



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Daniela Leal Zandim-Barcelos

**Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos ao osso bovino
desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: análise
clínica, histológica e radiográfica**

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Daniela Leal Zandim-Barcelos

**Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos ao osso bovino
desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: análise
clínica, histológica e radiográfica**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Araraquara, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Livre
Docente em Periodontia no Departamento de
Diagnóstico e Cirurgia

Araraquara

2022

Zandim-Barcelos, Daniela Leal

Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos ao osso bovino desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: análise clínica, histológica e radiográfica / Daniela Leal Zandin Barcelos -- Araraquara: [s.n.], 2022
84 f.; 30 cm.

Tese (Livre-Docência em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

1. Seio Maxilar 2. Implantes dentários 2. Fibrina rica em plaquetas 4. Transplante ósseo 5. Regeneração óssea
I. Título

Daniela Leal Zandim-Barcelos

Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos ao osso bovino desproteinizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: análise clínica, histológica e radiográfica

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Livre Docente em Periodontia

Profa. Dra. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Junior

Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

Araraquara, 06 de maio de 2022.

DADOS CURRICULARES

Daniela Leal Zandim-Barcelos

Nascimento	06.11.1979 – Ipatinga/MG, Brasil
Filiação	Ricardo Zandim Fernanda Leal Zandim
1997 - 2001	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Geras- UFMG
2002 - 2003	Curso de Especialização em Periodontia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2003 - 2005	Curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Periodontia, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2006 - 2009	Curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Periodontia, nível de Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2009 - 2010	Pós-Doutorado na Charité - Universitätsmedizin Berlin

Dedicatória

Dedico este trabalho,

Ao meu marido Paulo, por todo amor, incentivo e confiança no meu potencial, pelas palavras de estímulo e pela vibração a cada etapa vencida. Sou grata hoje e sempre, e dedico este trabalho especialmente a você por estar ao meu lado e por abrir mão da sua própria carreira profissional para que eu pudesse realizar o meu sonho.

Ao meu filho Vitor, pelo seu amor puro e pela alegria que me proporciona a cada dia. Espero que um dia você entenda a razão da minha ausência em alguns momentos da sua vida.

Às minhas filhas, Maria Fernanda e Giovana, que logo estarão conosco, pelo pouco tempo que tive para dedicar a vocês durante a gestação.

Aos meus pais, Ricardo e Fernanda, por todo amor, incentivo e apoio incondicional.

Agradecimento Especial

A Deus, sempre presente, por me conceder forças para vencer os obstáculos da vida e por sempre colocar no meu caminho pessoas especiais.

À Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, pela amizade e confiança, pelos conselhos e toda ajuda, por ter me recebido aqui em Araraquara como uma filha. A sua sensibilidade para identificar e ao mesmo tempo se preocupar com o lado pessoal e emocional das coisas a tornam uma pessoa muito especial.

Ao Elcio Marcantonio Junior, pela confiança, pelos conselhos, por todas as oportunidades que me oferece e pela obtenção de todo material necessário para realização deste trabalho.

Ao meu eterno orientador **José Eduardo Cezar Sampaio**, pela amizade, confiança, pelos ensinamentos e conselhos, por ter acreditado no meu potencial e ter me escolhido como sua orientada.

Dri, Elcinho e Zé, tenho uma admiração muito grande por vocês! Serei eternamente grata a vocês por tudo que fizeram e fazem por mim.

Ao Carlos Rossa Júnior e Joni Augusto Cirelli, Carlinhos e Joni, pelo carinho com que me receberam, pelas experiências compartilhadas e pelo excelente convívio diário.

Agradecimentos

Aos meus orientados, pela companhia quase diária durante essa caminhada, pela confiança, carinho e por todas as experiências compartilhadas.

Aos meus orientados **Elton Carlos Pichotano**, pela dedicação total a este trabalho, e **Carolina Mendonça de Almeida Malzoni**, pela contribuição fundamental na conclusão deste trabalho.

Aos colaboradores deste trabalho, **Roberta Okamoto, Rupert S. Austin e Ricardo Violante**, pela parceria e pela valiosa contribuição.

Ao **Prof. Benedicto Egbert Toledo**, por quem tenho muita admiração, pelo carinho, apoio e estímulo recebido.

Aos queridos colegas docentes da disciplina de Periodontia, **Carlos Rossa Júnior, Elcio Marcantonio Junior, Joni Augusto Cirelli, José Eduardo Cezar Sampaio, Silvana Regina Perez Orrico e Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio**, por todos esses anos de convivência harmoniosa, por todo conhecimento e experiências compartilhadas e pela contribuição em minha formação.

A **todos os colegas docentes** do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, pela convivência e apoio.

Ao **Vice Chefe do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Prof. Dr. Eduardo Hochulli**, por todo apoio, estímulo e pela parceria estabelecida.

A todos os **funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia**, pela disponibilidade, suporte e pela convivência harmoniosa de todos os dias.

Ao funcionário **Antônio Medeiros Filho** pela valiosa contribuição na formatação desta tese.

Às minhas amigas **Alessandra Nara de Souza Rastelli, Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga, Janaína Habib Jorge e Morgana Rodrigues Guimarães Stabili**, pelas alegrias e tristezas compartilhadas, e pelo apoio recebido. Apesar de não estarmos sempre juntas, sei que posso contar sempre com vocês.

A todos os **colegas docentes** da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

À **Sra. Diretora Profa. Dra. Elaine Maria Sgaviloli Massucato e Sr. Vice-Diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos**, pela dedicação e empenho em suas atividades nesta faculdade.

À **Diretora da Divisão Técnica Acadêmica, Sra. Helena Maria Gagliardi Ortiz**, muito obrigada pela orientação e pelos serviços prestados durante todo o processo.

A todos os **funcionários da Seção Técnica Acadêmica, Seção de Graduação e Seção de Pós-Graduação**, pela atenção e pelos serviços prestados.

A todos os **funcionários da Biblioteca e da Seção de Pós-Graduação**, por
todos os serviços prestados.

Aos **participantes desta pesquisa**, pela valiosa colaboração e participação.

À **Geistlich e Neodent** pela doação dos biomateriais e dos implantes
utilizados neste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Zandim-Barcelos DL. Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos ao osso bovino desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: análise clínica, histológica e radiográfica [Tese de Livre-Docência]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

O objetivo deste estudo clínico randomizado foi avaliar a influência da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) na reparação e neoformação óssea quando associada ao osso bovino desproteínizado (OBD) em procedimentos cirúrgicos de elevação do seio maxilar. Um total de 24 pacientes, apresentando 36 seios maxilares com indicação de enxertia óssea previamente à instalação de implantes na região posterior da maxila, foram incluídos no estudo. Os seios foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com tratamento a ser realizado: OBD (grupo controle) - apenas OBD foi utilizado e o período de reparação para instalação dos implantes foi de 8 meses; LPRF/OBD 4 - OBD + L-PRF e o período de reparação foi de 4 meses; LPRF/OBD 8 - OBD + L-PRF e o período de reparação foi de 8 meses. Todos os pacientes realizaram exame tomográfico uma semana após a elevação do seio e previamente ao procedimento de instalação dos implantes para avaliação das alterações dimensionais do volume do enxerto. Durante a instalação dos implantes, foram obtidas biópsias da área enxertada para análise histomorfométrica e imunoistoquímica. A estabilidade primária dos implantes foi determinada por análise de frequência de ressonância. Todos os tratamentos realizados foram eficazes para elevação do seio maxilar em dois estágios cirúrgicos. Nenhuma intercorrência ou complicação foi observada. A porcentagem de osso neoformado foi significativamente maior nos grupos em que a L-PRF foi utilizada (LPRF/OBD 4 - $44,58 \pm 13,09\%$; LPRF/OBD 8 - $46,56 \pm 12,28\%$) do que no grupo controle ($32,34 \pm 9,49\%$). O grupo controle ($12,58 \pm 9,19\%$) apresentou maior porcentagem de enxerto residual em relação aos demais grupos (LPRF/OBD 4 - $3,59 \pm 4,22\%$; LPRF/OBD 8 - $7,01 \pm 8,49\%$), sendo a diferença significativa apenas entre os grupos OBD e LPRF/OBD 4. Não foi observada diferença significativa entre os grupos para a porcentagem de tecido mole. A marcação de VEGF foi mais intensa nos grupos em que a L-PRF foi utilizada do que no grupo controle. O grupo LPRF/OBD 4 apresentou maior imunomarcação para RUNX-2, OPN e OCN em comparação aos demais grupos. Em todos os grupos houve uma redução significativa do volume do enxerto. A taxa de reabsorção volumétrica do enxerto foi semelhante entre os grupos. Apesar da estabilidade primária dos implantes ter sido significativamente menor no grupo LPRF/OBD 4 do que nos demais grupos, os valores de ISQ foram considerados adequados e não interferiram na osseointegração dos implantes. Baseado nos resultados deste estudo, pode-se concluir que a adição de L-PRF ao OBD nos procedimentos de elevação do seio maxilar parece ser uma alternativa viável e segura para aumentar a quantidade de osso neoformado assim como para acelerar a maturação do enxerto possibilitando a instalação precoce de implantes.

Palavras-chave: Seio maxilar. Implantes dentários. Fibrina rica em plaquetas. Transplante ósseo. Regeneração Óssea.

Zandim-Barcelos DL. Association of platelet and leukocyte-rich fibrin with deproteinized bovine bone in maxillary sinus augmentation procedures: clinical, histological and radiographic analysis [Tese de Livre-Docência]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

The objective of this randomized clinical trial was to evaluate the influence of platelet and leukocyte-rich fibrin (L-PRF) on bone healing and formation when associated with deproteinized bovine bone (OBD) in maxillary sinus augmentation procedures. A total of 24 patients, with 36 maxillary sinuses in need of bone augmentation prior to implant placement in the maxillary posterior region, were enrolled to the study. The sinuses were randomly allocated to 3 groups according to the treatment protocol: OBD (control group) - only OBD was used and the healing period for implant placement was 8 months; LPRF/OBD 4 - OBD + L-PRF and the healing period was 4 months; LPRF / OBD 8 - OBD + L-PRF and the healing period was 8 months. All patients underwent a tomographic exam one week after the sinus augmentation and prior to the implant placement to assess dimensional changes in graft volume. During implant placement, bone graft biopsies were harvested for histomorphometric and immunohistochemical analysis. Implant primary stability was determined by resonance frequency analysis. All treatments were effective for two-stage maxillary sinus augmentation. The sites healed uneventfully with no complications. Statistically higher percentage of newly formed bone was observed in the groups treated with L-PRF (LPRF/OBD 4 - $44.58 \pm 13.09\%$; LPRF/OBD 8 - $46.56 \pm 12.28\%$) compared to the control group ($32.34 \pm 9.49\%$). The control group showed higher percentage of residual graft ($12.58 \pm 9.19\%$) than the other groups (LPRF/OBD 4 - $3.59 \pm 4.22\%$; LPRF/OBD 8 - $7.01 \pm 8.49\%$), but the difference was significant only between the groups OBD and LPRF/OBD 4. No differences were found amongst the groups for the percentage of soft tissue. VEGF immunostaining was more intense in the groups treated with L-PRF than in the control group. The LPRF/OBD 4 group showed greater immunostaining for RUNX-2, OPN and OCN compared to the other groups. All groups presented significant dimensional changes after the healing period. The percentage of graft volume reduction observed in each group was similar. The primary implant stability was significantly lower in the LPRF/OBD 4 group than in the other groups, but the ISQ values were considered adequate and did not hamper the osseointegration of dental implants. Based on the results of this study, it can be concluded that the addition of L-PRF to the DBBM in maxillary sinus elevation procedures seems to be a viable and safe alternative to increase the amount of newly formed bone as well as to accelerate graft maturation enabling early implant placement.

Keywords: Maxillary Sinus. Dental Implants. Platelet-Rich Fibrin. Bone Transplantation. Bone Regeneration.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	PROPOSIÇÃO.....	16
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1	Utilização da L-PRF em procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar	22
4	MATERIAL E MÉTODO	30
4.1	População do estudo.....	30
4.2	Técnica de obtenção L-PRF	31
4.3	Procedimento cirúrgico de elevação do assoalho do seio maxilar.....	33
4.4	Instalação dos implantes e obtenção da biópsia.....	36
4.5	Avaliação da estabilidade primária dos implantes	38
4.6	Processamento da biópsia e análise histomorfométrica	39
4.7	Análise imunoistoquímica.....	39
4.8	Análise radiográfica.....	41
4.9	Análise estatística.....	43
5	RESULTADO.....	44
5.1	Amostra	44
5.2	Análise histomorfométrica.....	46
5.3	Análise imunoistoquímica.....	52
5.4	Análise radiográfica.....	56
5.5	Estabilidade primária.....	60
6	DISCUSSÃO.....	62
7	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS.....	70
	ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO ESTUDO NO CEP – FOAR ...	80
	ANEXO B - CERTIFICADO DE REGISTRO DO ESTUDO NO REBEC.....	81
	ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	82

1 INTRODUÇÃO

O uso de implantes dentários é uma modalidade de tratamento bem aceita e altamente previsível para restaurar a dentição e restabelecer a função mastigatória de pacientes parcial ou totalmente edêntulos. No entanto, as alterações dimensionais que ocorrem no processo alveolar após a perda de um elemento dentário são fatores clinicamente relevantes para um plano de tratamento abrangente e adequado¹. A instalação de implantes na posição tridimensional ideal para a reabilitação protética depende de um remanescente ósseo adequado. Como esta condição nem sempre é encontrada, procedimentos regenerativos têm sido frequentemente utilizados previamente ou simultaneamente à instalação dos implantes.

Nesse sentido, a região posterior da maxila representa uma área única e desafiadora para a instalação de implantes dentários devido a pobre qualidade do tecido ósseo e volume ósseo geralmente insuficiente em virtude da reabsorção alveolar e pneumatização do seio maxilar²⁻⁴. Diversas opções de tratamento têm sido propostas para a reabilitação da região posterior de maxilas atróficas, incluindo a instalação de implantes curtos, a técnica de implante batido, o enxerto ósseo em bloco sobre a cortical óssea alveolar, a osteotomia Le Fort 1 com interposição de enxerto ósseo e a elevação do assoalho do seio maxilar⁵⁻¹². A elevação do seio maxilar é considerada um dos procedimentos mais previsíveis para aumento ósseo nesta região. Estudos demonstram que a taxa de sobrevivência de implantes instalados imediatamente ou em dois estágios cirúrgicos após a elevação do seio maxilar é superior a 95% e a taxa de complicações é mínima¹³⁻¹⁷. Dentre as técnicas propostas para realização deste procedimento cirúrgico, a técnica desenvolvida por Boyne & James¹² e Tatum¹⁸, que preconiza a utilização de um acesso lateral para realização da osteotomia e criação de uma janela, tem sido o método mais seguro e comumente utilizado.

Diferentes biomateriais têm sido utilizados para elevação do assoalho do seio maxilar, incluindo osso autógeno, aloenxertos, xenoenxertos e os materiais aloplásticos como a hidroxiapatita, fosfato beta-tricálcio, polímeros e vidros bioativos¹⁹⁻²¹. Devido ao potencial osteogênico da membrana de Schneider²²⁻²⁴ e do conceito de regeneração óssea guiada, que considera a cavidade do seio maxilar um defeito favorável para formação óssea, alguns autores afirmam que a técnica de

levantamento do seio maxilar pode ser realizada até mesmo sem a utilização de enxertos ósseos²⁴⁻²⁶. No entanto, alguns estudos afirmam que quando nenhum biomaterial é utilizado neste procedimento cirúrgico, o ganho ósseo é limitado e o ápice do implante fica envolto por um tecido conjuntivo, não osseointegrado²⁷⁻²⁹. Por esta razão, quando uma grande formação óssea é desejada, a cavidade do seio maxilar deve ser tradicionalmente preenchida com um biomaterial e uma membrana de colágeno deve ser utilizada para recobrimento da janela da osteotomia realizada para acesso ao seio maxilar^{30,31}. Apesar da técnica de elevação do seio maxilar estar bem documentada na literatura científica, ainda não há um consenso em relação ao biomaterial ideal a ser utilizado para o preenchimento da cavidade sinusal.

O osso autógeno foi originalmente usado nos procedimentos de levantamento do seio maxilar devido ao seu potencial osteogênico, osteoindutor e osteocondutor^{12,32-34}. No entanto, considerando a morbidade associada à obtenção do tecido ósseo na área doadora, a quantidade limitada de tecido que pode ser obtida e a reabsorção excessiva do osso autógeno na área receptora após um longo período de reparo^{19,35-37}, outros biomateriais têm sido utilizados e investigados.

O osso bovino desproteinizado (OBD) é um enxerto biocompatível e osteocondutor, que fornece um arcabouço ideal para nova formação óssea. É um dos biomateriais mais utilizados nos procedimentos de elevação do seio maxilar^{3,6,38}. Além de permitir revascularização³⁹, os espaços granulares do OBD favorecem a agregação celular e a deposição de novo osso ao redor do biomaterial^{40,41}. No entanto, a falta de propriedades osteoindutoras e a taxa de reabsorção bastante lenta^{19,42,43} são consideradas desvantagens do OBD. Para superar essas limitações, fatores de crescimento têm sido adicionados a este biomaterial com o intuito de acelerar o tempo de reparo e aumentar a quantidade de osso neoformado^{44,45}.

Os fatores de crescimento são proteínas bioativas que controlam o processo de reparação tecidual. O seu mecanismo de ação se dá pela ligação destas proteínas à receptores alvo extracelulares. Esta ligação ativa as vias de transdução do sinal e estimula a célula a desencadear ações como quimiotaxia, proliferação celular, angiogênese, além da síntese e degradação de proteínas da matriz extracelular⁴⁷⁻⁵⁰. A atuação controlada e temporária das citocinas e fatores de crescimento são cruciais após intervenções cirúrgicas e no tratamento de distúrbios musculoesqueléticos⁴⁷⁻⁵⁰.

É bem conhecido o papel das plaquetas na hemostasia e coagulação. No entanto, além de atuar no processo de hemostasia, as plaquetas liberam uma grande quantidade de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), citocinas e outras moléculas que aumentam a angiogênese e apresentam propriedades antibacterianas, regenerativas, pró e anti-inflamatórias, atuando também no estímulo dos mecanismos de defesa contra infecções⁵¹⁻⁵⁴. Assim, nos anos 90, iniciou-se a utilização de concentrados plaquetários como o plasma rico em plaquetas (PRP) na odontologia⁵⁵. Desde então, diferentes protocolos para a preparação do PRP foram estabelecidos. No entanto, a utilização de anticoagulantes para induzir a polimerização da fibrina influencia consideravelmente as características mecânicas e biológicas da matriz de fibrina^{50,56,57}. Como o processo de coagulação não ocorre por ativação da cascata de coagulação e sim pela adição de anticoagulantes, não há formação de ligações cruzadas na estrutura do PRP, o que o torna um biomaterial mais frágil e friável. Além disso, não há incorporação de muitas citocinas à estrutura deste concentrado plaquetário, sendo as mesmas liberadas rapidamente no sítio cirúrgico^{56,57}. O PRP tem sido utilizado em associação com diversos materiais de enxerto em procedimentos de regeneração óssea desde a data da sua introdução. No entanto, os resultados são bastante controversos e ainda não é possível tirar conclusões definitivas sobre o efeito do PRP na regeneração óssea⁵⁸.

Em 2001, uma nova família de concentrados plaquetários foi desenvolvida na França, chamada de fibrina rica em plaquetas (PRF) ou fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF), que consiste em uma matriz de fibrina que contém plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas⁵⁹⁻⁶¹. Como a L-PRF é obtida pela centrifugação do sangue periférico do paciente sem a adição de anticoagulantes, esta segunda geração de concentrado plaquetário é a única considerada totalmente autógena^{56,59}. Após a centrifugação, o coágulo de PRF forma uma forte matriz de fibrina com uma arquitetura tridimensional na qual as plaquetas e os leucócitos do sangue ficam concentrados e aprisionados. Quando comprimido, o coágulo forma uma forte e resistente membrana de L-PRF^{56,61,62}.

A eficiência da L-PRF reside na liberação localizada e contínua de moléculas bioativas, incluindo fatores de crescimento, citocinas, fibrinogênio, fibronectina, trombospondina, proteínas adesivas e fator de coagulação, a partir dos

grânulos plaquetários⁶³⁻⁶⁵. Além disso, a interação celular entre as plaquetas ativadas e os leucócitos parece aumentar substancialmente a degranulação de citocinas e quimiocinas⁶⁶. Diferentemente do PRP, a L-PRF não se dissolve rapidamente após sua aplicação. A matriz de fibrina é lentamente remodelada de forma semelhante ao coágulo sanguíneo natural^{56,61,62}. A liberação de proteínas ocorre por pelo menos 7 dias, mostrando uma diminuição gradual durante os próximos 28 dias^{57,67-69}. Outras vantagens da L-PRF seriam a facilidade de preparação/aplicação e custo mínimo em comparação ao PRP^{56,61,62}.

A L-PRF tem sido utilizada sozinha ou associada aos materiais de enxerto de diferentes características com a finalidade de alcançar melhores resultados nos procedimentos de regeneração óssea e reparação tecidual. A L-PRF tem sido utilizada na elevação do seio maxilar, na preservação da crista alveolar, na osseointegração de implantes, no tratamento de defeitos de furca e defeitos infra-ósseos, na cirurgia plástica periodontal, no tratamento de osteonecrose, e no tratamento da periodontite e peri-implantite⁷⁰⁻⁷³.

Em uma recente revisão sistemática sobre o potencial efeito da adição da L-PRF aos enxertos ou substitutos ósseos⁷², nove de doze estudos clínicos randomizados incluídos mostraram resultados superiores nos grupos em que a L-PRF foi utilizada para as variáveis dimensão da crista, regeneração óssea, processo de osseointegração e cicatrização de tecidos moles. Especificamente em relação à utilização da L-PRF nos procedimentos de levantamento do seio maxilar, os resultados foram inconclusivos. Portanto, o efeito da L-PRF na regeneração óssea durante a elevação do assoalho do seio maxilar ainda permanece questionável.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial efeito da L-PRF na regeneração óssea quando associada ao OBD nos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar. Um conceito terapêutico para a utilização da L-PRF baseia-se no pressuposto de que se uma concentração fisiológica de plaquetas ativadas é favorável, uma concentração supra-fisiológica seria ainda melhor para suportar os estágios iniciais de reparação tecidual e regeneração óssea⁵⁸. A hipótese do presente estudo é que a adição de L-PRF ao OBD pode reduzir o período de maturação do enxerto e complementar o processo osteoindutor de formação de novo osso.

2 PROPOSIÇÃO

O propósito geral desse estudo foi avaliar a influência da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) no processo de reparação e neoformação óssea quando associada ao osso bovino desproteinizado (OBD) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar.

Objetivos específicos:

- I. Avaliar o potencial da L-PRF em aumentar a quantidade de osso neoformado quando associada ao OBD;
- II. Avaliar o potencial da L-PRF em acelerar a neoformação e maturação óssea quando associada ao OBD, possibilitando instalação precoce de implantes após procedimento cirúrgico de elevação do seio maxilar;
- III. Avaliar a influência da L-PRF na expressão de proteínas envolvidas em atividades de diferenciação celular e mineralização da matriz extracelular do tecido ósseo;
- IV. Avaliar a influência da L-PRF nas alterações dimensionais do enxerto quando associado ao OBD em procedimento de elevação seio maxilar;
- V. Investigar se a associação da L-PRF ao OBD em cirurgias de levantamento do seio maxilar pode influenciar na estabilidade primária dos implantes.

