



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



Carolina Mendonça de Almeida Malzoni

Utilização da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar

Araraquara

2020



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



Carolina Mendonça de Almeida Malzoni

Utilização da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Periodontia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Leal Zandim-Barcelos
Co-orientador: Elcio Marcantonio Junior

Araraquara

2020

Malzoni, Carolina Mendonça de Almeida

Utilização da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar / Carolina Mendonça de Almeida Malzoni.--

Araraquara: [s.n.], 2020

79 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Leal Zandim-Barcelos

Coorientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

1. Seio maxilar
 2. Fibrina rica em plaquetas
 3. Materiais biocompatíveis
- I. Título

Carolina Mendonça de Almeida Malzoni

Utilização da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Prof^a. Dr^a. Daniela Leal Zandim-Barcelos

2º Examinador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira

3º Examinador: Prof. Dr. Michel Reis Messora

Araraquara, 24 de março de 2020.

DADOS CURRICULARES

Carolina Mendonça de Almeida Malzoni

NASCIMENTO: 31 de julho de 1992 – São Paulo/SP

FILIAÇÃO: Vicente Malzoni Netto e Renata Mendonça de Almeida Malzoni

2011-2015: Graduação em Odontologia
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP

2014-2014: Aperfeiçoamento em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial.
Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas da Região de Ribeirão Preto (APCD/RP)

2015-2015: Aperfeiçoamento em Implantodontia.
Fundação Araraquarense de Ensino e Pesquisa em Odontologia (FAEPO)

2015-2015: Aperfeiçoamento em Periodontia com ênfase em regeneração e estética gengival.
Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas da Região de Ribeirão Preto (APCD/RP)

2015-2015: Aperfeiçoamento em Cirurgia Bucal.
Fundação Araraquarense de Ensino e Pesquisa em Odontologia (FAEPO)

2016/2018: Especialização em Implantodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP

2017/2017: Aperfeiçoamento em Plástica Periodontal e Peri-implantar.
Marcantonio Educação Continuada, MARCANTONIO EDUC.

2018/2020: Mestrado em andamento em Periodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP.

2019/2019: Aperfeiçoamento em Agregados Plaquetários (PRF) e Venopunção.
Marcantonio Educação Continuada, MARCANTONIO EDUC.

Dedico este trabalho à Deus e à minha família (Vicente Malzoni Netto, Renata Mendonça de Almeida Malzoni, Marina Mendonça de Almeida Malzoni, Rodrigo Mendonça de Almeida Malzoni, Anelice Helena Scabello Malzoni e Ana Maria Lia Mendonça de Almeida), sem os quais nada seria possível.

In memoriam de Nuncio Malzoni Netto, Ruth Faria de Carvalho Malzoni e Manoel Chrysostomo Mendonça de Almeida.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Vicente Malzoni Netto e Renata Mendonça de Almeida Malzoni por não medirem esforços para auxiliar em minha formação. Agradeço por todo incentivo, ensinamentos, apoio, amor e confiança para que eu pudesse me tornar o que sou.

Aos meus irmãos, Rodrigo Mendonça de Almeida Malzoni e Marina Mendonça de Almeida Malzoni por me incentivarem a todo momento. À Marina também por ser minha confidente e auxiliar nos momentos mais difíceis tanto pessoais quanto da jornada acadêmica.

À Maristela Gonçalves, Marcelo Gonçalves e Julia Gonçalves por me proporcionarem todo suporte necessário para que minha trajetória na Pós-graduação fosse o mais confortável possível. Muito obrigada

Ao Victor Gonçalves, pelo incentivo à minha dedicação acadêmica e por toda paciência e auxílio na execução deste trabalho. Além disso, por todo apoio emocional, por ser meu alicerce durante estes anos.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Daniela Leal Zandim-Barcelos, pela paciência, compreensão e ensinamentos durante a execução deste trabalho e também pelo incentivo e auxílio na apresentação de trabalhos, assim como em procedimentos clínicos. Obrigada pela confiança e oportunidade.

Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, pelo incentivo ao meu ingresso à Pós-graduação, por conduzir meus passos até a Professora Daniela e por me oferecer oportunidades ao longo destes anos. Obrigada pelo conhecimento compartilhado, pela confiança em meu trabalho e pelo auxílio na execução desta pesquisa.

A Prof^a. Dr^a. Roberta Okamoto, que colaborou com a execução deste trabalho. Obrigada por toda paciência, disponibilidade e confiança.

Ao Dr. Elton Carlos Pichotano por contribuir diretamente com a execução desta tese.

Ao Prof. Dr. Lélis Gustavo Nícoli, que confiou em meu trabalho e contribuiu com a execução deste estudo. Muito obrigada pelo auxílio e incentivo durante estes anos.

Aos colegas de Pós-graduação, pela amizade, convívio e conhecimento compartilhado.

Às funcionárias da disciplina de Periodontia e Pós-graduação: Suleima, Isabela e Cláudia pelos ensinamentos, auxílios, amizade e atenção.

Aos pacientes que confiaram no nosso grupo de pesquisa e se comprometeram a participar e colaborar com a realização deste trabalho.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, na pessoa de sua Diretora Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Sgavioli e do Vice-Diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos, pelas condições oferecidas para realização desta pesquisa.

Ao coordenador do curso de Pós-graduação em Odontologia, área de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, e a todos os docentes do Curso de Pós-graduação em Odontologia, pela excelente formação, dedicação, competência e empenho em suas atividades

À CAPES: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À Geistlich® e à Neodent®, que disponibilizaram todo material de enxerto, implantes e componentes protéticos para a realização desse trabalho.

Malzoni CMA. Utilização da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) é um derivado plaquetário autógeno capaz de liberar citocinas e fatores de crescimento favoráveis ao reparo tecidual. Por esta razão a L-PRF vem sendo utilizada em diversos procedimentos odontológicos. Uma das aplicabilidades clínicas da L-PRF é em procedimentos de levantamento do seio maxilar, uma técnica já consagrada na odontologia que permite a colocação de implantes dentários em região posterior de maxilas atroficas. Para avaliar a efetividade do uso da L-PRF, dois estudos clínicos independentes foram realizados utilizando a L-PRF em seios maxilares. Um deles teve o propósito de avaliar a influência da L-PRF na regeneração óssea quando associada ao osso mineral bovino desproteínizado (OBD) em procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar, e o outro teve o propósito de avaliar a efetividade da L-PRF no reparo de membranas de Schneider acidentalmente perfuradas durante o procedimento de levantamento do seio maxilar. Para isso, o primeiro trabalho foi um estudo clínico randomizado controlado envolvendo 19 pacientes com edentulismo na região posterior de maxila. De forma aleatória, 24 seios maxilares destes 19 pacientes foram distribuídos entre os grupos teste e controle. O grupo teste abordou 12 seios maxilares que foram enxertados com OBD associado à L-PRF, já o grupo controle abordou outros 12 seios maxilares enxertados apenas com OBD. Após 8 meses de reparo, uma biópsia foi obtida por meio de broca trefina no mesmo eixo de inserção dos implantes. As biópsias foram processadas para análise histomorfométrica e imuno-histoquímica. Uma maior imuno-marcação para VEGF e OPN e uma menor marcação para OCN foram detectadas no grupo teste em relação ao grupo controle. Os valores obtidos para RUNX-2 foram próximos entre os grupos. Em relação à histomorfometria, foi possível observar que a associação da L-PRF ao OBD resultou em maior neoformação óssea no seio maxilar, sem apresentar diferenças estatísticas em relação à quantidade de tecido mole e enxerto ósseo residual. O segundo estudo trata-se de uma série de casos envolvendo 9 pacientes que apresentaram grandes perfurações das membranas de Schneider durante a execução do levantamento do seio maxilar. Membranas de L-PRF foram interpostas sobre as perfurações e enxertos de OBD puderam ser realizados no mesmo ato operatório. Após 8 meses de reparo, 13 implantes foram instalados nos seios maxilares enxertados, obtendo-se estabilidades primárias satisfatórias. O reparo das membranas e a taxa de sucesso dos implantes dentários foram avaliados após 3-5 anos de acompanhamento por análises clínicas e radiográficas. Baseado nos resultados destes estudos, pode-se concluir que a utilização da L-PRF em procedimentos de elevação do seio maxilar é extremamente benéfica, tanto no tratamento de perfurações da membrana de Schneider, eliminando a necessidade de interromper o procedimento cirúrgico, quanto na neoformação óssea na cavidade do seio maxilar, proporcionando resultados mais significativos do que quando o osso bovino é utilizado isoladamente em um período de reparo de 8 meses.

