso, o PDGF estimula a produção de IGF-1. Essas propriedades do PDGF, liberado das plaquetas no local da injúria têm um papel importante na iniciação do processo de reparo de feridas (LEDENT *et al.*, 1995; LYNCH *et al.*, 1987; PIERCE *et al.*, 1991; ROSS *et al.*, 1986).

O PDGF é um dímero que consiste de cadeias A e/ou B, apresentando três tipos de isoformas: PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, e possui dois receptores: PDGF- $\alpha$ ; que se liga as 3 isoformas e o PDGF- $\beta$ , que se liga com grande afinidade ao homodímero BB mas baixa afinidade

ao heterodímero AB (GREENHALGH, 1996; LYNCH *et al.*, 1987; PIERCE *et al.*, 1991; ROSS *et al.*, 1986).

A subunidade  $\beta$  se liga ao colágeno e está presente na superfície dos osteoblastos. O colágeno tipo I é o maior componente orgânico extracelular do osso e é afetado pela função osteoblástica.

ROSS *et al.*, 1986, relataram que várias células que secretam o PDGF também podem secretar outros fatores de crescimento tais como EGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , FGF, IL-1 e IGF. Cada FC deve ter um foco primário num determinado tipo de célula. Entretanto, em muitos casos, cada fator pode induzir uma resposta para cada tipo de célula.

De acordo com ROSS, 1987, quando o PDGF é exposto à células susceptíveis, ele as induz a migrar. Vários eventos intracelulares ocorrem após a exposição ao PDGF, alguns imediatamente, tais como a auto-fosforilação dos receptores do PDGF, que leva ao aumento da mitose e a síntese de DNA.

O PDGF tem um papel importante no reparo. Ele é primeiramente liberado pelas plaquetas, no local da injúria, iniciando o processo de reparo devido a suas propriedades quimiotáticas para leucócitos e fibroblastos. O PDGF liberado pelos macrófagos tem um papel importante na continuação do processo de reparo (ROSS *et al.*, 1986).

### 2.2.2. Fator De Crescimento Fibroblástico - FGF

O FGF foi originalmente purificado do cérebro e da glândula pituitária como um peptídeo monomérico e está presente nos ossos humano e bovino (MOHAN & BAYLINK, 1991).

Atualmente existem ao menos três tipos de FGF dentro da família do FGF (LYNCH *et al.*, 1987). Os primeiros dois tipos descritos foram o FGF ácido (aFGF ou FGF-1) e o FGF básico (bFGF ou FGF-2). Ambos apresentam intensa atividade angiogênica e são mitogênicos para fibroblastos AB (GREENHALGH, 1996; LYNCH *et al.*, 1987).

Adicionalmente o FGF presente nos ossos secreta o FGF básico e o armazena na matriz extracelular. O FGF ácido também está presente na matriz óssea, mas em menor concentração. Esses relatos sugerem que as células ósseas sintetizam o FGF, o qual pode agir imediatamente ou ser depositado na matriz óssea para ações futuras (MOHAN & BAYLINK, 1991).

Os FGFs têm vários efeitos biológicos os quais incluem o estímulo da migração, proliferação e a diferenciação celular. O FGF básico é um potente mitógeno para células ósseas primárias e estimula a proliferação e diferenciação dos condrócitos *in vitro* e promove o reparo da cartilagem *in vivo*. O FGF ácido estimula a proliferação das culturas primárias de osteoblastos. O FGF tem um papel importante na fisiologia óssea (MOHAN & BAYLINK, 1991).

### **2.2.3. Fator De Crescimento Epitelial - EGF**

O EGF foi um dos primeiros FC a ser descoberto. O EGF estimula a proliferação e migração de todos os tipos de células epidérmicas e promove a angiogênese (GREENHALGH, 1996; LYNCH *et al.*, 1987), mas apresenta modesto efeito em osteoblastos (LYNCH *et al.*, 1987).

### **2.2.4. Fator De Crescimento Semelhante a Insulina - IGF**

O IGF é dividido em IGF-I e IGF-II; esses peptídeos são sintetizados por vários tecidos, incluindo o tecido ósseo. O IGF-II é o FC de maior concentração na matriz óssea, enquanto que o IGF-I apresenta uma concentração 10 a 20 vezes menor que o IGF-II. Ambos apresentam propriedades biológicas semelhantes porém, o IGF-I é de 4 a 7 vezes mais potente que o IGF-II (LYNCH *et al.*, 1987).

O IGF-II estimula a proliferação celular de maneira dose-dependente e também aumenta a diferenciação celular. O IGF-II estimula tanto a proliferação das células ósseas como a síntese de colágeno, componentes essenciais para a formação óssea (MOHAN & BAYLINK, 1991).

Como o IGF-II está presente no tecido ósseo, é produzido pelas células ósseas, atuando nas mesmas, pode-se concluir que o IGF-II é um importante regulador local do metabolismo ósseo. As células ósseas secretam o IGF-II, o qual pode ser incorporado na matriz óssea ou ser

difundido no fluído extracelular. O IGF-II armazenado no osso somente atuará após ser liberado do mesmo via reabsorção óssea. O IGF-II secretado no fluído extracelular atuará nas células osteoblásticas. Sendo assim o IGF-II pode agir, na célula que o produz, de uma maneira autócrina ou agir em células adjacentes, de uma maneira parácrina (MOHAN & BAYLINK, 1991).

O IGF-I estimula a proliferação celular (inclusive de fibroblastos) e a formação óssea, e também é dose dependente (GREENHALGH, 1996; MOHAN & BAYLINK, 1991).

O IGF produzido pelo tecido ósseo é estimulado por hormônios esteróides, hormônios da paratireóide e hormônios do crescimento (LYNCH *et al.*, 1987; MOHAN & BAYLINK, 1991). Tanto o IGF-I como o IGF-II estimulam a proliferação de células osteoblásticas, o que aumenta o número de células capazes de sintetizar a matriz óssea. Os IGFs também afetam a função dos osteoblastos, aumentando a produção de colágeno Tipo I e inibem a ação da colagenase. Como resultado desses efeitos, os IGFs aumentam a massa óssea (PFEILSCHIFTER *et al.*, 1990).

### **2.2.5 Fator De Crescimento de Transformação - TGF**

O Fator de crescimento de Transformação é uma citocina multifuncional com um amplo leque de efeitos biológicos (LYNCH *et al.*, 1987). Duas classes de TGF foram identificadas com base em suas



relações com o EGF: o TGF- $\alpha$  consegue ligar-se aos receptores EGF; o TGF- $\beta$  não se liga aos receptores do EGF, mas necessitam do EGF ou do TGF- $\alpha$  para expressar suas relações biológicas. O TGF- $\beta$  participa na modulação do crescimento celular (ASSOIAN *et al.*, 1983). Uma das atividades do TGF- $\beta$  é participar no reparo e regeneração tecidual. O TGF- $\beta$  em conjunto com o EGF é efetivo na cicatrização de feridas (ASSOIAN *et al.*, 1983).

O TGF- $\beta$  foi originalmente purificado das plaquetas humanas e identificado como um peptídeo homodimérico. O TGF- $\beta$  é produzido por várias células, incluindo as células ósseas, e é abundante no extrato ósseo. Ele é secretado pelas células ou armazenado na matriz óssea e nas plaquetas (MOHAN & BAYLINK, 1991).

Os efeitos biológicos do TGF- $\beta$  incluem a inibição do crescimento de células epiteliais normais e malignas, a estimulação do crescimento de células fibroblásticas, melhora na cicatrização das feridas, quimiotaxia por fibroblastos, e aumento na produção dos componentes do tecido conjuntivo. Em síntese, estimulam o crescimento e diferenciação das células de origem mesenquimal e inibem o crescimento e diferenciação das células de origem ectodérmica (KESKI-OJA *et al.*, 1987; LYNCH *et al.*, 1987). Adicionalmente, o TGF- $\beta$  aumenta a síntese de colágeno e inibe a collagenase (GREENHALGH, 1996; LYNCH *et al.*, 1987; MOHAN & BAYLINK, 1991).

Outros membros da família TGF são as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs). O tecido ósseo e as plaquetas contêm 100 vezes mais TGF- $\beta$  do que qualquer outro tecido, e os osteoblastos possuem a maior quantidade de receptores para TGF- $\beta$ ; isso demonstra a grande importância do TGF- $\beta$  no metabolismo ósseo.

#### **2.2.6. Proteína Óssea Morfogenética - BMP**

A Proteína Óssea Morfogenética (BMP) foi descoberta por ÜRIST em 1965, num estudo no qual observou-se que a matriz óssea desmineralizada colocada ectopicamente no tecido subcutâneo induzia a formação óssea (CANALIS *et al.*, 1989; ÜRIST, 1965).

As BMPs são o único grupo de FCs que se sabe possuir a habilidade de diferenciar as células mesenquimais em condrócitos e osteoblastos. Logo, essas proteínas são responsáveis pela manutenção de uma população de células ósseas diferenciadas. Também, durante o reparo, as BMPs são liberadas do tecido ósseo traumatizado, estimulando a diferenciação das células mesenquimais, as quais participarão do processo de reparo (LYNCH *et al.*, 1987).

Apesar dos mecanismos das BMPs na estimulação da formação óssea ainda não estarem totalmente esclarecidos, a atividade desse grupo de FC é único, e as BMPs são promissoras em situações em que os defeitos ósseos requerem estímulo para um reparo apropriado.

OKUBO *et al.* (2002) avaliaram o mecanismo de osteoindução pela rhBMP-2 por meio da análise imunohistoquímica, em diferentes períodos de tempo. Foram inseridos implantes constituídos de rhBMP-2 no músculo da panturrilha de ratos. No terceiro dia após a implantação, a BMP foi detectada em toda região sendo que a sua intensidade de coloração ao redor do implante no sétimo dia era mais fraca, que em relação ao terceiro. A imunomarcagem da BMP diminuiu com o tempo, e a região marcada permaneceu na área mais central do implante. No décimo dia após implantação, a BMP foi observada parcialmente na cartilagem neoformada, especialmente ao redor dos condrócitos. Após catorze dias da implantação, a BMP foi localizada no osso neoformado do tipo imaturo. No vigésimo primeiro dia, a imunomarcagem para BMP foi encontrada em osteoblastos localizados na superfície do osso neoformado. A marcação para BMP diminuiu principalmente do dia 10 ao dia 21. Esses resultados indicam que o osso imaturo foi substituído pelo osso lamelar, do dia 14 ao dia 21. Esses achados sugerem que a rhBMP-2 tem um papel importante na osteoindução, especialmente em seus estágios iniciais. Num estágio posterior da osteoindução, a rhBMP-2 pode estar ausente ou presente em níveis tão baixos que não são detectados pela imunohistoquímica.

O efeito da BMP no crescimento ósseo supracrestal ao redor de implantes parcialmente inseridos foi estudado por STENPORT *et al.* (2003). Os pré-molares inferiores de seis cães foram extraídos e após 12

semanas de cicatrização foram colocados dois implantes de 10mm de comprimento, sendo parcialmente inseridos nas posições de P1 e P3, de modo que cinco roscas ficaram expostas. Uma malha de titânio foi colocada na parte coronal dos implantes, e o espaço entre a malha e o rebordo foi preenchido com BMP combinada num carreador ósseo ou por somente este carreador. A malha foi coberta com uma membrana de ePTFE, formando um espaço que possibilitasse a formação óssea entre os dois implantes. Os retalhos foram posicionados coronariamente e fixados com sutura vertical. Após 16 semanas de cicatrização, as espécimes foram biopsiadas e histologicamente examinadas. Não houve formação óssea ao redor dos implantes protrusos e nem no espaço criado entre os implantes, em nenhum dos casos. O carreador foi parcialmente reabsorvido. Os autores concluíram, de acordo com a metodologia utilizada, que o crescimento ósseo supracrestal acima dos limites da crista, com ou sem BMP, em um espaço amplo pode não ser possível.

O quadro abaixo apresenta, em síntese, os FC e suas maiores fontes.

Fator de crescimento	Maiores fontes no local da ferida
PDGF	Plaquetas, macrófagos, matriz óssea, células epiteliais, células endoteliais, células musculares lisas.
TGF- $\beta$	Plaquetas, macrófagos, osteoblastos, matriz óssea ativada, linfócitos-T, condrócitos imaturos.
EGF/TGF- $\alpha$	Plaquetas, macrófagos, células epiteliais, eosinófilos.
IGF-I	Plasma, células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos, células musculares lisas, osteoblastos, matriz óssea.
bFGF	Macrófagos, células endoteliais, osteoblastos, condrócitos maduros e imaturos, matriz óssea.

### 2.3. Plasma Rico em Plaquetas

Desde 1997 até os dias atuais, a Odontologia, dentro das áreas de Cirurgia Oral, Implantodontia e Periotondia, tem realizado pesquisas com o PRP.

Vários estudos comparam diferentes técnicas para a obtenção do PRP; estas variam em número de centrifugação (uma ou duas), volume de sangue coletado, tipo de coleta sangüínea (bolsa ou tubo) e ativação do PRP (Cloreto de Cálcio associado ou não à Trombina Bovina) e suas aplicabilidades clínicas (ANITUA, 1999; ANITUA, 2001; APPEL, *et al.*, 2002; DUGRILLON *et al.*, 2002; GONSHOR, 2002; LANDESBURG *et al.*, 2000; SONNLEITNER *et al.*, 2000; TISCHLER, 2002; WEIBRICH *et al.*, 2002a; WEIBRICH *et al.*, 2003).

MARX *et al.* (1998) fizeram um dos primeiros relatos do uso do PRP em Cirurgia Oral Maior. Os autores avaliaram a reconstrução da mandíbula em 88 pacientes. Os pacientes foram divididos em 2 grupos de tratamento: 1- enxerto ósseo autógeno sem PRP e 2- enxerto ósseo autógeno com PRP. Os pacientes realizaram exames radiográficos em 3 períodos: 2, 4 e 6 meses após a realização do enxerto. Após 6 meses, cada paciente recebeu ao menos um implante na região enxertada e uma biópsia da área foi coletada. Os autores formularam um índice de maturidade do enxerto (GMI) para realizar a análise radiográfica e observaram que o grupo 2 apresentava maior GMI que o grupo 1. As biópsias foram analisadas através da histometria e os enxertos com PRP

apresentaram uma área de densidade de osso trabecular maior que os enxertos sem PRP (74,0% x 55,1%).

Ainda em 1998, LANDESBURG *et al.* alertaram quanto ao uso da trombina bovina para ativação do PRP, relatando que o uso da trombina bovina pode estar associado com o desenvolvimento de anticorpos para os Fatores de Coagulação V e XI, e anticorpos para trombina, resultando num risco para o tratamento de coagulopatias.

CARLSON (2000) apresentou uma revisão da literatura sobre o uso do PRP e da BMP em enxertos ósseos. O autor relatou que o PRP acelera a formação óssea através da ação de seus FCs: PDGF, TGF- $\beta$ , IGF, e que a BMP induz a formação de matriz óssea colagenosa.

LANDESBURG *et al.* (2000) fizeram, através de um ensaio imunohistoquímico a quantificação dos fatores de crescimento TGF- $\beta$ 1 e PDGF-AB presentes no PRP, observando a concentração dos mesmos em três pacientes, realizando com dois protocolos diferentes, um onde o PRP era ativado com trombina bovina e o outro com produto comercial chamado ITA. Os autores relataram que a quantidade desses FC variava de pessoa para pessoa independente do protocolo usado.

ROSENBERG & TOROSIAN (2000) estipularam um protocolo para a utilização do PRP nos procedimentos de elevação de seio maxilar, apresentando um caso clínico. Os autores associaram o PRP a um material aloplástico como enxerto na cavidade sinusal. Após um período de 3 meses de reparo, implantes foram instalados na região, e

após 6 meses de osseointegração a restauração protética foi instalada. Os autores concluíram que o uso do PRP diminuiu o tempo de cicatrização em 50%, porém salientam que estudos longitudinais são necessários para avaliar a eficácia da técnica.

Com relação ao uso do PRP em tecidos moles, PETRUNGARO, (2001) apresentou o relato de três casos clínicos, de pacientes que necessitavam de cirurgias mucogengivais, para recobrimento de recessões múltiplas. A técnica mucogengival usada foi a de enxerto de tecido conjuntivo sub-epitelial, e o mesmo protocolo foi adotado nos três casos. Após a obtenção do enxerto do palato, o mesmo foi impregnado com o PRP, o leito receptor também foi tratado com PRP, o enxerto foi colocado em posição e suturado. Realizou-se a sutura do leito receptor e sobre essa linha de sutura aplicou-se o restante do PRP e do PPP. Em todos os casos houve recobrimento total das recessões e aumento de espessura da mucosa ceratinizada. Com base nesses casos o autor concluiu que o PRP trouxe benefícios a técnica, tais como: menor sangramento no leito receptor devido às propriedades hemostáticas do PRP, menor dor pós-operatória devido à maturação mais rápida do enxerto, estabilidade inicial do enxerto devido às propriedades adesivas do PRP, promover uma re-vascularização mais rápida.

SHANAMAN *et al.* (2001) observaram o aumento de rebordo utilizando a Regeneração Óssea Guiada (ROG) associada ao PRP, em 3 pacientes. O primeiro paciente apresentava um defeito na região de



canino superior esquerdo de 12mm no sentido corono-apical e 7mm no sentido vestíbulo-lingual. O defeito foi tratado com uma associação de DFDBA e osso autógeno (70:30) e PRP. O enxerto foi protegido por uma membrana de e-PTFE reforçada de titânio. Após 6 meses, na cirurgia de remoção da membrana, observou-se o defeito preenchido e coletou-se uma biópsia. A análise histológica dessa biópsia mostrou nova formação óssea, tecido conjuntivo e partículas de DFDBA. No segundo paciente o defeito era na região de molares inferiores, e uma membrana de e-PTFE foi fixada por lingual no defeito, sendo a parte vestibular preenchida com uma associação de BioGran®, DFDBA e osso autógeno (20:60:20) e PRP. A membrana recobriu o defeito e a área foi reaberta após 5 meses de reparo. O ganho em altura foi pequeno e a ROG foi refeita com FDBA associado ao PRP, em conjunto com uma membrana de e-PTFE. Após 6 meses a área foi reaberta e uma biópsia foi coletada. A análise histológica mostrou poucas partículas de DFDBA circundadas por tecido ósseo neoformado apresentando osteoblastos e osteócitos; não foram encontradas partículas de BioGran®. No terceiro paciente foi realizado um aumento de rebordo com o auxílio de uma malha de titânio fixada por vestibular e lingual e a área abaixo dessa malha foi preenchida com uma associação de DFDBA e PRP (80:20), e recoberta com uma membrana BioGuide®. Após 5 meses a área foi aberta para a remoção da malha de titânio e coletou-se uma biópsia. A análise histológica dessa biópsia

revelou tecido conjuntivo fibroso encapsulando as partículas de DFDBA na porção mais coronal e, apicalmente observou-se a formação de osso.

Já em 2001, ANITUA relatou o uso do PRP nos procedimentos cirúrgicos orais. O autor relatou dois protocolos para a utilização do PRP: 1- PRP associado a materiais de enxerto, melhorando o manuseio dos mesmos após a formação de um gel, que ocorre entre 5 a 8 minutos após a associação PRP ao enxerto e 2- PRP sem associações. O autor apresentou dois casos clínicos, em ambos utilizou-se o PRP associado a materiais de enxerto para preenchimento de alvéolos. Na cirurgia para a colocação de implantes, biópsias foram coletadas nos dois casos e a análise histológica mostrou formação óssea com o trabeculado bem orientado e grande número de osteócitos presentes.

AGHALOO *et al.*(2002) avaliaram o efeito do PRP no reparo ósseo por meio de defeitos criados na calota craniana de coelhos. Para tanto, foram criados quatro defeitos de 8mm de diâmetro nas calotas de 15 coelhos. Os defeitos foram criados e imediatamente enxertados com: (1) osso autógeno, (2) PRP, (3) osso autógeno associado ao PRP, e (4) um controle sem tratamento. Os defeitos foram analisados radiograficamente e histomorfometricamente aos 1, 2 e 4 meses. Os resultados demonstraram um aumento significativo na área óssea, na histomorfometria, e na densidade óssea analisada radiograficamente, nas amostras dos grupos osso e osso associado ao PRP, quando comparadas ao controle e ao PRP somente. Não foi observado aumento

significante na formação óssea com a adição do PRP ao osso autógeno. A formação óssea observada nos defeitos tratados com PRP e no grupo controle não apresentaram diferença significativa. Os autores concluíram que a adição do PRP no tratamento desses defeitos não trouxe vantagens.

PÍSPICO (2002) comparou a reparação do palato, ou seja, das áreas doadoras de enxerto gengival livre, quando tratadas ou não com PRP. Para tanto o autor utilizou 15 cães, os quais foram divididos em diferentes períodos de tempo, a saber: GA - 2 dias; GB - 4 dias; GC - 7 dias; GD - 14 dias e GE - 21 dias. Foram criados defeitos circulares bilaterais no palato de cada cão, sendo que um lado foi tratado com PRP e o outro não recebeu tratamento (controle). O autor relatou que as feridas tratadas com PRP alcançaram índices de reparação superiores nos períodos de 2 a 14 dias, e aos 21 dias observou-se uma reparação semelhante tanto no lado teste como no controle. O autor concluiu que o PRP potencializou o processo de reparação do palato, no período de 2 a 14 dias, e que aos 21 dias ambos grupos chegaram ao mesmo grau de reparação.