3 REVISÃO DA LITERATURA

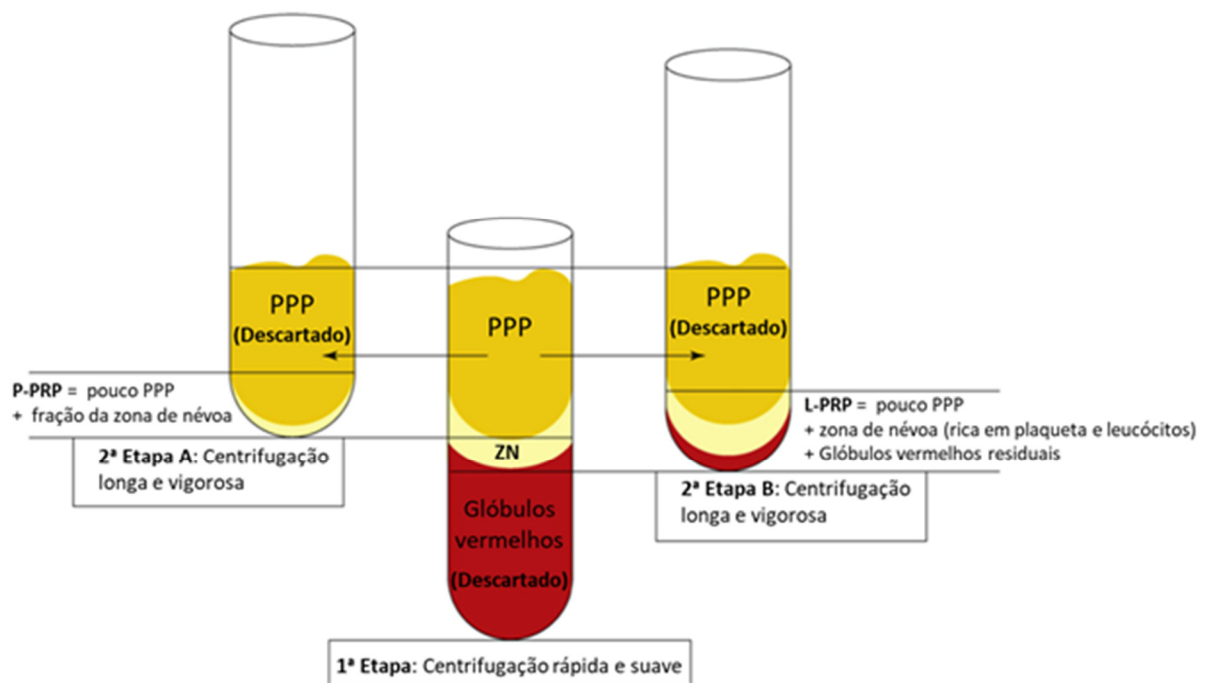
Os concentrados plaquetários foram originalmente utilizados na medicina para prevenir ou tratar hemorragias associadas a severa trombopenia, que pode ser causada pela aplasia de medula, leucemia aguda ou pela perda significativa de sangue. O concentrado plaquetário padrão para transfusão foi denominado plasma rico em plaquetas e possuía $0,5 \times 10^{11}$ plaquetas por unidade⁵⁶.

Na odontologia, o interesse pela utilização de concentrados plaquetários surgiu a partir dos estudos de Marx^{55,73}. Desde então, diferentes técnicas e protocolos foram estabelecidos. A maioria dos produtos recebeu o nome de plasma rico em plaquetas (PRP), o mesmo nome do concentrado plaquetário padrão para transfusão, e constituíram a primeira geração de concentrados plaquetários⁵⁶.

Para obtenção do PRP, o sangue é coletado com anticoagulante e submetido a um processo de dupla centrifugação. Uma primeira centrifugação suave e curta é realizada para separar a fração plasmática dos glóbulos vermelhos. O sangue fica dividido em três fases ou camadas: os glóbulos vermelhos no fundo do tubo, o plasma pobre em plaquetas (PPP) é o sobrenadante e entre eles fica uma camada intermediária onde as plaquetas e leucócitos estão concentrados chamada de zona de névoa (ZN) ou “buffy coat”. As próximas etapas variam dependendo do produto a ser obtido: plasma rico em plaquetas puro (P-PRP) ou L-PRP (plasma rico em plaquetas e leucócitos). Para obtenção P-PRP, o PPP e a parte superficial da ZN são transferidos para um novo tubo e submetidos a uma segunda centrifugação vigorosa e longa. O concentrado final consiste em uma fração da ZN (contendo uma grande quantidade de plaquetas) suspensa em uma pequena quantidade de PPP. Para obtenção do L-PRP, o PPP juntamente com ZN e glóbulos vermelhos residuais são transferidos para um novo tubo. Após centrifugação vigorosa e longa, o PPP é descartado. O concentrado final é, então, constituído de toda a ZN e glóbulos vermelhos residuais suspensos em uma pequena quantidade de PPP. Assim, o produto final depende da coleta total ou parcial da ZN. No processo manual de preparo do PRP, a transferência é feita com uma seringa e o controle da coleta da ZN é apenas visual. Assim, no protocolo manual pode-se obter aleatoriamente P-PRP ou L-PRF (Figura 1). Finalmente, o concentrado plaquetário pode ser utilizado como uma suspensão líquida injetável ou na forma de gel após adição de trombina bovina ou cloreto de cálcio para induzir ativação das plaquetas e polimerização da fibrina⁵⁶. Por

meio deste processo de dupla centrifugação, as plaquetas são cerca de 2 a 5 vezes mais enriquecidas em comparação com o sangue normal⁷⁵. No entanto, a utilização de trombina bovina e cloreto de cálcio influencia consideravelmente as características mecânicas e biológicas da matriz de fibrina. Como o processo de coagulação não ocorre por ativação da cascata de coagulação e sim pela adição de anticoagulantes, a polimerização do fibrinogênio é incompleta e não há formação de ligações cruzadas na estrutura do PRP, resultando em uma arquitetura frágil e friável que não é favorável para incorporação de citocinas e migração celular^{56,67}.

Figura 1 - Protocolo manual clássico para preparo de plasma rico em plaquetas (PRP) usando o procedimento de dupla centrifugação

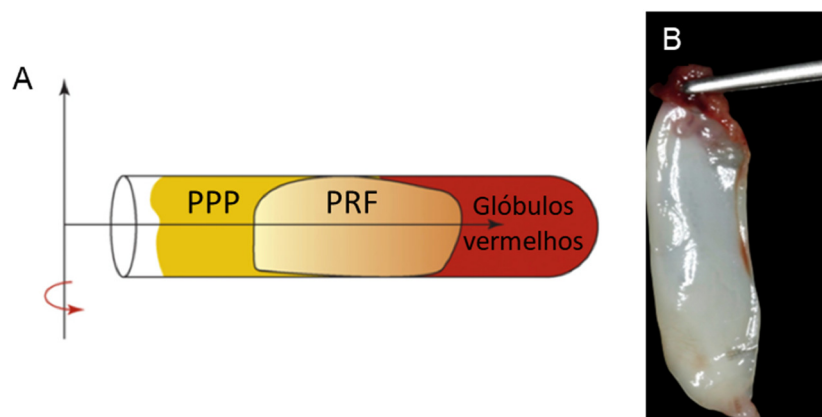


A obtenção do produto final, plasma rico em plaquetas puro (P-PRP) ou plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP), depende da coleta total ou parcial da zona de névoa (ZN).

Fonte: Adaptado de Dohan et al., 2009⁵⁶.

Em 2001, uma segunda geração de concentrado plaquetário foi desenvolvida por Choukroun e colaboradores denominada de fibrina rica em plaquetas (PRF)^{59,60}. A terminologia deste concentrado mudou para fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em virtude da alta concentração de leucócitos^{59,76,77}. Para obtenção da L-PRF o sangue é coletado sem anticoagulantes e centrifugado em baixa velocidade. Na ausência de anticoagulantes, a ativação das plaquetas e a polimerização da fibrina ocorrem imediatamente. Após centrifugação, três camadas são formadas no tubo: as células vermelhas no fundo do tubo, o PPP na camada mais superficial e o coágulo de fibrina no centro do tubo⁵⁹ (Figure 2). O coágulo de fibrina forma uma forte matriz de fibrina com uma complexa estrutura tridimensional, na qual a maioria das plaquetas e leucócitos do sangue coletado ficam concentrados^{59, 60, 61}. Além disso, o processo fisiológico lento de polimerização da fibrina possibilita a formação de um grande número de ligações cruzadas que resultam em uma matriz de fibrina flexível e elástica capaz de suportar a retenção de citocinas e a migração celular⁷⁸. Ao contrário do PRP, a L-PRF não se dissolve rapidamente. Sua forte matriz de fibrina é remodelada lentamente de maneira similar ao coágulo sanguíneo^{59,60,61}. Outra vantagem da L-PRF é o baixo custo e a simplicidade da técnica de obtenção⁵⁹.

Figura 2- Protocolo preconizado por Choukroun e colaboradores para preparo da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRP)



O sangue periférico é coletado sem anticoagulantes e centrifugado em baixa velocidade. Após centrifugação, três camadas são formadas no tubo: os glóbulos vermelhos no fundo do tubo, o PPP na camada mais superficial e o coágulo de fibrina no centro do tubo.

Fonte: Adaptado de Dohan et al., 2009⁵⁶.

Dohan et al.⁶² buscaram quantificar no coágulo de L-PRF a presença de 5 citocinas: Interleucina 1 beta (IL-1 β), IL-6, Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), IL-4 e VEGF. Investigações foram realizadas sobre o perfil de secreção dessas citocinas em diferentes partes do tubo de coleta de PRF. Para isso, 15 pacientes foram selecionados e 3 amostras de 10 mL de sangue foram colhidas de cada paciente, uma para obtenção da L-PRF e outras duas enviadas para análise laboratorial do sêrum e plasma sanguíneo. Para obtenção da L-PRF, o sangue foi centrifugado conforme o protocolo desenvolvido por Dohan²⁶. Finalizada a centrifugação, o sobrenadante do tubo, representado pelo plasma pobre em plaquetas (PPP) era removido e colocado em tubos tipo eppendorf. O coágulo de L-PRF era deixado em uma caixa metálica estéril por aproximadamente 10 minutos, para liberar lentamente o exsudato contido nele. O exsudato também era colhido e colocado em tubos tipo eppendorf. As citocinas foram quantificadas nessas amostras por ELISA. Os valores obtidos foram então comparados a taxas médias plasmáticas e sorológicas estabelecidas pelo laboratório de análises. Foi observado um aumento da secreção das interleucinas testadas no exsudato da L- PRF e a concentração destas citocinas eram superiores quando comparadas às demais amostras. A origem dessas citocinas pode ser dos leucócitos, o que indica que o processo de ativação lento do sangue, pode induzir um aumento na degranulação de leucócitos. A comparação entre o sobrenadante PPP, exsudato da L- PRF, plasma e sêrum sanguíneos revelam claramente que há ativação dessas citocinas durante o processo de centrifugação do PRF. Apenas o VEGF apresentou maior concentração no sêrum sanguíneo do que no exsudato de L-PRF, o que pode ser explicado pela liberação de VEGF ser resultante da ativação plaquetária, sendo esperado maior concentração no sêrum sanguíneo do que no exsudato de L-PRF. A secreção de VEGF pelos leucócitos é pequena, podendo ser considerada como insignificante. Os resultados mostraram que a L-PRF não é somente um concentrado de plaquetas, mas também um biomaterial autógeno, capaz de estimular mecanismos de defesa.

Dohan et al.⁵⁷ também investigaram por quanto tempo a L-PRF seria capaz de liberar alguns fatores de crescimento como TGF β -1, PDGF-AB, VEGF e trombospondina-1 (TSP-1). Para isso, a membrana de L-PRF obtida era armazenada em um tubo de 10 mL contendo 4 mL de meio DMEM (Meio de Eagle modificado por Dulbecco) estéril. A membrana era transferida para um novo tubo com a mesma quantidade de DMEM a cada tempo experimental, que correspondia a 20 min, 1 h, 4

h, 24 h, 72 h, 120 h e 168 h. A quantificação das proteínas foi realizada por ELISA. Os resultados indicaram que a quantidade de PDGF-AB liberada pela L-PRF inicialmente foi bastante semelhante às quantidades liberadas após 7 dias. No entanto, as quantidades liberadas de TGF β -1 e VEGF após 7 dias foram mais de 6 vezes maiores do que no conteúdo inicial. O que indica que os leucócitos presos nas membranas de L-PRF estão ativos e capazes de produzir esses fatores de crescimento em grande excedente, mesmo após 7 dias.

Dohan et al.⁷⁹ seguiram a mesma metodologia do estudo anterior, porém para comparar a liberação de TGF β -1, VEGF, PDGF-AB, TSP-1, fibronectina e vitronectina entre membranas de L-PRF e o PRP. Resultados evidenciaram diferenças nos padrões de liberação de citocinas pelas membranas de L-PRF e PRP e também, ofereceram informações válidas sobre o efeito da arquitetura da L-PRF. A membrana de L-PRF liberou lentamente grandes quantidades de TGF β -1, PDGF-AB, VEGF, trombospondina-1 e fibronectina durante pelo menos 7 dias. Mesmo quando a liberação já era alta nas primeiras 24 horas, ela permanecia em grandes quantidades continuamente durante os 7 dias de experimento. Já no PRP, as proteínas foram liberadas principalmente nas primeiras 4 horas, e mesmo nas situações em que esta liberação continuava até os 7 dias, a liberação era menos intensa do que a observada na L-PRF. A única exceção nos padrões de liberação de citocinas pelas membranas de L-PRF foi em relação a vitronectina, que foi liberada em grandes quantidades nas primeiras 4 horas, seguindo taxas de liberações quase nulas nos próximos 7 dias. Isso demonstra que algumas moléculas podem não ficar presas na matriz de fibrina, qualquer que seja o método de polimerização, sendo liberadas quase imediatamente após a sua produção.

Tendo em vista suas propriedades biológicas, a simplicidade técnica para sua obtenção e o baixo-custo do processo, a L-PRF tornou-se uma alternativa promissora e atrativa para utilização nos procedimentos de reparação tecidual e regeneração óssea.

3.1 Utilização da L-PRF em procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar

Choukroun et al.⁸⁰ publicaram a primeira associação da L-PRF como material de enxerto na cavidade do seio maxilar. A pesquisa abordou pacientes saudáveis com necessidade de enxerto ósseo na região do seio maxilar para posterior instalação de implantes dentários. Estes pacientes foram divididos em grupos teste e controle. Os pacientes do grupo teste tiveram o seio maxilar enxertado com osso alógeno desmineralizado seco e congelado em associação com L-PRF. Já no grupo controle, apenas o osso alógeno foi utilizado. Devido ao potencial da L-PRF em acelerar a formação óssea, a reabertura da área enxertada para instalação de implantes no grupo teste foi realizada após 4 meses de reparação, enquanto no grupo controle, foi aguardado o período de 8 meses. A análise histológica não mostrou diferença significativa na neoformação óssea entre os dois grupos, indicando que o uso da L-PRF possibilitou a redução do período de reparação para instalação de implantes, utilizando menor quantidade de enxerto ósseo, sem comprometer a quantidade de osso neoformado.

Mazor et al.⁸¹ avaliaram a relevância de membranas e coágulos de L-PRF como material único de preenchimento durante elevação do seio maxilar com instalação imediata de implante em uma série de casos. Foram operados 25 seios maxilares em 20 pacientes. No procedimento cirúrgico foram colocadas inicialmente uma ou duas membranas de L-PRF para proteger a membrana sinusal. Em seguida, os implantes foram instalados e cinco coágulos de L-PRF foram compactados de forma a preencher todo espaço da cavidade sinusal. Finalmente, uma ou duas membranas de L-PRF foram utilizadas sobre a janela da osteotomia. Radiografias panorâmicas e tomografias foram realizadas previamente ao procedimento cirúrgico e após 6 meses de reparo para avaliar a altura óssea residual a crista e o ganho ósseo final ao redor dos implantes. Em nove pacientes, foram coletadas biópsias ósseas após 6 meses de reparação. Um total de 41 implantes foram instalados na altura óssea residual entre 1,5 e 6 mm (média - DP: $2,9 \pm 0,9$ mm). Foi verificado um ganho ósseo significativo entre 7 e 13 mm além do osso residual (média $10,1 \pm 0,9$ mm). Em todos os casos, a posição final do assoalho do seio estava em continuidade com ápice dos implantes. Nenhum implante foi perdido. Todas as biópsias apresentavam um osso vital bem organizado, geralmente com percentual de matriz óssea maior que 30% ($33\% \pm 5\%$). Assim, a L-PRF de Choukroun foi considerada por estes autores uma

técnica simples e barata que pode ser utilizada na cavidade sinusal como biomaterial único para regeneração óssea ao redor de implantes instalados simultaneamente ao procedimento de elevação do seio maxilar.

Inchingolo et al.⁸² realizaram levantamento do seio maxilar em 23 pacientes com utilização de L-PRF e OBD. Neste estudo foi avaliado a osseointegração dos implantes assim como o curso do processo de reparação e regeneração óssea. Todos os pacientes apresentavam altura óssea residual superior a 5 mm, o que possibilitou a instalação imediata de implantes. Antes da instalação dos implantes, uma quantidade pequena do material de preenchimento foi inserida na cavidade sinusal. Este material de preenchimento era constituído de fragmentos de tecido ósseo triturado misturado com OBD e L-PRF. O período de reparação foi de 6-9 meses. Todos os implantes instalados demonstraram ótima estabilidade primária e foi observado um aumento significativo da densidade óssea peri-implantar. Além disso, foi relatado sucesso das reabilitações implanto-suportadas de acordo com os critérios de Albrektsson.

Simonpieri et al.²⁹ também avaliaram o uso da L-PRF como material único de preenchimento do seio maxilar nos procedimentos de levantamento sinusal com instalação simultânea de implantes. Vinte e três elevações sinusais foram realizadas em 20 pacientes com instalação 52 implantes. O procedimento cirúrgico realizado foi muito semelhante ao do estudo de Mazor et al. Duas membranas de L-PRF foram inseridas no seio para proteger a membrana de Schneider durante a perfuração dos implantes. Em seguida, cinco coágulos de L-PRF foram utilizados em média para preencher o espaço na cavidade sinusal ao redor dos implantes e uma membrana de L-PRF foi usada para recobrir a janela da osteotomia. Em 3 pacientes, houve perfuração da membrana sinusal que foram tratadas com uso de membranas de L-PRF. Seis meses após a cirurgia, todos implantes estavam clinicamente estáveis durante instalação dos cicatrizadores. O período de acompanhamento máximo foi de 6 anos, sendo que todos os pacientes foram acompanhados por um período mínimo de 2 anos. Nenhum implante foi perdido durante esses 6 anos de acompanhamento e o ganho ósseo vertical foi substancial, entre 8,5 e 12 mm ($10,4 \pm 1,2$ mm). Em todos os pacientes, foi verificado que o novo assoalho do seio estava em continuidade com a extremidade apical do implante e que a altura óssea da crista peri-implantar era muito estável. Segundo os autores, essa estabilidade pode estar associada ao perfil de micro-roscas típico dos sistemas de implantes utilizados nos pacientes. Concluiu-

se que o uso da L-PRF como único biomaterial durante a elevação do seio maxilar com instalação simultânea dos implantes parece ser uma opção cirúrgica confiável promovendo a regeneração óssea ao redor dos implantes.

Tatullo et al.⁸³ acompanharam clinicamente e histologicamente 60 pacientes que necessitavam de enxerto ósseo na cavidade do seio maxilar previamente à instalação dos implantes. O grupo teste recebeu L-PRF associada ao enxerto de osso bovino desproteinizado, enquanto o grupo controle recebeu apenas o biomaterial. A cirurgia de reabertura para instalação dos implantes e obtenção das biópsias foi realizada em três períodos distintos: após 106 (protocolo precoce), 120 (protocolo intermediário) e 150 dias (protocolo tardio) após o procedimento cirúrgico. No protocolo de 106 dias foram obtidos os resultados mais interessantes da eficácia da L-PRF utilizada como material de enxerto. Observou-se a presença de tecido ósseo lamelar com estroma interposto ricamente vascularizado, demonstrando a capacidade da L-PRF em acelerar a neoformação óssea. Os seios enxertados foram capazes de receber implantes após o período de 106 dias de reparação. Não foram observadas diferenças significativas no valor de ISQ entre os grupos teste e controle dentro de cada protocolo de reabertura proposto. Todos os pacientes foram reabilitados com sucesso e, após 36 ± 10 meses de função, nenhum implante foi perdido e nenhuma complicação foi observada. Foi concluído que é possível obter boa estabilidade primária do implante após 106 dias de reparação (protocolo precoce), apesar da ausência de carregamento protético.

Tajima et al.⁸⁴ realizaram a elevação de nove seios maxilares utilizando apenas a L-PRF como material de enxerto com instalação imediata de implantes dentários. No exame tomográfico realizado 6 meses após o procedimento cirúrgico, foi observado aumento significativo do volume ósseo ao redor dos implantes. A altura média de osso entre o assoalho do seio e a crista alveolar onde os implantes foram instalados foi de $11,8 \pm 1,67$ mm, com um ganho médio de 7,5 mm em relação aos valores iniciais ($4,8 \pm 1,0$ mm). A densidade média do osso neoformado ao redor dos implantes foi de $323 \pm 156,2$ unidades Hounsfield (UH). Todos os implantes estavam estáveis no momento da colocação dos cicatrizadores (valor médio de ISQ de $66,5 \pm 6,15$). Baseados nestes resultados, foi concluído que o procedimento de elevação do seio maxilar com instalação imediata de implantes dentários utilizando apenas a L-PRF para preenchimento da cavidade sinusal pode resultar em regeneração óssea. No entanto, estes autores destacam a instalação imediata dos implantes é essencial

para o sucesso desta técnica, devendo a mesma ser contra-indicada nos casos em que a estabilidade primária dos implantes é comprometida pelo osso residual insuficiente ao redor dos implantes.

Bölükbaşı et al.⁸⁵ realizaram um estudo retrospectivo para comparar a eficácia do OBD associado à L-PRF (grupo teste) e apenas do OBD (grupo controle) no aumento do seio maxilar em dois estágios. No grupo teste, uma membrana de L-PRF foi colocada previamente ao preenchimento da cavidade sinusal com a mistura de OBD e L-PRF e outra membrana foi utilizada sobre a janela da osteotomia. No grupo controle, membranas de colágeno foram utilizadas. Implantes foram instalados após seis meses de reparação. Vinte e cinco pacientes foram incluídos no estudo, sendo que 32 cirurgias foram realizadas (17 no grupo teste e 15 no grupo controle) e 66 implantes foram instalados após seis meses de reparo (34 no grupo teste e 32 no grupo controle). Nenhuma perda ou complicação do implante foi observada em ambos os grupos. Não houve diferença estatística entre os grupos para os parâmetros percentual de osso neoformado, de biomaterial residual e de tecido conjuntivo. Durante o período de avaliação, seis radiografias panorâmicas foram realizadas (10 dias após elevação seio, 10 dias após instalação implantes, 6 meses após instalação dos implantes, após 6, 12 e 24 meses da instalação prótese). As alterações na relação entre a altura óssea e o tamanho do implante (Altura óssea/comprimento implante) foram significativamente menores no grupo de teste. Diferentes taxas de ganho de altura óssea e reabsorção do enxerto foram obtidas para os grupos de teste e controle, porém sem diferenças significativas. Em ambos os grupos foi observado que o ápice dos implantes estava recoberto com tecido ósseo e que o assoalho dos seios maxilares estava acima da altura original. Conclui-se que ambos tratamentos podem ser usados com sucesso para aumento do seio maxilar.

Gurler e Delilbasi⁸⁶ avaliaram 28 pacientes com necessidade de levantamento do seio maxilar. Os pacientes foram divididos em dois grupos. O grupo controle teve os seios maxilares preenchidos com osso alógeno, já o grupo teste, com osso alógeno associado a L-PRF. Os pacientes foram submetidos a questionários sobre conforto pós-operatório e uma avaliação clínica do reparo tecidual foi realizada pelo cirurgião no 7º e 14º dia de pós-operatório. O estudo mostrou melhor cicatrização das feridas nos casos onde a L-PRF foi associada, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa.