Palavras chave: Seio maxilar. Fibrina rica em plaquetas. Materiais biocompatíveis.

Malzoni CMA. Association of Leukocyte and platelet – rich fibrin in maxillary sinus floor surgical procedures [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

Platelet and leukocyte-rich fibrin (L-PRF) is an autogenous platelet derivative capable of releasing cytokines and growth factors favorable to tissue repair. For this reason, L-PRF has been used in several dental procedures. One of the clinical applicabilities of L-PRF is in maxillary sinus lifting procedures, a technique already established in dentistry that allows the placement of dental implants in the posterior region of atrophic jaws. To assess the effectiveness of using L-PRF, two independent clinical studies were conducted using L-PRF in maxillary sinuses. One of them had the purpose of evaluating the influence of L-PRF in bone regeneration when associated with deproteinized bovine mineral bone (DBB) in maxillary sinus floor elevation procedures, and the other had the purpose of evaluating the effectiveness of L-PRF in the repair of Schneider membranes accidentally perforated during the maxillary sinus lifting procedure. For this, the first study was a randomized controlled clinical study involving 19 patients with edentulism in the posterior region of the maxilla. At random, 24 maxillary sinuses of these 19 patients were distributed between the test and control groups. The test group involved 12 maxillary sinuses that were grafted with DBB associated with L-PRF, whereas the control group addressed 12 other maxillary sinuses grafted only with DBB. After 8 months of repair, a biopsy was obtained using a drill bit on the same axis of insertion of the implants. The biopsies were processed for histomorphometric and immunohistochemical analysis. A greater immunostaining for VEGF and OPN and a lower staining for OCN were detected in the test group compared to the control group. The values obtained for RUNX-2 were close between the groups. Regarding histomorphometry, it was possible to observe that the association of L-PRF with DBB resulted in greater bone neoformation in the maxillary sinus, without showing statistical differences in relation to the amount of soft tissue and residual bone graft. The second study deals with a series of cases involving 9 patients who had large perforations of Schneiderian membranes during the execution of the maxillary sinus surgery. L-PRF membranes were interposed over the perforations and DBB grafts could be performed in the same surgery. After 8 months of repair, 13 implants were installed in the grafted maxillary sinuses, obtaining satisfactory primary stability. Membrane repair and dental implant success rate were assessed after 3-5 years of follow-up by clinical and radiographic analyzes. Based on the results of these studies, it can be concluded that the use of L-PRF in maxillary sinus elevation procedures is extremely beneficial, both in the treatment of Schneiderian membrane perforations, eliminating the need to interrupt the surgical procedure, as well as in neoformation. bone in the maxillary sinus cavity, providing more significant results than when bovine bone is used alone in a repair period of 8 months.