Num artigo de revisão de literatura SÁNCHEZ *et al.* (2003) abordaram os FC presentes no PRP, reafirmando suas propriedades biológicas e o papel do PRP no processo de reparo. Com esta revisão de literatura os autores concluíram que: 1- o PC quando ativado libera os grânulos a das plaquetas, 2- FC liberados pelas plaquetas induzem as

células mesenquimais e epiteliais a migrarem, dividirem-se e aumentar a formação de matriz colágena, 3- o PRP sendo autógeno elimina a possibilidade de transmissão de doenças, 4- o PRP melhora o manuseio de enxertos, 5- o PRP quando associado ao osso autógeno parece melhorar a quantidade e qualidade do osso formado, 6- deve-se evitar a ativação do PRP com trombina para evitar o desenvolvimento de coagulopatias, 7- avanços tecnológicos permitem a obtenção do PRP com menor volume de sangue coletado, e 8- estudos longitudinais são necessários para avaliar a associação do PRP com biomateriais nos processos de ROG. Um resumo dos FCs presentes no PRP, relatados nessa revisão pode ser observado no quadro abaixo:

Fator de crescimento	Fonte	Alvo	Ação
PDGF	Plaquetas, macrófagos, monócitos, células endoteliais, células musculares lisas	Fibroblastos, células musculares lisas, macrófagos, neutrófilos	Estimula a quimiotaxia/mitogênese em fibroblastos em células musculares lisas; regula a secreção da colagenase, síntese de colágeno; estimula macrófagos; estimula a quimiotaxia de neutrófilos.
TGF- $\beta$	Plaquetas, linfócitos-T, macrófagos monócitos neutrófilos	Fibroblastos, Cel.indiferenciadas, cel endoteliais, células epiteliais, pré-osteoblastos	Inibe a mitogênese endotelial, fibrobástica e osteoblástica; regula a síntese de colágeno e a secreção de colagenase; regula os efeitos mitogênicos de outros fatores de crescimento; estimula quimiotaxia endotelial e a angiogênese.
EGF	Plaquetas, macrófagos, monócitos	Fibroblastos, células endoteliais, células epiteliais	Estimula a quimiotaxia endotelial ou angiogênese, regula a secreção de colagenase e estimula a mitogênese epitelial ou mesenquimal

VEGF	Plaquetas cél endoteliais	Células endoteliais	Aumentam a angiogênese e a permeabilidade vascular; estimulam a mitogênese de células endoteliais por ação direta ou indireta; várias citocinas e fatores de crescimento aumentam a regulação do VEGF incluindo: IGF-I, TGF $\alpha$ e $\beta$ , PDGF, bFGF, EGF e interleucina-1 $\beta$ .
IGF-I	Osteoblastos, macrófagos, monócitos, condrócitos	Fibroblastos, osteoblastos condrócitos	Estimula o crescimento cartilaginoso, formação da matriz óssea, e a replicação de pré-osteoblastos e osteoblastos; atua via autócrina e parácrina; em combinação com a PDGF, pode melhorar a qualidade do tecido cicatricial.

Em 2003, WEIBRICH *et al.* avaliaram a melhoria dos métodos de isolamento do PRP. Os autores estudaram o método de separação descontínua de células, realizada em banco de sangue, e um segundo método, em ambiente ambulatorial. Após a coleta de sangue de 115 pacientes, o PRP foi preparado e realizou-se a mensuração dos fatores de crescimento contidos em cada um deles; sendo significativamente diferentes para TGF- $\beta$ 1 (maior no banco de sangue), e PDGF-AB (maior no método ambulatorial) enquanto que, em relação ao IGF-I, não houve diferença significativa. Houve uma contagem de trombócitos maior no PRP de banco de sangue, o que sugere resultar em níveis maiores de TGF- $\beta$ 1, enquanto que, no método ambulatorial houve uma contagem maior de leucócitos, o que parece resultar em níveis maiores de PDGF-AB. A similaridade entre os níveis de IGF-I dos dois preparados pode ser simplesmente um reflexo da quantidade de PRP no plasma produzido pelos dois métodos.

## **2.4 Elevação de Seio Maxilar**

BOYNE & JAMES (1980) relataram uma nova abordagem para o tratamento da região posterior da maxila. Os autores demonstraram a possibilidade de recuperar a altura óssea da região, permitindo assim a instalação de implantes. Os autores relatam um caso clínico no qual realizaram o tratamento do seio maxilar pneumatizado através do afastamento da mucosa sinusal, mantendo sua integridade, e realização de enxerto autógeno da crista ilíaca. A membrana sinusal foi então reposicionada, o retalho suturado e, após 12 semanas, a área recebeu implantes em forma de lâmina. Após esse caso, os autores realizaram esse protocolo em mais 11 pacientes.

Já em 1986, TATUM relatou as diferenças estruturais entre o osso maxilar e o mandibular, ressaltando a necessidade de se considerar essas diferenças estruturais quando se avalia o índice de sucesso dos implantes osseointegrados em ambas regiões. O autor relata que o osso da maxila é basicamente esponjoso e a porção cortical, onde ocorre o travamento dos implantes, é muito fina. Todavia, tanto na maxila como na mandíbula, a remodelação óssea que ocorre garante a estabilidade dos implantes por longos períodos.

SMILER & HOLMES (1987) avaliaram 14 cirurgias de elevação de seio maxilar em 9 pacientes. O material de enxerto foi o osso autógeno associado a hidroxiapatita granular. Os autores relataram que,

dos 14 pacientes, 3 receberam implantes em forma de lâmina e foram acompanhados de 1 a 4 anos sem evidência de reabsorção na área de enxerto.

WOOD & MOORE (1988) relataram 12 casos de elevação de seio maxilar com realização de enxerto ósseo autógeno, nos quais 8 pacientes receberam um total de 20 implantes osseointegrados e em 7 pacientes, a reabilitação foi feita com próteses fixas. Todos foram acompanhados por até seis meses e apresentaram sucesso.

SMILER *et al.* (1992) utilizaram procedimentos de elevação de seio maxilar e do assoalho nasal preenchidos com enxerto de osso autógeno associado com HA granular porosa com posterior coleta de biópsia. A análise histológica demonstrou formação óssea em todos os casos.

Em 1993, MOY *et al.* quantificaram a composição óssea de 4 diferentes materiais de enxerto usados na cavidade sinusal, através da análise histomorfométrica de biópsias. Os materiais de enxerto utilizados foram HA, HA + DFDBA, HA + osso autógeno e osso autógeno. Sete biópsias foram realizadas nos enxertos, em cinco diferentes pacientes. A análise histomorfométrica mostrou 44,4% de tecido ósseo na associação HA + osso autógeno; 59,4% de tecido ósseo para os enxertos somente de osso autógeno; 20,3% de tecido ósseo quando só se utilizou HA; e 4,6% de tecido ósseo na associação HA + DFDBA. O pequeno número de

biópsias não permitiu uma análise estatística, mas serviu para relatar o comportamento de diversos materiais na cavidade sinusal.

Já em 1996, WALLACE *et al.* avaliaram os aspectos histológicos de materiais de enxerto associados à elevação de seio maxilar, objetivando melhorar a qualidade e quantidade óssea na interface osso-implante. Biópsias foram obtidas de um mesmo paciente, com uma fresa trefina, nos períodos 4, 8, 12 e 20 meses. O tempo necessário para a remodelação do osso vital foi de 12 a 20 meses.

LUNDGREN *et al.* (1996) apresentaram o resultado de 10 pacientes submetidos a elevação de seio maxilar com enxerto de osso autógeno do mento. No momento da cirurgia de elevação de seio maxilar coletou-se uma biópsia óssea da área doadora e do rebordo alveolar residual. Seis meses após a elevação de seio maxilar, coletou-se uma segunda biópsia da área enxertada e doze meses após a elevação de seio maxilar uma terceira biópsia foi coletada. A análise histomorfométrica mostrou um volume ósseo da área doadora de  $58\% \pm 19\%$  e no rebordo residual de  $45\% \pm 15\%$ . Após 6 meses da realização do enxerto houve uma variação no volume ósseo nessa área de  $40\% \pm 12\%$  e de  $48\% \pm 10\%$  aos 12 meses. A análise histológica mostrou maturação óssea em todas as amostras.

Em 1997, BLOCK & KENT apresentaram uma revisão de literatura a respeito da elevação de seio maxilar num período de 14 anos. Os autores relataram que áreas que recebem enxertos para posterior



colocação de implantes, devem ser acompanhadas com o intuito de analisar o índice de sucesso do tratamento. Os autores concluíram ainda (por experiência própria) que o melhor material para elevação de seio maxilar foi o osso autógeno, independente da origem (ilíaco, mento, ramo ou tuberosidade) sem associá-lo a outros materiais.

Ainda em 1997, um grupo de pesquisa liderado por HÜRZELER *et al.* (HÜRZELER *et al.*, 1997a, 1997b, QUIÑONES *et al.*, 1997) avaliaram o comportamento de três tipos de enxerto para elevação de seio maxilar em macacos, comparando o processo de osseointegração de implantes imediatos e tardios e investigando a mineralização do contato osso/implante na área aumentada e osso residual. O protocolo dos trabalhos foi o mesmo, variando somente o tipo de material de enxertia. Foram utilizados 4 macacos divididos em 4 grupos de tratamento: 1- implantes colocados simultaneamente com a elevação do seio maxilar e subsequente carga; 2- implantes colocados quatro meses após a elevação de seio maxilar e subsequente carga; 3- implantes colocados simultaneamente a elevação de seio maxilar sem receber carga; 4- implantes colocados quatro meses após a elevação de seio maxilar sem receber carga. Houve um intervalo de tempo de 7 meses entre cada lado da maxila, conforme o quadro mais abaixo.

No primeiro estudo (HÜRZELER *et al.*, 1997b) o material utilizado para elevação de seio maxilar foi a matriz inorgânica de osso bovino. A análise histológica mostrou osso lamelar em contato direto com

a superfície dos implantes podendo-se detectar osso residual, bem como osso neoformado, ocorrendo aumento ósseo em todos os casos. As partículas de BioOss® estavam envoltas no osso lamelar. Não houve diferença na mineralização direta osso/implante entre os grupos implantes imediatos e implantes tardios, quando comparados no mesmo lado da maxila.

<i>Período (meses)</i>	<i>Lado com carga</i>	<i>Lado sem carga</i>
T0	Extração dos molares, e redução da altura remanescente entre a crista do rebordo e assoalho de seio maxilar, para 3-4mm.	---
T3	Elevação de seio maxilar, com instalação de 2 implantes osseointegrados (imediatos).	---
T7	Instalação de 2 implantes osseointegrados (tardios)	Extração dos molares, e redução da altura remanescente entre a crista do rebordo e assoalho de seio maxilar, para 3-4mm.
T10	---	Elevação de seio maxilar, com instalação de 2 implantes osseointegrados (imediatos).
T11	Colocação dos conectores protéticos e moldagem.	---
T12	Instalação da estrutura protética.	---
T14	---	Instalação de 2 implantes osseointegrados (tardios)
T18	Sacrifício.	Sacrifício.

No segundo estudo (QUIÑONES *et al.*, 1997) o material utilizado para elevação de seio maxilar foi a hidroxiapatita porosa

(Interpore-200®). A análise histológica mostrou mineralização óssea na interface osso/implante, tanto na área residual como na área enxertada. Na área enxertada observou-se contato do material com osso neoformado e discreta reação inflamatória ao redor das partículas de HA. Quando implantes imediatos foram comparados com implantes tardios, observou-se maior porcentagem de mineralização direta osso/implante no grupo tardio, sendo o maior percentual no grupo tardio sem carga. Os autores ainda relataram que a HA foi um bom material de enxerto nesse trabalho, porém estudos devem ser realizados para observar o comportamento desse material a longo prazo.

No terceiro estudo do grupo (HÜRZELER *et al.*, 1997a) os autores utilizaram a associação de osso autógeno da tíbia com HA porosa (Interpore-200®). Na análise histológica observou-se uma significativa neoformação óssea. A análise histométrica revelou que os implantes tardios resultaram num maior contato osso mineralizado/implante. Os autores concluíram que a associação osso autógeno/HA aumentou a formação óssea, e que a colocação de implantes tardios pode ser mais favorável nos procedimentos de elevação de seio maxilar.

SULLIVAN *et al.* (1997) avaliaram o uso da cola de fibrina nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Dez pacientes foram submetidos a elevação de seio maxilar bilateral, 6 seios tiveram perfuração da membrana sinusal, as quais foram reparadas com a cola de fibrina. Quatorze seios receberam enxerto de osso autógeno e seis

receberam enxerto de DFDBA. Dos 10 pacientes, seis receberam implantes nas áreas enxertadas. Os autores concluíram que a cola de fibrina deve ser usada quando ocorre a perfuração da membrana sinusal.

Com o objetivo de avaliar a associação do DFDBA com a matriz mineral de osso bovino (BioOss®) VALENTINE & ABENSUR (1997) selecionaram 20 pacientes que necessitavam realizar a elevação de seio maxilar. Os pacientes foram divididos em dois grupos: G1- 10 pacientes com remanescente ósseo de 5mm, totalizando 16 seios maxilares, os quais foram elevados e enxertados e após 6 meses, 32 implantes foram colocados, e G2- 10 pacientes com remanescente ósseo maior que 5mm, totalizando 20 seios, os quais foram enxertados e 28 implantes foram colocados concomitantemente. Os períodos de osseointegração foram: G1- 6 meses e G2- 9 meses. Três biópsias foram coletadas: duas no G1 (6 e 12 meses) e uma no G2 (9 meses). Aos 6 meses a avaliação histológica mostrou osso imaturo em contato com o BioOss® e ausência de formação óssea com o DFDBA. Aos 9 meses observou-se áreas de osso lamelar e imaturo. Tanto aos 9 quanto aos 12 meses, as partículas de BioOss® não estavam mais sendo reabsorvidas. Baseado nesses achados, os autores sugeriram que o efeito osseointegrativo do DFDBA é insuficiente e que a formação óssea ocorreu em virtude da propriedade osteocondutora da matriz mineral do osso bovino.

Com o objetivo de avaliar a atividade osteogênica da rhBMP-2, BOYNE *et al.* (1997) estudaram o comportamento dessa proteína, tendo como carreador uma esponja de colágeno absorvível (ACS), nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Uma esponja de colágeno (ACS) de 7,5x10cm foi submersa numa solução de rhBMP-2 numa concentração de 0,43mg/mL. Após esse procedimento cada ACS continha 3,4mg de rh BMP-2. Doze pacientes foram submetidos aos procedimentos de elevação de seio maxilar com enxertia da ACS/rhBMP-2 e após 5 meses, 2 desses pacientes receberam tratamento com implantes osseointegrados e nesse momento biópsias foram obtidas. A análise histológica mostrou grande quantidade de osso imaturo, osteoblastos e o osso medular altamente vascularizado. Dentro do período 6-7 meses, os demais pacientes receberam implantes osseointegrados e as biópsias foram coletadas. A análise histológica mostrou grande quantidade de osso trabecular, osso imaturo em quantidade moderada, ausência de atividade de células ósseas e pouca vascularização no osso medular. Os autores concluíram que a rhBMP-2/ACS induziu a formação óssea em 100% dos pacientes, e sugeriram outros estudos com variações da concentração da rhBMP-2.

Com o objetivo de determinar se a qualidade óssea de áreas enxertadas poderia ser usada para o prognóstico da osseointegração de implantes, BLOMQUIST *et al.*, em 1998, realizaram um trabalho no qual 12 pacientes foram submetidos a procedimentos de elevação de seio

maxilar e aumento de rebordo da região superior anterior, com realização de enxerto ósseo autógeno da crista ilíaca, e colocação de implantes, 4 meses após a realização do enxerto. Biópsias ósseas foram coletadas da área doadora no dia da realização do enxerto e das áreas enxertada nos períodos 1, 2, 4, 6 ou 12 meses pós-cirurgia. As biópsias foram analisadas e mensurou-se a densidade da parte mineral do osso. A análise histomorfométrica avaliou o volume de osso trabecular e a viabilidade dos osteócitos presentes (OI - Índice de Osteócitos). De um total de 84 implantes osseointegrados que foram instalados, 52 localizavam-se na área de seio maxilar e 32 na região anterior da maxila. No total, de 15 implantes foram perdidos, 9 eram (17,3%) na região de seio maxilar e 6 (18,8%) na região anterior de maxila. A densidade média da parte mineral do osso foi de 95%; a porcentagem de osso trabecular da área enxertada foi similar ou pouco elevada, em relação a área doadora. O OI não apresentou diferença nos intervalos de tempo. Os autores não encontraram co-relação entre os resultados das análises com a falência dos implantes, contrariando relatos anteriores. Sendo assim os autores concluíram ser difícil o prognóstico do índice de sucesso de implantes osseointegrados em áreas enxertadas, mesmo quando o osso autógeno for utilizado.

FROUM *et al.* em 1998, realizaram um estudo com pacientes que necessitavam de elevação de seio maxilar para posterior colocação de implantes osseointegrados. Em um grupo de 113 pacientes,

usou-se o material Osteograf/N (matriz inorgânica de osso bovino), associado ou sozinho, com porcentagens diferentes de osso autógeno e/ou materiais diferentes de enxerto. Para as análises histológica e histométrica obteve-se amostras após 6-9 e 12-15 meses depois do procedimento cirúrgico. Chegou-se a resultados que mostram o Osteograf/N como material preferido para a elevação de seio maxilar. Aumentou-se substancialmente a formação óssea quando se adicionou osso autógeno à mistura porém, houve diminuição da mesma, quando da associação de DFDBA. Entretanto, a formação óssea apresentou aumento com a aposição de uma membrana de e-PTFE lateralmente à parede da loja óssea, comparando-se a casos em que a membrana não foi usada.

McALLISTER *et al.* (1998), avaliaram a resposta tecidual e formação óssea por meio de exames clínicos, histológicos e radiográfico obtidos através da inserção de rhOP-1 associado a uma matriz colágena bovina, nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Comparou-se o efeito de diferentes doses de rhOP-1 com o controle positivo, onde foi utilizado o BioOss®. Utilizou-se nesse estudo 1 grama de matriz colágena de osso bovino associada à proteína osteogênica rhOP-1, formulado em doses de 0,25; 0,6 e 2,5mg. Foram usados 15 chimpanzés adultos, nos quais realizou-se atos cirúrgicos de elevação de seio maxilar, coletando-se material para biópsia aos 3,5; 5,5 e 7,5 meses. As análises radiográficas e histológicas revelaram evidente formação óssea em todos

os grupos tratados e uma redução significativa na invaginação de tecido mole sobre a parede lateral da maxila. Os resultados mostram que o BioOss® e a proteína osteogênica com 2,5mg de matriz colágena foram eficazes e estimularam a formação óssea na cavidade sinusal, permitindo o fechamento da loja óssea realizada pela osteotomia lateral sem utilização de membrana oclusiva.

ZITZMANN & SCHARER, em 1998, compararam 3 técnicas diferentes de elevação da mucosa do seio maxilar: 1- antrostomia lateral em duas etapas; 2- antrostomia lateral em uma etapa; 3- técnica de osteotomia com aproximação da crista óssea. Nesse trabalho os autores estudaram as propriedades osteocondutoras do BioOss®. Foram selecionados 30 pacientes para o tratamento com implantes osseointegrados na região posterior da maxila. Após as osteotomias na parede lateral da cavidade sinusal, um bloco de BioOss® foi fragmentado e inserido no interior da cavidade. Nos casos em que se inseriram imediatamente implantes osseointegrados, o material foi cuidadosamente colocado após a instalação dos mesmos, e a parede lateral recoberta com uma membrana Bio-Guide. Após 6-8 meses, nos implantes imediatos, realizou-se a instalação de conectores protéticos e nos demais casos foram realizados implantes e aguardou-se de 6-8 meses para confecção protética. Acompanhou-se os referidos pacientes de 6-24 meses, após a colocação das próteses fixas e, dos 79 implantes colocados, houve falha de 3, o que implica num sucesso de 95% nesse período. O osso ganho



nos casos de um estágio cirúrgico foi de 10mm e nos de dois estágios cirúrgicos foi de 12,7mm. Todas as biópsias apresentaram partículas de BioOss® em íntima relação com o novo osso formado e osteoblastos adjacentes a essas partículas. O material não foi completamente absorvido pelos 24 meses do estudo, e os autores sugeriram que o tempo de absorção lenta permitiria um adequado processo de maturação óssea.

GROENVELD *et al.*, em 1999, após elevação de seio maxilar, avaliaram a formação óssea decorrente da utilização de uma proteína humana recombinante osteogênica (OP-1) no período de 6 e 12 meses. No período de 6 meses, as biópsias removidas mostraram neoformação óssea, tecido fibroso e osso do rebordo remanescente. Porém, aos 12 meses, encontrou-se colágeno, usado como carreador, em abundância, circunscrito por células inflamatórias. Concluíram que a neoformação óssea observada aos 6 meses não permanecia aos 12 meses, possivelmente devido a uma reabsorção do tecido neoformado.

Ainda em 1999, GROENEVELD *et al.* realizaram um estudo comparativo entre 1- osso autógeno, 2- rhOP-1, utilizada com um carreador de colágeno bovino e 3- DFDBA, utilizados como enxerto nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Nove pacientes foram divididos entre os grupos, e nove pacientes com adequada altura óssea foram utilizados como controle. Biópsias foram coletadas de todos os pacientes, sendo que nos grupos teste, aguardou-se um período de 6 meses para a realização das mesmas. No grupo que recebeu enxerto de

osso autógeno as biópsias apresentavam características semelhantes ao grupo controle, com predominância de osso trabeculado, e média de volume ósseo de 32%. No grupo enxertado com DFDBA houve grande variação no volume ósseo (1,5% a 45,4%); o tecido ósseo neoformado era composto por osso maduro e imaturo e estava depositado em contato com as partículas de DFDBA, as quais foram encontradas em grande ou pouca quantidade. No grupo tratado com a rhOP-1, apenas um paciente pôde receber tratamento com implante. A biópsia desse paciente apresentou volume ósseo de 29%, com osso do tipo maduro, e partículas do material carreador. No segundo paciente, a biópsia apresentava um volume ósseo de 8% e esse osso era do tipo imaturo; observou-se também grande quantidade de tecido fibroso, e remanescentes do material carreador. A biópsia do terceiro paciente não mostrou a presença de tecido ósseo. A área consistia de partículas do material carreador encapsuladas por tecido fibroso, presença de várias células gigantes multinucleadas, indicando um processo de inflamação crônica. Os autores relataram que os resultados desse trabalho foram inconsistentes e de difícil interpretação, em relação ao comportamento da rhOP-1, e que o colágeno bovino não foi um bom carreador.