Kanayama et al.⁸⁷ realizaram um estudo prospectivo para avaliar o ganho ósseo ao redor de implantes instalados após elevação do assoalho do seio maxilar utilizando apenas L-PRF como material de enxerto. Um total de 27 pacientes com altura óssea residual maior que 0,5 mm e menor que 5 mm foram selecionados para o estudo. Foram realizados 39 procedimentos de elevação do seio maxilar apenas com acesso crestal com instalação imediata dos implantes. Dois tipos de implantes foram utilizados: hidroxiapatita (HA) e jateados com ataque ácido (SA). No procedimento cirúrgico, a perfuração para instalação dos implantes foi realizada usando o kit CAS (HIOSEN) que permite perfurar o osso até que a ponta da broca atinja a membrana sinusal. A membrana sinusal foi separada do osso e levantada por sistema de pressão hidráulica e duas membranas de PRF foram colocadas na parede óssea e cuidadosamente empurradas para o interior da cavidade sinusal. Após a colocação da L-PRF e elevação da membrana sinusal, os implantes foram instalados. Após 4-6 meses de reparo, os implantes receberam carregamento protético. Radiografia panorâmica e tomografia computadorizada foram utilizadas para medir o ganho ósseo. Após 1 ano de acompanhamento, nenhum implante foi perdido e o ganho ósseo médio nos implantes HA foi de 4 mm e nos implantes SA de 4,38 mm. Assim, foi demonstrado que a L-PRF promove ganho ósseo quando usada como material único de enxerto nos procedimentos de elevação do seio maxilar com acesso crestal.

Kiliç et al.⁸⁸ compararam, por meio de análise histológica e histomorfométrica, a elevação de seio maxilar com beta-tricálcio fosfato (β -TCP), β -TCP + P-PRP (plasma rico em plaquetas puro) e β -TCP + L-PRF. Um total de 26 indivíduos apresentando altura residual da crista óssea alveolar menor ou igual a 7mm foram incluídos no estudo (9 para os grupos β -TCP e β -TCP + P-PRP, 8 para o grupo β -TCP + L-PRF). Não foi relatado o número de implantes instalados em cada seio e se o procedimento de elevação do seio maxilar foi realizado uni ou bilateralmente nestes indivíduos. O percentual de osso neoformado após seis meses de reparo foi semelhante nos três grupos. Também não foram verificadas diferenças significativas no percentual de enxerto residual e tecido mole entre os grupos. A densidade média de osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e vasos foi similar para os grupos, porém a densidade de células osteoprogenitoras foi menor e a densidade de células inflamatórias foi maior no grupo em que L-PRF foi utilizada em relação aos demais

grupos. Assim, a adição de P-PRP e L-PRF ao enxerto de β -TCP não trouxe benefícios adicionais para neoformação óssea.

Zhang et al.⁸⁹ também avaliaram a influência da L-PRF na regeneração óssea em procedimentos de elevação do seio maxilar quando usada em associação com OBD. Um total de 11 seios maxilares foram enxertados com OBD (grupo controle) ou OBD misturado com L-PRF (grupo teste). Após 6 meses de reparação, biópsias foram obtidas e implantes instalados na região enxertada. Não foram observadas complicações durante esse período. As avaliações clínicas, radiográficas e histológicas do estudo não indicaram diferenças estatísticas entre os grupos, apesar da porcentagem de osso neoformado ter sido 1,4 vezes maior no grupo teste e a porcentagem de enxerto ósseo residual ter sido 1,5 vezes maior no grupo controle. Assim, os resultados obtidos neste estudo não demonstraram vantagem ou desvantagem da utilização de L-PRF em combinação com OBD.

Nizam et al.⁹⁰, em um estudo clínico randomizado, controlado, de boca dividida, avaliaram o efeito da adição de L-PRF ao OBD no procedimento de levantamento do seio maxilar. Para isso, 13 pacientes com necessidade bilateral de levantamento do seio maxilar e altura de osso residual menor do que 5 mm foram incluídos na pesquisa. No grupo controle foi utilizado apenas OBD e no grupo teste, OBD foi associado à L-PRF. Após seis meses de reparo, foi obtida uma biópsia de cada seio maxilar previamente à instalação dos implantes. Não foram observadas diferenças qualitativas entre os grupos na análise histológica. Em ambos os grupos foi observado osso neoformado em contato direto com enxerto ósseo residual. Na análise histomorfométrica, a porcentagem de osso neoformado, de enxerto ósseo residual, de extensão do enxerto ósseo em contato com osso neoformado e de tecido mole foi similar entre os grupos na região de interesse. Assim, ambas as técnicas foram efetivas para aumento ósseo no seio maxilar e nenhum benefício adicional na regeneração óssea foi observado com a utilização da L-PRF.

Tabrizi e Karagahn et al.⁹¹, em um estudo clínico randomizado de boca dividida envolvendo 20 pacientes, avaliaram se a estabilidade de implantes dentários instalados na região posterior de maxila poderia ser influenciada pela utilização da membrana de L-PRF antes da instalação do implante. Para isso, no grupo teste, a colocação de uma membrana de L-PRF precedia a instalação do implante e no grupo controle, a L-PRF não era utilizada. A estabilidade dos implantes foi medida após 2, 4 e 6 semanas da instalação por meio do coeficiente de estabilidade (ISQ). O estudo

concluiu que o uso de L-PRF é capaz de aumentar a estabilidade dos implantes na região posterior de maxila.

Pichotano et al.⁹² em um estudo recente⁵⁶, avaliaram o uso da L-PRF associada ao osso mineral bovino para instalação precoce de implantes após levantamento do seio maxilar. 12 pacientes foram incluídos neste estudo clínico randomizado de boca dividida. No grupo controle, os seios maxilares foram preenchidos apenas com OBD e no grupo teste, com OBD misturado com L-PRF. Após 4 meses, biópsias foram obtidas do grupo teste e implantes instalados. Já no grupo controle, foi aguardado o período de 8 meses para obtenção de biópsias e instalação dos implantes. Foram realizadas análises histomorfométricas, tomográficas e de análise de frequência de ressonância, comparando a estabilidade primária e secundária dos implantes instalados em ambos os grupos. Em relação à histomorfometria, o grupo teste apresentou porcentagem de neoformação óssea significativamente maior do que o grupo controle. Na análise tomográfica foi observado que em ambos os grupos houve uma redução do volume do enxerto, porém não foi constatada diferença significativa no percentual de redução volumétrica do enxerto entre os grupos. No grupo teste foi verificado um aumento significativo do valor de ISQ após o período de osseointegração dos implantes, enquanto no grupo controle não houve diferença estatística entre os valores de estabilidade primária e secundária. Estes resultados indicam que a associação da L-PRF ao osso bovino no seio maxilar permite a instalação precoce de implantes, sem comprometer a estabilidade e a neoformação óssea na região.

Strauss e Stähli et al.⁹³ selecionaram criteriosamente estudos clínicos randomizados e controlados que tinham utilizado a L-PRF sozinha ou associada a outro material de enxerto para avaliar regeneração óssea alveolar, cicatrização tecidual, osseointegração, estabilidade de implantes, reabsorção do enxerto, profundidade de sondagem e sintomatologia dos pacientes no período pós-operatório. Foram incluídos 12 artigos para a metanálise e estes foram avaliados em grupos de acordo com o objetivo do tratamento de cada estudo. Os resultados sugeriram que a L-PRF pode ser capaz de reduzir a reabsorção óssea alveolar após exodontia e melhorar a estabilidade do implante durante a fase inicial de osseointegração. Em relação a elevação do assoalho do seio maxilar, o estudo não encontrou efeito quando a L-PRF é utilizada. No entanto, apenas 2 artigos que associaram L-PRF ao material de enxerto ósseo no seio maxilar foram avaliados, desta forma a ausência de efeito

pode ser explicada pela pequena quantidade de artigos analisados. A pesquisa ainda aponta falta de estudos adequados envolvendo instalação de implantes, defeitos peri-implantares, cicatrização de tecidos moles e dor. Estas limitações e heterogeneidade da metodologia das pesquisas influenciam no poder estatístico das revisões sistemáticas, tornando a literatura inconclusiva.

Liu et al.⁷², em recente revisão da literatura com meta-análise sobre os efeitos da L-PRF como material de enxerto no seio maxilar, concluíram que embora a adição de L-PRF aos enxertos e substitutos ósseos possa ajudar a reduzir o tempo de reparação, seu uso como material adjunto parece não melhorar realmente o aumento ósseo em seios maxilares. Apenas cinco estudos clínicos randomizados foram incluídos na meta-análise, totalizando 133 pacientes com 81 seios maxilares no grupo L-PRF e 69 no grupo controle. Resultados clínicos, radiográficos e histomorfométricos foram considerados. Nenhuma falha do implante ou falha do enxerto foi detectada nos estudos incluídos durante o período de acompanhamento. A porcentagem de osso neoformado foi aproximadamente 1,59% maior no grupo L-PRF que no grupo controle, mas essa diferença não foi significativa (-1,59, IC 95% -5,36 a 2,18; $p = 0,41$). Também não foi observada diferença significativa na porcentagem de enxerto residual, sendo a mesma 4,57% menor no grupo L-PRF em comparação com o grupo controle (IC95% 0,00 a 9,14; $p = 0,05$). A porcentagem de área de tecidos moles foi maior no grupo L-PRF do que no grupo controle (3,73%, IC 95% -10,11 a 2,66; $p = 0,25$), porém sem significância estatística. A porcentagem de contato entre o enxerto e o osso neoformado foi 3,9% menor no grupo L-PRF que o grupo controle, sem diferença estatística (3,90, IC 95% -2,91 a 10,71; $p = 0,26$). Apesar da ausência de diferença entre os grupos para os parâmetros avaliados, os autores destacam que as técnicas para obtenção da L-PRF foram diferentes nos estudos incluídos, o que pode contribuir com um grande viés. Além disso, o risco de viés para os cinco estudos foi considerado alto. Assim, uma conclusão definitiva, com forte evidência, sobre os efeitos da L-PRF em procedimentos regenerativos no seio maxilar ainda não pode ser feita, sendo necessários estudos a longo prazo incluindo a mesma versão da L-PRF.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo clínico randomizado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP sob o número CAAE 41357514.5.0000.5416 e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC - RBR-95m73t).

4.1 População do estudo

Os participantes deste estudo foram recrutados na Disciplina de Implantodontia e no Curso de Especialização em Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, no período de 2015 a 2017. Foram selecionados pacientes que buscavam reabilitação bucal por meio de próteses implanto-suportadas, porém necessitavam de procedimento prévio de enxerto ósseo no seio maxilar para instalação dos implantes dentários. Estes pacientes deveriam apresentar altura residual do rebordo alveolar inferior ou igual a 4 mm e espessura óssea adequada na região posterior da maxila (ambos avaliados por meio de tomografia computadorizada), além de possuir idade superior a 18 anos. Foram excluídos do estudo pacientes com algum tipo de comprometimento sistêmico, pacientes diabéticos descompensados, fumantes ou ex-fumantes, usuários de álcool e/ou droga, gestantes, portadores de desordens hematológicas, pacientes que estavam sob tratamento de radioterapia na região de cabeça e pescoço, usuários de bifosfonatos e pacientes que apresentavam patologias no seio maxilar.

Um total de 24 pacientes, apresentando 36 seios maxilares com indicação cirúrgica de elevação do seu assoalho, foram incluídos no estudo. Estes seios maxilares foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com tratamento a ser realizado: OBD (Controle) - seio maxilar enxertado apenas com OBD (Bio-Oss®, Geistlich Pharma AG, Geistlich, Wolhusen, Suíça) e o tempo de reparação para a instalação dos implantes dentários foi de 8 meses; LPRF/OBD 4 - OBD foi associado à L-PRF para elevação do assoalho do seio maxilar e o tempo de reparação foi de 4 meses; LPRF/OBD 8 - OBD foi associado à L-PRF, porém o tempo de reparação para instalação dos implantes foi de 8 meses. O cálculo amostral foi realizado usando a ferramenta de cálculo de tamanho de amostra do programa Bioestat (Bioestat 5.3®, Instituto Mamirauá, Belém, PA, Brasil) baseado em resultados

anteriores⁹². Considerando uma diferença na média do desfecho primário a ser detectado (porcentagem de neoformação óssea) de 15%, com desvio padrão de 11%, poder do teste de 80% e nível de significância de 5%, um tamanho de amostra de 12 seios maxilares por grupo foi obtido. A distribuição dos seios de forma aleatória nos diferentes grupos foi feita por meio de uma lista de randomização previamente gerada por computador. Uma randomização por tipo de tratamento foi realizada tendo a unidade seio maxilar como base. Para assegurar a ocultação da randomização, foram utilizados envelopes de papel pardo numerados consecutivamente, com os seguintes sorteios de intervenção: OBD, LPRF/OBD 4 e LPRF/OBD 8. Os envelopes foram preparados e selados por uma pessoa não envolvida no estudo.

Todos os pacientes foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e concordaram espontaneamente em participar do mesmo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.2 Técnica de obtenção L-PRF

Antes do início da cirurgia, foi realizada a coleta de sangue do paciente. Essa coleta foi realizada por um profissional habilitado para este procedimento, utilizando o sistema de coleta a vácuo - vacutainer (BD Vacutainer® Systems -, Franklin Lakes, NJ, EUA). Foram coletados 4 tubos de vidro com capacidade de 10 mL cada sem a adição de anticoagulante ou trombina bovina (Figura 3A e 3B). Na sequência, os tubos foram centrifugados por 10 minutos com uma força de aproximadamente 400 g (Kasvi K14-0815, Curitiba, PR, Brasil) de acordo com protocolo proposto por Dohan et al. em 2006⁶⁰ (Figura 3C e 3D). Após a centrifugação, o plasma acelular (plasma pobre em plaquetas - PPP) estava presente na parte superior do tubo, na porção inferior as células vermelhas do sangue (glóbulos vermelhos), e na parte intermediária o coágulo de L-PRF (Figura 3E). Os coágulos de fibrina obtidos foram retirados dos tubos e depositados em uma caixa metálica específica (Xpression, Intra-lock System, São Paulo, Brasil) que permitiu a eliminação do exsudato para obtenção das membranas de L-PRF (Figura 3F e 3G).

Figura 3- Procedimentos realizados para obtenção das membranas de L-PRF



A) Preparo do material necessário para obtenção da L-PRF; B) Coleta do sangue periférico do paciente por meio de sistema a vácuo; C) Inserção dos tubos na centrífuga de forma balanceada; D) Remoção cuidadosa dos tubos após conclusão do ciclo de centrifugação; E) Separação nítida dos componentes sanguíneos: PPP na parte superior do tubo, glóbulos vermelhos na porção inferior, e o coágulo de L-PRF na parte intermediária; F) Remoção do coágulo de fibrina do tubo; G) Deposição dos coágulos de L-PRF em caixas metálicas específicas para obtenção das membranas de L-PRF.

Fonte: Elaboração própria.

4.3 Procedimento cirúrgico de elevação do assoalho do seio maxilar

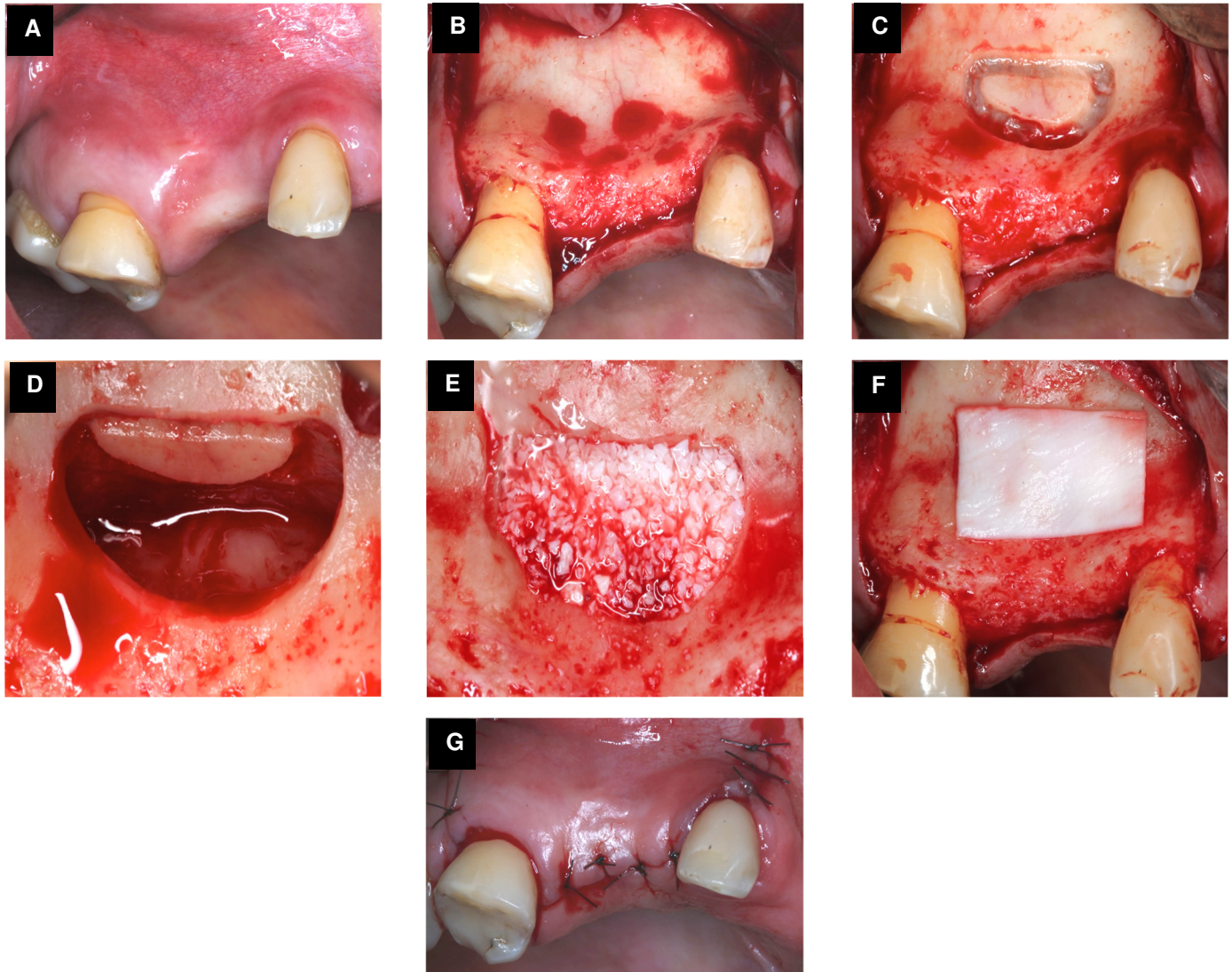
Foi solicitado a todos os pacientes incluídos neste estudo um exame tomográfico de feixe cônico da região de interesse para planejamento cirúrgico. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um único operador experiente. Foi utilizado o método descrito por Tatum¹⁸ (1986) para elevação da membrana do seio maxilar. As etapas do procedimento cirúrgico para elevação do seio maxilar estão ilustradas nas Figuras 4 e 5.

Após a antissepsia extra-bucal com PVPI e intra-bucal com digluconato de clorexidina a 0,12%, foi realizado o bloqueio dos nervos alveolar superior posterior e médio e nervo palatino maior (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000 DFL, Brasil), responsáveis respectivamente pela inervação da região posterior da maxila e da mucosa palatina. Uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular foram realizadas. O retalho mucoperiosteal foi descolado e rebatido até a exposição completa da parede lateral externa do seio maxilar. O acesso cirúrgico foi realizado respeitando a posição do planejamento da colocação dos implantes e anatomia do seio maxilar. No osso vestibular da maxila, a osteotomia para acesso à membrana sinusal foi confeccionada com uma fresa esférica nº 2 em baixa rotação, sob irrigação com cloreto de sódio a 0,9%. A parede óssea cortical mobilizada foi descolada da membrana sinusal e removida, com o auxílio de curetas específicas. A mucosa sinusal também foi deslocada das paredes ósseas no interior do seio maxilar, até as dimensões necessárias para a reconstrução óssea. Os seios maxilares do grupo OBD foram enxertados somente com Bio-Oss® (tamanho das partículas 0,25 -1 mm) e na parede vestibular da cavidade sinusal foi posicionada uma membrana de colágeno reabsorvível (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG). Nos seios maxilares dos grupos LPRF/OBD 4 e LPRF/OBD 8, foi utilizado o Bio-Oss® associado a membranas de L-PRF e na parede vestibular da cavidade sinusal também foi posicionada uma membrana de colágeno reabsorvível. Na mistura do OBD com as membranas de L-PRF foi utilizada a seguinte proporção: para cada membrana picotada de L-PRF foi utilizado 0,5 g de OBD. A quantidade de membranas de L-PRF utilizadas por seio variou de 2 a 4 membranas. As áreas cirúrgicas foram suturadas com fio de nylon 4-0 (Ethicon®, Jonhson & Jonhson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA) por meio de pontos interrompidos.

Os seios maxilares foram distribuídos de forma randômica entre os diferentes grupos conforme descrito anteriormente. O cirurgião permaneceu cego para o tratamento a ser realizado até o momento de inserção do biomaterial na cavidade sinusal. Assim, após elevação da membrana sinusal, o envelope contendo a indicação do tratamento a ser realizado foi aberto por um assistente não envolvido no estudo. Os pacientes não foram informados sobre o material utilizado no procedimento cirúrgico.

Os pacientes receberam orientações pós-operatórias e prescrição de medicação sistêmica constituída por antibiótico (Amoxicilina 500 mg), anti-inflamatório (Nimesulida 100 mg), analgésico (Dipirona 500 mg) e medicação tópica constituída por enxágue com digluconato de clorexidina a 0,12%. A sutura foi removida após 10 dias e a região operada permaneceu sem influência de carga oclusal direta durante toda a fase de regeneração óssea.