PIATTELLI *et al.*, em 1999, realizaram estudo histológico, objetivando avaliar o comportamento do BioOss® nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Um total de 20 pacientes, com severa reabsorção sinusal, foi submetido ao procedimento de elevação de seio

maxilar utilizando o material referido. Vinte biópsias foram coletadas, obtidas dentro de um período de 6 meses a 1 ano (8 biópsias após 6 meses, 6 após 9 meses, 3 após 18 meses e 3 após 4 anos). Aos 6 meses, as partículas de BioOss® eram facilmente distinguidas no osso neoformado, estando por vezes inseridas no mesmo, sendo possível evidenciar osteoclastos em contato com o material; não se observou a presença de células inflamatórias. A análise histométrica mostrou cerca de 40% de espaços medulares, 30% de osso neoformado e 30% de partículas de biomaterial. Aos dezoito meses, todas as partículas do material puderam ser identificadas, não apareceram células inflamatórias e a mineralização pareceu aumentar. Aos 4 anos, as partículas do BioOss® foram facilmente identificadas, o osso mineralizado formado era similar ao do grupo anterior, havendo ainda nesse período células osteoclasticas e processo de reabsorção do biomaterial. Os autores concluíram que o BioOss® pode conduzir a uma apropriada osseointegração; o material sofreu um processo de absorção muito lenta, sendo ainda evidenciadas partículas no período de 4 anos.

TERHEYDEN *et al.*, em 1999, estudaram as propriedades osteoindutivas da proteína osteogênica 1 (OP-1), também denominada BMP-7, associada à matriz mineral de osso bovino (BioOss®) nos procedimentos de elevação de seio maxilar com instalação simultânea de implantes, enfatizando a osseointegração dos mesmos. Para tanto, 5 porcos de pequeno porte foram utilizados num estudo de boca dividida: de

um lado enxertia de BioOss® (controle), e BioOss® associado ao rhOP-1 no lado contra lateral (teste). Após 6 meses, as áreas enxertadas foram analisadas. Em ambos os lados, observou-se grande quantidade de osso neoformado e no lado teste havia uma camada de osso adjacente à membrana sinusal, a qual não foi observada no lado controle. A aposição óssea ocorreu em maior intensidade no período 8-9 semanas em ambos grupos; a única diferença observada foi que no grupo teste a formação óssea começou anteriormente (2-5 semanas). Poucas partículas de BioOss® foram encontradas e as mesmas estavam circundadas por tecido conjuntivo fibroso, no lado controle. Em relação a osseointegração (contato osso/implante), houve a maior diferença entre os grupos, sendo que esse contato foi de 80,0% no grupo teste e 38,6% no grupo controle. Os autores concluíram que a rhOP-1 teve papel importante na osseointegração de implantes colocados simultaneamente à elevação de seio maxilar, permitindo submeter os implantes a carga, em menor período de tempo.

KASSOLIS *et al.* (2000) relataram uma série de casos clínicos de aumento de rebordo e elevação de seio maxilar, utilizando o PRP associado ao FDBA. Quinze pacientes foram submetidos aos procedimentos de elevação de seio maxilar (14 casos) e/ou aumento de rebordo (3 casos). Para todos procedimentos cirúrgicos o material de enxerto utilizado foi o FDBA associado ao PRP. Os pacientes foram acompanhados mensalmente até o período da cirurgia para instalação de

implantes, a qual se deu 5 meses após as cirurgias de ROG, e nesse momento coletou-se biópsias das áreas. Após um período de 5 meses, os implantes foram submetidos a cirurgia para colocação dos cicatrizadores. De um total de 36 implantes, 32 (89%) apresentavam formação óssea cobrindo todo o implante, incluindo o *cover screw*, ausência de mobilidade e ausência de perda óssea radiográfica. A análise histológica confirmou a presença de formação óssea sobre as partículas remanescentes de FDPA, e ausência de inflamação ou necrose. As partículas do enxerto apareciam unidas ao osso e, em muitos casos, áreas extensas de osso estavam ligadas às partículas do enxerto. Baseados nesses resultados, os autores sugeriram que a terapêutica adotada foi viável e que são necessários mais estudos para determinar se o PRP aumenta a formação e maturação óssea, quando associado a enxertos ósseos alógenos.

KRAUSER *et al.*, 2000, por meio de relato de caso, demonstraram a eficiência e previsibilidade dos procedimentos de seio maxilar utilizando uma matriz inorgânica de osso bovino (Osteograf/N®) associado ao osso liofilizado, congelado e desmineralizado. A matriz inorgânica de osso foi associada ao peptídeo sintético Pep-Gen P-15, caracterizando-se por ter colágeno tipo I responsável pela migração celular, proliferação e diferenciação para aumento ósseo na região de seio maxilar. Realizou-se avaliação radiográfica, histológica e histométrica em cavidade sinusal tratada com Pep-Gen P-15, demonstrando aumento ósseo significativo comparando a associação somente de Osteograf/N® e

osso liofilizado, congelado e desmineralizado. Resultados histométricos mostraram 14% de osso vital; 28% de material não reabsorvido e 58% de espaços medulares e tecido conjuntivo fibroso, no seio maxilar tratado com Osteograf/N® PepGen P-15, nas biópsias realizadas aos 4 meses e 14% de osso vital, 22% de material não reabsorvido e 62% de espaços medulares e tecido conjuntivo fibroso no seio maxilar tratado com Osteograf/N® e osso liofilizado congelado e desmineralizado, realizadas aos 8 meses. Os autores concluíram ser o Pep-Gen P-15 um material capaz de promover aumento ósseo em cavidades sinusiais tratadas, como também diminuir o tempo para essa formação e, conseqüentemente, possibilitar a instalação dos implantes osseointegrados em menor tempo.

Com o objetivo de avaliar o comportamento do vidro bioativo nos procedimentos de elevação de seio maxilar, TADJOEDIN *et al.* (2000) selecionaram 20 pacientes que necessitavam realizar elevação de seio maxilar bilateral. Um lado recebeu uma associação de 1:1 de osso autógeno da crista ilíaca e BioGran® (lado teste), e o lado contra lateral recebeu somente osso autógeno (lado controle). Os pacientes foram divididos em 3 grupos (3 pacientes por grupo) os quais receberam implantes 4, 5 ou 6 meses após a cirurgia. Um paciente recebeu implantes 16 meses após a cirurgia. Foram coletadas 6 biópsias de cada paciente (3 do lado direito e 3 do esquerdo) e, como controle, coletou-se 6 biópsias da região de pré-molares e molares de um paciente o qual não

havia realizado cirurgias de elevação de seio maxilar. A análise histomorfométrica mostrou que nos enxertos do lado controle havia a presença de osso trabeculado após 4 meses, totalizando 41% do volume da amostra analisada. Esse osso apresentava osteócitos viáveis e era do tipo lamelar. O volume ósseo continuou aumentado para 42% aos 5 meses, 44% aos 6 meses e 45% aos 16 meses. Aos 4 meses no lado teste o volume ósseo consistia em 28% de osso, em sua maior parte imaturo, o qual aumentou para 35% aos 5 meses e 38% aos 6 meses, quando a maior parte do osso era lamelar. Aos 16 meses o volume de osso lamelar era de 45%. O centro das partículas do material foi preenchido por tecido ósseo e todas as partículas foram reabsorvidas aos 16 meses. Parâmetros para avaliação do *turnover* ósseo indicaram que a remodelação óssea estava ativa em ambos lados, durante mais de 6 meses. Os autores concluíram que a associação osso autógeno/BioGran® na proporção 1:1 é uma alternativa promissora quando há pouca quantidade de tecido ósseo disponível para elevação de seio maxilar.

YILDIRIM *et al.*, em 2000, estudaram a formação óssea após elevação de seio maxilar utilizando BioOss® misturado com sangue venoso. Obteve-se 22 biópsias de 15 pacientes. Os autores observaram 14,7% de formação óssea, e uma proporção de biomaterial residual de 29,7%, sendo que destes, 29,1% estavam em contato direto com o tecido

ósseo. Havia ausência de atividade osteoclástica, pela baixa reabsorção do material.

BOËCK-NETO, 2001, avaliou o enxerto autógeno associado a quatro biomateriais nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Os biomateriais foram 1-DFDBA, 2-HA, 3-Polímero Vegetal Osteointegrável, e 4-Cimento de Fosfato de Cálcio, todos na proporção 1:2 (osso autógeno:biomaterial), após 10 meses da cirurgia de elevação de seio maxilar foram coletadas biópsias das áreas. Os resultados apresentaram a seguinte formação óssea G1: 60,80%; G2: 54,20%; G3: 38,50%, e G4: 44,30%. Com base nesses resultados, o autor concluiu não haver vantagem definida de um dos materiais sobre os outros testados.

CORDIOLI *et al.* (2001) avaliaram o uso do vidro bioativo associado com osso autógeno, nos procedimentos de elevação de seio maxilar com colocação imediata de implantes. Doze pacientes foram submetidos a elevação de seio maxilar uni ou bilateral; os seios foram enxertados com BioGran® associado com osso autógeno na proporção 4:1. Simultaneamente foram colocados 2-3 implantes de superfície tratada. Após um período de cicatrização de 9 a 12 meses, 10 biópsias foram removidas de diferentes sítios enxertados. A análise histológica foi dividida em coronal e apical. Na porção coronal encontrou-se 30,6% de osso, 1,1% de tecido osteóide, 58,9% de tecido fibroso e 9,4% de partículas de biovidro transformada, isto é, com tecido ósseo formado dentro do grânulo, ou em contato com o osso. Na porção apical, 14,2% de



tecido ósseo, 1,3% de tecido osteóide, 69,8% de tecido fibroso e 15% de partículas de biovidro. O osso neoformado ainda se apresentava imaturo; na área próxima ao osso residual observou-se um denso trabeculado ósseo, viável para travamento de implantes, os espaços medulares apresentavam-se altamente vascularizados, sem a presença de reação inflamatória. As partículas de biovidro remanescentes estavam, na maioria das vezes, integradas ao tecido ósseo porém, algumas vezes apresentavam-se circundadas por um tecido fibroso. Os autores concluíram que a associação de biovidro com osso autógeno é um procedimento viável para elevação de seio maxilar porém, o período de 9-12 meses não foi suficiente para reabsorção das partículas do material.

HALLMAN *et al.* (2001) avaliaram a associação da HA bovina ao osso autógeno e à cola de fibrina, sendo que esta só foi utilizada com o intuito de melhorar o manejo do enxerto. Foram coletadas 16 biópsias de diferentes pacientes num período de 6 a 8 meses. A análise histomorfométrica mostrou que a área total da biópsia variou de 1,56 a 20,9mm<sup>2</sup> com uma média de  $7,60 \pm 5,38\text{mm}^2$ . Essa área constituía-se de tecido conjuntivo fibroso (54,1 ± 12,6%), osso lamelar (21,2 ± 24,5%), partículas de HA (14,5 ± 10,3%) e osso imaturo (10,2 ± 13,4%). Das partículas de HA identificadas, 116 estavam encapsuladas por um tecido conjuntivo fibroso e 136 apresentavam contato direto com o tecido ósseo (28,8 ± 19,9%). Não havia sinais de reabsorção da HA. O osso lamelar parecia ter se originado do leito receptor e raramente estava em

contato com a HA. Os autores concluíram que o material de enxerto tem propriedades osseocondutoras, e que o osso associado as partículas de HA, após um período de cicatrização entre 6 e 8 meses, era principalmente do tipo imaturo.

Num relato de caso clínico de elevação de seio maxilar bilateral, SMILER (2001) comparou o osso liofilizado, congelado e desmineralizado associado ou não ao peptídeo sintético Pep-Gen congelado e desmineralizado. Aos 4 meses coletou-se biópsias concomitante à cirurgia de instalação dos implantes osseointegrados e as amostras foram submetidas a análise histométrica. Os resultados demonstraram um significativo ganho ósseo no seio maxilar no qual utilizou-se o Pep-Gen com 45% de osso vital, 15% de material não reabsorvido e 40% de espaços medulares e tecido conjuntivo fibroso, em relação ao outro seio, o qual apresentou resultado de 13% de osso vital, 6% de material não reabsorvido e 81% de espaços medulares e tecido conjuntivo fibroso.

SZABÓ *et al.* (2001) compararam dois tipos de enxertos em elevação de seio maxilar bilaterais. Quatro pacientes foram selecionados, sendo no lado teste utilizado o fosfato de cálcio (Cerasorb®) e no lado controle o osso autógeno. Seis meses após o procedimento, implantes foram instalados e biópsias coletadas. No lado controle, a análise histológica apresentou formação de osso maduro, com a presença de osteócitos; no lado teste observou-se partículas de Cerasorb® envoltas

ora em osso neoformado, ora em tecido osteóide e ora em tecido fibroso. O tecido ósseo formado era predominantemente do tipo lamelar. Os autores concluíram que o fosfato de cálcio é um material de enxerto satisfatório, mesmo sem estar associado ao osso autógeno e sugerem a associação desse material ao PRP para aceleração da formação óssea.

BOËCK-NETO *et al.* (2002) avaliaram a associação do osso autógeno com 1- DFDBA ou com 2- HA, na proporção de 1:1, nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Foram selecionados 10 pacientes, e estes foram divididos entre os grupos. Após 10 meses da cirurgia, biópsias foram coletadas das áreas. A análise histométrica mostrou uma formação óssea média de  $50,46 \pm 16,29\%$  no grupo DFDBA, e de  $46,79 \pm 8,56\%$  no grupo HA. Os autores concluíram que os resultados indicam que tanto o DFDBA como a HA, quando associados ao osso autógeno, são biocompatíveis, entretanto ambos materiais ainda estavam presentes após 10 meses da cirurgia.

FROUM *et al.* (2002) avaliaram o efeito do PRP no crescimento ósseo e na osseointegração, em pacientes submetidos a elevação de seio maxilar bilateral, através do relato de 3 casos clínicos. Cada paciente foi tratado com um lado teste (PRP) e um lado controle (sem PRP). O primeiro paciente recebeu enxerto de BioOss®, associado ou não ao PRP, e recobrimento da área com uma membrana reabsorvível (BioGuide®). Sete meses após a elevação de seio maxilar, implantes foram instalados e biópsias coletadas. A análise histológica mostrou 15%

de tecido ósseo no lado teste e 13% no lado controle. No segundo paciente, o enxerto realizado constituía de 95% de BioOss® e 5% de osso autógeno, associado ou não ao PRP, e recobrimento da área com uma membrana reabsorvível (BioGuide®). As biópsias foram coletadas 7,5 meses após a elevação de seio maxilar. A análise histológica mostrou 21% e 19% de tecido ósseo nos lados teste e controle respectivamente. O terceiro paciente recebeu enxerto de BioOss® associado ou não ao PRP e recobrimento da área com uma membrana não-absorvível de e-PTFE (Gore-Tex®), e 2 implantes temporários no lado teste e 1 no lado controle. Após um período de 11 meses, esses implantes foram biopsiados e substituídos por implantes de maior tamanho. A porcentagem de tecido ósseo observado histologicamente foi de 34% no lado teste e 32% no lado controle. Em relação aos implantes biopsiados, observou-se um contato osso/implante ligeiramente maior no lado teste (37,6% e 38,8%) em relação ao controle (33,8%). Os autores concluíram que o uso do PRP não apresentou diferenças significantes, e que seu uso deve ser considerado somente em relação a melhor manejo do enxerto.

Com o objetivo de avaliar a HA como material de enxerto nos procedimentos de elevação de seio maxilar, HAAS *et al.* (2002) realizaram um estudo em ovelhas. Dois grupos, com 18 seios maxilares cada, foram tratados ou com HA ou com osso autógeno, e ainda 18 seios não foram elevados e serviram de controle. Os períodos de observação foram 12, 16 e 26 semanas após a cirurgia, em cada período os autores

tinham 6 biópsias do grupo HA e do grupo autógeno para realizar a análise histométrica. As médias de volume ósseo e de HA relatadas pelos autores, nos três períodos, foram Grupo osso autógeno: 16,01%, 31,84%, e 41,34% a análise entre os períodos mostrou que os mesmos apresentavam diferenças significantes, observando-se um aumento do volume ósseo no decorrer do tempo. Em relação ao grupo HA observou-se uma média de volume ósseo de 7,44%; 6,79%; e 19,45%, as médias de volume de HA foram 32,01%; 29,65%; e 30,52%. Apesar do aumento do volume ósseo, o mesmo não foi considerado significativo pelos autores, e observou-se também que as médias de volume de HA permaneceram constantes. Os autores concluíram que o uso da HA sem associações nos procedimentos de elevação de seio maxilar deve ser investigado criticamente.

FÜRST *et al.* (2003) avaliaram a hidroxiapatita bovina (HA) sozinha ou em combinação com o PRP. Para tanto, a membrana do seio maxilar de 12 porcos, de pequeno porte, foi elevada bilateralmente por um método extra-oral, sendo que em um lado o espaço entre a membrana e a parede do seio foi preenchido com HA associado ao PRP e o outro recebeu somente a hidroxiapatita (controle). A região recebeu ainda 2 implantes de superfície maquinada. Os animais foram divididos em 3 grupos, de acordo com a época do sacrifício, sendo o mesmo realizado 3, 6 e 12 semanas após a cirurgia. Como resultado, os autores observaram que na parede vestibular do seio havia poucos contatos entre osso e

implante, no lado que recebeu o HA com o PRP, tanto na terceira como na sexta semana, quando comparados ao grupo controle. Na décima segunda semana já não havia mais diferença entre os dois grupos. Os autores concluíram que a combinação do PRP com a HA não demonstrou resultados superiores aos do enxerto sozinho.

Ainda em 2003, MAIONARA *et al.* avaliaram a combinação do PRP com o BioOss®, em procedimentos de elevação de seio maxilar. Os resultados clínicos e histológicos preliminares de 10 pacientes demonstraram vantagens clínicas e biológicas quando da combinação de um material osteocondutivo com uma técnica que consiste no estímulo da regeneração óssea pelo aumento da quantidade de fatores de crescimento.

Com o objetivo de estudar a qualidade óssea de áreas enxertadas, PHILIPPART *et al.* (2003) avaliaram a associação do osso autógeno da calvária associado ao PRP, ao recombinante humano do fator tecidual (rhTF) e à tetraciclina, em procedimentos de elevação de seio maxilar. A elevação de seio maxilar foi realizada em dezoito pacientes com enxertia de uma "pasta óssea" composta por PRP, 1µg rhTF, osso autógeno particulado, e tetraciclina (10 a 30µg/mL). Seis meses após a cirurgia de enxertia, biópsias foram coletadas no momento da colocação de implantes. A análise histológica revelou a presença de um tecido vascularizado rico em áreas de osso maduro, contendo osteócitos e circundadas por osteoblastos, não foi observada a presença

de células inflamatórias. Os autores consideraram como sucesso quando, após a elevação de seio maxilar, havia ganho ósseo suficiente para colocação de implantes de 13mm de comprimento. Os pacientes compareceram para avaliação dos implantes pelo menos 3 vezes ao ano, durante 5 anos. Nessas consultas de retorno, os implantes foram avaliados quanto a mobilidade, nível de inserção clínica, altura do tecido marginal, e Índice Gengival. Os autores relataram um índice de sucesso dos implantes de 90,3%.

RODRIGUEZ *et al.* (2003) avaliaram a associação do osso bovino desmineralizado (BioOss®) ao PRP e instalação simultânea de implantes nos procedimentos de elevação de seio maxilar. Um total de 24 seios maxilares foram elevados e 70 implantes osseointegrados foram colocados simultaneamente e, após 4 meses, esses implantes receberam carga. Coletou-se uma biópsia da área enxertada de um dos pacientes, a qual revelou neoformação óssea, com osteócitos viáveis, partículas de material em contato com o osso neoformado, e o tecido conjuntivo se apresentava bem vascularizado, com infiltrado inflamatório crônico. Três pacientes foram submetidos a exames de tomografia computadorizada das áreas enxertadas para avaliar a densidade óssea em relação ao osso adjacente. O exame mostrou que as áreas enxertadas apresentavam densidade óssea similar ou superior à do osso adjacente. Apesar da falência de 5 implantes, isso não implicou na perda da restauração

protética. Os pacientes foram acompanhados por um período que variou de 6 a 36 meses, apresentando uma taxa de sucesso de 92,9%.

Ainda em 2003, SARTORI *et al.* analisaram a quantidade de BioOss® ossificado em um caso de levantamento de seio maxilar, registrando e comparando dados da histomorfometria de 8 meses, 2 e 10 anos após a cirurgia. Após 8 meses, foram observados 20 cortes diferentes do espécime, que demonstraram um crescimento de tecido ósseo (incluindo o espaço medular) de 29,8% (e 70,2% de BioOss®)  $\pm$  2,6. Em 2 anos, o aumento ósseo tecidual foi para 69,7%  $\pm$  2,7. Dez anos após a cirurgia o aumento foi para 86,7%  $\pm$  2,8. A comparação entre as médias de cada período demonstrou um aumento significativo da tendência de formar osso, associada com a reabsorção do BioOss®, em todos os períodos. Porém o BioOss® ainda continuava a ser encontrado, mesmo após 10 anos da realização dos procedimentos cirúrgicos, sugerindo uma estagnação no processo de reabsorção do material. Nesse caso, nos três espécimes as partículas do BioOss® estavam circundadas por tecido ósseo neoformado, mostrando processos de reabsorção lenta.

Com o objetivo de avaliar a ação do PRP no fosfato de cálcio- $\beta$  utilizado como enxerto nos procedimentos de elevação de seio maxilar, WILTFANG *et al.* (2003) realizaram 45 cirurgias de elevação de seio maxilar sendo que, em 22 o material de enxerto foi o Cerasorb® associado ao PRP e em 23, somente Cerasorb®. Após seis meses, biópsias ósseas foram coletadas, no momento da instalação de implantes.



Os autores observaram uma formação óssea de 8 a 10% maior no grupo com PRP. Não foi observada uma degradação mais rápida do material em nenhum dos grupos. O grupo com PRP apresentou grande número de células gigantes de corpo estranho e nem todos os grânulos do material estavam em contato com o tecido ósseo, mas sim parcialmente envolvidos num tecido frouxo. Os autores sugerem que o uso do PRP só acelera a formação óssea quando na presença de osteócitos ou osteoblastos.

### **3. Proposição**

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar por meio de análise histológica e histomorfométrica, a neoformação óssea da região posterior de maxila após os procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar e enxerto ósseo autógeno *inlay* associado ou não ao Plasma Rico em Plaquetas, em dois períodos de tempo: 6 e 8 meses.

## **4. Metodologia**

Antes de essa pesquisa ter início, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP (CEP-FO/CAR) e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP-MS), sendo aprovado em ambos (Anexo 1 e 2).

### **4.1. Seleção dos Pacientes**

Para a realização desta pesquisa, foram utilizados 20 pacientes, de ambos os sexos (7 homens e 13 mulheres), com média de idade de 42 anos, triados na clínica de Especialização em Implantes da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Os critérios para inclusão no trabalho foram: bom estado de saúde geral, não fumante, não utilização de medicamentos que alterassem a função plaquetária, ausência dos dentes posteriores superiores unilateralmente, ausência de sintomas clínicos e de imagens radiográficas de patologias ósseas e de seio maxilar.

Em relação ao tecido ósseo na região posterior, os critérios foram: disponibilidade de largura (mínimo de 5mm), verificada com espessímetro, e altura (até 4mm) verificada por meio de exame radiográfico (Figura 7), situação que recomenda a realização de enxerto ósseo do tipo *inlay* visando a recuperação da altura óssea.

Os pacientes confirmaram sua aceitação para participar do estudo mediante a assinatura de um termo de consentimento, previamente aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.

Os pacientes foram divididos, aleatoriamente em três grupos sendo:

Grupo 1: enxerto ósseo autógeno e biópsia da área 8 meses após a cirurgia, 4 pacientes (grupo controle).

Grupo 2: enxerto ósseo autógeno associado ao plasma rico em plaquetas e biópsia da área 6 meses após a cirurgia, 8 pacientes.

Grupo 3: enxerto ósseo autógeno associado ao plasma rico em plaquetas e biópsia da área 8 meses após a cirurgia, 8 pacientes.

#### **4.2. Coleta Sangüínea**

Antes do início da cirurgia, realizou-se a coleta de sangue dos pacientes. Essa coleta foi realizada por uma farmacêutica, utilizando o sistema de coleta à vácuo - *vacutainer* (BD Vacutainer® Systems - Divisão Brasil). Foram coletados 4 tubos com capacidade de 5,0mL e com anticoagulante citrato de sódio a 3,8% (0,5mL). Os tubos de coleta foram identificados com o nome do paciente e colocados numa estante em ambiente refrigerado até o momento do preparo do PRP.

### **4.3. Preparação do Plasma Rico em Plaquetas**

Os tubos foram homogeneizados e colocados em equilíbrio no rotor da centrífuga Modelo PRP (GAC Medicales, Vitoria, Espanha) (Figuras 1 e 2). A centrífuga foi programada para velocidade de centrifugação de 1500rpm (280g) e tempo de 7 minutos, programa adequado para promover a separação da série vermelha do plasma (ANITUA, 1999). Após essa centrifugação o tubo apresentou-se com duas partes visualmente distintas: série vermelha ao fundo e série branca. Estas séries ficavam separadas por uma tênue nuvem de leucócitos (Figura 3).

A série branca era dividida em três partes: Plasma Rico em Plaquetas, Plasma com Fator de Crescimento e Plasma Pobre em Plaquetas (Figura 4).

Realizou-se a pipetagem meticulosa das frações do plasma, evitando turbulências no tubo de coleta, por meio de pipetas de volume variável (Biohit Proline Pipettor 100-1000 $\mu$ L, Helsinki, Finland), sendo que a parte utilizada em nosso trabalho foi somente a do PRP (Figura 5). Para garantir que apenas o PRP seria utilizado, padronizamos o volume a ser coletado em 500 $\mu$ L, o qual foi transferido para um tubo de coleta neutro. Após a coleta do PRP de todos os tubos e sua transferência para o tubo neutro, o mesmo foi ativado, no momento em que seria utilizado na cirurgia, com Cloreto de Cálcio a 10% (Index Farmacêutica, São Paulo, SP) na proporção de 1,0mL de PRP/50 $\mu$ L de CaCl.

O PRP ativado foi então associado ao enxerto ósseo, na proporção de 1:1, e entre 5 a 8 minutos ocorreu a formação de um gel, o qual foi utilizado para preenchimento da cavidade sinusal.

#### **4.4. Enxerto Ósseo Autógeno**

A área doadora selecionada foi a região de sínfise mentoniana, a qual apresenta adequada proporção corticomedular e boa quantidade de tecido ósseo (SMILER, 1992; MISCH, 1997).

Após a anti-sepsia extra-oral (Loboriodine Tópico - Biosintética, São Paulo, SP) e intra-oral (Periogard, Gluconato de Clorhexidina, 0,12% - Colgate-Palmolive Company - Divisão Brasil) do campo operatório realizou-se anestesia (Septanest<sup>®</sup>, Articaina HCl 4% com Adrenalina 1:100,000, DFL Indústria e Comércio Ltda., Rio de Janeiro, RJ) para bloqueio regional bilateralmente (nervos alveolar inferior, lingual e mentoniano) e infiltração na área doadora. A mucosa vestibular foi então incisada com a utilização de bisturi de Bard-Parker e lâmina nº15c (Feather - Feather Safety Razor Co., Ltd., Medical Division, Japan) e um retalho muco-periostal foi rebatido.

A remoção do bloco ósseo foi realizada por meio de uma fresa nº702 (S. S. White Burs, Inc., Lakewood, NJ, USA) colocada em peça reta (KaVo - KaVo do Brasil S. A. Ind. e Com. - Joinville - SC) e acionada em baixa rotação, a 1500rpm, com motor específico (Driller BLM 350 - VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda., São Paulo, SP) e refrigeração constante com

solução salina (Cloreto de Sódio 0,9%, - Fresenius Laboratórios Ltda., São Paulo, SP). Preparou-se uma cavidade de formato retangular, respeitando os acidentes anatômicos da região, com profundidade suficiente para atingir a porção medular (Figura 10).

O bloco obtido foi então colocado em uma cuba com solução salina até o momento de seu uso. Antes de ser associado ao PRP, o bloco foi fragmentado utilizando um triturador de osso (Neodent Implante Osteointegrável Ltda., Curitiba, PR) que, conforme descrição anterior, foi misturado ao PRP ativado. A ferida cirúrgica da área doadora foi preenchida com um biomaterial e/ou esponja de fibrina e suturada em planos com fio absorvível 4-0 (Vicryl - Ethicon, Johnson & Johnson Prod. Prof. Ltda., São José dos Campos, SP).

#### **4.5. Elevação do Seio Maxilar**

Após a anestesia da região posterior da maxila por meio de infiltração no vestíbulo e no palato, realizou-se uma incisão, deslocada para palatina, na área edêntula sobre o rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular. Rebateu-se um retalho mucoperiostal até a exposição do tecido ósseo. Definiu-se o local da osteotomia sendo esta delimitada com uma fresa esférica nº2 (S. S. White Burs, Inc., Lakewood, NJ, USA), em baixa rotação sob irrigação constante, até a proximidade da mucosa sinusal, fato observado pela coloração azulada da membrana sinusal vista pela transparência óssea (Figura 8). A parede óssea cortical foi removida e em

seguida com o auxílio de curetas específicas a mucosa sinusal foi deslocada até a parede superior do seio maxilar (Figura 9). O material de enxerto foi colocado preenchendo todo o espaço e uma membrana de colágeno (Genderm, Genius<sup>®</sup>, Membrana Biológica, Mogi Mirim, SP) foi posicionada protegendo a área (Figuras 11 e 12). A região foi suturada com fio de seda montado 40 (Ethicon, Johnson & Johnson Prod. Prof. Ltda., São José dos Campos, SP) através de suturas interrompidas (Figura 13).

Os pacientes receberam orientações pós-operatórias e medicação sistêmica constituída por antibióticos (Cloridrato de Clindamicina 300mg, Hexal do Brasil Ltda., São Paulo, SP, durante 7 dias), antiinflamatórios (Celebra - Celecoxib 200mg, Pharmacia Brasil Ltda., São Paulo, SP, durante 3 dias) e analgésico (Paracetamol Gotas 200mg EMS - Linha Genérica, EMS Sigma Pharma, Hortolândia, SP), e tópica constituída por enxágüe de gluconato de clorexidina a 0,12%. A sutura foi removida após 7 dias e a região operada permaneceu sem influência de carga direta durante toda a fase de regeneração óssea (Figura 14).

#### **4.6. Obtenção da biópsia**

A cirurgia para colocação de implantes osseointegrados foi realizada no período pós-operatório de acordo com o grupo que o paciente se encontrava, variando entre 6 ou 8 meses e todos pacientes realizaram novos exames radiográficos, para o planejamento cirúrgico (Figura 15). Com a guia



cirúrgica em posição, no momento do preparo da loja cirúrgica, realizou-se a biópsia da área enxertada por meio de uma perfuração no centro do rebordo com o auxílio de uma fresa trefina (Trepine Burr, 2.0mm diameter - 3i Implant Innovations, Inc., Florida, USA) de 2,0mm de diâmetro interno e 8,0mm de comprimento (Figura 16). O preparo foi terminado seguindo a seqüência de brocas, e o implante instalado, apresentando boa estabilidade inicial.

#### **4.7. Processamento das biópsias**

As biópsias foram acondicionadas em solução de formol a 10% tamponado por 48h para fixação, e lavadas em água corrente por 24h. Sendo então colocadas em solução Morse (partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%) para descalcificação, envolvidas individualmente em uma compressa de forma a permanecerem submersas na solução. A solução de descalcificação foi trocada a cada 2 dias, durante 45 dias.

Após a descalcificação adequada, as peças foram novamente lavadas em água corrente por 24h e colocadas em solução de sulfato de sódio a 5% por 48h com o objetivo de neutralizar o ácido da solução anterior. Após nova lavagem em água corrente por 24h, foi realizada a tramitação laboratorial de rotina, com desidratação em álcool em ordem crescente de concentração até o álcool absoluto, diafanização em xilol e inclusão em blocos de parafina.

A microtomia foi realizada em micrótomo (Jung Supercut 2065 - LEICA Instruments GmbH, Heidelberg, Germany), obtendo cortes seriados com 5 micrômetros de espessura ao longo de toda extensão do bloco.

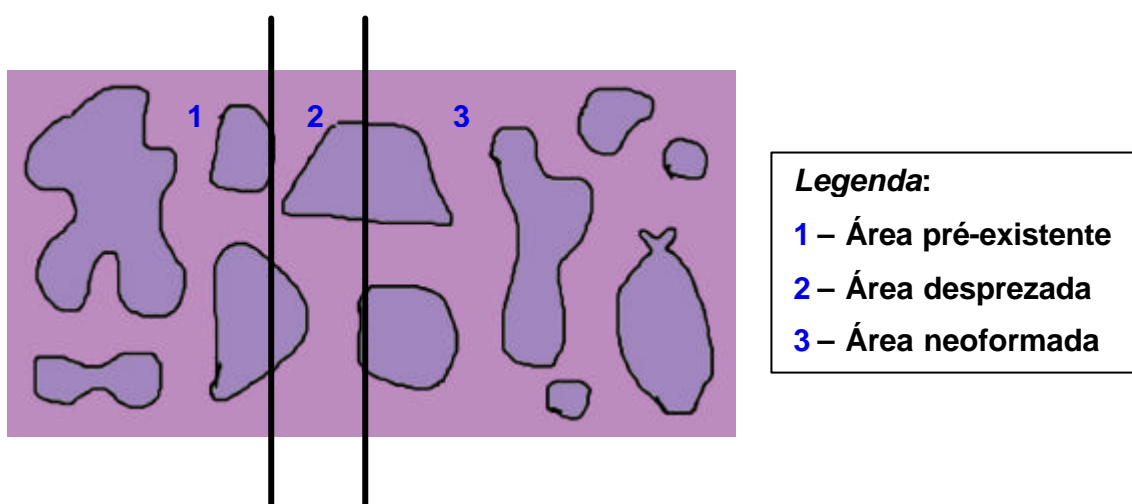
Foram utilizadas sete lâminas em seqüência, (quatro - Hematoxilina e Eosina, uma – Tricrômico de Masson, duas – Azul de Toluidina) e os cortes selecionados para a análise histométrica seguiram o seguinte padrão: o primeiro corte da primeira lâmina foi selecionado, e então quatro cortes seqüenciais foram desprezados, independentemente de estarem na mesma lâmina, e então o próximo corte foi avaliado, e assim consecutivamente. Dos cortes avaliados calculou-se uma média, a qual representava a média do bloco. Na análise histomorfológica todas as lâminas foram avaliadas em sua totalidade.

As técnicas de coloração empregadas foram Hematoxilina e Eosina (H/E), e Tricrômico de Masson e Azul de Toluidina.

Na análise histológica descritiva, foram avaliados o tipo e qualidade dos tecidos neoformados, reação tecidual ao material e presença de reação inflamatória.

Inicialmente, a imagem total da biópsia foi digitalizada, e a área total foi dividida em duas partes, a partir da suposta linha de reversão. Como não foi utilizado nenhum tipo de marcador ósseo, considerou-se que a linha de reversão observada poderia não ser fidedigna, sendo portanto desprezada uma

distância de 1mm em direção ao osso neoformado, como margem de segurança, conforme o esquema abaixo:



Essa área foi então delimitada e medida. Em uma segunda etapa, as áreas ocupadas pelo trabeculado ósseo, tecido não calcificado e partículas de material foram mensuradas separadamente. Desta forma, pôde-se calcular o percentual de espaço ocupado pelas mesmas, em relação à área neoformada.

Para realização das mensurações utilizou-se microscópio óptico com objetiva de aumento de 2.5/0.10 (Diastar - Cambridge Instruments, Buffalo, NY, USA), câmara de vídeo (DXC-107A/107AP - Sony Electronics Inc., Japan) acoplada a este microscópio e conectada a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas (MOCHA, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA).

#### **4.8. Análise estatística**

Os dados obtidos nas análises foram tabulados e transformados de valores absolutos, em milímetros, para valores percentuais relativos, de modo a minimizar a interferência da diferença de tamanho das biópsias.

Graficamente, observou-se que os dados obtidos não se ajustavam à distribuição normal, o que possibilitou a utilização de métodos não paramétricos de análise.

Neste trabalho, temos a utilização de dois diferentes tratamentos (G1 - enxerto ósseo autógeno, e G2 e G3 - enxerto de ósseo autógeno associado ao PRP) em dois diferentes tempos (G1 e G3 - biópsia 8 meses após o tratamento, e G2 - biópsia 6 meses após o tratamento), de maneira que pudemos compara-los, dois a dois, com o Teste Mann-Whitney, não-paramétrico, com duas amostras independentes do mesmo tamanho ou desiguais, da seguinte maneira G1 vs G3 para observar se houve diferença entre os tratamentos, e G2 vs G3 para observar se houve diferença entre os tempos.

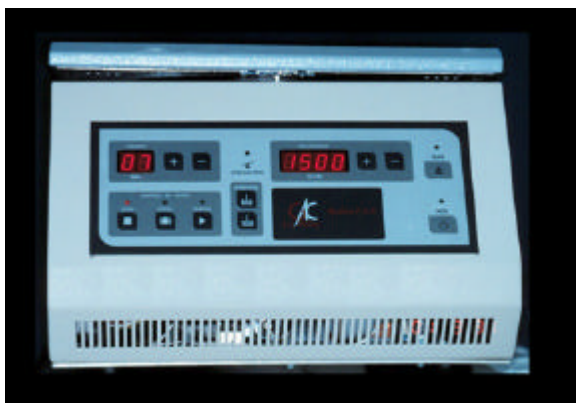


FIG 1 - Centrífuga Modelo PRP -  
GAC Mediale

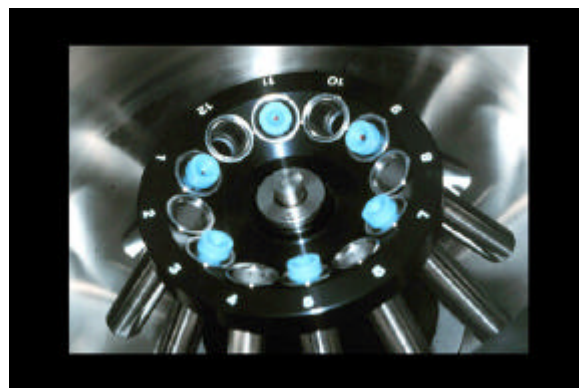


FIG 2 - Tubos em equilíbrio no rotor  
da centrífuga

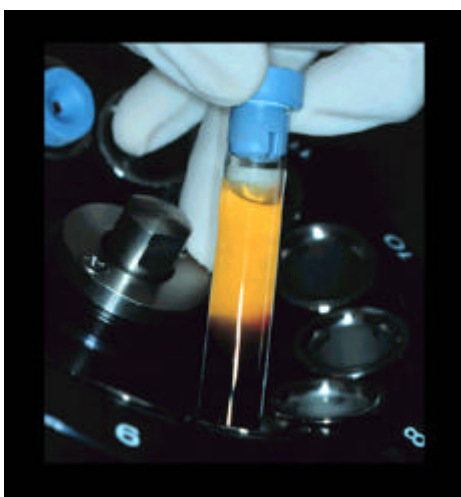


FIG 3 - Tubo após a centrifugação

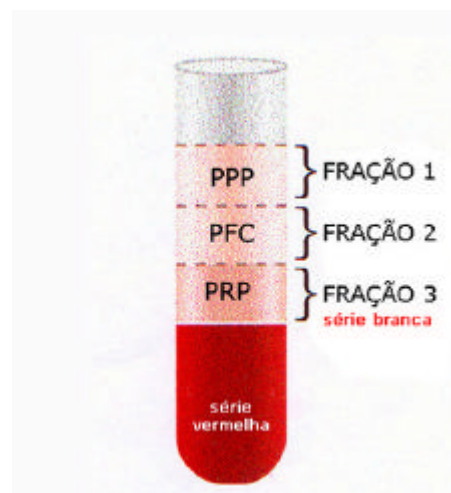


FIG 4 – Esquema do Fracionamento  
do PRP

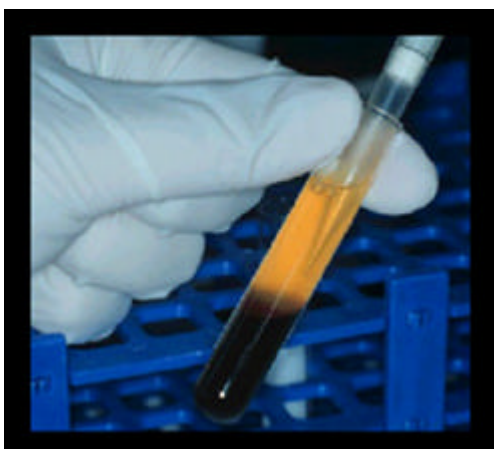


FIG 5 - Pipetação do PRP

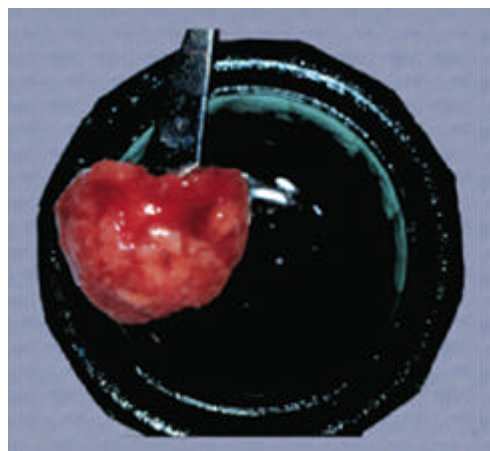


FIG 6 - PRP + osso autógeno

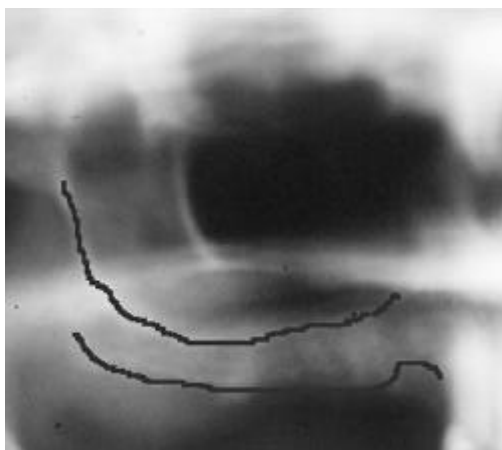


FIG 7 - Radiografia inicial



FIG 8 - Osteotomia - Cavidade Sinusal



FIG 9 - Elevação da mucosa sinusal

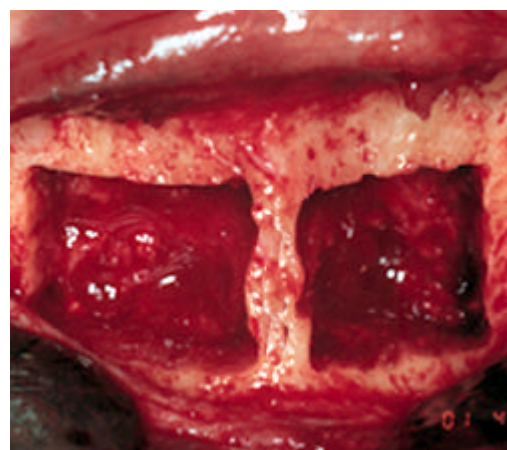


FIG 10 - Osteotomia - Área doadora



FIG 11 - Enxerto posicionado

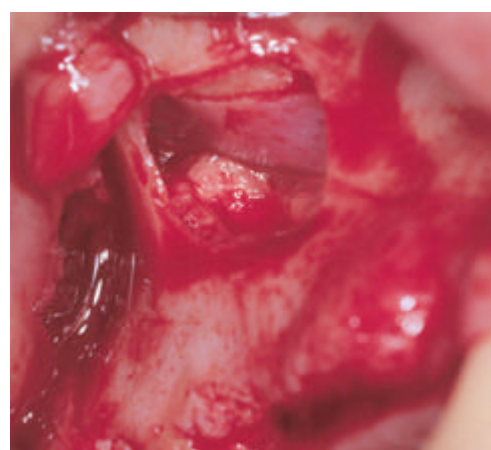


FIG 12 - Membrana posicionada



FIG 13 - Sutura da área



FIG 14 - Pós-operatório - 7 dias



FIG 15 - Radiografia após período de cicatrização.