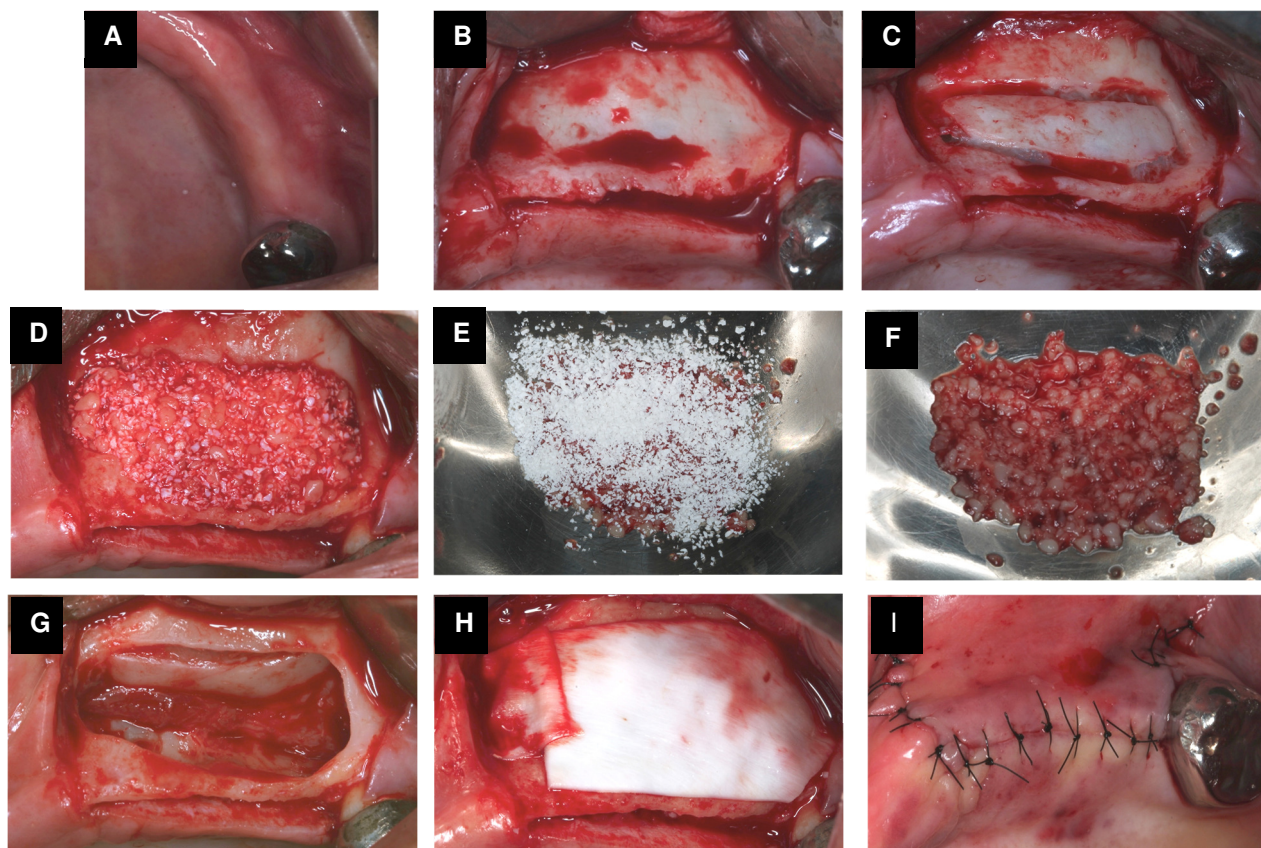
Figura 4- Procedimento cirúrgico de elevação do seio maxilar no grupo controle



A) Vista da região posterior da maxila com necessidade de enxertia óssea; B) Retalho de espessura total para exposição da parede lateral do seio maxilar; C) Osteotomia para criação da janela lateral de acesso; D) Descolamento da membrana sinusal e elevação do seu assoalho; E) Preenchimento da cavidade sinusal com OBD; F) Recobrimento da janela de osteotomia com uma membrana de colágeno reabsorvível e G) Sutura da região.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 5- Procedimento cirúrgico de elevação do seio maxilar nos grupos em que a L-PRF foi utilizada



A) Vista oclusal da região posterior da maxila com necessidade de enxertia óssea; B) Retalho de espessura total para exposição da parede lateral do seio maxilar; C) Osteotomia para criação da janela lateral de acesso; D) Descolamento da membrana sinusal e elevação do seu assoalho; E e F) Mistura das membranas de L-PRF picotadas com o OBD; G) Preenchimento da cavidade sinusal com OBD + L-PRF; H) Recobrimento da janela de osteotomia com uma membrana de colágeno reabsorvível e I) Sutura da região.

Fonte: Elaboração própria.

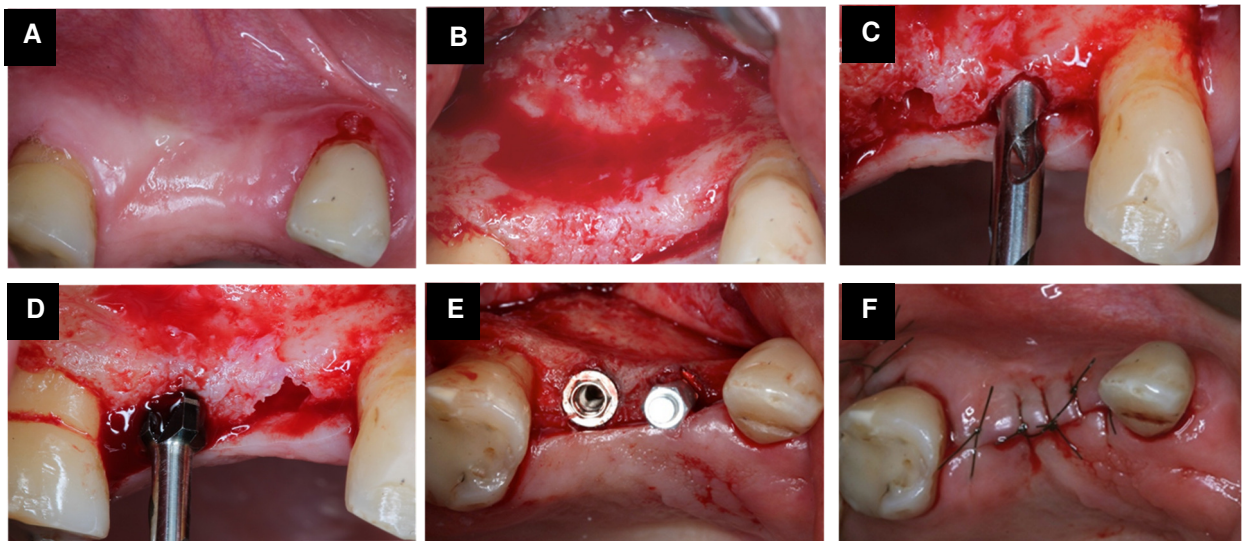
4.4 Instalação dos implantes e obtenção da biópsia

Em uma segunda etapa cirúrgica (Figura 6), o leito foi reaberto para instalação de implantes. No grupo OBD (n=12) e no grupo LPRF/OBD 8 (n=12), a reabertura foi realizada após 8 meses de reparação. Já no grupo LPRF/OBD 4 (n=12), a reabertura foi realizada após 4 meses de reparação.

Após realização da antissepsia extra e intra-bucal do campo operatório e anestesia local, foi feita uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular, mesial e distal à região de interesse. O retalho mucoperiosteal foi descolado e rebatido até a exposição completa

da parede lateral externa do seio maxilar. Uma biópsia foi obtida no momento do preparo da loja cirúrgica para instalação dos implantes, por meio de broca trefina (3i Implant Innovations, Flórida, EUA) de 2,0 mm de diâmetro interno e 3,0 mm externo, e 15 mm de comprimento. A broca foi posicionada no mesmo eixo de perfuração e inserção dos implantes, justamente nas regiões que os receberiam após o período de reparação óssea. O corte com a broca foi realizado utilizando contra-ângulo com redução 20:1 (KaVo - KaVo do Brasil S. A. Ind. e Com., Joinville, SC) acionada por motor específico (Driller BLM 650 - VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda, São Paulo, SP) e refrigeração constante com solução salina, até o rompimento do assoalho do seio maxilar para remoção do osso, na totalidade do seu comprimento. Após a perfuração única, os implantes (TitamaxTi EX ACQUA, Neodent, Curitiba, Brasil) foram instalados de acordo com o protocolo do fabricante e o osso colhido foi removido cautelosamente do interior da trefina. As biópsias foram imersas em solução de formaldeído tamponado a 10% por 3 dias.

Figura 6- Segundo procedimento cirúrgico para instalação dos implantes e obtenção das biópsias



A) Vista da região enxertada; B) Retalho de espessura total para exposição da parede lateral do seio maxilar; C) Obtenção das biópsias da área enxertada no momento do preparo da loja cirúrgica para instalação dos implantes com utilização de uma trefina; D) Término da sequência de perfuração; E) Instalação dos implantes; F) Sutura da região.

Fonte: Elaboração própria.

4.5 Avaliação da estabilidade primária dos implantes

Após a instalação dos implantes, foi feita a mensuração da estabilidade dos implantes com a utilização do aparelho Osstell® (Osstell, Integration Diagnostics, Gothenburg, Suécia). Este aparelho determina a estabilidade do implante por meio da análise da frequência de ressonância. O sistema inclui a utilização de um SmartPeg que é fixado ao implante através de um parafuso integrado. O SmartPeg é excitado por um impulso magnético da sonda de medição do instrumento portátil e o coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) é calculado a partir do sinal de resposta. Os resultados são exibidos no instrumento variando numa escala de 1 a 100. Quanto maior o número de ISQ, maior é a estabilidade do implante. As medidas de estabilidade foram obtidas em duas direções, vestibular-palatina e méso-distal. As medidas do ISQ foram realizadas de forma padronizada por um único examinador experiente, cego para os grupos experimentais.

4.6 Processamento da biópsia e análise histomorfométrica

Após a primeira fase de fixação, as peças foram processadas conforme descrito por de Molon et al.⁹⁴. Cortes seriados, com espessura de 6 µm, foram obtidos de cada espécime paralelamente ao longo eixo do implante por meio de um micrótomo automático (Jung Supercut 2065, Leica Instruments GmbH, Heidelberg, Alemanha). Os cortes foram montados em lâminas e corados com hematoxilina e eosina (H&E). O corte central de cada biópsia foi selecionado para análise histomorfométrica.

As imagens das lâminas coradas com HE foram capturadas e digitalizadas com utilização de um microscópio óptico com objetivas para aumento de quatro até 100 vezes e oculares com aumento de 5 vezes (Diastar - Leica eichert & Jung products, Wetzlar, Alemanha), com câmera fotográfica digital (DFC-300-FX, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) com resolução de 1,3 megapixels acoplada a este microscópio e conectada a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas. Foi utilizado o software Image J 1,45 (Wayne Rasband National Institutes of Health, EUA) para análise histomorfométrica. Foi considerada uma região de interesse (ROI) de 5,3 mm² de osso enxertado. O ROI incluiu a área enxertada na cavidade sinusal a partir do osso alveolar residual. Os seguintes parâmetros foram avaliados: porcentagem de tecido ósseo neoformado, porcentagem de tecido mole e porcentagem de material residual do enxerto ósseo bovino. As mensurações foram realizadas por um único examinador calibrado e cego para grupos experimentais.

4.7 Análise imunoistoquímica

A análise imunoistoquímica foi realizada com o objetivo de caracterizar as respostas celulares quanto à expressão de proteínas envolvidas em atividades de diferenciação celular e mineralização da matriz extracelular do tecido ósseo por meio da quantificação do fator de transcrição relacionado a Runt-2 (RUNX-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), osteopontina (OPN) e osteocalcina (OCN). Cortes histológicos foram montados em lâminas silanizadas (Fisher Superfrost plus; Thermo Fisher Scientific - Waltham MA, EUA) em um banho maria de água destilada e secas em posição vertical, para facilitar a adesão entre o corte e a lâmina.

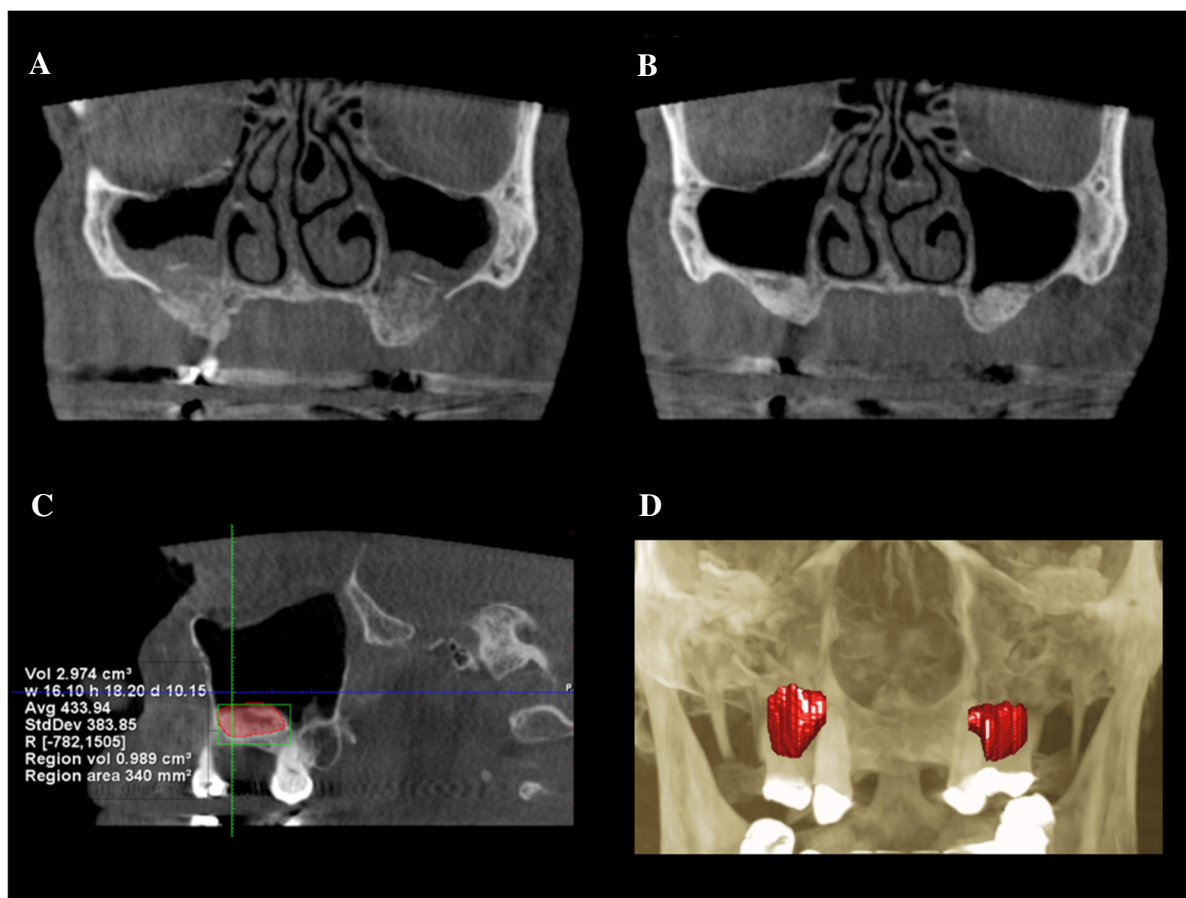
A reação imunoistoquímica foi realizada por meio da técnica de imunoperoxidase indireta com amplificador. Portanto, foi utilizado o peróxido de hidrogênio a 3% (Merck Laboratories, Kenilworth, Nova Jersey, EUA) para a inibição da peroxidase endógena. A recuperação antigênica foi realizada a partir da imersão das lâminas em tampão fosfato citrato, pH=6, mantidas em vaporeira (calor úmido), por 20 minutos. Os bloqueios de reações inespecíficas foram realizados com albumina bovina (Sigma, San Luis, Missouri, EUA) e leite desnatado. Foram utilizados anticorpos policlonais (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, EUA), produzidos em cabra e anti cada uma das proteínas avaliadas: RUNX-2 (SC 8566), VEGF (SC 1881), OPN (SC 10593) e OCN (SC 18319). RUNX-2 é responsável pela regulação de pré-osteoblastos e produção de colágeno tipo 1 durante o reparo ósseo. VEGF é uma das principais proteínas que regulam o reparo do tecido ósseo. É responsável pela diferenciação de células endoteliais, estimulação de proliferação vascular e atração de células osteoblásticas durante maturação do enxerto ósseo. Já a OCN e OPN permitem analisar a maturação do tecido ósseo através de marcações de células osteoblásticas e matriz extracelular mineralizada e não-mineralizada.

Como anticorpo secundário, foi utilizado o anticorpo secundário biotinilado anti-cabra produzido em coelhos (Pierce Biotechnology, Waltham, Massachusetts, EUA), o amplificador foi a Avidina e Biotina (Vector Laboratories, Burlingame, Califórnia, EUA) e a diaminobenzidina (Dakocytomation, Carpinteria, Califórnia, EUA) como cromógeno. Ao término da revelação pela Diaminobenzidina, foi realizada a contra-coloração dos cortes histológicos por Hematoxilina de Harris. As lâminas foram analisadas no mesmo microscópio utilizado para análise histomorfométrica e imagens foram capturadas na mesma região de interesse (ROI) em aumento de 20x. A análise dos dados foi realizada por uma abordagem semiquantitativa por um avaliador cego calibrado atribuindo escores de 1 a 4 indicando respectivamente ausência de marcação ou marcação discreta, marcação leve, marcação moderada e marcação intensa, de acordo com a área de imunomarcação observada na região de interesse. A atribuição de escores de intensidade da imunocoloração estão de acordo com estudos prévios^{31,95,96}.

4.8 Análise radiográfica

Todos os pacientes realizaram exame tomográfico em três períodos distintos: pré-operatório (T-0), uma semana após a elevação do seio maxilar (T-1), e previamente ao procedimento de instalação de implantes (T2). Foi utilizado o tomógrafo SCANORA® 3Dx (Soredex, Tuusula, Finlândia), com uma resolução de 512 pixels, num total de 14 bits por pixels, com escala cromática de 16.384 tons de cinza. Os mesmos parâmetros foram usados para todas as tomografias, 10 mAs, 90 kVp e um tempo de varredura de 20 s usando o campo de visão de 9 polegadas (FOV). A tomografia pré-operatória foi usada para avaliar a necessidade de enxerto ósseo no seio maxilar para instalação de implantes em uma abordagem cirúrgica de dois estágios. A tomografia previamente à instalação dos implantes foi realizada após 4 meses de reparação para o grupo LPRF/OBD 4 e após 8 meses para os grupos OBD e LPRF/OBD 8 (T-2). Os dados brutos das digitalizações foram reconstruídos e exportados em formato de arquivo DICOM para importação no software de interpretação de tomografia computadorizada (Planmeca Romexis 3D, Planmeca Oy, Helsinque, Finlândia) (Figura 7).

Figura 7- A análise volumétrica foi realizada usando a função de segmentação no Planmeca (Planmeca Romexis 3D, Planmeca Oy, Helsinque, Finlândia)



As imagens da tomografia foram exibidas simultaneamente em quatro vistas diferentes: sagital (vermelho, eixo x), coronal (verde, eixo y), axial (azul, eixo z) e uma renderização tridimensional (vista renderizada em 3D). A) Corte axial central da área enxertada uma semana após o procedimento cirúrgico (T1); B) Corte axial central da área enxertada 8 meses após elevação do seio maxilar e antes da instalação dos implantes (T2); C) Corte sagital demonstrando o processo de segmentação pelo qual o perímetro do enxerto foi delineado de acordo com as diferentes escalas de cinza para produzir uma região de interesse 2D (em vermelho); D) Vista representativa em 3D de toda a reconstrução 3D final segmentada do volume dos enxertos (em vermelho) nos seios maxilares.

Fonte: Elaboração própria.

As medidas volumétricas (em centímetros cúbicos) dos enxertos foram realizadas utilizando cortes sagitais de 1 mm, avaliando a cor da hiperdensidade diferencial das imagens, seguindo protocolos publicados anteriormente⁹⁷. Após o processo de reconstrução, as dimensões volumétricas foram calculadas automaticamente no programa e representadas em centímetros cúbicos. Essa análise foi feita em todos os exames tomográficos dos pacientes de maneira cega por um único radiologista com experiência em tomografia computadorizada, previamente

treinado, que realizou todas as medidas volumétricas de maneira padronizada. O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi calculado para avaliar a reprodutibilidade de duas medidas realizadas pelo mesmo avaliador em cinco amostras antes de iniciar as análises do presente estudo. Um valor r de 0,98 foi calculado para a comparação das medidas 1 e 2, indicando reprodutibilidade intra- examinador.

4.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software GraphPad Prism (versão 6.0, GraphPad Software, Inc., La Jolla, Califórnia, EUA). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade da distribuição dos dados. O parâmetro idade não apresentou distribuição normal e foi analisado pelo teste Kruskal-Wallis. O volume inicial (T1) dos enxertos apresentou distribuição normal em todos os grupos, porém o volume final (T2) não. Assim, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis para comparação do volume inicial entre os grupos e foram utilizados os testes Wilcoxon (OBD e LPRF/OBD 8) e teste t-pareado (LPRF/OBD 4) para verificar diferença entre os volumes inicial e final dentro de cada grupo. Os dados de estabilidade e da análise histomorfométrica, com exceção da porcentagem de biomaterial residual, apresentaram distribuição normal e foram analisados aplicando-se o teste ANOVA seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. Para analisar a porcentagem de biomaterial residual foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste Dunn para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0,05$). Para os dados da análise imunoistoquímica foi realizada uma análise qualitativa ordinal, por atribuição de escores e representação pela mediana.

5 RESULTADO

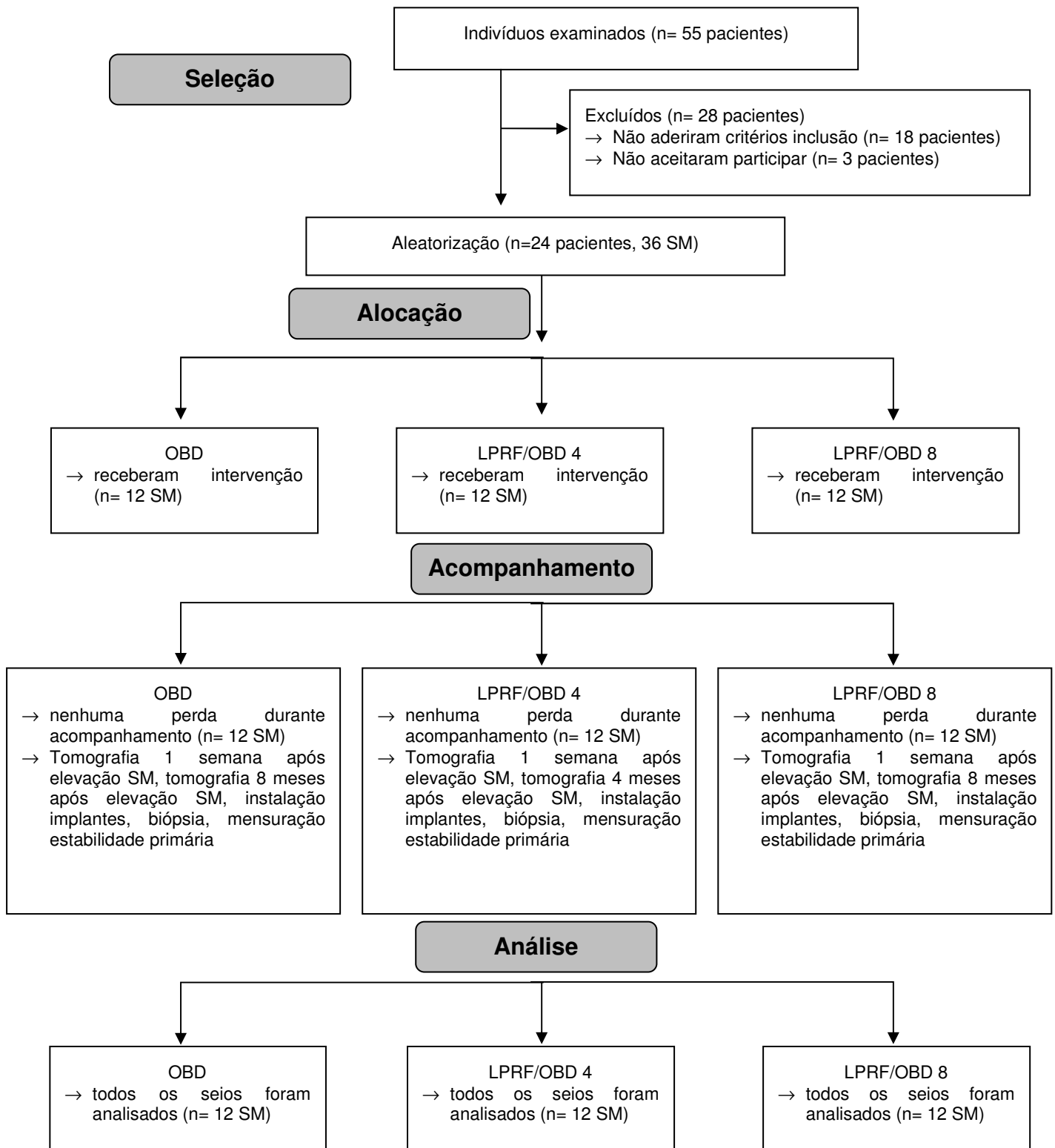
5.1 Amostra

A Figura 8 apresenta o fluxograma do recrutamento e distribuição dos participantes no presente estudo. Um total de 55 indivíduos foram examinados para possível participação no estudo (amostra em potencial). Destes, 28 foram excluídos por não aderirem aos critérios de inclusão e três por não concordarem em participar do estudo.

Dessa forma, 24 participantes, apresentando 36 seios maxilares, com indicação de enxertia óssea previamente à instalação de implantes na região posterior da maxila, foram incluídos no estudo. Os seios maxilares destes indivíduos foram distribuídos de forma aleatória nos três grupos. Após essa aleatorização, todos os seios maxilares receberam a intervenção planejada e todas as análises propostas no presente estudo foram realizadas. Nenhum participante desistiu de participar do estudo ou foi excluído do mesmo.