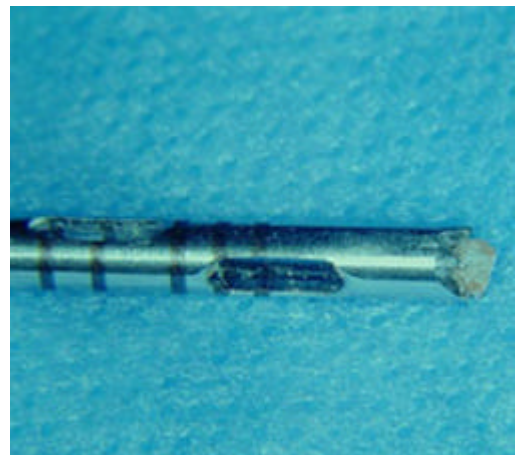


FIG 16 - Biópsia coletada

## **5. Resultados**

### **5.1. Dados obtidos**

Os valores originais obtidos experimentalmente nas avaliações dos fatores de variação: tecido ósseo, tecidos não calcificados e material de enxerto estão dispostos no apêndice (Anexo 3)

### **5.2. Análise microscópica quantitativa**

#### **5.2.1. Tecido ósseo**

Na análise histométrica da área neoformada não se encontrou diferenças significantes em relação ao tratamento (G1 vs G3) onde  $p=0,0617$ , e encontrou-se diferenças significantes em relação ao tempo (G2 vs G3) onde  $p=0,05$ , conforme demonstra o gráfico 1.

Na comparação das médias de tecido ósseo, observa-se uma maior quantidade do mesmo no grupo controle ( $69,20 \pm 9,38$ ), seguido do grupo tratado - 8 meses ( $48,32 \pm 15,00$ ) e do grupo tratado - 6 meses ( $35,26 \pm 11,99$ ).



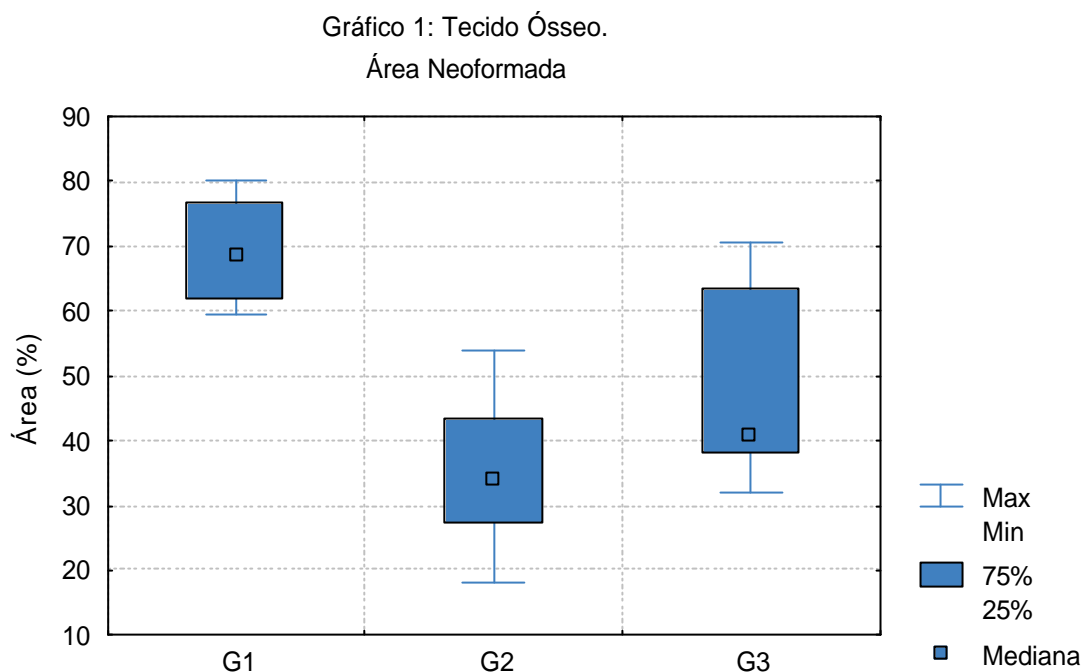


Gráfico 1 – Quantidade de tecido ósseo presente na área neoformada nos 3 grupos.

### 5.2.2. Tecidos não calcificados

Com relação aos tecidos não calcificados, foram encontradas diferenças significantes entre os períodos (G2 vs G3), **p=0,045**. Em relação ao tratamento não se encontrou diferenças, p=0,12, conforme demonstra o gráfico 2.

Na comparação das médias de tecidos não calcificados, da área neoformada, observa-se uma maior quantidade do mesmo no grupo tratado - 6 meses ( $54,29 \pm 9,89$ ), seguido do grupo tratado - 8 meses ( $38,39 \pm 15,51$ ) e no grupo controle ( $24,48 \pm 8,10$ ).

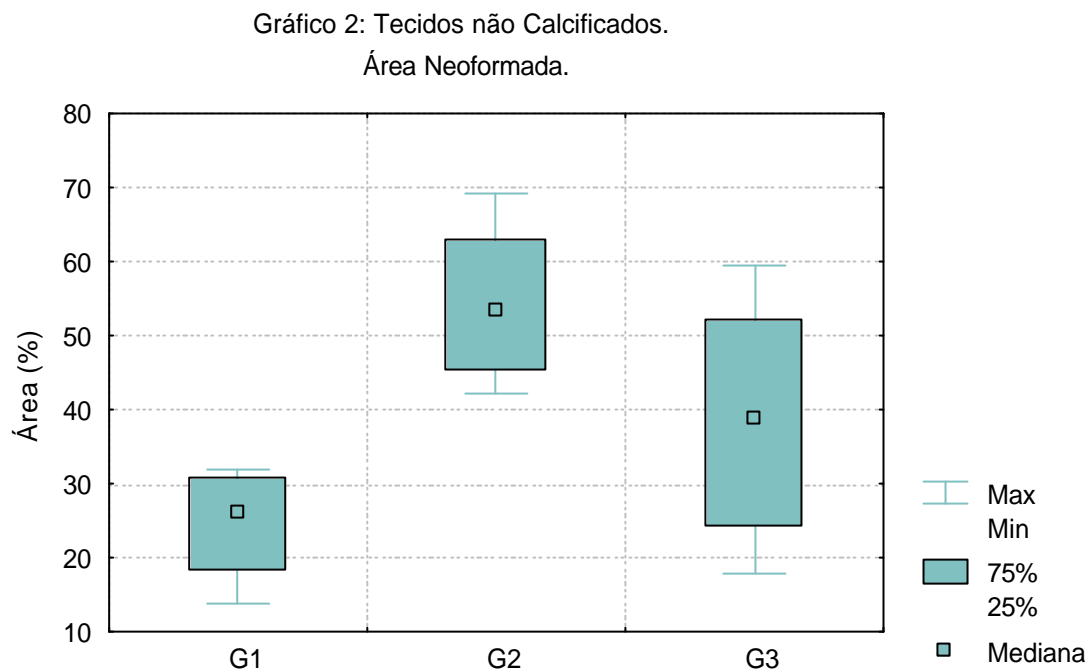


Gráfico 2 - Quantidade de tecidos não calcificados presentes na área neoformada.

### 5.2.3. Material de enxerto

Com relação a presença do material de enxerto, foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos (G1 vs G3), **p=0,041**. Em relação aos períodos (G2 vs G3) não se encontrou diferenças,  $p=0,12$ , conforme demonstra o gráfico 3.

Na comparação das médias tem-se grupo controle ( $6,30 \pm 3,17$ ), seguido do grupo tratado - 6 meses ( $10,44 \pm 6,82$ ) e do grupo tratado - 8 meses ( $13,27 \pm 5,95$ ).

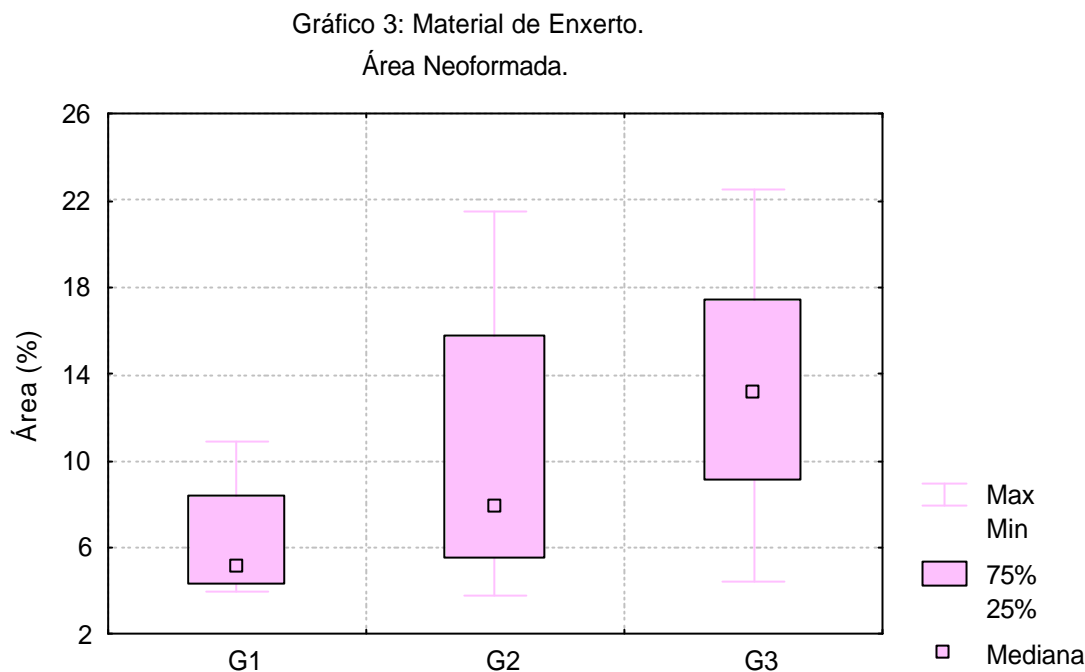


Gráfico 3 - Quantidade de material de enxerto presente na área total.

### 5.3. Análise Microscópica Qualitativa

A análise microscópica das lâminas foi realizada considerando o fragmento de tecido ósseo como um todo, sem tentar separar áreas pré-existentes de áreas neoformadas.

Esses fragmentos se apresentavam basicamente sob duas formas: osso compacto e osso não compacto, sendo que este último poderia estar envolvendo tecido medular, ou tecido fibroso. Em todos os grupos pode-se observar a presença de material amorfo envolto por tecido fibroso nas áreas periféricas ou circundado por tecido ósseo. Outra característica comum aos grupos foi à ausência de reação inflamatória.

### **5.2.1. GRUPO 1: Controle**

As biópsias desse grupo apresentavam grande quantidade de trabéculas ósseas de diversos tamanhos envolvendo, na maioria das vezes tecido fibroso (75%), ou envolvendo também tecido medular (25%). O tecido fibroso apresentava feixes de fibra de colágeno de várias espessuras, cujas fibras acompanhavam ou não a orientação de fibroblastos. Apresentava também figuras vasculares de diversos calibres, sempre englobando partículas de material de enxerto. Observou-se também pequenas áreas de tecido osteóide, caracterizado por apresentar áreas em mineralização, adjacente à presença de osteoblastos. Não se observou reação inflamatória (Figuras 17, 18, 19 e 20).

### **5.2.2. GRUPO 2: Enxerto Ósseo Autógeno associado ao PRP - período 6 meses**

As biópsias desse grupo eram constituídas por grande quantidade de trabéculas ósseas esparsas e de diversos tamanhos envolvendo tecido medular.

As trabéculas tinham aspecto de normalidade, apresentando áreas de osso neoformado, caracterizado principalmente por apresentar inúmeros osteócitos e grande quantidade de áreas osteóides. Adjacentes às trabéculas ósseas observava-se células arredondadas ou achatadas (globulosas), características próprias de osteoblastos. Observou-se ainda a presença de áreas de tecido fibroso envolvendo as partículas do

material de enxerto, ou tecido medular apresentando células claras (adipócitos). Em alguns casos foi possível observar tecido ósseo lamelar justaposto ao osso neoformado. A regeneração óssea ativa caracterizava-se pela presença de linhas de aposição bem definidas circundadas por osteoblastos. O grupo apresentou uma única exceção, na qual a biópsia apresentava poucas trabéculas ósseas e predominância de tecido fibroso. As fibras de colágeno estavam dispostas aleatoriamente, envolvendo fragmentos do material de enxerto ou espículas ósseas de diversos tamanhos. Dentro desse tecido fibroso desorganizado observava-se pequenos centros de ossificação, sugerindo neoformação óssea, e vasos sanguíneos de diversos calibres. Ausência de reação inflamatória, e ausência de áreas de reabsorção. Todas as amostras deste grupo se apresentavam altamente vascularizadas (Figuras 21, 22, 23, 24 e 25).

### **5.2.3. GRUPO 3: Enxerto Ósseo Autógeno associado ao PRP - período 8 meses**

As biópsias desse grupo apresentavam fragmentos de tecido ósseo composto por grandes traves de osso, formando um tecido ósseo compacto, com aspectos de normalidade. Essas trabéculas apresentavam áreas de osso neoformando caracterizado principalmente por apresentar linhas de aposição, com osteócitos e áreas osteóides em menor proporção quando comparados ao G2. Adjacentes a estas trabéculas observava-se células arredondadas ou achatadas (osteoblastos). Entre as

trabéculas, observava-se tecido fibroso, que englobava material amorfo, que também foi observado integrado à superfície óssea. Nesse grupo foram observadas poucas áreas de tecido medular, ausência de reação inflamatória e ausência de áreas de reabsorção (Figuras 26, 27, 28 e 29).

### 5.3.1. GRUPO 1

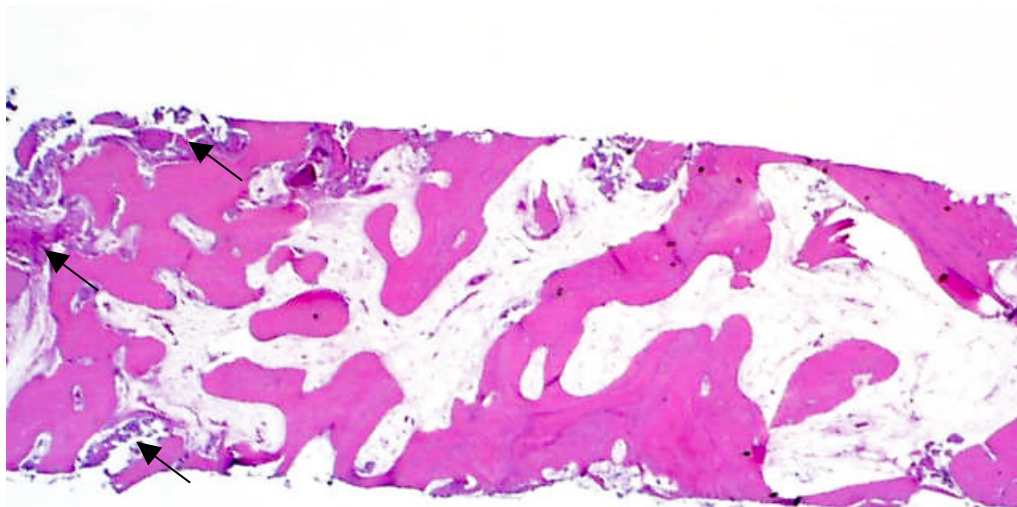


FIG 17 - Grupo 1. Biópsia óssea. Observa-se traves ósseas envolvendo tecido medular e material de enxerto remanescente (setas). H/E, 25x.

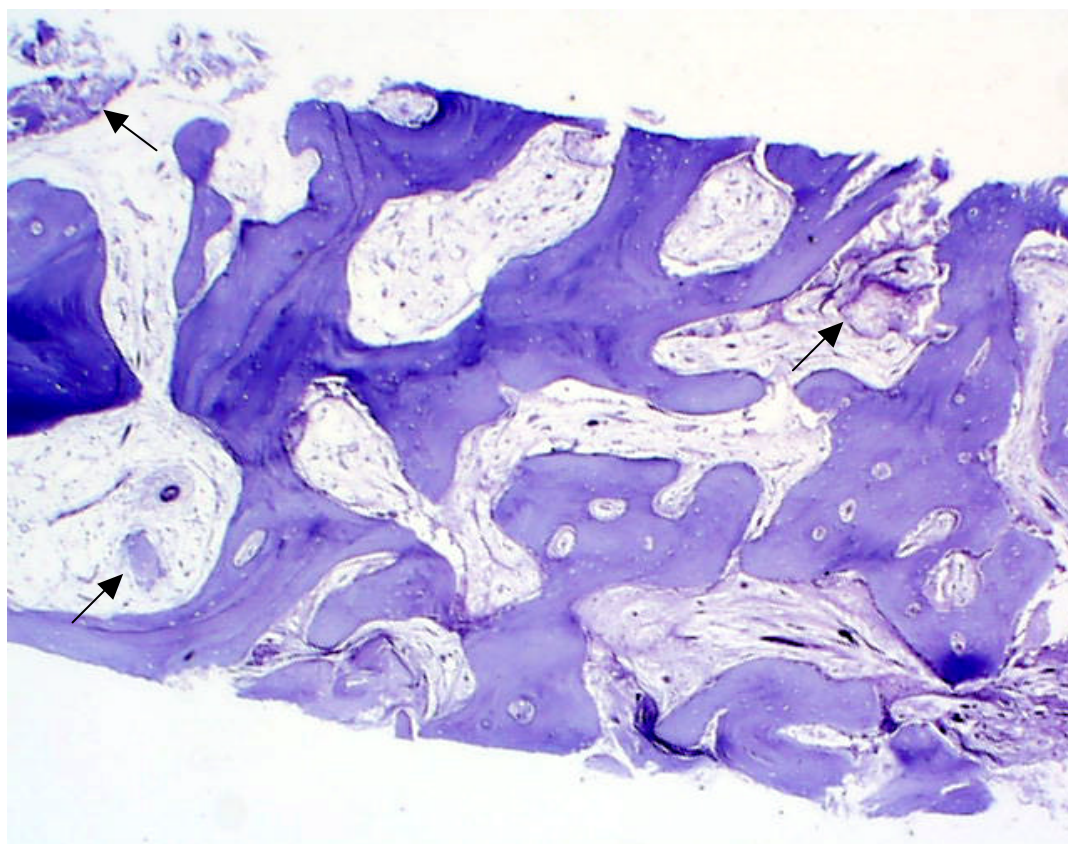


FIG 18 - Grupo 1. Corte longitudinal de biópsia óssea mostrando traves ósseas com características de neoformação por apresentar linhas de repouso, inúmeros osteócitos, envolvendo tecido medular. As setas indicam presença de material de enxerto. Azul de Toluidina, 40x.

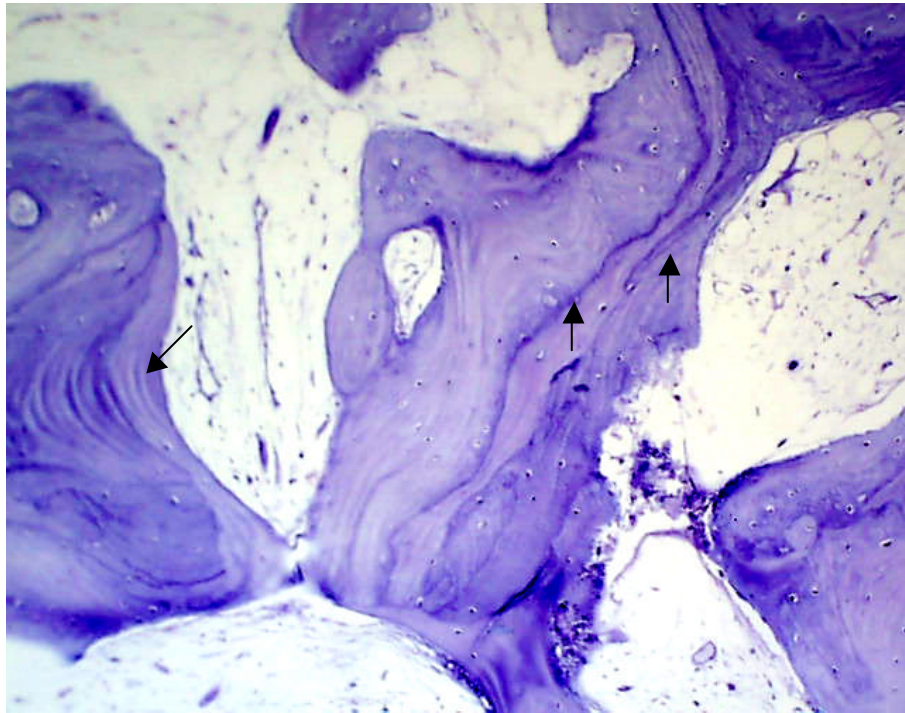


FIG 19 - Grupo 1. Maior aumento da figura anterior mostrando área de aposição óssea, ilustrada por osso lamelar, osteócitos e acentuadas linhas de repouso (setas) Azul de Toluidina 100x

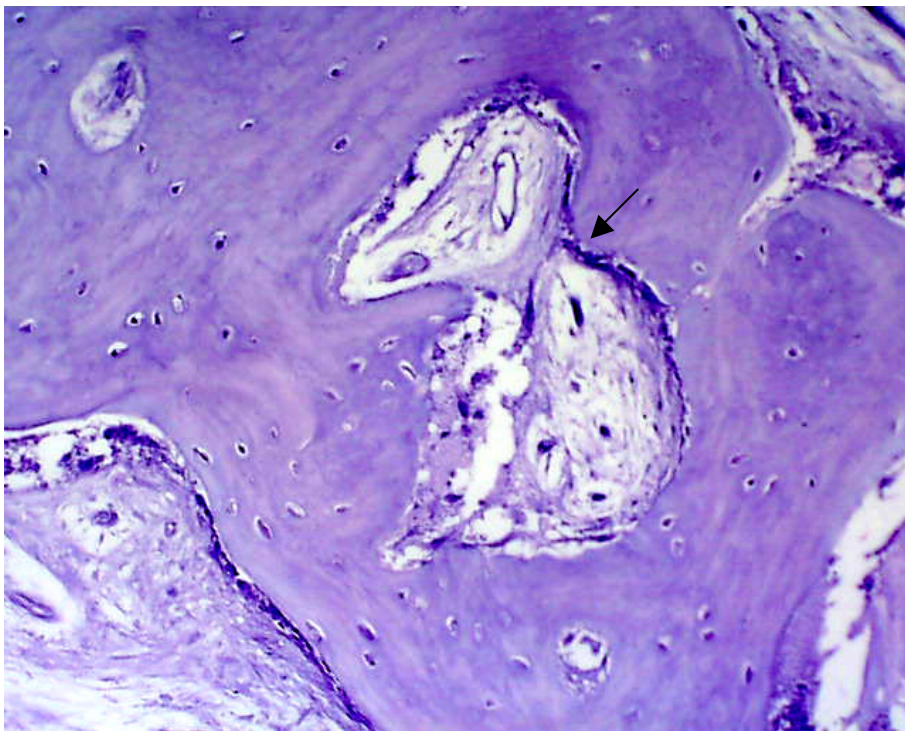


FIG 20 - Grupo 1. Tecido amorfo (seta) envolto por tecido ósseo neoformado. Azul de Toluidina, 200x.