Os dados demográficos dos participantes do estudo estão descritos na Tabela 1. A idade média dos participantes do estudo foi $54,08 \pm 10,07$ anos, sendo 14 do sexo feminino e 10 do sexo masculino. Não foi observada diferença significativa entre os grupos para o parâmetro idade dos pacientes ($p = 0.5427$). Sete indivíduos apresentavam edentulismo total e 17 eram parcialmente edêntulos. A elevação do seio maxilar foi realizada bilateralmente em 12 indivíduos. Nenhuma complicação foi observada durante ou após os procedimentos cirúrgicos de elevação do seio maxilar. Não foi verificada perfuração da membrana sinusal. Após a reparação do enxerto ósseo (4 meses para grupo LPRF/OBD 4 e 8 meses para os demais grupos), 46 implantes, foram instalados (18 no grupo OBD, 19 no grupo LPRF/OBD 4 e 19 no grupo LPRF/OBD 8). Os implantes instalados apresentavam diâmetro de 4 mm e comprimento de 11 mm. Durante o período de cicatrização, os participantes não usaram nenhuma prótese removível provisória. Nenhum implante foi perdido durante o período do estudo.

Figura 8- Fluxograma referente ao protocolo do estudo (SM = seio maxilar; OBD = Osso bovino desproteinizado; L-PRF= fibrina rica em plaquetas e leucócitos)



Fonte: Elaboração própria.

Tabela 1- Dados dos participantes do estudo

ID	Idade	Gênero	Edentulismo total ou parcial	Seios maxilares incluídos no estudo
1	69	M	P	D e E
2	44	M	P	D e E
3	43	F	P	D
4	59	M	T	D
5	61	F	T	D e E
6	42	F	P	D
7	43	M	P	E
8	58	F	P	D e E
9	58	M	T	D e E
10	57	M	P	D e E
11	59	F	T	D e E
12	59	M	T	E
13	61	M	P	D e E
14	53	F	P	D
15	43	F	P	D e E
16	26	M	T	D
17	63	M	P	D e E
18	64	F	P	D
19	41	F	P	D
20	62	F	P	D e E
21	59	F	P	D e E
22	59	F	P	D
23	60	F	P	D
24	55	F	T	D

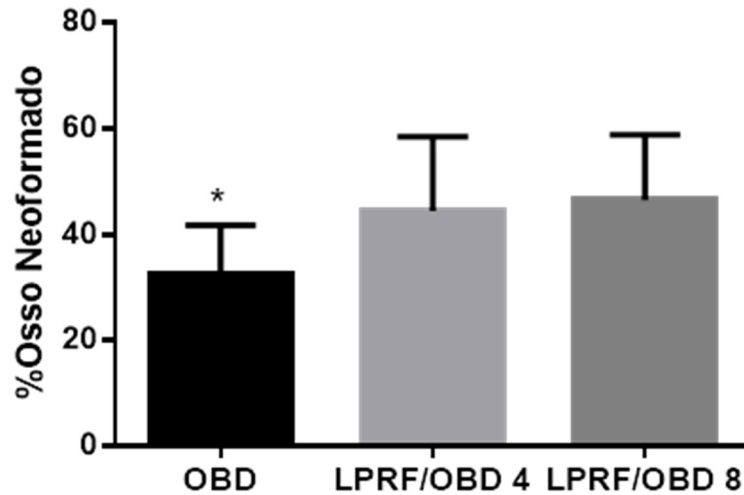
ID= identificação; M= masculino; F= feminino; P= parcialmente edêntulo; T= totalmente edêntulo; D= direito; E=esquerdo

Fonte: Elaboração própria.

5.2 Análise histomorfométrica

Em relação à neoformação óssea, foi possível identificar maiores valores percentuais nos grupos em que a L-PRF foi associada ao OBD (LPRF/OBD 4 - $44,58 \pm 13,09\%$; LPRF/OBD 8 - $46,56 \pm 12,28\%$) do que no grupo em que apenas OBD foi utilizado ($32,34 \pm 9,49\%$), sendo a diferença estatisticamente significativa ($p = 0.0135$; Figura 9). A diferença observada entre os grupos LPRF/OBD 4 e LPRF/OBD 8 não foi significativa (Figura 9)

Figura 9- Porcentagem de osso neoformado nos diferentes grupos do estudo



*Diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos ($p = 0,0135$; teste ANOVA e Tukey).

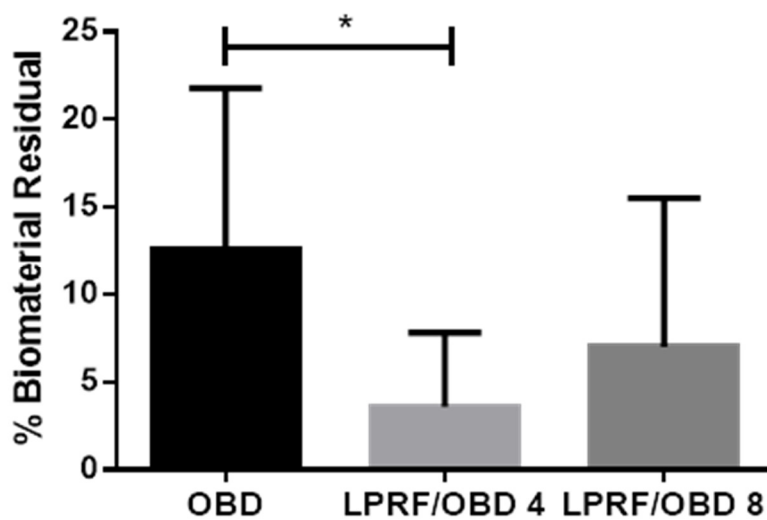
Fonte: Elaboração própria.

O grupo OBD ($12,58 \pm 9,19\%$) apresentou maior porcentagem de enxerto residual em comparação aos demais grupos (LPRF/OBD 4 - $3,59 \pm 4,22\%$; LPRF/OBD 8 - $7,01 \pm 8,49\%$). A diferença foi significativa apenas entre os grupos OBD e LPRF/OBD 4 ($p = 0,0227$; Figura 10)

Em relação à porcentagem de tecido mole (Figura 11), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (OBD - $28,29 \pm 10,07\%$; LPRF/OBD 4 - $26,60 \pm 11,13\%$; LPRF/OBD 8 - $17,76 \pm 12,03\%$; $p = 0,0579$).

As figuras 12 a 14 ilustram os cortes histológicos dos três grupos experimentais do estudo.

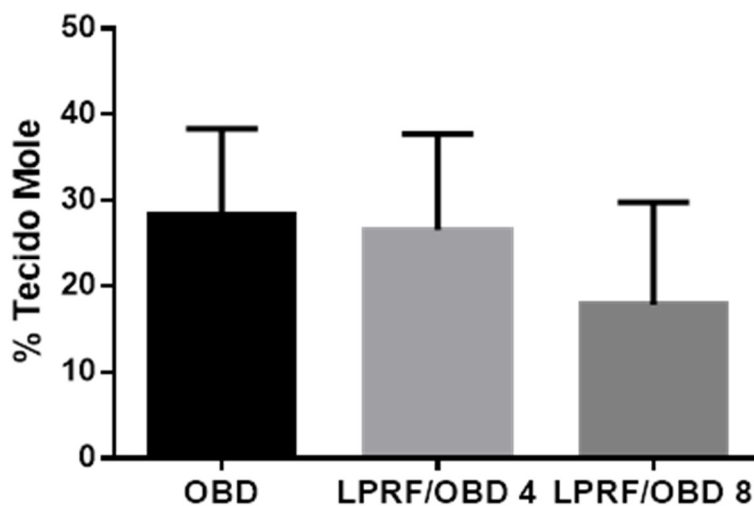
Figura 10- Porcentagem de biomaterial residual nos diferentes grupos experimentais do estudo



*Diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0227$; teste ANOVA e Tukey).

Fonte: Elaboração própria.

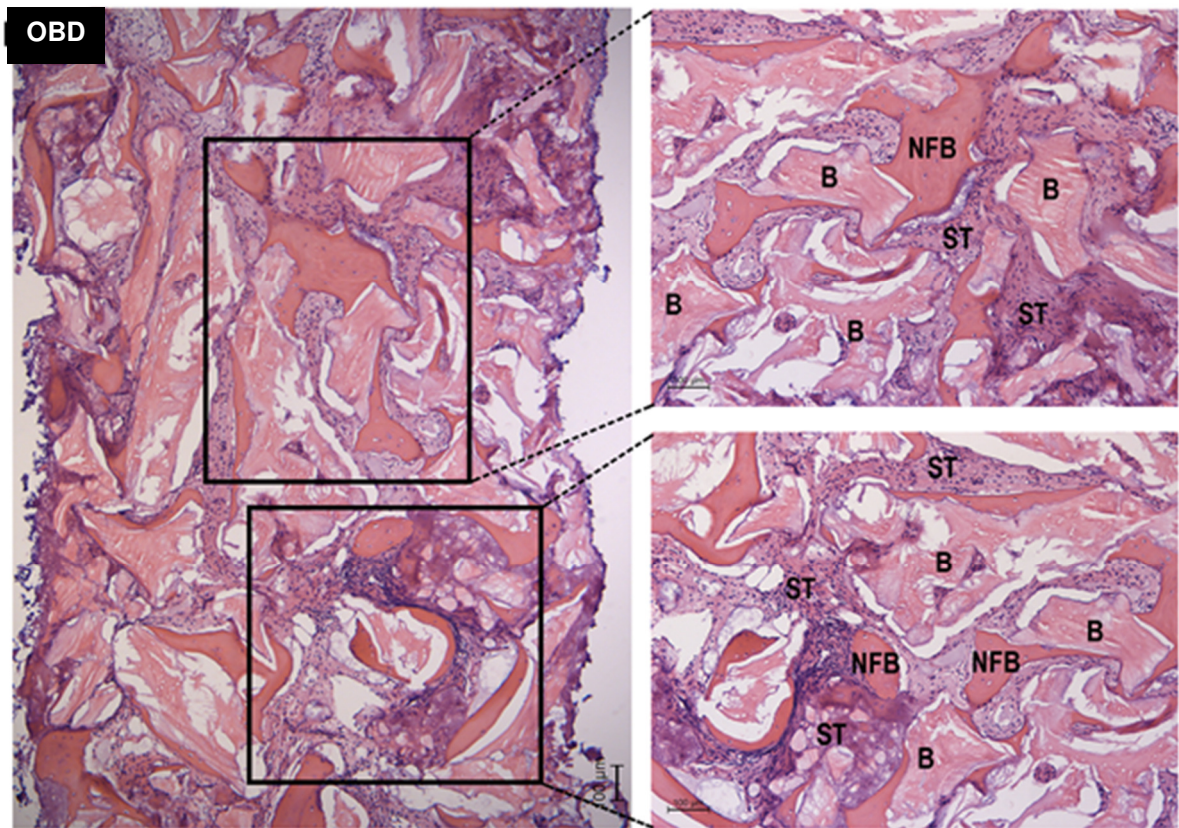
Figura 11- Porcentagem de tecido mole nos diferentes grupos experimentais do estudo



Não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0579$; teste ANOVA e Tukey).

Fonte: Elaboração própria.

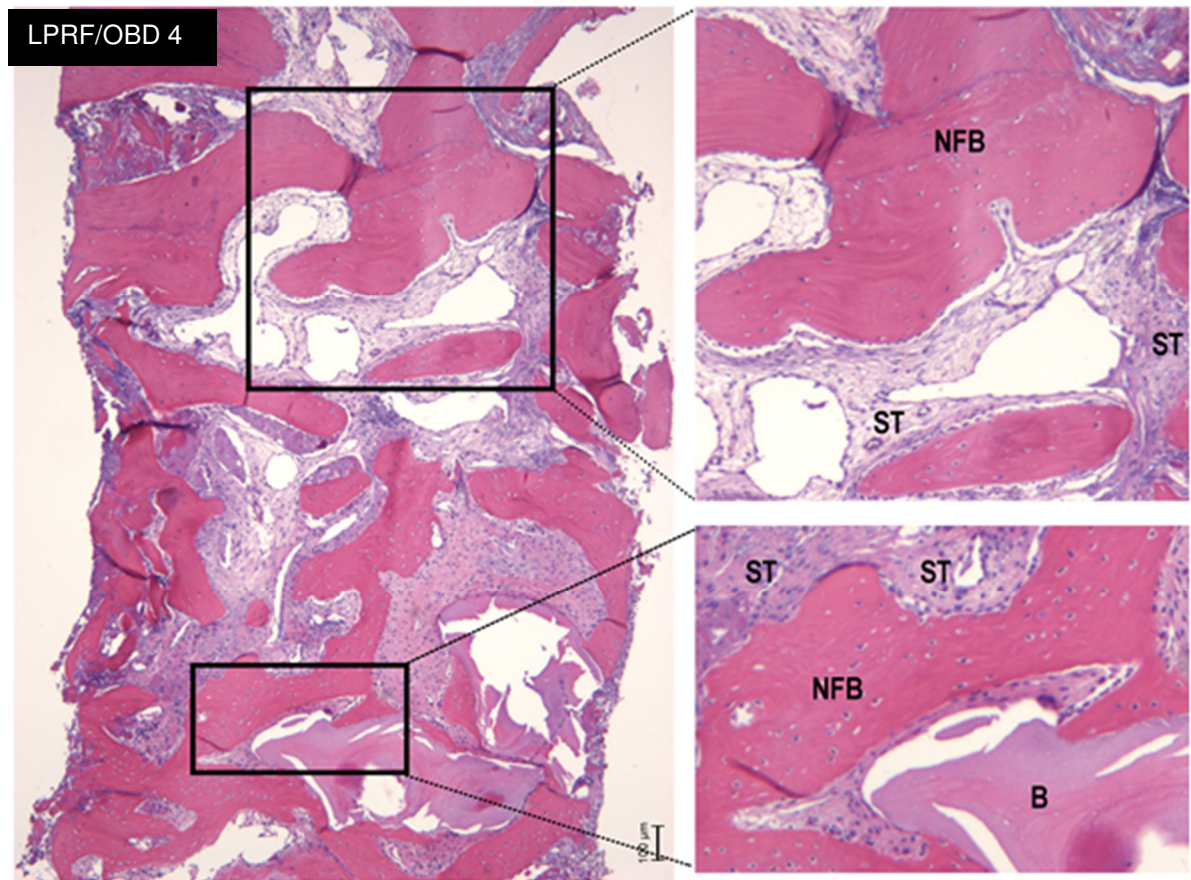
Figura 12- Imagens histológicas obtidas de biópsias das áreas enxertadas do grupo OBD com aumento de 50x e 100x



NFB corresponde ao osso neoformado; B é enxerto residual; e ST corresponde ao tecido mole. Em maior aumento (100x), observa-se tecido ósseo neoformado, mas uma grande quantidade de enxerto residual ainda é detectada após 8 meses de reparação.

Fonte: Elaboração própria.

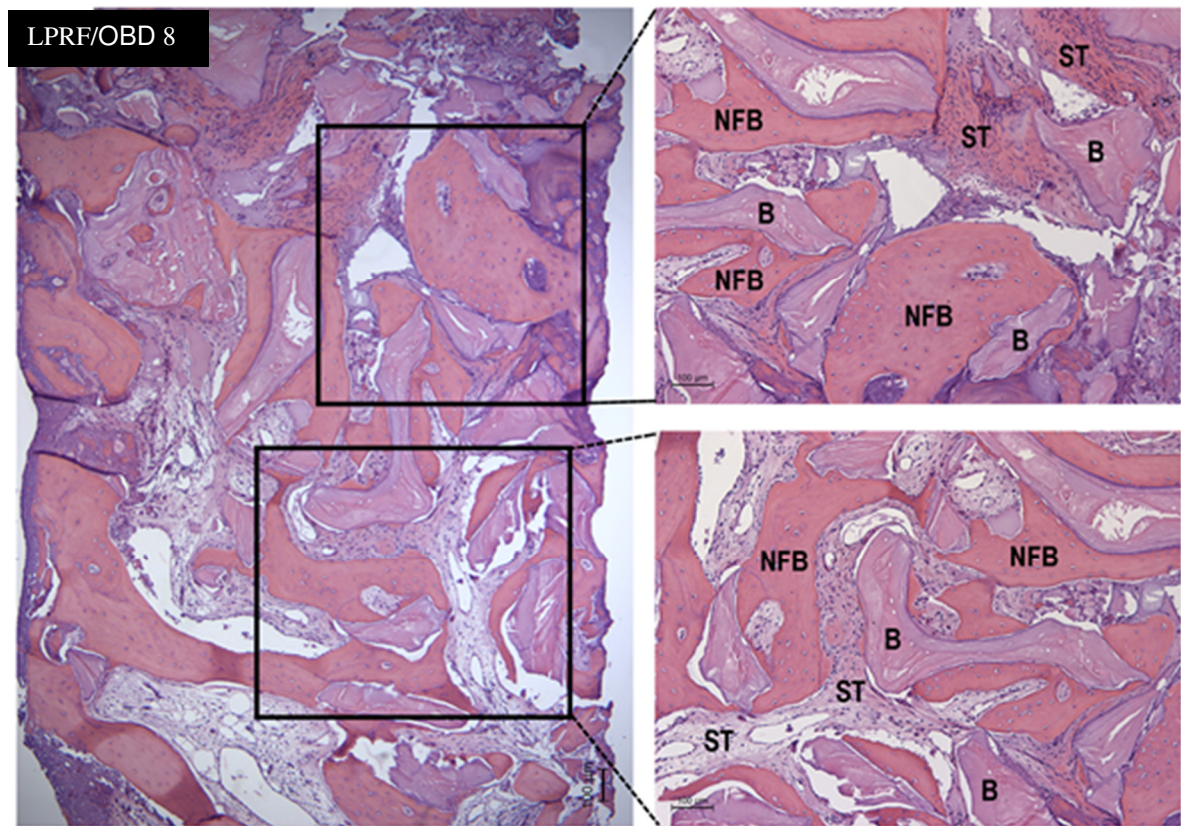
Figura 13- Imagens histológicas obtidas de biópsias das áreas enxertadas do grupo LPRF/OBD 4 com aumento de 50x e 100x



NFB corresponde ao osso neoformado; B é enxerto residual; e ST corresponde ao tecido mole. Em maior aumento (100x), pode-se constatar grande quantidade de tecido ósseo neoformado. Além disso, menor quantidade de biomaterial é observada, o que significa que a maturação do enxerto neste grupo foi mais rápida quando comparada ao grupo controle.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 14- Imagens histológicas obtidas de biópsias das áreas enxertadas do grupo LPRF/OBD 8 com aumento de 50x e 100x



NFB corresponde ao osso neoformado; B é enxerto residual; e ST corresponde ao tecido mole. Em maior aumento (100x), pode-se constatar grande quantidade de tecido ósseo neoformado. Além disso, menor quantidade de biomaterial é observada, o que significa que a maturação do enxerto neste grupo foi mais rápida quando comparada ao grupo controle.

Fonte: Elaboração própria.

5.3 Análise imunoistoquímica

Os resultados da análise imunoistoquímica estão descritos na tabela 2 e na figura 15. O grupo LPRF/OBD 4 mostrou uma marcação mais acentuada de RUNX-2 que os demais grupos. A marcação de VEGF foi similar nos grupos em que a L-PRF foi adicionada, porém foi inferior no grupo controle. As marcações de OPN e OCN também foram mais acentuadas no grupo LPRF/OBD 4.

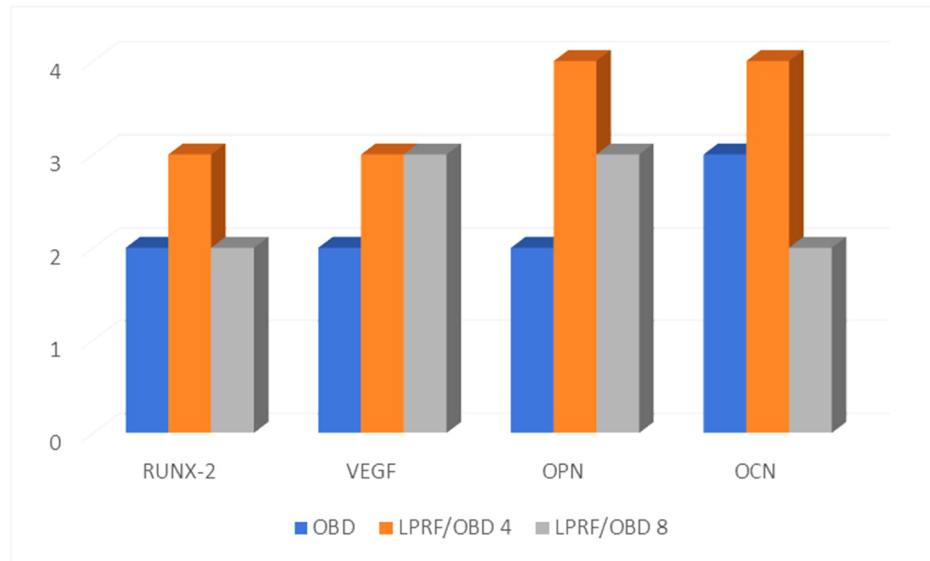
Tabela 2- Porcentagem de cada escore de intensidade atribuído na análise imunoistoquímica para os diferentes grupos do estudo

Proteína	Score	OBD	LPRF/OBD 4	LPRF/OBD 8
RUNX-2	1	0%	0%	0%
	2	80%	10%	90%
	3	20%	60%	10%
	4	0%	30%	0%
VEGF	1	0%	0%	0%
	2	60%	10%	10%
	3	40%	50%	70%
	4	0%	40%	20%
OPN	1	0%	0%	0%
	2	60%	10%	10%
	3	40%	40%	60%
	4	0%	50%	30%
OCN	1	0%	0%	0%
	2	40%	0%	90%
	3	50%	30%	10%
	4	10%	70%	0%

1 = Marcação ausente; 2 = Marcação leve/discreta; 3 = Marcação moderada; 4 = Marcação intensa.

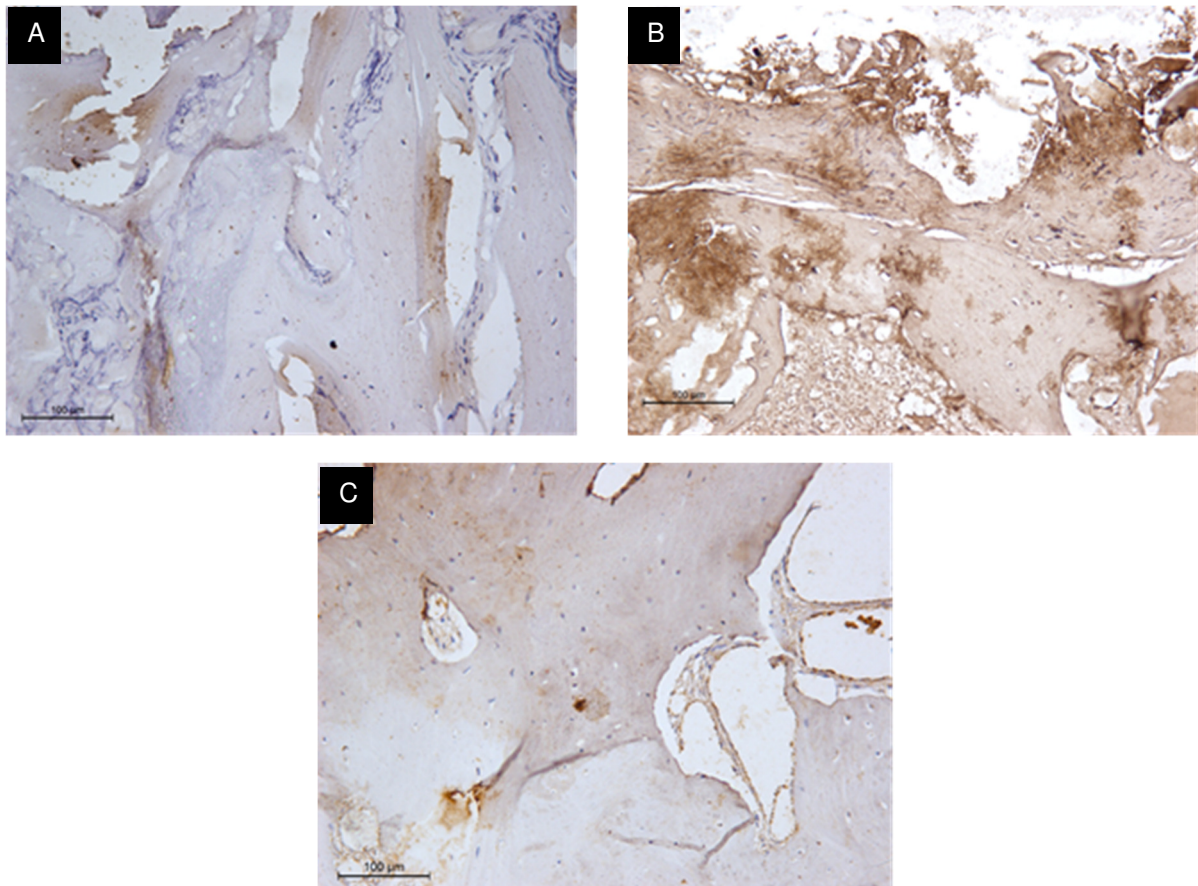
Fonte: Elaboração própria.