### 5.3.2. grupo 2

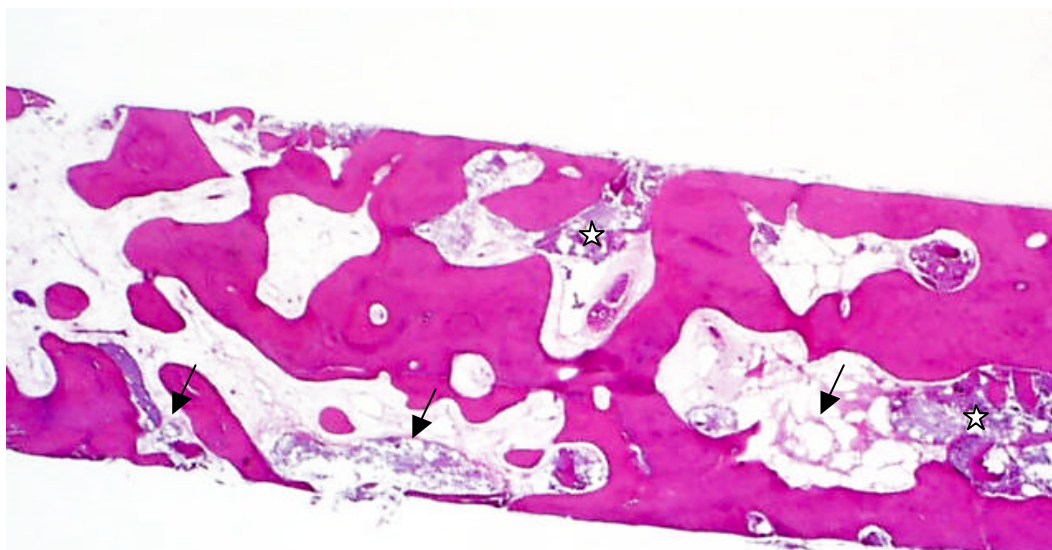


FIG 21 - Grupo 2. Corte longitudinal de biópsia óssea mostrando travessas ósseas a qual apresenta figuras vasculares de diversos calibres (setas), e grande quantidade de material amorfo (☆). H/E, 25x.

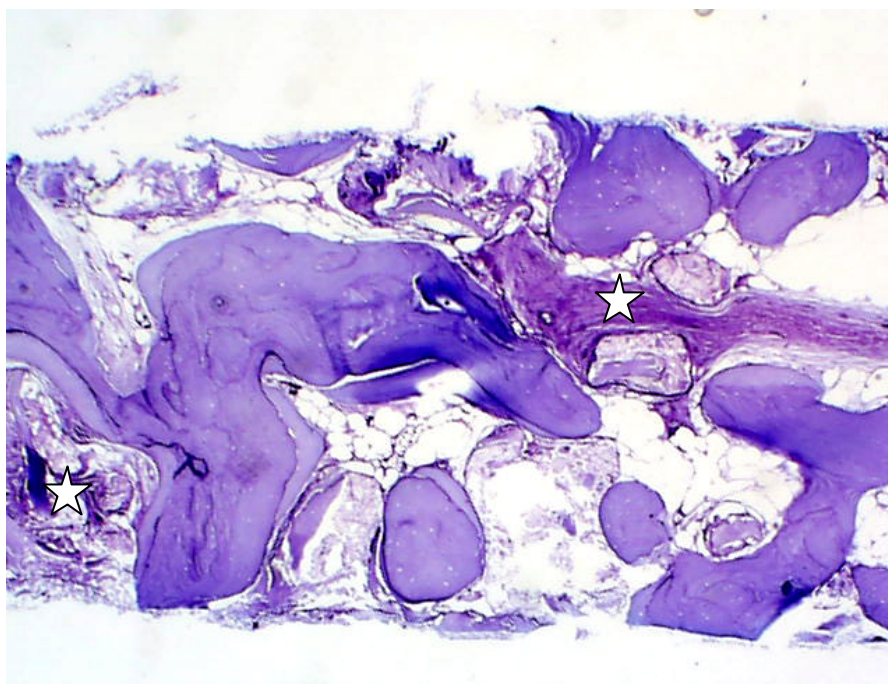


FIG 22 - Grupo 2. Biópsia óssea mostrando travessas ósseas com aspecto de normalidade, apresentando características de neoformação. Observa-se grandes quantidades de linhas de repouso. Espaços medulares amplos, preenchidos por tecido adiposo e tecido fibroso envolvendo material remanescente (☆). Azul de Toluidina, 40x.

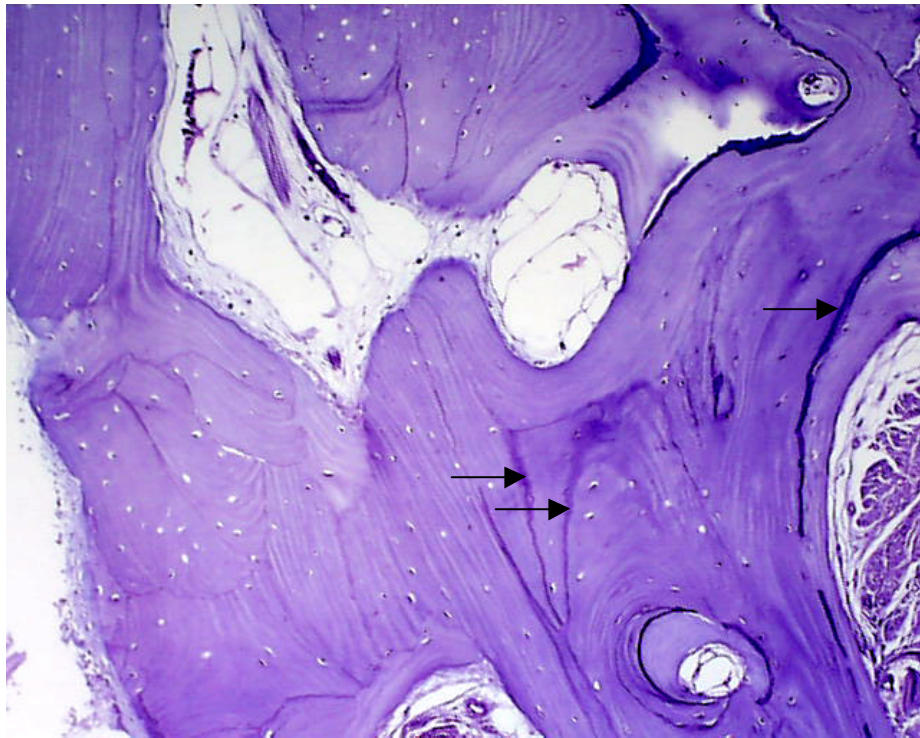


FIG 23 - Grupo 2. Matriz óssea com inúmeros osteócitos. Linhas de aposição de diversas orientações (seta). Azul de Toluidina, 100x.

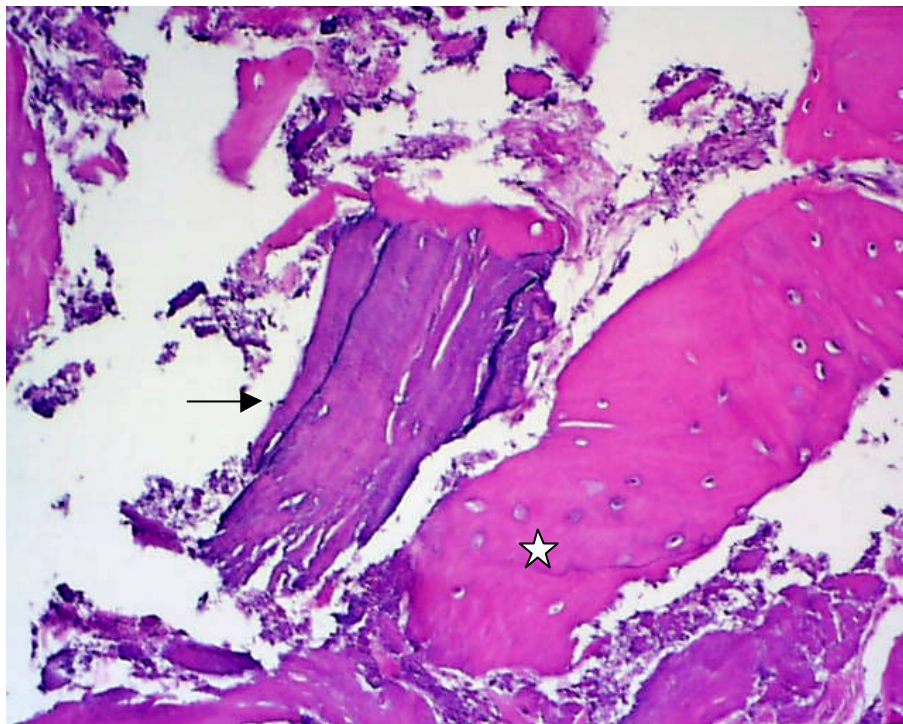


FIG 24 - Grupo 2. Tecido ósseo neoformado justaposto ao material remanescente (seta) caracterizado por desorganização da matriz óssea, lacunas de osteócitos vazias. O tecido ósseo neoformado apresenta osteócitos arredondados e matriz óssea ainda pouco orientada em lamelas (☆). H/E, 200x.

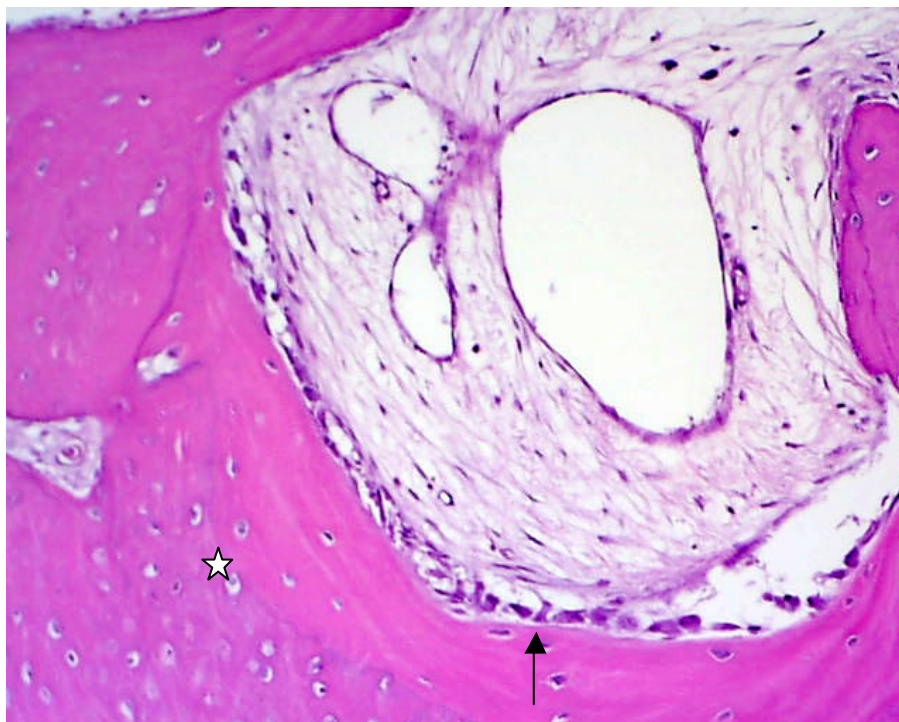


Fig 25 - Grupo 2. Osteoblastos adjacentes a matriz osteóide (seta). Observar neoformação óssea caracterizada pela presença de osteócitos arredondados e matriz óssea ainda pouco orientada em lamelas (☆). H/E, 200x.

### 5.3.3. Grupo 3

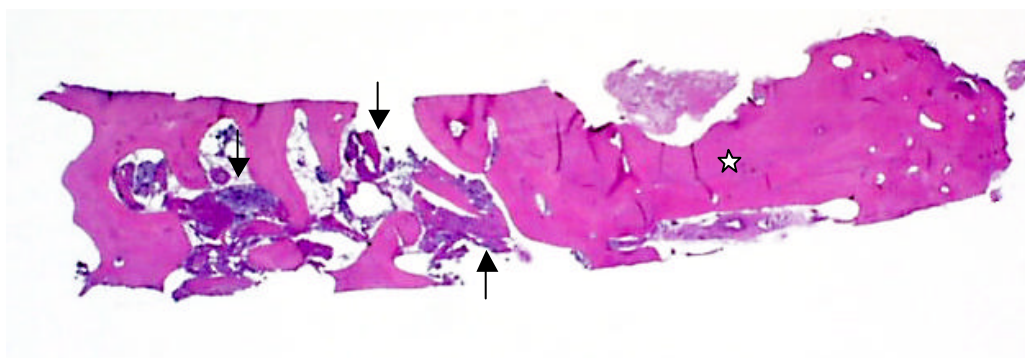


FIG 26 - Grupo 3. Biópsia óssea mostrando área remanescente (☆) composta por tecido ósseo compacto. Adjacente, observa-se osso menos compacto, composto por trabéculas irregulares envolvendo material amorfo (setas). H/E, 25x.

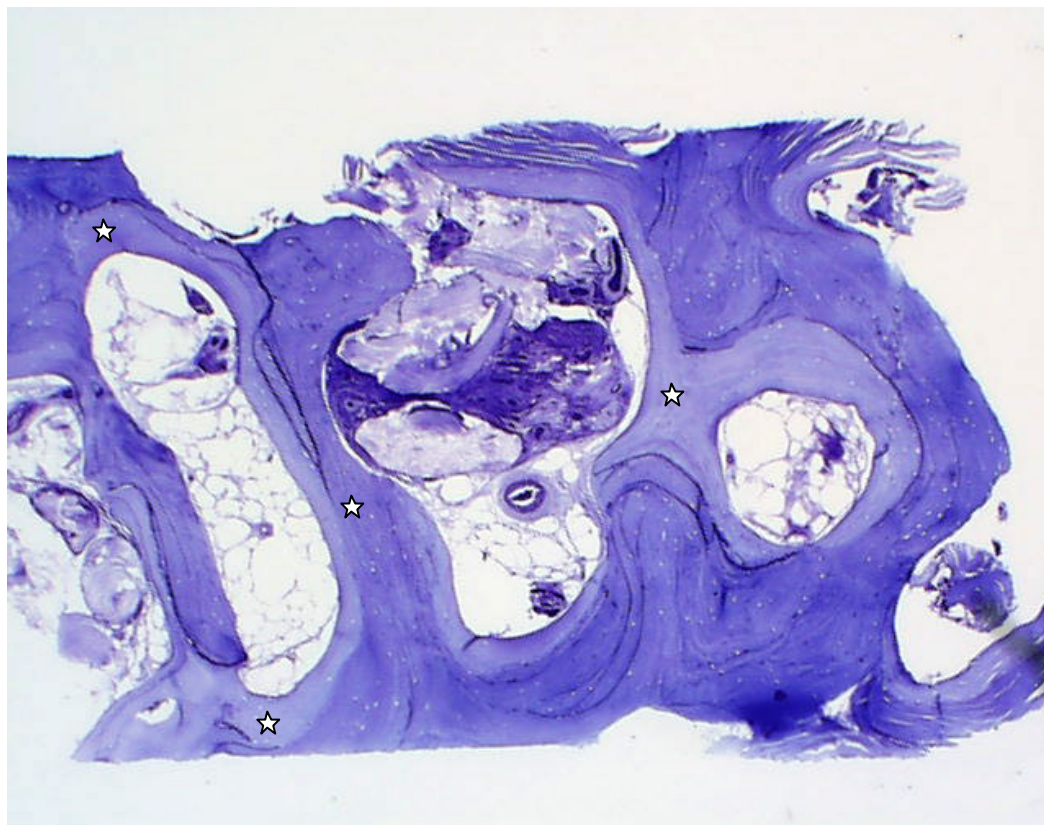


FIG 27 - Grupo 3. Biópsia óssea mostrando trabéculas ósseas com características de neoformação (☆), envolvendo tecido medular e áreas de material remanescente. Azul de Toluidina, 40x.

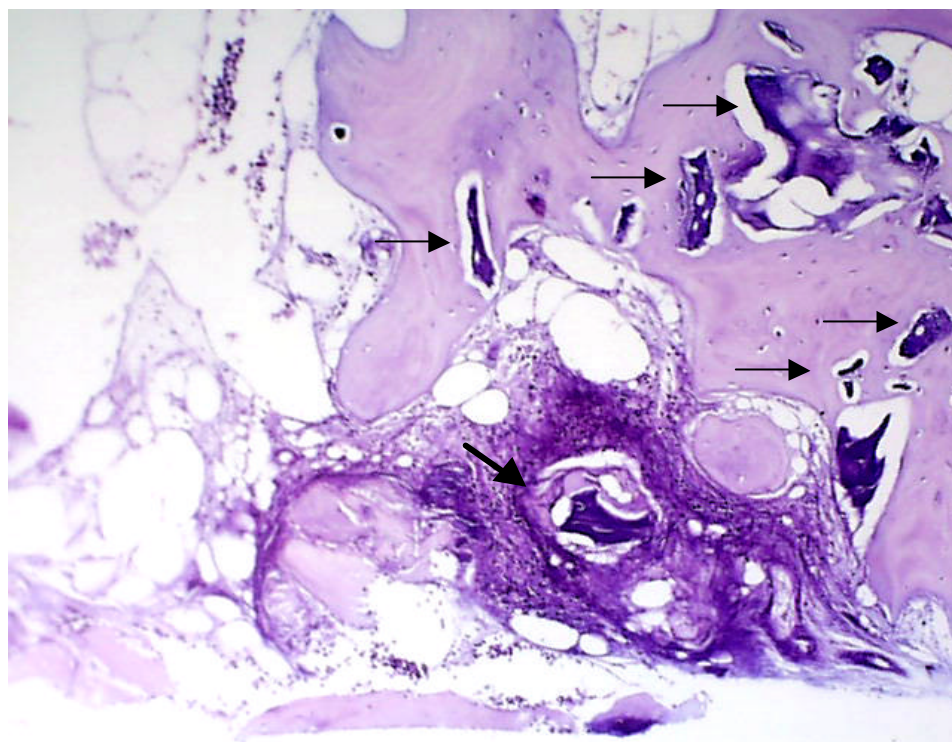


FIG 28 - Grupo 3. Partículas remanescentes do material de enxerto, ora englobadas no tecido ósseo neoformado (seta menor), ora envoltas no tecido fibroso (seta maior). Azul de Toluidina, 100x.

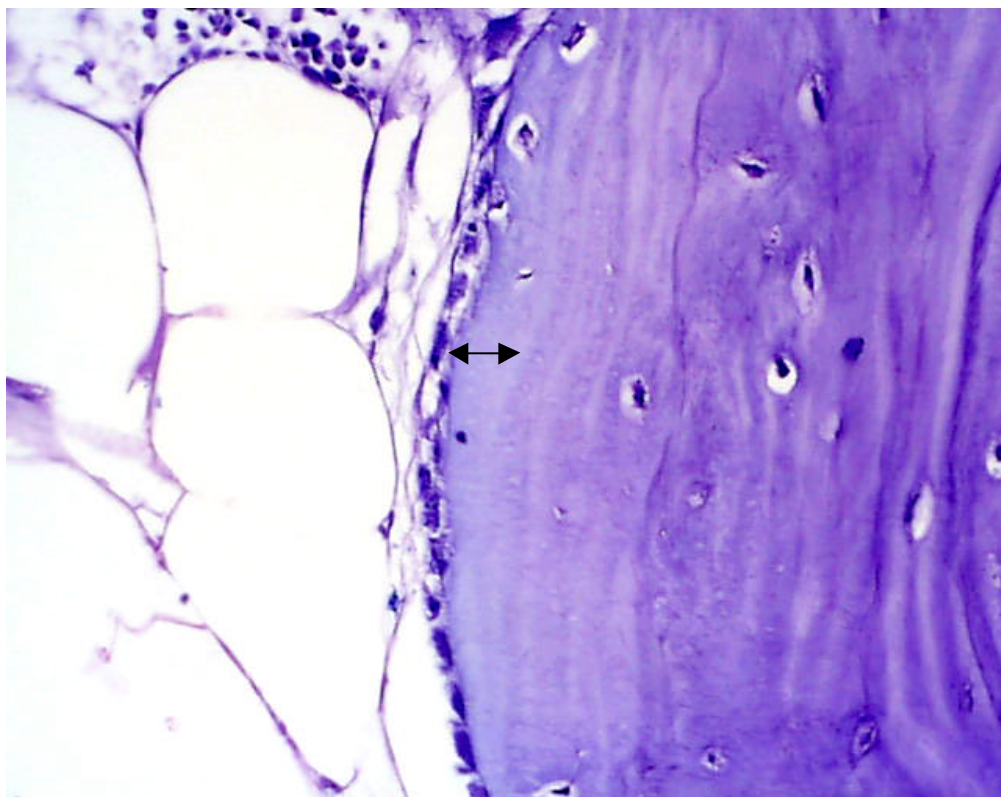


FIG 29 - Osteoblastos adjacentes a matriz osteóide, reparar que na região osteóide (seta) não há presença de lamelas. Azul de Toluidina, 400x.