Figura 15- Escore de intensidade mais prevalente para cada proteína avaliada nos diferentes grupos do estudo



Fonte: Elaboração própria.

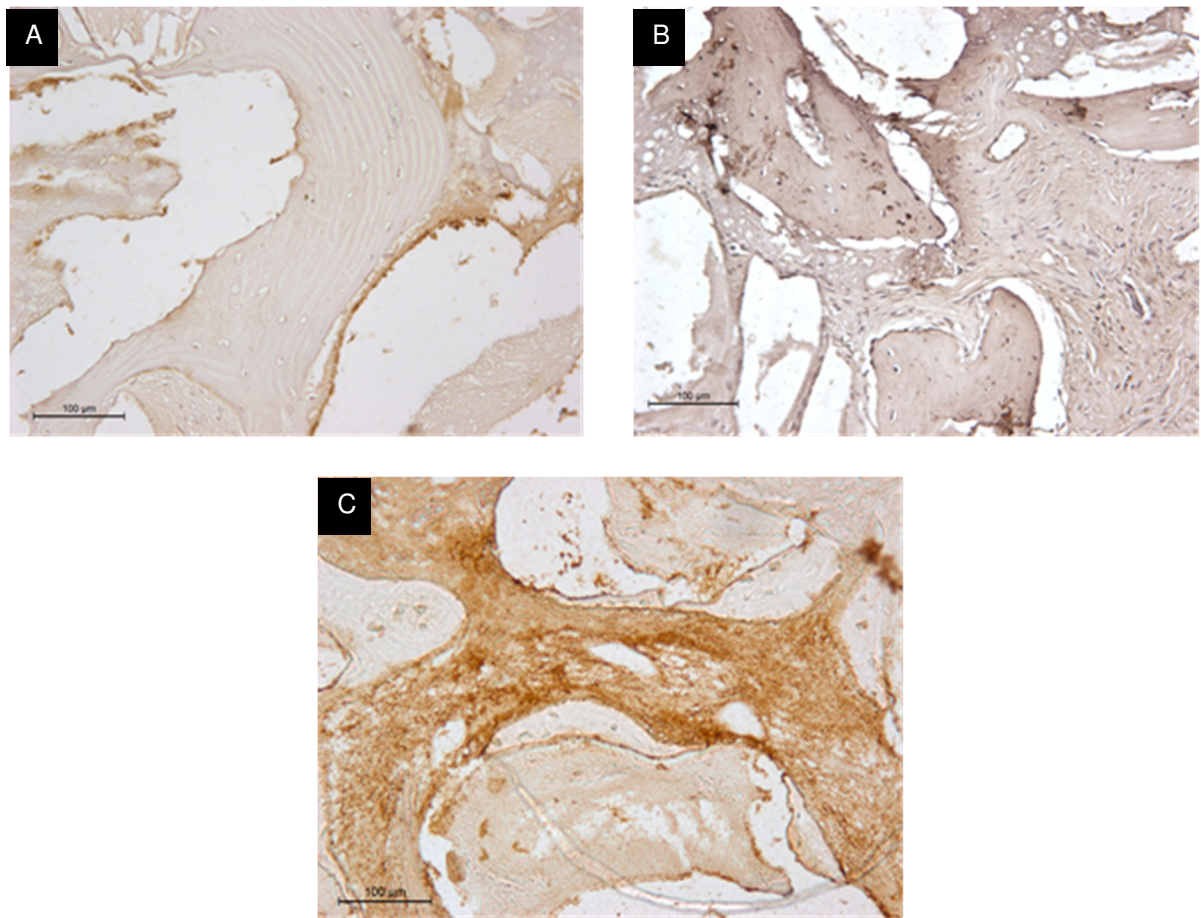
Figura 16- Imagens histológicas representativas da imunomarcação para RUNX-2 para os diferentes grupos do estudo (aumento de 20x).



A) OBD (grupo controle); B) LPRF/OBD 4; C) LPRF/OBD 8.

Fonte: Elaboração própria.

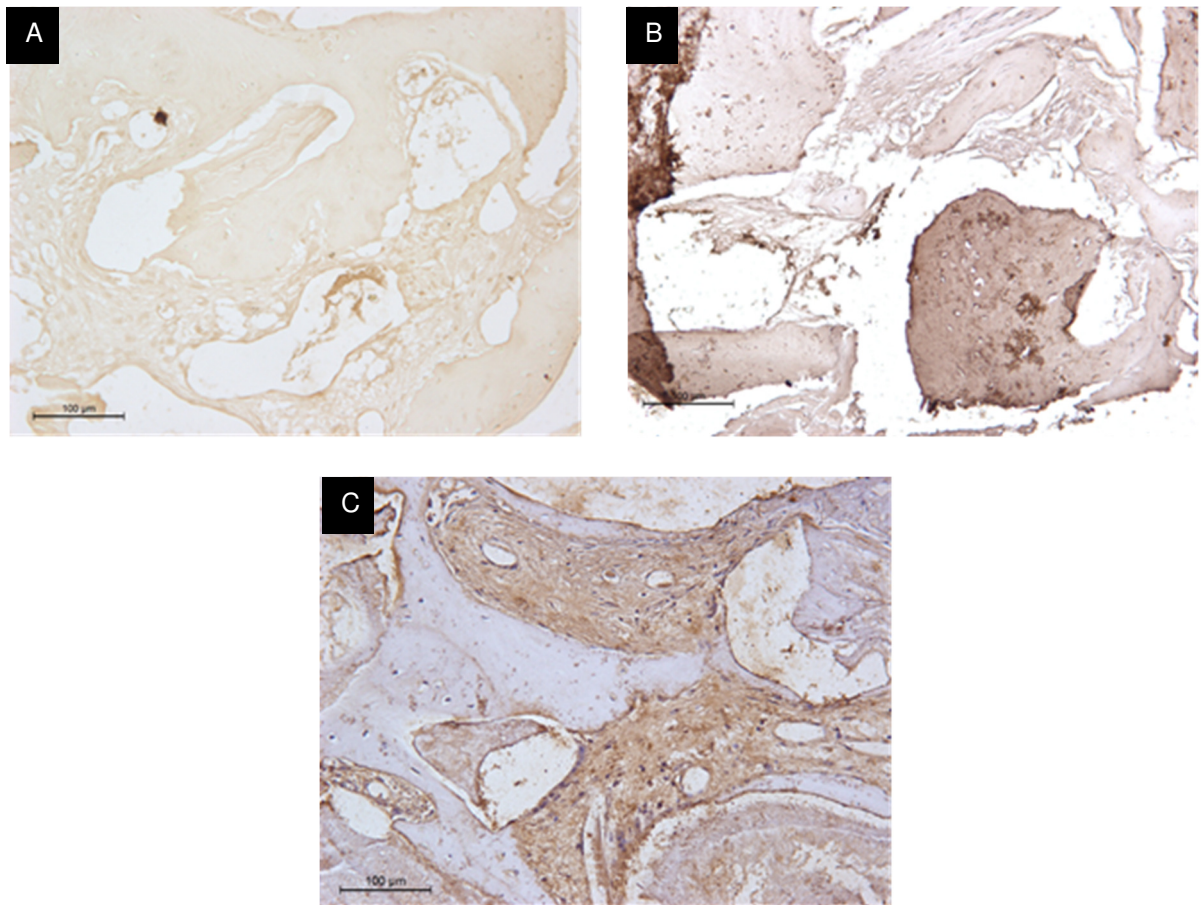
Figura 17- Imagens histológicas representativas da imunomarcção para VEGF para os diferentes grupos do estudo (aumento de 20x)



A) OBD (grupo controle); B) LPRF/OBD 4; C) LPRF/OBD 8.

Fonte: Elaboração própria.

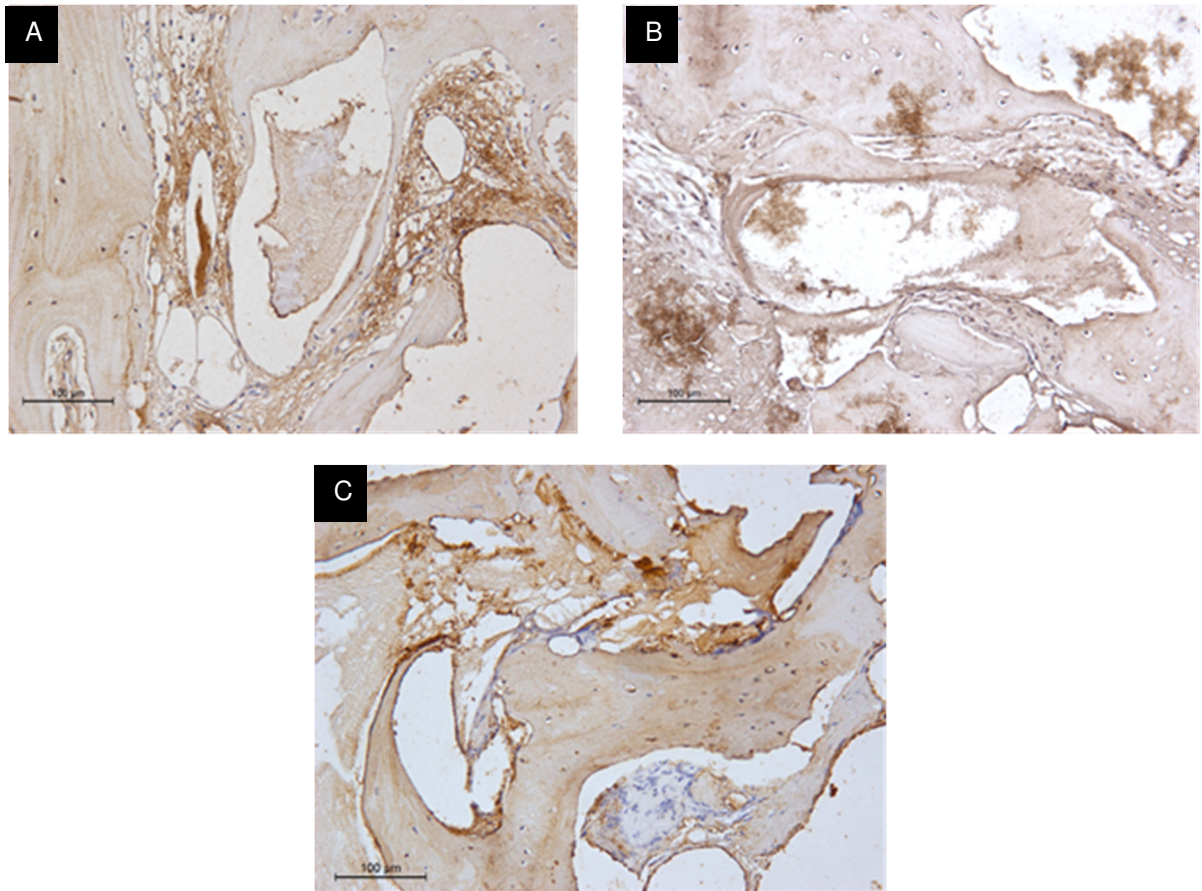
Figura 18- Imagens histológicas representativas da imunomarcagem para OPN para os diferentes grupos do estudo (aumento de 20x)



A) OBD (grupo controle); B) LPRF/OBD 4; C) LPRF/OBD 8.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 19- Imagens histológicas representativas da imunomarcação para OCN para os diferentes grupos do estudo (aumento de 20x).



A) OBD (grupo controle); B) LPRF/OBD 4; C) LPRF/OBD 8.

Fonte: Elaboração própria.

5.4 Análise radiográfica

Os resultados da análise tomográfica estão descritos nas Tabelas 3 a 5. O volume médio do enxerto observado imediatamente após elevação do seio maxilar (T1) para os grupos OBD ($1,39 \pm 0,53 \text{ cm}^3$), LPRF/OBD 4 ($1,69 \pm 0,42 \text{ cm}^3$) e LPRF/OBD 8 ($1,68 \pm 1,05 \text{ cm}^3$) não foi estatisticamente diferente ($p = 0,1649$). Após o período de reparação (T2), o volume médio do enxerto diminuiu em todos os grupos (OBD - $0,90 \pm 0,28 \text{ cm}^3$; LPRF/OBD 4 - $1,11 \pm 0,25 \text{ cm}^3$; LPRF/OBD 8 - $0,95 \pm 0,48 \text{ cm}^3$). A diferença no volume do enxerto entre os dois períodos (T1 e T2) dentro de cada grupo foi estatisticamente significativa ($p = 0,0005$ para os grupos OBD e LPRF/OBD 8, $p < 0,0001$ para o grupo LPRF/OBD 4).

Após 4 meses de reparação, uma redução significativa no volume do enxerto foi observada no grupo LPRF/ODB 4 ($33,13 \pm 10,74\%$). Resultados semelhantes foram observados para os grupos OBD ($33,30 \pm 13,39\%$) e LPRF/ODB 8 ($39,12 \pm 16,87\%$) após 8 meses de reparação. Não foi observada diferença significativa entre os grupos para a porcentagem de reabsorção do enxerto ($p = 0,4934$, Figura 20). Em todos os grupos, o ganho de volume ósseo foi adequado para a instalação dos implantes.

Tabela 3- Volume ósseo (cm^3) mensurado nos seios maxilares enxertados do grupo OBD

Seio Maxilar	Volume Ósseo (cm^3)			% Reabsorção
	T1	T2	T1-T2	
1	1,358	0,861	0,497	36,59
2	1,37	0,667	0,703	51,31
3	1,798	1,113	0,685	38,09
4	0,988	0,892	0,096	9,71
5	2,851	1,514	1,337	46,89
6	0,863	0,508	0,355	41,13
7	1,052	0,595	0,457	43,44
8	1,459	1,032	0,427	29,26
9	1,003	0,677	0,326	32,5
10	1,383	1,065	0,318	22,9
11	1,215	1,098	0,117	9,62
12	1,345	0,832	0,513	38,14
Média	1,39	0,90	0,48	33,30
DP	0,53	0,28	0,33	13,39

As mensurações foram realizadas na tomografia computadorizada realizada uma semana após o procedimento de levantamento do seio maxilar (T1) e após 8 meses de reparo (T2). A diferença obtida entre os dois períodos de avaliação (T1-T2) possibilitou o cálculo da porcentagem de reabsorção do enxerto em cada seio maxilar.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 4- Volume ósseo (cm³) mensurado nos seios maxilares enxertados do grupo LPRF/OBD 4

Seio Maxilar	Volume Ósseo (cm ³)			% Reabsorção
	T1	T2	T1-T2	
1	1,933	1,211	0,722	37,35
2	1,632	0,804	0,828	50,73
3	1,714	1,328	0,386	22,52
4	1,501	1,304	0,197	13,12
5	0,964	0,679	0,285	29,56
6	1,621	0,914	0,707	43,61
7	0,93	0,738	0,192	20,64
8	1,854	1,221	0,633	34,14
9	2,211	1,404	0,807	36,49
10	1,575	1,128	0,447	28,38
11	2,059	1,255	0,804	39,04
12	2,253	1,306	0,947	42,03
Média	1,69	1,11	0,58	33,13
DP	0,42	0,25	0,27	10,74

As mensurações foram realizadas na tomografia computadorizada realizada uma semana após o procedimento de levantamento do seio maxilar (T1) e após 4 meses de reparo (T2). A diferença obtida entre os dois períodos de avaliação (T1-T2) possibilitou o cálculo da porcentagem de reabsorção do enxerto em cada seio maxilar.

Fonte: Elaboração própria.

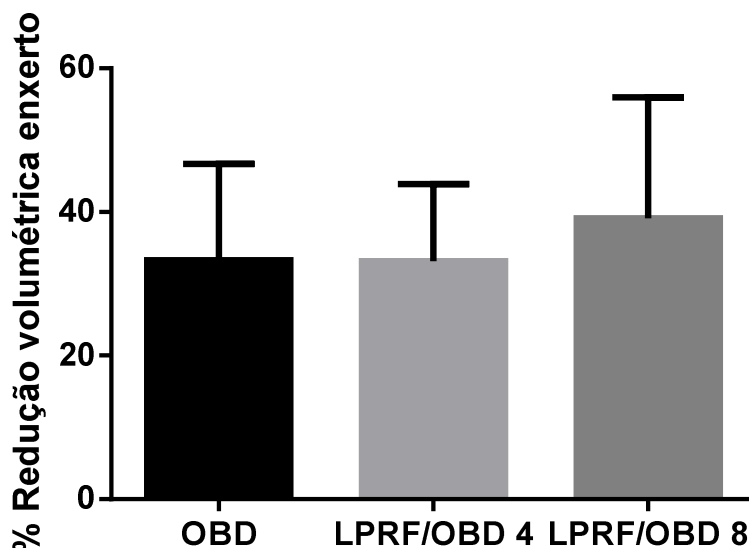
Tabela 5- Volume ósseo (cm³) mensurado nos seios maxilares enxertados do grupo LPRF/OBD 8

Seio Maxilar	Volume Ósseo (cm ³)			% Reabsorção
	T1	T2	T1-T2	
1	1,298	0,796	0,502	38,67
2	0,977	0,601	0,376	38,48
3	1,355	0,551	0,804	59,33
4	0,588	0,49	0,098	16,66
5	1,503	0,944	0,559	37,19
6	3,934	2	1,71	43,46
7	1,762	0,948	0,814	46,19
8	3,688	1,537	2,151	58,32
9	1,307	1,26	0,047	3,59
10	1,088	0,431	0,657	60,38
11	1,754	1,174	0,58	33,06
12	0,933	0,615	0,318	34,08
Média	1,69	0,95	0,72	39,12
DP	1,05	0,48	0,62	16,87

As mensurações foram realizadas na tomografia computadorizada realizada uma semana após o procedimento de levantamento do seio maxilar (T1) e após 8 meses de reparo (T2). A diferença obtida entre os dois períodos de avaliação (T1-T2) possibilitou o cálculo da porcentagem de reabsorção do enxerto em cada seio maxilar.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 19- Valores (média e desvio-padrão) da porcentagem de redução volumétrica dos enxertos nos diferentes grupos do estudo



Não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p = 0,4934$; teste ANOVA e Tukey).

Fonte: Elaboração própria.

5.5 Estabilidade primária

Em relação à estabilidade primária dos implantes (Tabela 6 e Figura 17), foi verificado que os implantes instalados no grupo LPRF/OBD 4 ($60,9 \pm 9,35$) apresentaram uma estabilidade primária significativamente menor em comparação com os implantes instalados nos grupos OBD ($75,56 \pm 4,60$) e LPRF/OBD 8 ($72,19 \pm 5,43$). Entre os grupos LPRF/OBD 8 e OBD, não foi observada diferença estatística.

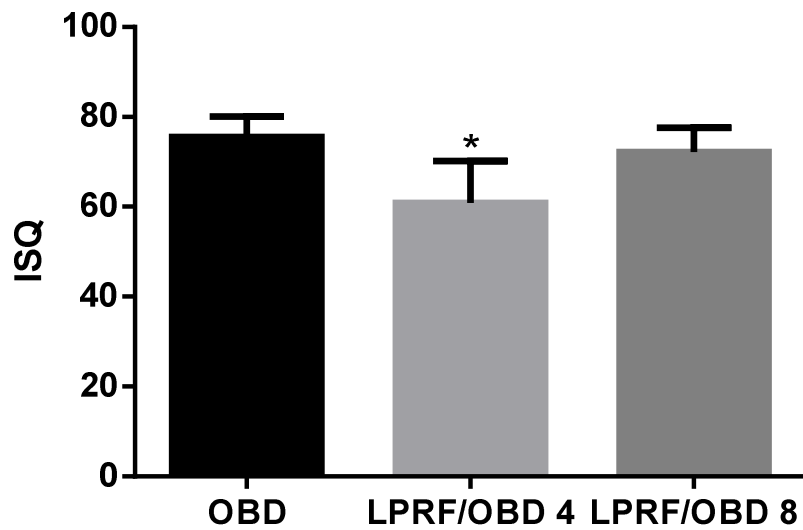
Tabela 6- Valores de ISQ expressos em média, desvio-padrão (DP) e intervalo de confiança de 95%

	OBD	LPRF/OBD 4	LPRF/OBD 8
ISQ			
Média (DP)	75,56 (4,60) ^a	60,90 (9,35) ^b	72,19 (5,43) ^a
(IC 95%)	(72,64-78,48)	(54,95-66,84)	(68,74-75,64)

Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$; teste ANOVA e Tukey).

Fonte: Elaboração própria.

Figura 20- Valores (média e desvio-padrão) da estabilidade primária dos implantes instalados nos diferentes grupos experimentais do estudo



*Diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos ($p < 0,0001$; teste ANOVA e Tukey).

Fonte: Elaboração própria.

6 DISCUSSÃO

Este estudo clínico randomizado foi delineado para investigar a influência da L-PRF no processo de maturação e neoformação óssea, na estabilidade primária do implante e na estabilidade volumétrica do enxerto quando associada ao OBD em procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar. Os resultados das análises clínica, histológica e radiográfica demonstraram que a L-PRF teve um efeito favorável no processo de reparação, acelerando a maturação óssea e aumentando quantidade de tecido ósseo neoformado, sem, contudo, interferir na estabilidade primária do implante e na estabilidade volumétrica do enxerto na cavidade sinusal.

O OBD tem sido o enxerto ósseo mais utilizado nos procedimentos de elevação do seio maxilar. Entretanto, por ser um material osteocondutor com taxa de reabsorção muito lenta, diferentes substâncias bioativas têm sido associadas a este biomaterial com intuito de reduzir o tempo de reparação e aumentar a quantidade de osso neoformado. No presente estudo, foi utilizada a L-PRF, uma segunda geração de concentrado plaquetário, que contém uma série de fatores de crescimento, incluindo PDGF, IGF, VEGF, TGF- β , além de citocinas, quimiocinas e outras moléculas envolvidas na reparação precoce de feridas e na regeneração óssea^{53,54}. Os resultados da análise histomorfométrica mostraram que a adição de L-PRF ao OBD foi benéfica, resultando em maior quantidade de osso neoformado. Os grupos LPRF/OBD 4 ($44,58 \pm 13,09\%$) e LPRF/OBD 8 ($46,56 \pm 12,28\%$) apresentaram uma quantidade significativamente maior de osso neoformado em comparação com o grupo controle no qual foi utilizado apenas OBD ($32,34 \pm 9,49\%$). Estes resultados sugerem que a L-PRF tem um papel importante no processo de reparação, acelerando a maturação óssea e aumentando a quantidade de tecido ósseo neoformado, o que possibilitou a instalação precoce de implantes nos seios maxilares enxertados. Apesar da ausência de diferença significativa na neoformação óssea entre o grupo enxertado com osso alógeno desmineralizado seco e congelado associado à L-PRF e o grupo enxertado apenas com osso alógeno, Choukroun et al.⁸⁰ demonstraram que a adição de L-PRF reduziu o tempo de maturação do enxerto possibilitando a instalação de implantes após 4 meses de reparação. No grupo controle foi aguardado o período de 8 meses para a instalação dos implantes. Tatullo et al.⁸³ também constataram que a adição de L-PRF ao OBD acelera o processo de reparação e neoformação óssea. Três protocolos distintos de reparação foram avaliados: protocolo precoce com

instalação dos implantes após 106 dias, protocolo intermediário após 120 dias e protocolo tardio após 150 dias. Os resultados mais interessantes da eficácia da L-PRF foram verificados no protocolo precoce. Observou-se a presença de tecido ósseo lamelar com estroma interposto ricamente vascularizado, demonstrando a capacidade da L-PRF em acelerar a neoformação óssea.

Por outro lado, outros estudos não demonstraram benefício adicional da utilização da L-PRF em associação ao OBD em procedimentos de levantamento do seio maxilar. No estudo de Nizam et al.⁹⁰, os resultados na análise histomorfométrica não mostraram diferenças significativas entre os grupos teste e controle na porcentagem de osso neoformado, de enxerto residual e de tecidos mole. Neste estudo, a porcentagem de osso neoformado nos grupos teste ($21,38 \pm 8,78\%$) e controle ($21,25 \pm 5,59\%$) foram inferiores às observadas em nosso estudo. Essa variação poderia ser justificada por diferenças metodológicas, incluindo protocolo distinto de centrifugação, diferente tamanho das partículas do OBD utilizado, diferença na quantidade de L-PRF utilizada (a quantidade de membranas utilizadas ou a proporção de L-PRF/OBD utilizada não foi relatada no estudo de Nizam et al.⁹⁰) e diferenças na área analisada da biópsia. Zhang et al.⁸⁹ verificaram uma porcentagem 1,4 vezes maior de osso neoformado no grupo em que a L-PRF foi adicionada ao OBD do que no grupo controle ($18,35 \pm 5,62\%$ versus $12,95 \pm 5,33\%$) e uma porcentagem 1,5 vezes maior de enxerto ósseo residual no grupo controle do que no grupo teste ($28,54 \pm 12,01\%$ versus $19,16 \pm 6,89\%$). No entanto, as diferenças observadas não foram estatisticamente significantes. Baseados nestes resultados, foi concluído que a adição de L-PRF ao OBD não resulta em vantagens ou desvantagens após o período de 6 meses de reparação.

Revisões sistemáticas recentes mostram que o número de estudos clínicos randomizados que avaliam a utilização da L-PRF em associação a enxertos ou substitutos ósseos nas cirurgias de elevação do seio maxilar ainda é pequeno. Na revisão sistemática com metanálise de Liu et al.⁷², apenas cinco estudos clínicos randomizados foram incluídos. Além disso, a heterogeneidade entre os estudos foi grande e o risco de viés considerado alto. As técnicas para obtenção e preparo da L-PRF foram diferentes nos estudos, assim como o período de reparação, altura óssea residual, tamanho da amostra e técnicas cirúrgicas indicadas. Assim, uma conclusão definitiva, com forte evidência, sobre os efeitos da L-PRF em procedimentos regenerativos no seio maxilar ainda não pode ser feita, sendo necessários estudos a

longo prazo incluindo a mesma versão da L-PRF. Baseado nos estudos incluídos na metanálise, a adição de L-PRF parece reduzir o tempo de reparação tecidual, porém parece não melhorar significativamente a quantidade de osso neoformado⁷².

Por outro lado, outras revisões sistemáticas já revelaram benefícios adicionais da L-PRF em outras aplicações dentro da Periodontia, Implantodontia e Cirurgia Bucomaxilofacial. Strauss e Stähli et al.⁹³ selecionaram criteriosamente estudos clínicos randomizados e controlados que tinham utilizado a L-PRF sozinha ou associada a outro material de enxerto para avaliar preservação da crista alveolar após exodontia, cicatrização de tecidos moles, processo de osseointegração, regeneração óssea após elevação seio maxilar e tratamento da peri-implantite. Dos 12 estudos incluídos, nove mostraram resultados superiores para a L-PRF para as variáveis dimensão da crista, regeneração óssea, processo de osseointegração e cicatrização de tecidos moles; enquanto três estudos falharam em mostrar efeitos favoráveis da L-PRF. Nenhuma meta-análise foi realizada também devido à heterogeneidade dos estudos. Foi concluído que existem evidências moderadas apoiando o benefício clínico da L-PRF na preservação alveolar e na fase inicial da osseointegração. Castro et al.⁷⁰, em outra revisão sistemática com metanálise, apresentaram resultados favoráveis e significativos para a utilização de L-PRF no tratamento de defeitos infra-ósseos e de defeitos de furca. Contudo, os autores alertam que além da L-PRF possuir muitas aplicações, ainda não existe um protocolo cirúrgico padrão claro. O número de membranas de L-PRF utilizadas varia enormemente, assim como a quantidade de sangue coletado, tubo utilizado, tipo de centrífuga e a força de centrifugação atribuída. Protocolos mais padronizados incluindo a mesma versão de PRF ainda são necessários para permitir uma melhor comparação entre os resultados dos estudos.

Os resultados da análise imunoistoquímica do presente estudo corroboram os resultados obtidos na análise histomorfométrica, indicando que a associação da L-PRF ao OBD pode realmente contribuir com a neoformação óssea e a redução do tempo de reparo. As imunomarcações foram realizadas com o objetivo de avaliar a presença de marcadores celulares relacionados a importantes eventos no processo de reparo ósseo. A RUNX-2, um fator de transcrição que se apresenta como um marcador da diferenciação de pré-osteoblastos, mostrou-se presente em maior intensidade no grupo LPRF/OBD 4 do que nos demais grupos, indicando uma intensa diferenciação osteoblástica neste grupo que contribui para deposição de tecido neoformado. O VEGF, um marcador de fator de crescimento vascular endotelial,

mostrou-se presente em maior intensidade nos osteoblastos dos grupos com adição de L-PRF do que no grupo controle. Já os marcadores de mineralização óssea, tanto a OPN como a OCN, mostraram-se mais evidentes nas células da linhagem osteoblástica bem como na matriz extracelular mineralizada do grupo LPRF/OBD 4 do que nos demais grupos. As maiores áreas de imunomarcagem para osteocalcina no grupo LPRF/OBD 4 indicam que a adição de L-PRF foi importante para a constante ativação celular e, conseqüentemente, do processo de mineralização óssea. Não encontramos na literatura até o presente momento, estudos prévios que avaliaram a expressão destes marcadores celulares em biópsias obtidas de seios maxilares humanos enxertados com a utilização da L-PRF. Desta forma, a análise deste estudo fornece dados em humanos que são inéditos na literatura.

Em um estudo em animais⁹⁵, defeitos ósseos críticos foram criados na calvária de camundongos. Estes defeitos foram preenchidos com 5 biomateriais diferentes, sendo eles: osso autógeno, OBD, L-PRF, L-PRF associada ao OBD e apenas coágulo sanguíneo. Após 4 e 8 semanas de reparo, foram realizadas análises imunoistoquímicas para VEGF, OCN e RUNX2 que indicaram aspecto favorável para neoformação óssea no grupo L-PRF + OBD, também com expressão elevada de VEGF. Em outro estudo⁹⁸ também em animais, 2 defeitos de 10 mm foram criados em calvária de coelhos. Cada defeito (direito e esquerdo) foi preenchido por um biomaterial diferente. Os animais foram divididos em 4 grupos, sendo grupo I: defeito direito preenchido apenas com coágulo sanguíneo e o esquerdo com L-PRF; grupo II: defeito direito preenchido com osso autógeno particulado e defeito esquerdo preenchido com enxerto autógeno + L-PRF; grupo III: defeito direito preenchido apenas com OBD e o esquerdo com L-PRF+OBD; grupo IV: defeito direito preenchido com β -TCP e o esquerdo com L-PRF + β -TCP. Biópsias foram obtidas após 8 semanas e a análise imunoistoquímica foi realizada utilizando OCN e OPN. As marcações para OCN mostraram um impulso crucial em todos os defeitos que utilizaram L-PRF na comparação intra-grupo; no entanto, apenas o grupo II foi estatisticamente significativo. A avaliação da OPN mostrou também uma marcação positiva nos defeitos que utilizaram L-PRF na comparação intra-grupo. Na comparação entre os grupos em relação aos biomateriais de preenchimento que não foram associados à L-PRF, o grupo autógeno foi dominante. Já na comparação entre os que utilizaram L-PRF, o enxerto autógeno combinado com L-PRF novamente exibiu os melhores resultados, sendo estatisticamente mais favorável em comparação ao

uso isolado da L-PRF. Contudo, estes são resultados de estudos em animais com 8 meses de reparo ósseo. Outras análises imunoistoquímicas de estudos em humanos, com maior tempo de reparo devem ser realizadas.

A tomografia computadorizada tem sido considerada uma técnica confiável para visualização tridimensional das alterações volumétricas após elevação do seio maxilar. Estudos prévios que avaliaram a estabilidade do enxerto após elevação do seio maxilar com OBD demonstraram uma ampla variação nas taxas de reabsorção do enxerto. Kühl et al.⁹⁹ verificaram em dois grupos diferentes uma diminuição significativa do volume ósseo variando de 15,2% (3% - 27,3%) a 21,5% (11,3% - 37,3%). A redução volumétrica mensurada por Kirmeier et al.¹⁰⁰ variou de 0,4 a 33%. Umanjec-Korac et al.¹⁰¹ verificaram uma taxa de reabsorção de 19,3% (1,63% - 34,55%) no seguimento de dois anos em um estudo retrospectivo, enquanto Xavier et al.¹⁰² observaram uma redução volumétrica de 11,6% (3,17% - 18,47%) (Xavier et al., 2016). Por outro lado, Klein et al.¹⁰³ observaram um aumento volumétrico significativo em todos os seios maxilares enxertados com OBD, com média de 9,10% (0,33% - 25,97%). No presente estudo, os seios enxertados com OBD apresentaram uma redução volumétrica média de $33,30 \pm 13,39\%$ após 8 meses de reparo. Essa grande variação observada na taxa de reabsorção do OBD pode estar associada a altura óssea pré-operatória, anatomia da cavidade sinusal, método cirúrgico, forças de compressão, forças de re-pneumatização e superfície residual da parede em contato com o material de enxerto^{3,100,104,105}.

Em relação à influência da L-PRF na estabilidade volumétrica do enxerto, nossos resultados revelam que a adição da L-PRF não contribuiu para um aumento da redução volumétrica do enxerto na cavidade sinusal. A taxa de reabsorção do enxerto foi ligeiramente superior no grupo L-PRF/OBD 8, porém a diferença não foi significativa em relação aos demais grupos. Apesar de não termos mensurado a quantidade exata de enxerto ósseo utilizada em cada seio maxilar, podemos especular que uma menor quantidade de OBD foi inserida no seio maxilar quando este biomaterial foi misturado com L-PRF. Isso porque o volume de cada membrana de L-PRF (4-5 mL) reduz a quantidade necessária de OBD para preencher a cavidade sinusal. Choukroun et al.⁸⁰ constataram que a associação da L-PRF com OBD reduz a quantidade de enxerto ósseo utilizado sem comprometer a quantidade de osso neoformado. No presente estudo, mesmo utilizando uma quantidade provavelmente menor de OBD nos grupos LPRF/OBD 4 e LPRF/OBD 8, o volume do

enxerto mensurado na tomografia realizada imediatamente após o procedimento de elevação do seio maxilar foi semelhante ao do grupo controle. Depois da avaliação da tomografia realizada 4 ou 8 meses após o procedimento cirúrgico, foi constatada uma redução volumétrica de 39% para o grupo LPRF/OBD 8 e de 33% para os grupos LPRF/OBD 4 e controle. Apesar da perda volumétrica ter sido ligeiramente maior no grupo LPRF/OBD 8, as diferenças entre os grupos não foi significativa. Estes resultados sugerem que a degradação da L-PRF pode estimular a indução de nova formação óssea nos seios maxilares evitando, assim, maiores alterações volumétricas do enxerto. A redução volumétrica observada no grupo LPRF/OBD 8 foi inferior à redução volumétrica observada nos procedimentos de levantamento do seio maxilar com utilização apenas do osso autógeno (48,04%, variando de 21,5% a 75,1%)¹⁰⁵.

As reduções volumétricas que ocorrem nos seios maxilares enxertados geralmente não comprometem a instalação dos implantes em um procedimento de dois estágios cirúrgicos. No entanto, é importante que o clínico entenda as alterações dimensionais que podem ocorrer após esse tipo de cirurgia. Essas alterações influenciam a escolha do biomaterial e o prognóstico do implante^{105,106}. A estabilidade a longo prazo do volume ósseo enxertado tem sido considerada um fator importante para o sucesso dos implantes. Deve-se obter um volume e uma qualidade óssea adequada no seio maxilar enxertado para reduzir o estresse e a tensão intraóssea na interface osso-implante causada por forças mastigatórias¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. A adição da L-PRF na proporção de 1 membrana picotada para cada 0,5 g de OBD realizada neste estudo não resultou em alterações volumétricas significativas nos grupos que receberam L-PRF em comparação com o grupo controle. Ainda não existe um consenso na literatura em relação a proporção ideal a ser utilizada de enxerto ou substituto ósseo e L-PRF nos procedimentos regenerativos⁷⁰.

A obtenção de estabilidade primária adequada é considerada um fator importante para o sucesso do implante^{108,109}. No presente estudo, a estabilidade primária dos implantes foi mensurada pela análise de frequência de ressonância. Os implantes instalados após 4 meses de reparação no grupo L-PRF/OBD 4 apresentaram valores significativamente menores em relação aos implantes instalados nos demais grupos após 8 meses de reparo. Este resultado era esperado pelo menor tempo de reparação neste grupo. Mesmo com metade do tempo de reparação em relação aos demais grupos, os valores de ISQ atingidos ($60,90 \pm 9,35$) podem ser considerados satisfatórios^{110,111} e não comprometeram a osseointegração

dos implantes. Nos grupos LPRF/OBD 8 e OBD, a grande maioria dos implantes revelou um valor de ISQ maior ou igual a 70. Tajima et al.⁸⁴ obtiveram valores similares de ISQ após 6 meses de elevação do seio maxilar com utilização L-PRF, com valor médio de 66,5 (intervalo de 57 a 75). Nossos dados sugerem que no grupo LPRF/OBD 4 foi alcançada uma maturação adequada do enxerto ósseo, o que permitiu a instalação de implantes com adequada estabilidade primária.

Conforme já mencionado anteriormente, uma limitação do nosso estudo foi a não mensuração da quantidade exata de enxerto ósseo utilizada em cada seio maxilar, independente do tratamento realizado. Além disso, não foi mensurado o volume inicial de cada seio maxilar. Estes dados poderiam trazer informações complementares em relação a influência da quantidade de biomaterial utilizado e das dimensões e anatomia do seio maxilar na taxa de reabsorção do enxerto e na quantidade de osso neoformado. Outra limitação do estudo é o curto período de acompanhamento dos pacientes.

De maneira geral, nossos resultados demonstraram que a adição de L-PRF ao OBD trouxe benefícios adicionais ao processo de reparação e neoformação óssea. Assim, além de ser vantajosa do ponto de vista biológico, o uso de L-PRF pode reduzir o custo do procedimento cirúrgico pela menor quantidade de enxerto ósseo necessária para preencher o seio maxilar. A técnica para obtenção deste concentrado plaquetário é extremamente simples, rápida, sem oferecer danos ao paciente e ainda possui baixo custo⁵⁹. Além disso, as membranas são fáceis de usar em combinação com os materiais de enxerto no seio maxilar. A rede densa de fibrina da L-PRF ajuda a evitar dispersão das pequenas partículas do biomaterial e sua consistência elástica permite ao cirurgião inserir facilmente a mistura no interior do assoalho do seio¹¹⁴. No entanto, mais trabalhos clínicos controlados precisam ser realizados, com períodos de acompanhamento em longo prazo, para que uma conclusão definitiva possa ser tomada em relação aos benefícios da utilização da L-PRF nos procedimentos de elevação do seio maxilar.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, foi possível concluir que:

- A adição da L-PRF ao OBD trouxe benefícios adicionais ao processo de reparação e neoformação óssea, acelerando a maturação óssea e aumentando quantidade de tecido ósseo neoformado.
- O uso da L-PRF em associação ao osso bovino desproteinizado pode ser uma alternativa viável para redução do tempo necessário para instalação de implantes na região posterior de maxilas atroficas após procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar.
- A associação da L-PRF ao OBD teve um efeito positivo na expressão de proteínas envolvidas em atividades de diferenciação celular e mineralização da matriz extracelular do tecido ósseo, principalmente no período mais curto de reparação.
- A adição da L-PRF ao OBD não interferiu na estabilidade primária dos implantes nem na taxa de reabsorção volumétrica do enxerto no período pós-operatório.

REFERÊNCIAS*

1. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003; 23(4): 313-23.
2. Bahat O. Treatment planning and placement of implants in the posterior maxillae: report of 732 consecutive Nobelpharma implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1993; 8: 151-61.
3. Wallace SS, Froum SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003; (1): 328-43.
4. Bränemark PI; Adell R; Albrektsson T; Lekholm U; Lindström J; Rockler B. An experimental and clinical study of osseointegrated implants penetrating the nasal cavity and maxillary sinus. *J Oral Maxillofac Surg*. 1984; 42(8): 497-505.
5. Isaksson S. Evaluation of three bone grafting techniques for severely resorbed maxillae in conjunction with immediate endosseous implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1994; 9: 679-88.
6. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009; 24(Suppl): 237-59.
7. Pelo S, Gasparini G, Moro A, Boniello R, Amoroso PF. Segmental Le Fort I osteotomy with bone grafting in unilateral severely atrophied maxilla. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 38: 246-49.
8. Munoz-Guerra MF, Naval-Gias L, Capote-Moreno A. Le Fort I osteotomy, bilateral sinus lift, and inlay bone-grafting for reconstruction in the severely atrophic maxilla: a new vision of the sandwich technique, using bone scrapers and piezosurgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67: 613-18.
9. Cordaro L, Torsello F, Accorsi Ribeiro C, Liberatore M, Mirisola di Torresanto V. Inlay-onlay grafting for three-dimensional reconstruction of the posterior atrophic maxilla with mandibular bone. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 39: 350-57.
10. Felice P, Iezzi G, Lizio G, Piattelli A, Marchetti C. Reconstruction of atrophied posterior mandible with inlay technique and mandibular ramus block graft for implant prosthetic rehabilitation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67: 372-80.
11. Renouard F, Nisand D. Short implants in the severely resorbed maxilla: a 2-year retrospective study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005; 7(Suppl 1): S104-S110.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980;38(8):613-6.
13. Starch-Jensen T, Aludden H, Hallman M, Dahlin C, Christensen AE, Mordenfeld A. A systematic review and meta-analysis of long-term studies (five or more years) assessing maxillary sinus floor augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018; 47: 103-16.
14. Tetsch J, Tetsch P, Lysek DA. Long-term results after lateral and osteotome technique sinus floor elevation: a retrospective analysis of 2190 implants over a time period of 15 years. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21: 497-503.
15. Lutz R, Berger-Fink S, Stockmann P, Neukam FW, Schlegel KA. Sinus floor augmentation with autogenous bone vs. a bovine-derived xenograft-a 5-year retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26: 644-48.
16. Maddalone M, Mirabelli L, Venino PM, Karanxha L, Porcaro G, DelFabbro M. Long-term stability of autologous bone graft of intraoral origin after lateral sinus floor elevation with simultaneous implant placement. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018; 20: 713-21.
17. Khoury F, Keller P, Kerve PL. Stability of grafted implant placement sites after sinus floor elevation using a layering technique: 10-year clinical and radiographic results. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017; 32:1086-96.
18. Tatum H. Maxillary and sinus implant reconstruction. *Dent Clin North Am.* 1986; 30(6): 207-29.
19. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2007; 9(3): 166-77.
20. Handschel J, Simonowska M, Naujoks C, Depprich RA, Ommerborn MA, Meyer U, Kübler NR. A histomorphometric meta-analysis of sinus elevation with various grafting materials. *Head Face Med.* 2009; 11: 5-12.
21. Kim YK, Yun PY, Kim SG, Lim SC. Analysis of the healing process in sinus bone grafting using various grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107: 204-11.
22. Srouji S, Kizhner T, Ben David D, Riminucci M, Bianco P, Livne E. The Schneiderian membrane contains osteoprogenitor cells: in vivo and in vitro study. *Calcif Tissue Int.* 2009;84(2):138-45.
23. Srouji S, Ben-David D, Lotan R, Riminucci M, Livne E, Bianco P. The innate osteogenic potential of the maxillary sinus (Schneiderian) membrane: an ectopic tissue transplant model simulating sinus lifting. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 39(8): 793-801.
24. Ocak H, Kutuk N, Demetoglu U, Balcioglu E, Ozdamar S, Alkan A. Comparison of Bovine Bone-Autogenic Bone Mixture Versus Platelet-Rich Fibrin for Maxillary Sinus Grafting: Histologic and Histomorphologic Study. *J Oral Implantol.* 2017; 43(3): 194-201.

25. Silva LD, de Lima VN, Faverani LP, de Mendonça MR, Okamoto R, Pellizzer EP. Maxillary sinus lift surgery-with or without graft material? A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016; 45(12): 1570-76.
26. Pérez-Martínez S, Martorell-Calatayud L, Peñarrocha-Oltra D, García-Mira B, Peñarrocha-Diago M. Indirect sinus lift without bone graft material: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Exp Dent*. 2015; 7(2): e316-9.
27. Sul SH; Choi BH; Li J, Jeong SM, Xuan F. Histologic changes in the maxillary sinus membrane after sinus membrane elevation and the simultaneous insertion of dental implants without the use of grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 105(4): e1-e5.
28. Sul SH; Choi BH; Li J; Jeong SM, Xuan F. Effects of sinus membrane elevation on bone formation around implants placed in the maxillary sinus cavity: An experimental study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 105(6): 684-87.
29. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent*. 2011; 20(1): 2-12.
30. Al-Moraissi EA, Alkhutari AS, Abotaleb B, Altairi NH, Del Fabbro M. Do osteoconductive bone substitutes result in similar bone regeneration for maxillary sinus augmentation when compared to osteogenic and osteoinductive bone grafts? A systematic review and frequentist network meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2020; 49(1): 107-12
31. Pereira RS, Gorla LF, Boos FBJD, Okamoto R, Garcia Júnior IR, Hochuli-Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: histomorphometric study and immunohistochemical assessment of RUNX2 and VEGF. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2017; 46(4): 503-10.
32. Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, Weinstein, R. Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004; 24(6): 565-77.
33. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2001; 3(2): 87-96.
34. Hallman M, Sennerby L, Lundgren SA. Clinical and histologic evaluation of implant integration in the posterior maxilla after sinus floor augmentation with autogenous bone, bovine hydroxyapatite, or a 20:80 mixture. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002; 17(5): 635-43.
35. Clavero J, Lundgren S. Ramus or chin grafts for maxillary sinus inlay and local onlay augmentation: comparison of donor site morbidity and complications. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2003; 5(3): 154-60.