## 6. Discussão

A reabilitação da maxila posterior atrófica por meio da elevação de seio maxilar é um tratamento bastante apreciado, o qual apresenta um bom prognóstico. Os estudos dessa região começaram quase que simultaneamente com TATUM (1986) apresentando uma técnica de abordagem do local e BOYNE & JAMES (1980) relatando a enxertia do osso autógeno na área. Com o passar do tempo, vários trabalhos abordaram esse procedimento cirúrgico testando diferentes tipos de materiais de enxerto associados ou não ao osso autógeno, com o intuito de diminuir a quantidade necessária deste último, para realização da elevação do seio maxilar (BÖECK-NETO *et al.*, 2002, CORDIOLI *et al.*, 2001; FROUM *et al.*, 1998; HALLMAN *et al.*, 2001; HÜRZELER *et al.*, 1997b; JENSEN, 1999; YILDIRIM *et al.*, 2001). Recentemente os Fatores de Crescimento (FC), os quais acelerariam o processo de aposição e maturação óssea, também estão sendo empregados neste procedimento cirúrgico (BOYNE *et al.*, 1997; GROENEVELD *et al.*, 1999b; GROENEVELD *et al.*, 1999c; McALLISTER. *et al.*, 1999). Uma vez que alguns desses FC estão presentes nas plaquetas, estudos foram realizados associando o PRP ao enxerto ósseo autógeno ou a diferentes biomateriais, visando aumentar o volume de material disponível (FROUM *et al.*, 2002; FÜRST *et al.*, 2003; KASSOLIS *et al.*, 2000; LOZADA *et al.*, 2001; LYNCH *et al.*, 1999; MAIORANA *et al.*, 2003; MARX *et al.*, 1998; PETRUNGARO, 2001; PHILIPPART *et al.*, 2003; ROBIONY, M. *et al.*,

2002; ROSENBERG & TOROSIAN, 2000; SÁNCHEZ *et al.*, 2003; SHANAMAN *et al.*, 2001; TISCHLER, 2002; WILTFANG *et al.*, 2003).

As plaquetas são sensíveis quanto ao seu manuseio (EBY, 2002; LITTLE *et al.*, 1997) e o processo de cicatrização da mesma é crítico em relação à liberação dos fatores de crescimento presentes em seus grânulos  $\alpha$ . De acordo com LEDENT *et al.*, 1995, o preparo tanto do PC, que vem a ser o resultado da segunda centrifugação do PRP na qual as plaquetas estão mais concentradas, porém menos viáveis, como do PRP indicam uma menor liberação dos FC presentes nos grânulos  $\alpha$ , principalmente em relação ao PDGF.

Ainda em relação à centrifugação, SLICHTER & HARKER, 1976, relataram que uma segunda centrifugação, procedimento necessário para a obtenção do PC, influencia de maneira negativa a viabilidade das plaquetas.

Pouco se sabe a respeito da concentração de plaquetas ideal para promover e aumentar a regeneração óssea, bem como qual a concentração ideal dos FC, para que eles sejam eficazes (GONSHOR, 2002; KASSOLIS *et al.*, 2000; LIND, 1998; MARX *et al.*, 1998). LANDESBURG *et al.*, 2000, relataram que as concentrações de plaquetas, do TGF- $\beta$  e do PDGF presentes no PRP, variam entre as pessoas, sem relatar se essa variação era decorrente da idade e/ou sexo dos 3 pacientes observados. Entretanto, em relação a concentração de plaquetas no PRP, WEIBRICH *et al.*, 2002b, não conseguiu encontrar

diferenças de concentração relacionadas ao sexo ou a idade dos pacientes observados.

Muitos fatores podem acarretar nessa variação de concentração de plaquetas e de fatores de crescimento, bem como em sua atuação. Deve-se considerar o estado de saúde geral do paciente, se ele faz uso de fármacos que alteram a concentração do cálcio no organismo, se ele faz uso de fármacos que alteram a função plaquetária, a idade do paciente, seu tipo de dieta, estado emocional (LITTLE *et al.*, 1997). BARBUCCI *et al.*, 1999, relataram que dietas ricas em gorduras saturadas, assim como o stress, através de uma maior liberação de cortisol, e estados depressivos alteram a função plaquetária.

No nosso trabalho realizamos a coleta do sangue do paciente antes de qualquer procedimento cirúrgico e de qualquer medicação pré-operatória, pois tanto o trauma da anestesia bem como os fármacos presentes no anestésico podem levar a uma modificação na função plaquetária.

A forma a qual o sangue é coletado do paciente também pode distorcer a função das plaquetas. O tipo de anti-coagulante empregado foi extensamente estudado e hoje sabe-se que os anti-coagulantes a base de citrato, como o Citrato de Sódio 3,8% para uso ambulatorial, e a associação Ácido Cítrico/Citrato/Dextrose para uso em bancos de sangue, são os anti-coagulantes que menos alteram a morfologia das plaquetas e conseqüentemente suas funções. Devemos



salientar que o EDTA, um anti-coagulante também empregado em coletas de sangue, não deve ser utilizado quando o objetivo é o preparo do PRP, pois apesar dele promover uma maior concentração plaquetária, as plaquetas após 2 horas de armazenamento em EDTA, perdem seu formato de disco e sofrem a degranulação, liberando os FC, antes mesmo da centrifugação (GOLANSKI, *et al.*, 1996; PIGNATELLI *et al.*, 1996; SLICHTER & HARKER, 1976; THOMPSON *et al.*, 1983; WEHMEIER & SCHNEIDER, 1989).

O mecanismo de ação do PDGF, FC liberado após a degranulação da plaqueta, é bem apresentado na literatura. As plaquetas passam pelo processo de degranulação dentro de um período de 3 a 5 dias após um trauma local, e a atividade dos fatores de crescimento presentes termina num prazo máximo de 7 a 10 dias (PFEILSCHIFTER *et al.*, 1990). Comparado com a corrente sanguínea, o PRP apresenta maior quantidade de plaquetas, porém essas plaquetas apresentariam menor viabilidade, uma vez que foram manipuladas, podendo resultar numa menor atividade dos FC (PFEILSCHIFTER *et al.*, 1990).

Ainda segundo PFEILSCHIFTER *et al.*, 1990, o IGF-I, o IGF-II, PDGF e TGF- $\beta$  aumentam a síntese, a aposição e a maturação óssea *in vitro*, quando presentes simultaneamente e em altas doses. Contudo esse aumento de tecido ósseo só ocorreria com a adição diária do TGF- $\beta$  por, pelo menos, cinco dias e esses resultados não deveriam ser

extrapolados para os estudos *in vivo*, devido a complexidade do mecanismo de ação dessas proteínas (LIND, 1998).

Devido ao fato do presente trabalho não ter utilizado marcadores ósseos, considerou-se que a linha de reversão observada poderia não ser fidedigna, sendo portanto desprezada uma distância de 1mm em direção ao osso neoformado, como margem de segurança, visando não subestimar ou superestimar a quantidade de tecido neoformado ou pré-existente, para realizar a análise histométrica da área neoformada. Na análise histológica optou-se por utilizar a área total da biópsia, com o intuito de observar o padrão da regeneração óssea.

Os trabalhos apresentados na literatura revista realizaram a análise histomorfométrica por diferentes protocolos.

Nos casos em que a biópsia não passa pelo processo de descalcificação e não se utiliza a marcação óssea, os autores lançam mão de diferentes corantes, os quais facilitam a diferenciação dos tecidos, entre os utilizados temos: Azul de Stevenel & Von Gieson (CORDIOLI *et al.*, 2001), Tricrômico de Goldner (GROENEVELD *et al.*, 1999a; SZABÓ *et al.*, 2001; TADJOEDIN *et al.*, 2000), Azul de Toluidina (FÜRST *et al.*, 2003; SZABÓ *et al.*, 2001), Hematoxilina & Eosina (PHILIPPART *et al.*, 2003), Azul de Toluidina & Fucsina (WILTFANG *et al.*, 2003).

Nos casos em que algum tipo de marcador ósseo foi utilizado a análise foi realizada observando a marcação na superfície do tecido ósseo, (HAAS *et al.*, 2002; HALLMAN *et al.*, 2001; HANISCH *et al.*,

1999) e se por algum motivo o protocolo de marcação óssea não fosse realizado, esta biópsia era analisada como um todo (HALLMAN *et al.*, 2001; HANISCH *et al.*, 1999).

Em outros dois trabalhos a biópsia era cortada, logo após sua obtenção. BOËCK-NETO *et al.*, 2002, cortavam a extremidade da biópsia garantindo assim que apenas a parte apical seria analisada, diminuindo a probabilidade de superestimar a neoformação óssea. Já WILTFANG *et al.*, 2003, reduziram as biópsias no sentido corono-apical e avaliaram somente os 4mm mais apicais, eliminando assim a possibilidade de incluir a área do rebordo remanescente.

Apesar de existirem relatos recentes na literatura em relação ao uso de marcador ósseo em humanos (HALLMAN *et al.*, 2001; HANISCH *et al.*, 1999) o presente estudo não realizou tal procedimento devido a não aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Contrariando grande parte da literatura existente sobre o uso do PRP (ANITUA, 1999; ANITUA, 2001; KASSOLIS *et al.*, 2000; MARX *et al.*, 1998; ROSENBERG & TOROSIAN, 2000; SHANAMAN *et al.*, 2001), este trabalho não encontrou diferenças significativas entre os tratamentos em relação à área óssea, à área não calcificada e à quantidade de material de enxerto remanescente. Contudo houve diferença entre os períodos observados.

Na análise histométrica o grupo controle - enxerto ósseo autógeno ( $69,20 \pm 9,38\%$ ) quando comparado ao G3 - enxerto ósseo

autógeno associado ao PRP, período 8 meses ( $48,32 \pm 15,00\%$ ) não apresentou diferenças significantes. Este resultado foi validado pela análise histológica, uma vez que em ambos grupos observamos uma compacta óssea bem estruturada, com lamelas densamente arranjadas e linhas de aposição definidas. Geralmente o material remanescente estava englobado em ilhas de tecido ósseo maduro, as quais apresentavam "pontes" de tecido osteóide ligando-as, em concordância aos relatos de FÜRST *et al.*, 2003, e de GROENEVELD *et al.*, 1999a, sendo que este último define esse fato como o segundo estágio de mineralização de áreas enxertadas.

Porém em relação ao tempo das biópsias (G2 vs G3) houve diferenças significantes, sendo que o G3 apresentou uma maior média de tecido ósseo ( $48,32 \pm 15,00\%$ ) do que o G2 ( $35,26 \pm 11,99\%$ ). Histologicamente isto também foi observado uma vez que o tecido ósseo, aos 6 meses, era mais do tipo imaturo, com a presença de inúmeros osteócitos e grandes áreas de tecido osteóide, com a presença de osteoblastos circundando-as, conforme relatado previamente por PHILLIPPART *et al.*, 2003; e KASSOLIS *et al.*, 2000.

Entretanto estes achados diferem de outros estudos, (ANITUA, 1999; ANITUA, 2001; KASSOLIS *et al.*, 2000; MARX *et al.*, 1998; ROSENBERG & TOROSIAN, 2000; SHANAMAN *et al.*, 2001) porém os mesmos, na maioria das vezes, são relatos de casos clínicos, sem grupo controle e sem análise histológica e/ou histométrica, com

exceção de MARX *et al.* (1998) que relata um volume ósseo médio de  $74 \pm 11\%$  quando o PRP é associado ao enxerto autógeno, e  $55,1 \pm 8\%$  quando o PRP não é associado ao enxerto autógeno, nos procedimentos de reconstrução de mandíbula, no período de 6 meses.

Poucos trabalhos relatam que o PRP não apresentou um aumento significativo na neoformação e maturação óssea, contudo, numa avaliação crítica da metodologia empregada nas pesquisas, observa-se que estes trabalhos apresentam uma metodologia mais acurada, na qual o uso do PRP é comparado a grupos controles, e todos os grupos são submetidos a análises histológicas e histométricas (AGHALOO *et al.*, 2002; FÜRST *et al.*, 2003). FÜRST *et al.*, 2003, quando compararam HA vs HA + PRP nos procedimentos de elevação de seio maxilar em porcos, relataram que a adição do PRP a HA, não resultou em um aumento de contato osso/implante em relação ao uso da HA sem associações.

Comparativamente aos dados relatados na literatura, tanto o G1 como o G3 apresentaram valores superiores, em relação a presença de tecido ósseo, no mesmo tempo e até mesmo em períodos superiores, conforme pode ser observado no quadro a seguir.

QUADRO 1: Porcentagem de osso presente em procedimentos de elevação de seio maxilar, com diferentes tipos de material e diferentes períodos de reparo.

Autor/ano	Material de enxerto	Reparo (meses)	Biópsias	% Osso
MOY <i>et al.</i> , 1993	HA + EOA	6-10	4	44,4
LUNDGREN <i>et al.</i> , 1996	EOA	6	8	40 ± 12
	EOA	12	10	48 ± 10
FROUM <i>et al.</i> , 1998	MOBM	6-9	5	14,2
	MOBM + DFDBA		8	19,0
HANISCH <i>et al.</i> , 1999	HA + DFDBA	6	5	8,1 ± 3,0
	HA + DFDBA	12		20,7 ± 8,3
		4		28
	EOA + BV	5	3	34
TADJODEIN <i>et al.</i> , 2000		6		38
		4		41
	EOA	5	3	42
		6		44
	HA + DFDBA +			
TARNOW <i>et al.</i> , 2000	EOA	8	3	7
	HA + DFDBA		2	21

QUADRO 1: Porcentagem de osso presente em procedimentos de elevação de seio maxilar, com diferentes tipos de material e diferentes períodos de reparo.

Autor/ano	Material de enxerto	Reparo (meses)	Biópsias	% Osso
YILDIRIM <i>et al.</i> , 2000	MOBM	6,8	22	14,7
CORDIOLI <i>et al.</i> , 2001	EOA + BV	9-12	12	30,6
HALLMAN <i>et al.</i> , 2001	HA + EOA + cola de fibrina	6-8	16	31,4 ± 19,2
SZABÓ <i>et al.</i> , 2001	EOA	6	8	37
	β- TCP			29
YILDIRIM <i>et al.</i> , 2001	MOBM + EOA	7,1	23	18,9 ± 6,4
BOËCK-NETO <i>et al.</i> , 2002	EOA + DFDBA	10	5	50,46 ± 16,49
	EOA + HA			46,79 ± 8,56
	EOA			69,20 ± 9,38
MARTINS, 2003	EOA + PRP	6	8	35,26 ± 11,99
		8		48,32 ± 15,00
WILTFANG <i>et al.</i> , 2003	β-TCP	6	8	29
	β-TCP + PRP			38

LEGENDA: EOA - Enxerto Ósseo Autógeno, BV - Biovidro, MOBM - Matriz Óssea Bovina Mineralizada, β-TCP - Cimento de Fosfato de Cálcio.

Em relação aos tecidos não calcificados, foram encontradas diferenças significantes entre os períodos (6 e 8 meses), porém não entre os tratamentos. Na análise observou-se um maior percentual destes tecidos no G2 (enxerto ósseo autógeno + PRP, 6 meses), fato esse que desfavorece a colocação de implantes, uma vez que a área apresenta uma maior quantidade de tecido não calcificado que de tecido ósseo maduro. O fato de se observar uma maior porcentagem de tecido ósseo no G3, quando comparado ao G2, sugere que parte desse tecido não calcificado poderia ser composto por uma matriz colagenosa a qual posteriormente passou por um processo de mineralização.

Tanto o grupo PRP – 6 meses, como o grupo PRP – 8 meses apresentaram um tecido rico em fibras de colágeno, as quais estavam dispostas de maneira orientada, muitas vezes com a presença de fibroblastos alinhados às mesmas, já no grupo controle essas fibras não acompanhavam a orientação dos fibroblastos, conforme relatado por PÍSPICO, 2002.

Esse tecido fibroso era também mais denso nos grupos testes, e geralmente estava disposto entre as trabéculas ósseas englobando o material de enxerto, isolando o mesmo. Outros autores também relataram encontrar partículas de material circundadas por tecido fibroso, porém geralmente com uma reação inflamatória de moderada a intensa (BOËCK-NETO, 2001; BOËCK-NETO *et al.*, 2002; YILDIRIM *et al.*, 2001; WILTFANG *et al.*, 2003). Em nosso trabalho não encontramos



sinais de reação inflamatória em nenhum dos grupos, fato também relatado por KASSOLIS *et al.*, 2000; LUNDGREN *et al.*, 1996; MOY *et al.*, 1993; e YILDIRIM *et al.*, 2000.

A ausência de diferenças entre os grupos em relação a presença de material de enxerto, sugere que a degradação do mesmo e/ou substituição por tecido ósseo, é um processo lento e gradual, sendo que as partículas integradas às traves ósseas, permanecerão inertes ou podem passar por um processo de remodelação ao qual o seu "sítio" está sujeito.

Esses resultados contrariam os achados de outros trabalhos (ANITUA, 1999; KASSOLIS *et al.*, 2000; LYNCH *et al.*, 1999; MARX *et al.*, 1998; RODRIGUEZ *et al.*, 2003) que relatam que a associação do PRP aos enxertos ósseos acarreta uma maior atividade celular, controlada pelos FC presentes no mesmo, e tais fatores promoveriam uma aceleração na degradação do material de enxerto promovendo sua substituição pelo tecido ósseo.

Porém, dois recentes estudos apresentaram resultados semelhantes ao nosso, apesar de diferirem em relação ao material de enxerto empregado. Quando o sulfato de cálcio foi associado ao PRP, WILTFANG *et al.* (2003) relatam que não houve diferença entre os grupos em relação à quantidade de material remanescente, não havendo uma maior degradação do material de enxerto no grupo tratado com o PRP, fato observado também no nosso estudo.

Quando a matriz mineral de osso bovino foi utilizada como enxerto, FROUM *et al.* (2002) não observaram diferença no grau de maturação óssea quando o PRP foi empregado. A opção do BioOss® como material de enxerto foi justificada pelos autores pelo fato desse material não ter uma ação osteoindutiva.

Apesar da literatura indicar que o PRP associado a um material de enxerto parece ser efetivo tanto em pequenos defeitos periodontais como em correções de grandes defeitos ósseos, isso nem sempre deve ser aceito, pois se o material de enxerto associado ao PRP não tiver propriedades osteocondutoras, a eficiência do PRP é questionável. No presente estudo mesmo quando associado ao osso autógeno, o PRP não foi eficiente. Talvez o mesmo não produza o efeito estimulatório desejável, ou talvez sua eficácia seja limitada.

A regeneração óssea depende, em grande parte, da presença de células óssea vitais para ocorrer, e esse requisito é preenchido pelo enxerto de osso autógeno.

Ao contrário de ANITUA, 1999; KASSOLIS *et al.*, 2000; LYNCH *et al.*, 1999; MARX *et al.*, 1998; RODRIGUEZ *et al.*, 2003 não encontramos maior atividade osteoblástica nas biópsias. Uma possível explicação seria que as plaquetas quando ativadas começam a liberar seus FCs, e aos 10 minutos 70% já foi secretado, em aproximadamente 60 minutos todos os FCs presentes nos grânulos- $\alpha$  serão liberados. As plaquetas ainda terão uma meia vida útil de 5 dias, nos quais ela

continuará produzindo e liberando seus FCs, portanto o efeito seria maior nos períodos iniciais de reparação.

Uma vez que os FCs presentes no PRP, tais como PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, e o EGF apresentam participação ativa no reparo de tecidos moles e epiteliais, através da ativação de macrófagos, proliferação de fibroblastos, estimulando a síntese de fibronectina e do ácido hialurônico, e adicionalmente o PDGF estimula a colagenase promovendo uma remodelação da ferida, observou-se uma grande melhora dos tecidos moles incisados durante a cirurgia. No retorno do paciente para a remoção da sutura (7 dias após a cirurgia) o aspecto visual do tecido era equivalente a um período maior.

De acordo com KESKIOJA *et al.*, 1987, o TGF- $\beta$  e o PDGF melhoram o reparo tecidual, por meio da quimiotaxia para fibroblastos, e aumento da produção de componentes do tecido conjuntivo. O TGF- $\beta$  age promovendo a angiogênese no tecido traumatizado, enquanto que o PDGF melhora a cicatrização por meio de uma proliferação dos fibroblastos e a formação de tecido de granulação.

Já PETRUNGARO (2001) relata que a melhora na cicatrização dos tecidos moles ocorrem devido aos benefícios que o PRP traz, tais como um menor sangramento e portanto maior estabilidade do coágulo; e que, também por suas propriedades adesivas, o PRP promoveria uma revascularização mais rápida da área.

Porém, no nosso estudo a associação do PRP ao osso autógeno, não trouxe grandes benefícios, pois não influenciou o tempo de cicatrização e não propiciou maior formação óssea.

De acordo com URIST *et al.*, 1983, o osso é um tecido do corpo com comportamento singular, pois passa por uma remodelação contínua, e quando traumatizado apresenta uma completa regeneração. Os autores relataram que conhecer a função dos FCs nessas propriedades é de importância fundamental, porém ainda hoje são realizados estudos os quais buscam um maior esclarecimento da atuação dos FCs.

Alguns autores (KASSOLIS *et al.*, 2000; LIND, 1998; SCHIMITZ & HOLLINGER, 2001) através de estudos *in vitro* e *in vivo* relatam que os mecanismos de liberação dos FCs ainda não estão totalmente elucidados. São necessários mais estudos para avaliar qual o melhor carreador para cada tipo de FC, qual a melhor concentração para se obter o resultado desejado, em quais concentrações os FCs atuarão de maneira sinérgica, qual o melhor mecanismo para promover a liberação desses fatores de crescimento *in loco*.

## **7. Conclusão**

1. Baseado nos resultados obtidos, pôde-se concluir que em relação à quantidade e qualidade do tecido ósseo formado o uso do Plasma Rico em Plaquetas não apresentou benefícios adicionais à utilização do osso autógeno nos procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADELL, R. *et al.* A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int. J. Oral Surg.* v.10, n.6, p.387-416. Dec. 1981.
2. AGHALOO, T.L.; MOY, P.K.; FREYMILLER, E.G. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.60, n.10, p.1176-81. Oct. 2002.
3. ANITUA, E. Plasma Rich in Growth Factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* v.14, p.529-35, 1999.
4. ANITUA, E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract. Proced. Aesthet. Dent.* v.13, n.6, p.487-93. Aug. 2001.
5. APPEL, T.R. *et al.* Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin. Oral Implants Res.* v.13, n.5, p.522-8. Oct. 2002.
6. ASSOIAN, R.K. *et al* Transforming Growth Factor- $\beta$  in human platelets. *J. Biolog. Chemistry*, v.258, n.42, p.7155-60, Oct. 1983.
7. BARBUCCI R, LAMPONI S, ALOISI AM. The role of plasma proteins and stress in the assessment of hemocompatibility. *J Biomed Mater Res.*, v.46, n.2, p.186-92, Aug. 1999.

8. BLOCK, M.; KENT, J.N. Sinus augmentation for dental implants: the use of autogenous bone. *J Oral Maxillofac. Surg.* v.55, n.11, p.1281-1286. Nov. 1997.
9. BLOMQUIST, J.E. *et al.* Importance of bone graft quality for implant integration after maxillary sinus reconstruction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* v.85, n.3, p.268-274. Sep. 1998.
10. BÖECK-NETO, R.J. Avaliação do comportamento de quatro biomateriais associados a enxertos ósseos autógenos nos procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar. Estudo histomorfométrico em humanos. Araraquara, 2001. 128p Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
11. BÖECK-NETO, R.J. *et al.* Histomorphometrical analysis of bone formed after maxillary sinus floor augmentation by grafting with a combination of autogenous bone and demineralized freeze-dried bone allograft or hydroxyapatite. *J. Periodontol.* v.73, n.3, p.266-70. Mar. 2002.
12. BOYNE, P.J. *et al.* A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.17, n.1, p.11-25. Feb. 1997.
13. BOYNE, P.J.; JAMES, R.A. Grafting of bone maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* v.38, n.8, p.613-616. Aug. 1980.

14. CANALIS, E. *et al.* Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J. Cell. Physiol.* v.140, n.3, p.530-7. Sep. 1989.
15. CARLSON, E.N.; ROACH, B.R. Platelet-Rich Plasma Clinical applications in dentistry. *J Am Dent Assoc.* v.133, n.10, p.1383-6. Oct. 2002.
16. CARLSON, E.R. Bone grafting the jaws in the 21st century: The use of Platelet-Rich Plasma and Bone Morphogenetic Protein. *Alpha Omegan* v.93, n.3, p.26-30. Aug.-Sep. 2000.
17. CORDIOLI, G. *et al.* Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clin. Oral Implants Res.* v.12, n.3, p.270-8. Jun. 2001.
18. DUGRILLON, A. *et al.* Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* v.31, n.6, p.615-9. Dec. 2002.
19. EBY B.W. Platelet-rich plasma: harvesting with a single-spin centrifuge. *J. Oral Implantol.* v.28, n.6, p.297-301. 2002.
20. FIORELLINI J.P. WEBER, H.P. Clinical trials on the prognosis of dental implants. *Periodontol 2000.* v.4, p.8-108. Feb. 1994.
21. FROUM, S.J. *et al.* Sinus floor elevation using anorganic bovine bone matrix (OsteoGraf/N) with and without autogenous bone: a clinical, histologic, radiographic, and histomorphometric analysis — Part 2 of an



- ongoing prospective study. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.18, n.6, p.528-43. Dec. 1998.
22. FROUM, S.J. *et al.* Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.22, n.1, p.45-53. Feb. 2002.
23. FÜRST, G. *et al.* Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. *Clin Oral Implants Res.* v.14, n.4, p.500-508. Aug. 2003.
24. GOLANSKI, J. *et al.* Molecular insights into the anticoagulant-induced spontaneous activation of platelets in whole blood various anticoagulants are not equal. *Tromb. Res.* v.83, n.3, p.199-216. Aug. 1996.
25. GONSHOR, A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.22, n.6, p.547-57. Dec. 2002.
26. GREENHALGH, D.G. The role of growth factors in wound healing. *J. Trauma* v.41, n.1, p.159-67. Jul. 1996.
27. GROENEVELD, E.H. *et al.* Mineralization processes in demineralized bone matrix grafts in human maxillary sinus floor elevations. *J Biomed Mater Res.* v.48, n.4, p.393-402. 1999a.

28. GROENEVELD, E.H.J. *et al.* Histological observations of a bilateral maxillary sinus floor elevation 6 and 12 months after grafting with osteogenic protein-1 device. *J Clin Periodontol.* v.26, p.841-846. 1999b.
29. GROENEVELD, E.H.J. *et al.* Histomorphometrical analysis of bone formed in human maxillary sinus floor elevations grafted with OP-1 device, demineralized bone matrix or autogenous bone. Comparison with non-grafted sites in a series of case reports. *Clin Oral Implants Res* v.10, n.6, p.499-509. Dec. 1999c.
30. HAAS, R. *et al.* Porous hydroxyapatite for grafting the maxillary sinus: a comparative histomorphometric study in sheep. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.17, n.3, p.337-46. May-Jun. 2002.
31. HALLMAN, M. *et al.* A clinical histologic study of bovine hydroxyapatite in combination with autogenous bone and fibrin glue for maxillary sinus floor augmentation. Results after 6 to 8 months of healing. *Clin. Oral Implants Res.* v.12, n.2, p.135-43. Apr. 2001.
32. HANISCH, O. *et al.* Maxillary sinus augmentation prior to placement of endosseous implants: a histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* v.14, n.3, p.329-336. May-Jun. 1999.
33. HARKER L.A., FINCH C.A. Thrombokinetics in man. *J. Clin. Invest.* v.48, n.6, p.963-74. 1969.
34. HÜRZELER, M.B. *et al.* Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part III. Evaluation of

- autogenous bone combined with porous hydroxyapatite. *Clin. Oral Implants Res.* v.8, n.5, p.401-11. Oct. 1997a.
35. HÜRZELER, M.B. *et al.* Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. *Clin. Oral Implants Res.* v.8, n.6, p.476-86. Dec. 1997b.
36. JENSEN, O.T. *The sinus bone graft.* Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, 1999 xiii, 234 p.
37. KASSOLIS, J.D.; ROSEN, P.S.; REYNOLDS, M.A. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J. Periodontol.* v.71, n.10, p.1654-61. Oct. 2000.
38. KESKI-OJA, J. *et al.* Transforming Growth Factors and control of neoplastic cell growth. *J. Cell. Biochem.* v.33, n.2, p.95-107. Feb. 1987.
39. KRAUSER, J.T.; ROHRER, M.D.; WALLACE, S.S. Human histologic and histomorphometric analysis comparing OsteoGraf/N with PepGen P-15 in the maxillary sinus elevation procedure: a case report. *Implant Dent.* v.9, n.4, p.298-302. 2000.
40. LANDESBERG, R. *et al.* Risk of using Platelet Rich Plasma gel. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.56, n.9, p.116-7. Sep. 1998.

41. LANDESBURG, R.; ROY, M.; GLICKMAN, R.S. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.58, n.3, p.297-301. Mar. 2000.
42. LEDENT, E. *et al.* Growth Factor release during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang.* v.68, n.4, p.205-9, 1995.
43. LIND, M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation. *Acta Orthop Scand Suppl.* V.283, p.2-37. Oct. 1998.
44. LITTLE, J.W. *et al.* Bleeding Disorders. In *...*. *Dental management of the medically compromised patient*. St Louis: Mosby, 1997. Chap.23, p.466-94
45. LOZADA, J.L. *et al.* Platelet-Rich Plasma application in sinus graft surgery: Part I - Background and processing techniques. *J. Oral Implantol.* v.27, n.1, p.38-42, 2001.
46. LOZANO, M. *et al.* Platelet concentrates prepared and stored under currently optimal conditions: minor impact on platelet adhesive functions after storage. *Transfusión* v.39, n.9, p.951-9. Sep. 1999.
47. LUNDGREN, S. *et al.* Augmentation of the maxillary sinus floor with particulated mandible: a histologic and histomorphometric study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.11, n.6, p.760-6. Nov-Dec. 1996.
48. LYNCH, S.E. *et al.* Role of platelet-derived growth factor in wound healing: Synergistic effects with other growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v.84, n.21, p.7696-700. Nov. 1987.

49. LYNCH, S.E.; GENCO, R.J.; MARX, R.E. *Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, 1999. 297p.
50. MAIORANA, C. *et al.* Maxillary sinus augmentation with anorganic bovine bone (Bio-Oss) and autologous platelet-rich plasma: preliminary clinical and histologic evaluations. *Int J Periodontics Restorative Dent*. v.23, n.3, p.227-35. Jun. 2003.
51. MARX, R.E *et al.* Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod* v.85, n.6, p.638-46. Jun. 1998.
52. McALLISTER, B.S. *et al.* Residual lateral wall defects following sinus grafting with recombinant human osteogenic protein-1 or Bio-Oss in the chimpanzee. *Int. J. Periodont. Res. Dent*. v.18, p.227-239. 1999.
53. MISCH, C.E. *Implante odontológico contemporâneo*. São Paulo : Pancast, 1996.. xviii, 795p
54. MISCH C.M. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. v.12, n.6, p.767-76. Nov-Dec.1997.
55. MOHAN, S.; BAYLINK, D.J. Bone growth factors. *Clinical Orthop*. v.263, p.30-41. Feb. 1991.
56. MOY, P.K.; LUNDGREN, S.; HOLMES, R.E. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary

- sinus floor augmentation. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.51, n.8, p.857-862. Aug. 1993.
- 57.OKUBO, Y. *et al.* Expression of bone morphogenetic protein in the course of osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Implants Res.* v.13, n.1, p.80-5. Feb. 2002.
- 58.PETRUNGARO PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compend Contin Educ Dent.* v.22, n.9, p.729-46. Sep. 2001.
- 59.PFEILSCHIFTER, J. *et al.* Stimulation of bone matrix apposition *in vitro* by local growth factors: a comparison between Insulin-like Growth Factor I, Platelet-Derived Growth Factor, and Transforming Growth Factor  $\beta^*$ . *Endocrinology*, v.127, p.69-75, 1990.
- 60.PHILIPPART, P. *et al.* Human recombinant tissue factor, platelet-rich plasma, and tetracycline induce a high-quality human bone graft: a 5-year survey. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.18, n.3, p.411-6. May-Jun. 2003.
- 61.PIATTELLI, M. *et al.* Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* v.14, n.6, p.835-40. Nov-Dec. 1999.
- 62.PIERCE, G.F. *et al.* Role of Platelet-Derived Growth Factor in wound healing. *J. of Cell Biochemistry*, v.45, p.319-26, 1991.

63. PIGNATELLI, P. *et al.* Effects of storage on in vitro platelet responses: comparison of ACD and Na Citrate anticoagulated samples. *J. Clin. Lab. Anal.*, v.10, p.134-9, 1996.
64. PÍSPICO, R. Estudo histológico comparativo de áreas doadoras de enxerto gengival livre tratadas ou não com plasma rico em plaquetas. São Paulo, 2002. 67p Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de Santo Amaro.
65. QUIÑONES, C.R. *et al.* Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental osseointegrated implants in monkeys. Part II. Evaluation of hydroxyapatite-coated implant. *Clin. Oral Implants Res.* v.8, n.6, p.487-96. Dec. 1997.
66. REBULLA, P. *In vitro* and *in vivo* properties of various types of platelets. *Vox Sang.*, v.74, p.217-22, 1998.
67. ROBIONY, M. *et al.* Osteogenesis distraction and Platelet-Rich Plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.60, p.630-5, 2002.
68. RODRIGUEZ, A. *et al.* Maxillary sinus augmentation with deproteinated bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.61, n.2, p.157-63. Feb. 2003.

69. ROSENBERG, E.S. & TOROSIAN, J. Sinus grafting using platelet-rich plasma — initial case presentation. *Pract. Periodontics Aesthet. Dent.*, v.12, n.9, p.843-50, Nov-Dec. 2000.
70. ROSS, R. *et al.* The biology of Platelet Derived Growth Factor. *Cell*, v.46, p.155-69, 1986.
71. ROSS, R. Platelet-Derived Growth Factor. *Ann. Rev. Med.*, v.38, p.71-9, 1987.
72. SÁNCHEZ, A.R. *et al.* Is Platelet-Rich Plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.18, p.93-103, 2003.
73. SARTORI, S. *et al.* Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res.* v.14, n.3, p.369-72. Jun. 2003.
74. SCHMITZ, J.P., & HOLLINGER, J.O. The Biology of Platelet-Rich Plasma. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.59, p.1119-21. 2001.
75. SHANAMAN, R. *et al.* Localized ridge augmentation using GRB and Platelet-Rich Plasma: case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.21, p.345-55, 2001.
76. SLICHTER, S.J., HARKER, L.A. Preparation and storage of platelet concentrates. I- Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *British Journal of Haematology*, v.34, p.395-402, 1976.



77. SMILER, D.G. *et al.* Sinus lift grafts and endosseous implants. Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dent. Clin. North Am.* v.36, n.1, p.151-86. Jan. 1992.
78. SMILER, D.G. Comparison of anorganic bovine mineral with and without synthetic peptide in a sinus elevation: a case study. *Implant Dent.* v.10, n.2, p.139-42. 2001.
79. SMILER, D.G.; HOLMES, R.E. Sinus lift procedure using porous hydroxyapatite: a preliminary clinical report. *J. Oral Implantol.* v.13, n.2, p.239-53. 1987.
80. SONNLEITNER, D. *et al.* A simplified technique for producing Platelet-Rich Plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, v.15, p.879-82, 2000.
81. STENPORT, V.F. *et al.* Failure to induce supracrestal bone growth between and around partially inserted titanium implants using bone morphogenetic protein (BMP): an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* v.4, n.2, p.219-25. Apr. 2003.
82. SULLIVAN, S.M. *et al.* The use of fibrin adhesive in sinus lift procedures. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* v.84, n.6, p.616-9. Dec. 1997.
83. SZABÓ, G. *et al.* Autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations (2- and 3-dimensional computed

- tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations): preliminary results. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.16, n.5, p.681-92. Sep-Oct. 2001.
84. TADJOEDIN, E.S. *et al.* Histological observations on biopsies harvested following sinus floor elevation using a bioactive glass material of narrow size range. *Clin. Oral Implants Res.* v.11, n.4, p.334-44. Aug. 2000.
85. TARNOW, D.P. *et al.* Histologic and clinical comparison of bilateral sinus floor elevations with and without barrier membrane placement in 12 patients: Part 3 of an ongoing prospective study. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* v.20, n.2, p.117-25. Apr. 2000.
86. TATUM, H.Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent. Clin. North Am.* v.30, n.2, p.207-29. Apr. 1986.
87. TERHEYDEN, H. *et al.* Sinus floor augmentation with simultaneous placement of dental implants using a combination of deproteinized bone xenografts and recombinant human osteogenic protein-1. A histometric study in miniature pigs. *Clin. Oral Implants Res.* v.10, n.6, p.510-21. Dec. 1999.
88. THOMPSON, C.B. *et al.* The role of anticoagulation in the measurement of platelet volumes. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.80, p.327-32, 1983.
89. TISCHLER, M. Platelet rich plasma. The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts. *N Y State Dent. J.* v.68, n.3, p.22-4. Mar. 2002.

90. ÜRIST, M.R. Bone: formation by autoinduction. *Science*, v.159, p.893-9, 1965.
91. ÜRIST, M.R. *et al.* Bone cell differentiation and Growth Factors. *Science*, v.220, p.680-5, 1983.
92. VALENTINI, P.; ABENSUR, D. Maxillary sinus floor elevation for implant placement with demineralized freeze-dried bone and bovine bone (Bio-Oss): a clinical study of 20 patients. *Int. J. Periodontics Restorative Dent* v.17, n.3, p.232-41. Jun. 1997.
93. WALLACE, S.S.; FROUM, S.J.; TARNOW, D.P. Histologic evaluation of sinus elevation procedure: a clinical report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent*. v.16, n.1, p.47-51. Feb. 1996.
94. WARSHAW, A.L. *et al.* Protein synthesis by human platelets. *J. Biol. Chem.*, v.242, n.9, p.2094-7, 1967.
95. WEHMEIER, A. SCHNEIDER, W. Platelet volume parameters as a diagnostic tool: the influence of anticoagulation and storage conditions on platelet impedance volume. *Klin. Wochenschr.*, v.67, p.980-4, 1989.
96. WEIBRICH, G. *et al.* Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: Curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. v.17, n.2, p.184-90. Mar-Apr. 2002a.

97. WEIBRICH, G. *et al.* Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J. Craniomaxillofac. Surg.* v.30, n.2, p.97-102. Apr. 2002b.
98. WEIBRICH, G. *et al.* Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin. Oral Implants Res.* v.14, n.3, p.357-62. Jun. 2003.
99. WHITMAN, D.H.; BERRY, R.L.; GREEN, D.M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.* v.55, n.11, p.1294-9. Nov. 1997.
100. WILTFANG, J. *et al.* Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin. Oral Implants Res.* v.14, n.2, p.213-8. Apr. 2003.
101. WITTE, L.D. *et al.* Studies of the release from human platelets of the growth factor for cultured human arterial muscle cells. *Circ. Res.*, v.42, n.3, p.402-9, 1978.
102. WOOD, R.M.; MOORE, D.L. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.3, n.3, p.209-14. Fall. 1988.
103. YILDIRIM, M. *et al.* Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A

- histologic and histomorphometric study in humans. *Clin. Oral Implants Res.* v.11, n.3, p.217-29. Jun. 2000.
104. YILDIRIM, M. *et al.* Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* v.16, n.1, p.23-33. Jan-Feb. 2001.
105. ZITZMANN, N.U.; SCHARER, P. Sinus elevation procedures in the resorbed posterior maxilla. Comparison of the crestal and lateral approaches. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* v.85, n.1, p.8-17. Jan. 1998.

Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara UNESP (CEP-FO/CAr).

Anexo 2 - Parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP-MS)

## Anexo 3 – Tabelas dos resultados

Tabela 1- Porcentagem de tecido ósseo, tecido não calcificado e de material de enxerto presentes no grupo 1.

Grupo 1	Osso	Tecido não calcificado	Material de enxerto
1	63.67	31.9	4.42
2	59.47	29.61	10.91
3	73.47	22.52	4.00
4	80.20	13.9	5.89
Média ± DP	69.20 ± 9.38	24.48 ± 8.10	6.30 ± 3.17
Mediana	68.57	26.06	5.15

Tabela 2- Porcentagem de tecido ósseo, tecido não calcificado e de material de enxerto presentes no grupo 2.

Grupo 2	Osso	Tecido não calcificado	Material de enxerto
1	54.00	42.20	3.8
2	49.62	45.41	4.96
3	33.42	45.12	21.48
4	24.43	69.31	6.26
5	18.01	61.96	20.03
6	30.16	63.78	6.06
7	37.47	52.99	9.54
8	35.00	53.57	11.43
Média ± DP	35.26 ± 11.99	54.29 ± 9.89	10.44 ± 6.82
Mediana	34.21	53.28	7.90



Tabela 3- Porcentagem de tecido ósseo, tecido não calcificado e de material de enxerto presentes no grupo 3.

Grupo 3	Osso	Tecido não calcificado	Material de enxerto
1	39.14	56.39	4.46
2	42.37	38.31	19.32
3	38.18	39.27	22.55
4	32.01	59.44	8.54
5	70.66	17.91	11.43
6	66.26	24.23	9.51
7	37.47	47.71	14.82
8	60.51	23.89	15.60
Média ± DP	48.32 ± 15.00	38.39 ± 15.51	13.27 ± 5.95
Mediana	40.75	38.79	13.12

**MARTINS, M.C** Utilização do Plasma Rico em Plaquetas nos procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar. Estudo histomorfométrico em humanos. Araraquara, 2003. 124p. Tese (Doutorado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

## **RESUMO**

O propósito do presente estudo foi o de avaliar histomorfometricamente a neoformação óssea da região posterior de maxila após os procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar e enxerto ósseo autógeno *inlay* associado ou não ao Plasma Rico em Plaquetas, em dois períodos de tempo: 6 e 8 meses. Foram selecionados 20 pacientes, com idade média de 42 anos, em boas condições de saúde geral. Os pacientes foram divididos, aleatoriamente em três grupos sendo: Grupo 1: enxerto ósseo autógeno e biópsia da área 8 meses após a cirurgia, 4 pacientes (grupo controle). Grupo 2: enxerto ósseo autógeno associado ao plasma rico em plaquetas e biópsia da área 6 meses após a cirurgia, 8 pacientes. Grupo 3: enxerto ósseo autógeno associado ao plasma rico em plaquetas e biópsia da área 8 meses após a cirurgia, 8 pacientes. Encontrou-se diferenças significantes nos período (G2 vs G3) em relação ao tecido ósseo (**p=0,05**) e em relação aos tecidos não calcificados (**p=0,045**), e nos tratamentos (G1 vs G3) em relação a presença de material de enxerto (**p=0,041**). Baseado nos resultados

obtidos, pôde-se concluir que em relação à quantidade e qualidade do tecido ósseo formado o uso do Plasma Rico em Plaquetas não apresentou benefícios adicionais à utilização do osso autógeno nos procedimentos cirúrgicos de elevação de seio maxilar.

Palavras chave: Plasma Rico em Plaquetas, Seio Maxilar, Enxerto Ósseo Autógeno, Fator de Crescimento.

MARTINS, M.C. Use of platelet-rich plasma (prp) in maxillary sinus floor augmentation procedures. Histomorfometric study in humans. Araraquara, 2003. 124p. Tese (Doutorado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

#### **ABSTRACT:**

The aim of the present study was to evaluate, histologic and histomorphometrically, bone formation after maxillary sinus floor augmentation by grafting with an association of PRP and autogenous bone from the symphyseal area. Out of 20 patients were used in this study, and they were distributed in three groups, G1: control – autogenous bone graft, 8 months healing period, G2 - autogenous bone graft and PRP, 6 months healing period, and G3: autogenous bone graft and PRP, 8 months healing period. Before surgery the blood was collected and properly stored, until PRP preparation. Subantral augmentation was performed and the graft was collected. The blood was centrifuged, the concentrate platelet-rich plasma layer was removed and associated to the autogenous graft. The mixture assumed a gel-like consistency, which was used to fill the sinus. After the healing period, implants were placed and core biopsies were taken from the area. Routine histological processing and staining were performed. There were no significant differences between the treatments (G1 vs G3). In regard to the healing period (G2 vs G3) we found significant differences due to bone ( $p=0,05$ ) and non-calcified tissues ( $p=0,045$ ), in regard to the type of treatment (G1 vs G3) we found significant differences due to the presence of grafted material ( $p=0,041$ ). Within the

limits of this study the association of PRP and autogenous bone did not bring any additional benefits in regard to bone formation.

Key words: platelet-rich plasma, sinus floor augmentation, bone allograft, growth factor.