36. de Molon RS, de Paula WN, Spin-Neto R, Verzola M H, Tosoni GM, Lia RC, Marcantonio EJr. Correlation of fractal dimension with histomorphometry in maxillary sinus lifting using autogenous bone graft. *Braz Dent J*, 2015; 6(1): 11-8.
37. Pjetursson BE, Tan WC, Zwahlen M, Lang NP. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(8 Suppl): 216-40.
38. Dos Santos PL, de Molon RS, Queiroz TP, Okamoto R, de Souza Faloni AP, Gulinelli JL, Garcia IRJr Evaluation of bone substitutes for treatment of peri-implant bone defects: biomechanical, histological, and immunohistochemical analyses in the rabbit tibia. *J Periodontal Implant Sci*. 2016; 46(3): 176-96.
39. Galindo-Moreno P, Padial-Molina M, Fernández-Barbero JE, Mesa F, Rodríguez-Martínez D, O'Valle F. Optimal microvessel density from composite graft of autogenous maxillary cortical bone and anorganic bovine bone in sinus augmentation: influence of clinical variables. *Clin Oral Implants Res*. 2010; 21(2): 221-27.
40. Tadjoeidin ES, de Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(3): 261-70.
41. Xuan F, Lee CU, Son J S, Jeong SM, Choi BH. A comparative study of the regenerative effect of sinus bone grafting with platelet-rich fibrin-mixed Bio-Oss® and commercial fibrin-mixed Bio-Oss®: an experimental study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2014; 42(4): e47-50.
42. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol*. 2001; 72(2): 152-59.
43. Simion M, Fontana F, Rasperini G & Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Impl Res*. 2007;18(5):620-29.
44. Castro AB, Cortellini S, Temmerman A, Li X., Pinto N, Teughels W, Quirynen M. Characterization of the leukocyte- and platelet-rich fibrin block: release of growth factors, cellular content, and structure. *The Int J Oral Maxillofac Implants*. 2019; 34(4): 855-64.
45. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(7): 1231-56.

46. Clark, R.A. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 936, 355-67.
47. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol.* 2006; 24(5): 227-34.
48. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84(6): 1032-44.
49. Tabata Y. Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue Eng.* 2003; 9(Suppl 1): S5-15.
50. Luginbuehl V, Meinel L, Merkle HP, Gander B. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004; 58(2): 197-208.
51. Marx R.E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62: 489-96.
52. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999; 341(10): 738-46.
53. Klinger MH, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 2002; 22(9): 913-22.
54. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2011; 105(Suppl 1): S13-S33.
55. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85: 638-46.
56. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009; 27(3): 158-67.
57. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors.* 2009; 27(1): 63-9.
58. Stähli A, Strauss FJ, Gruber R. The use of platelet-rich plasma to enhance the outcomes of implant therapy: A systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2018; 29(Suppl 18): 20-36.
59. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. An opportunity in perioimplantology: The PRF. *Implantodontie.* 2001; 42: 55-62.
60. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e37-44

61. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e45-50.
62. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e51-5.
63. Peterson JE, Zurakowski D, Italiano JE Jr, Michel LV, Fox L, Klement GL, Folkman J. Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. *Am J Hematol.* 2010; 85(7): 487-93.
64. De Pascale MR, Sommesse L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 2015; 29(1): 52-61.
65. Fernández-Delgado N, Hernández-Ramírez P, Forrellat-Barrios M. Platelet functional spectrum: from hemostasis to regenerative medicine. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter.* 2012; 28:2 00-16.
66. Neumann FJ, Marx N, Gawaz M, et al. Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets. *Circulation.* 1997; 95: 2387-94.
67. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(7): 1145-52.
68. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e56-60.
69. Zumstein MA, Berger S, Schober M, Boileau P, Nyffeler RW, Horn M, Dahinden CA. Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(7): 1196-206.
70. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2017; 44(1): 67-82.
71. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2017; 44(2): 225-34.

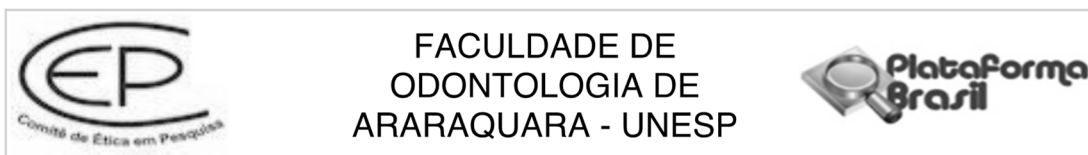
72. Liu R, Yan M, Chen S, Huang W, Wu D, Chen J. Effectiveness of platelet-rich fibrin as an adjunctive material to bone graft in maxillary sinus augmentation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomed Res Int*. 2019 Mar 17; 2019: 7267062.
73. Ghanaati S, Herrera-Vizcaino C, Al-Maawi S, Lorenz J, Miron RJ, Nelson K, Schwarz F, Choukroun J, Sader R. Fifteen Years of Platelet Rich Fibrin in Dentistry and Oromaxillofacial Surgery: How High is the Level of Scientific Evidence? *J Oral Implantol*. 2018; 44(6): 471-92.
74. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001; 10: 225-28.
75. Oudelaar BW, Peerbooms JC, Huis In 't Veld R, Vochteloo AJH. Concentrations of Blood Components in Commercial Platelet-Rich Plasma Separation Systems: A Review of the Literature. *Am J Sports Med*. 2019; 47(2): 479-87.
76. Dohan DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014; 4: 3-9.
77. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *J Periodontol*. 2017; 88(1): 112-21.
78. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; 936: 426-37.
79. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012; 13(7): 1145-52.
80. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2006; 101(3): 299-303.
81. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol*. 2009; 80(12): 2056-64.

82. Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Scacco S, Inchingolo AD, Dipalma G, Vermesan D, Abbinante A, Cagiano R. Trial with platelet-rich fibrin and bio-oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxilar bone atrophy: clinical and radiological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010; 14(12): 1075-84.
83. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, Dipalma G, Pacifici L, Inchingolo F. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Med Sci*. 2012; 9(10): 872-80
84. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013; 28(1): 77-83.
85. Bölükbaşı N, Ersanlı S, Keklikoglu N, Basegmez C, Ozdemir T. Sinus augmentation with platelet-rich fibrin in combination with bovine bone graft versus bovine bone graft in combination with collagen membrane. *J Oral Implantol*. 2015; 41(5): 586-95.
86. Gurler G, Delilbasi C. Effects of leukocyte-platelet rich fibrin on postoperative complications of direct sinus lifting. *Minerva Stomatol*. 2016; 65(4): 207-12.
87. Kanayama T, Horii K, Senga Y, Shibuya Y. Crestal approach to sinus floor elevation for atrophic maxilla using platelet-rich fibrin as the only grafting material: a 1-year prospective study. *Implant Dent*. 2015; 25(1): 32-8.
88. Cömert Kılıç S, Güngörmüş M, Parlak SN. Histologic and histomorphometric assessment of sinus-floor augmentation with beta-tricalcium phosphate alone or in combination with pure-platelet-rich plasma or platelet-rich fibrin: A randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19(5): 959-67.
89. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012; 40(4): 321-8.
90. Nizam N; Eren G; Akcalı A; Donos N. Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res*. 2018; 29(1): 67-75.
91. Tabrizi R, Arabion H, Karagah T. Does platelet-rich fibrin increase the stability of implants in the posterior of the maxilla? A split-mouth randomized clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2018; 47(5): 672-75.
92. Pichotano EC, de Molon RS, de Souza RV, Austin RS, Marcantonio E, Zandim-Barcelos DL. Evaluation of L-PRF combined with deproteinized bovine bone mineral for early implant placement after maxillary sinus augmentation: A randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019; 21(2): 253-62.

93. Strauss FJ, Stähli A, Gruber R. The use of platelet-rich fibrin to enhance the outcomes of implant therapy: A systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2018; 29 (Suppl 18): 6-19.
94. de Molon RS, de Paula WN, Spin-Neto R, Verzola MH, Tosoni GM, Lia RC, Marcantonio, EJr. Correlation of fractal dimension with histomorphometry in maxillary sinus lifting using autogenous bone graft. *Braz Dent J.* 2015; 26(1): 11-8.
95. do Lago ES, Ferreira S, Garcia IR Jr, Okamoto R, Mariano RC. Improvement of bone repair with I-PRF and bovine bone in calvaria of rats. histometric and immunohistochemical study. *Clin Oral Investig.* 2020; 24(5):1637-50.
96. Pedrosa WF Jr, Okamoto R, Faria PE, Arnez MF, Xavier SP, Salata LA. Immunohistochemical, tomographic and histological study on onlay bone graft remodeling. Part II: calvarial bone. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(11): 1254-64.
97. Ahlowalia MS, Patel S, Anwar HMS, Cama G, Austin RS, Wilson R, Mannocci, F. Accuracy of CBCT for volumetric measurement of simulated periapical lesions. *Int Endod Journal.* 2013; 46(6): 538-46.
98. Karayürek F, Kadiroğlu ET, Nergiz Y, Coşkun Akçay N, Tunik S, Ersöz Kanay B, Uysal E. Combining platelet rich fibrin with different bone graft materials: An experimental study on the histopathological and immunohistochemical aspects of bone healing. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019; 47(5): 815-25.
99. Kuhl S, Payer M, Kirmeier R, Wildburger A, Wegscheider W, Jakse N. The influence of bone marrow aspirates and concentrates on the early volume stability of maxillary sinus grafts with deproteinized bovine bone mineral - first results of a RCT. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(2): 221-25.
100. Kirmeier R, Payer M, Wehrsuetz M, Jakse N, Platzer S, Lorenzoni M. Evaluation of three-dimensional changes after sinus floor augmentation with different grafting materials. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(4): 366-72.
101. Umanjec-Korac S, Wu G, Hassan B, Liu Y, Wismeijer D. A retrospective analysis of the resorption rate of deproteinized bovine bone as maxillary sinus graft material on cone beam computed tomography. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(7): 781-85.
102. Xavier SP, Santos Tde S, Sehn FP, Silva ER, Garcez-Filho Jde A, Martins-Filho PR. Maxillary sinus grafting with fresh frozen allograft versus bovine bone mineral: A tomographic and histological study. *J Craniomaxillofac Trauma.* 2016; 44(6): 708-14.
103. Klein GG, Curvello VP, Dutra RA, Simeao SP, Santos PL, Gulinelli JL, Filho HN. Bone volume changes after sinus floor augmentation with heterogenous graft. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2016; 31(3): 665-71.

104. Gultekin BA, Cansiz E, Borahan O, Mangano C, Kolerman R, Mijiritsky E, Yalcin S. Evaluation of volumetric changes of augmented maxillary sinus with different bone grafting biomaterials. *J Craniofac Surg*. 2016; 27(2): e144-148
105. Shanbhag S, Shanbhag V, Stavropoulos A. Volume changes of maxillary sinus augmentations over time: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014; 29(4): 881-92.
106. Klein GG, Curvello VP, Dutra RA, Simeao SP, Santos PL, Gulinelli JL, Filho HN. Bone volume changes after sinus floor augmentation with heterogenous graft. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016; 31(3): 665-71.
107. Di Lallo S, Ricci L, Orecchioni S, Piattelli A, Iezzi G, Perrotti V. Resonance frequency analysis assessment of implants placed with a simultaneous or a delayed approach in grafted and nongrafted sinus sites: a 12-month clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014; 16(3): 394-400.
108. Diserens V, Mericske E, Mericske-Stern R. Radiographic analysis of the transcrestal sinus floor elevation: short-term observations. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005; 7(2): 70-8.
109. Tepper G, Haas R, Zechner W, Krach W, Watzek G. Three-dimensional finite element analysis of implant stability in the atrophic posterior maxilla: a mathematical study of the sinus floor augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2002; 13(6): 657-65.
110. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont*. 1998; 11(5): 491-501.
111. Degidi M, Dapri G, Piattelli A. Primary stability determination by means of insertion torque and RFA in a sample of 4,135 implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012; 14(4): 501-07.
112. de Molon RS, Sakakura CE, Faeda RS, Sartori R, Palhares D, Margonar R, Marcantonio EJr. Effect of the long-term administration of Cyclosporine A on bone healing around osseointegrated titanium implants: A histomorphometric study in the rabbit tibia. *Microsc Res Tech*. 2017; 80(9): 1000-8.
113. Dos Anjos TL, de Molon RS, Paim PR, Marcantonio E, Marcantonio EJr, Faeda RS. Implant stability after sinus floor augmentation with deproteinized bovine bone mineral particles of different sizes: a prospective, randomized and controlled split-mouth clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016; 45(12): 1556-63.
114. Xuan F, Lee CU, Son JS, Jeong SM, Choi BH. A comparative study of the regenerative effect of sinus bone grafting with platelet-rich fibrin-mixed Bio-Oss® and commercial fibrin-mixed Bio-Oss®: an experimental study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2014; 42(4): e47-50.

ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO ESTUDO NO CEP – FOAR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DA FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PRF) NA REGENERAÇÃO ÓSSEA APÓS CIRURGIA DE LEVANTAMENTO DE SEIO MAXILAR COM BIO-OSS®: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

Pesquisador: Daniela Leal Zandim-Barcelos

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 41357514.5.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.375.162

Apresentação do Projeto:

Diversas técnicas de enxertia óssea têm sido propostas na literatura para restabelecimento da espessura e altura óssea de rebordos atrésicos. Um substituto ósseo de origem bovina conhecido como Bio-Oss® tem demonstrado resultados favoráveis e seguros para regeneração óssea nos procedimentos de levantamento de seio maxilar.

Porém, o período de maturação óssea deste biomaterial osteocondutora é de aproximadamente 8 meses. Com o intuito de diminuir o tempo de cicatrização dos enxertos, diferentes fatores de crescimento têm sido investigados.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o potencial da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em acelerar a regeneração óssea quando usado em combinação com Bio-Oss® na região posterior de maxila após procedimentos cirúrgicos de elevação da membrana do seio maxilar.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefícios: Bio-Oss®, amplamente estudado e testado em diversas pesquisas científicas. Este material é vendido comercialmente e demonstra resultados bastante favoráveis neste tipo de

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br

ANEXO B - CERTIFICADO DE REGISTRO DO ESTUDO NO REBEC

Saúde
Ministério da Saúde

REGISTRO BRASILEIRO DE
Ensaio Clínicos

USUÁRIO

SENHA

ENTRAR

Esqueceu a senha?
Registrar-se

PT | ES | EN

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

BUSCA AVANÇADA

HOME / ENSAIOS REGISTRADOS

☐ Todos abaixo

Download selecionados no formato XML OpenTrials

☐	Título	Identificador primário	RBR-95m73t
	Influência do Coágulo de Fibrina na Formação de Osso dentro da cavidade do Seio Maxilar após cirurgia para Levantamento da Membrana do Seio Maxilar com utilização de Osso Bovino particulado	Situação de recrutamento	Recrutamento concluído
		Data de registro	31 de Out. de 2017 às 15:52

OpenTrials v1.2

ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Influência da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na formação óssea após cirurgia de elevação do assoalho do seio maxilar com osso bovino desproteínizado: estudo clínico randomizado

Por este instrumento particular, declaro, para os devidos fins éticos e legais, que eu (nome)

_____,
(nacionalidade)_____,(profissão)_____, portador do R.G.
_____, C.I.C._____, residente à Rua/ Av.
_____, na cidade de
_____, Estado de _____, concordo em participar da pesquisa intitulada: “Influência

da fibrina rica em plaquetas e leucócitos na regeneração óssea após cirurgia de levantamento de seio maxilar com Bio-Oss®: estudo clínico randomizado”. Declaro que fui plenamente esclarecido pelo(s) pesquisador(es) sobre:

1) Esta pesquisa irá avaliar se uma substância derivada do sangue do próprio paciente, chamada de fibrina (L-PRF), é capaz de acelerar o processo de formação de osso quando usada juntamente com um substituto de osso nas cirurgias realizadas para aumentar volume de osso. Para atingir este objetivo, serão selecionados pacientes que precisam realizar enxerto de osso em ambos os lados da região posterior da maxila (osso que sustenta os dentes superiores) antes da colocação de implantes dentários.

2) Na região posterior da maxila a ausência de osso é um problema frequentemente encontrado em pacientes que decidem realizar a colocação de implantes. O volume de osso nessa região é limitado pela presença do seio maxilar (cavidade que fica acima dos dentes superiores posteriores na face) e pela perda de osso que ocorre após perda dos dentes naturais. Assim, os tratamentos com enxertos na região do seio maxilar passaram a ser muito usados na odontologia, sendo considerados procedimentos seguros. O objetivo destes procedimentos é aumentar o volume de osso e permitir a instalação dos implantes. Nestas cirurgias podem ser utilizados enxertos de osso retirados do próprio paciente (osso autógeno) e/ou substitutos de osso. Estou ciente que para participar dessa pesquisa serei submetido a cirurgia de enxerto de osso no seio maxilar para posterior instalação de implantes. Declaro que esta cirurgia de enxerto no seio maxilar é uma intervenção necessária para colocação dos implantes independente da minha participação neste estudo.

3) Estou ciente que será utilizado neste estudo um substituto de osso desproteínizado, ou seja, um osso sem tecido vivo, “seco” e “esterilizado”, conhecido como Bio-Oss®, amplamente estudado e testado em diversas pesquisas científicas. Este material é vendido comercialmente e demonstra resultados bastante favoráveis neste tipo de cirurgia. Muitos estudos mostram que este material de origem bovina se transforma em osso humano e não causa inflamação, podendo ser usado com segurança em qualquer pessoa, estando entre os materiais mais indicados para enxerto de osso na boca. O uso deste material evita a necessidade de uma segunda cirurgia para obtenção de osso do próprio paciente. Entendo que remover osso de outras regiões do meu corpo apresenta uma série de limitações e desvantagens, principalmente pela necessidade de se fazer uma cirurgia em outra região e por ter um pós-operatório mais complicado. Em um lado da maxila o Bio-Oss® será utilizado sozinho e no outro lado será associado à fibrina derivada do sangue do paciente. Como esta fibrina é preparada com utilização do próprio sangue do paciente, não há riscos de infecção cruzada ou rejeição. O paciente não será informado sobre o lado da maxila em que a fibrina foi utilizada para que não haja interferência nas avaliações do estudo.

4) Estou ciente que também será usada uma membrana reabsorvível (Bio-Gide®) para proteger e facilitar a formação de osso. Esta membrana é formada de colágeno derivado de suínos, que é processado e esterilizado.

Assim como o enxerto de origem bovina, a suína também se integra ao tecido gengival e ósseo do próprio paciente formando um novo tecido na região, não causa inflamação e pode ser utilizado seguramente em qualquer pessoa como mostram diversos estudos. Apesar de muito raro, pode ocorrer um processo alérgico relacionado ao colágeno presente nos enxertos, mas sem complicações graves.

5) Além do exame clínico, serão realizadas tomografias para planejamento da cirurgia e para avaliar o volume de osso obtido imediatamente após a cirurgia e antes da colocação dos implantes. Fui informado que a tomografia que irei realizar libera uma quantidade muito menor de radiação quando comparada às tomografias médicas, e que terei que utilizar avental de chumbo e colar de tireoide para realização das tomografias.

6) A colocação dos implantes será realizada após 4 ou 8 meses da cirurgia de enxerto para o lado que recebeu Bio-Oss® e a fibrina e após 8 meses da cirurgia de enxerto para o lado que recebeu apenas Bio-Oss®. Durante a cirurgia para colocação dos implantes, será obtido um pequeno fragmento do osso que foi formado. Estou ciente que a remoção do fragmento de osso será realizada antes da colocação dos implantes. Nesta etapa, a broca utilizada para fazer a perfuração inicial do osso será substituída por uma broca perfurada no meio permitindo a coleta do fragmento de osso. A utilização desta broca não proporcionará nenhum tipo de risco adicional ou prejuízo ao meu tratamento e/ou a minha saúde.

7) Estou ciente que as cirurgias para formação de osso e para colocação dos implantes serão realizadas por pesquisadores treinados e experientes para estes procedimentos. Fui informado sobre a possibilidade de ocorrer problemas durante ou após a cirurgia. Como toda cirurgia em que ocorre incisão (corte), existe um risco potencial de hemorragia, embora isto seja muito pouco comum para este tipo de cirurgia. Pode haver inchaço e, em casos raros, falta de integração do enxerto, reações inflamatórias e/ou infecciosas no material de enxerto, ao anestésico local ou à medicação prescrita após a cirurgia. Fui esclarecido que caso ocorra perda dos enxertos ou dos implantes, os pesquisadores executarão uma nova cirurgia para repor os mesmos sem custos adicionais. Entretanto eu devo comparecer a todas as visitas agendadas e as consultas de manutenção, durante todo período da pesquisa. A medicação será prescrita pelos pesquisadores conforme indicação de uso para cada paciente, e normalmente consiste de um medicamento anti-inflamatório e analgésico (para dor, inchaço e inflamação), e um antibiótico (para prevenir infecções - bactérias). Receberei assistência total e imediata em caso de danos decorrentes dos procedimentos cirúrgicos deste estudo.

8) A coleta de sangue será realizada por um profissional habilitado para este procedimento utilizando o sistema de coleta a vácuo. Serão coletados 4 tubos de 10 mL cada. O preparo da fibrina será realizado com utilização do sangue coletado por um dos pesquisadores que fez treinamento para este procedimento. Após a remoção da fibrina formada, os tubos serão descartados em lixo específico para material perfuro-cortante e infectante. Não será armazenado nenhum material proveniente do sangue do paciente.

9) O pesquisador responsável pela pesquisa, bem como os demais profissionais responsáveis pelo tratamento em questão (citados abaixo como demais pesquisadores) se comprometem a dar resposta a qualquer pergunta e esclarecimento ou qualquer dúvida relacionada. Afirmando que não estou sendo forçado ou induzido a fazer parte da pesquisa devido aos materiais de enxerto, implantes ou tomografias que receberei sem custo e que participo da pesquisa por livre e espontânea vontade. Sei que posso deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo, sem prejuízo do atendimento, cuidados e tratamento pela equipe da especialidade da FOAr-UNESP. Entendo que todas as minhas informações serão confidenciais, zelando pela minha privacidade e garantindo que minha identificação não será exposta nas conclusões ou publicações da pesquisa.

10) Os conhecimentos adquiridos, com o presente estudo, serão importantes para determinar se a fibrina derivada do sangue do paciente pode acelerar o processo de formação óssea necessário para instalação de implantes em áreas onde a quantidade de osso não é suficiente para colocação de implantes dentários. Geralmente deve-se esperar um período de aproximadamente oito meses para instalação de implantes na maxila que foi submetida a regeneração de osso no seio maxilar.

11) Fui informado que os materiais utilizados nas cirurgias de enxerto de osso e os implantes serão fornecidos aos pacientes sem nenhum custo. Não há nenhuma remuneração para participar desta pesquisa. Os gastos com transporte diretamente relacionados à participação na pesquisa serão ressarcidos quando eu solicitar.

12) Após período de cicatrização, será feita reabilitação protética dos implantes. Os componentes protéticos serão fornecidos pelos pesquisadores sem nenhum custo, porém as próteses deverão ser pagas pelos próprios pacientes. Elas não serão fornecidas aos participantes do estudo. Após instalação das próteses, todos os pacientes serão acompanhados pelo período de 2 anos para determinar o sucesso dos implantes instalados nas áreas enxertadas. Para determinação do sucesso, os implantes serão avaliados a cada 6 meses por meio de exames clínico e radiográfico. Estes exames serão realizados pelos próprios pesquisadores sem nenhum custo adicional para os pacientes. Após término do projeto, os pacientes serão encaminhados para o Projeto de Extensão “Manutenção de Pacientes Tratados com Implantes Osseointegrados” do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia desta faculdade para tratamento e/ou manutenção em longo prazo de seus implantes.

13) Fui informado que receberei uma via do TCLE assinado por mim e pelo pesquisador.

14) Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos, dato e assino esse termo de consentimento, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo.

Nome da responsável pela pesquisa: Profa. Dra. Daniela Leal Zandim-Barcelos

Nome dos demais pesquisadores envolvidos na pesquisa:

Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

Elton Carlos Pichotano

Cláudio Marcantonio

Telefone para contato: 3301-6376 Telefone do Comitê de Ética: 3301-6434/3301-6432

_____ Assinatura do profissional responsável

_____ Assinatura do paciente

Araraquara, ____/____/____