Keywords: Maxillary sinus. Platelet-rich fibrin. Biocompatible materials

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	43
4 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63
APÊNDICE A – MATERIAL E MÉTODO	68
ANEXO A – CARTA DE ACEITE DO CEP	77

1 INTRODUÇÃO

Para a instalação de implantes dentários, um remanescente ósseo adequado é necessário. Porém, esta condição nem sempre é encontrada, principalmente na região posterior de maxila, onde a pneumatização do seio maxilar atrelada a progressiva reabsorção óssea alveolar após exodontia, acarretam em insuficiência óssea para instalação de implantes^{1,2}. Para tornar possível a reabilitação oral implanto-suportada nesta região, foi desenvolvida em 1986 por Tatum a técnica da janela lateral para acessar a cavidade do seio maxilar e possibilitar a elevação do seu assoalho³. A complicação mais comum durante a execução deste procedimento é a perfuração da membrana de Schneider, uma membrana mucoperiosteal de espessura fina (entre 0,3 a 0,8 mm)⁴ que recobre toda a extensão da cavidade do seio maxilar⁵. A camada epitelial da membrana é constituída por epitélio pseudoestratificado colunar ciliado, responsável por fornecer ao seio maxilar numerosas células caliciformes que produzem muco⁶. Esse muco, além de conter lisozima (antibacteriano), retém bactérias e detritos que posteriormente serão transportados pelos cílios celulares em direção ao ostium⁷, garantindo a drenagem do seio maxilar. A fisiologia entre o seio maxilar e a cavidade nasal deve ser mantida para garantir condições de saúde. Qualquer fator que prejudique a produção de muco, a função ou permeabilidade ciliar pode aumentar o risco de sinusite.

Devido ao alto potencial osteogênico da membrana de Schneider^{4-6,8} 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 sem a associação de enxertos ósseos⁸⁻¹⁰. No entanto, outros estudos afirmam que quando nenhum biomaterial é utilizado na elevação do assoalho do seio maxilar, o ganho ósseo é limitado e o ápice do implante fica envolto por um tecido conjuntivo não osseointegrado¹¹⁻¹³. Por esta razão, quando se deseja grande formação óssea, a cavidade do seio maxilar tradicionalmente é preenchida com enxertos ósseos particulados¹⁴. Nestas situações, perfurações da membrana de Schneider tornam-se ainda mais preocupantes pelo risco de penetração bacteriana, invasão de muco no enxerto ósseo e até obstrução do ostium devido ao extravazamento do enxerto no local da perfuração, comprometendo a drenagem fisiológica do seio maxilar^{15,16}.

Estudos têm mostrado que perfurações da membrana do seio maxilar podem ser solucionadas pela interposição de membranas de colágeno sem interferir na formação óssea ou sucesso do implante¹⁷⁻¹⁹, contudo, esta técnica só apresenta sucesso em perfurações de até 1 cm²⁰. O uso de membranas de colágeno em perfurações consideradas grandes (> 1,5 cm) permanece sendo arriscado, sendo a interrupção do procedimento a conduta mais adequada²¹. Entretanto, membranas de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) quando associadas a grandes perfurações da membrana de Schneider têm demonstrado resultados clínicos satisfatórios, sendo uma alternativa de tratamento, permitindo a continuidade do procedimento cirúrgico e realização do enxerto ósseo com segurança na região¹⁷.

A L-PRF foi desenvolvida na França por Choukroun e é obtida pela centrifugação do sangue colhido do paciente, sem a adição de anticoagulantes, o que a torna um material totalmente autógeno²². A L-PRF se apresenta como uma membrana gelatinosa constituída de uma concentração de fatores de crescimento e citocinas favoráveis à cicatrização e imunidade^{23,25}. A L-PRF influencia diretamente nos fenômenos e complicações de remodelação dos tecidos, melhorando os resultados e diminuindo os riscos de problemas infecciosos e hemorrágicos²⁴. Esta propriedade só é possível devido à polimerização natural e lenta da rede de fibrina durante a centrifugação, o que permite uma alta porcentagem de ligações equilaterais, que promovem o estabelecimento de uma estrutura flexível, com múltiplas fibras, tornando-a capaz de transplantar e suportar a ativação e migração de citocinas^{26,27}.

A L-PRF é considerada um derivado plaquetário de segunda geração. Os derivados plaquetários já eram utilizados anteriormente, contudo eram manipulados apenas para garantir hemostasia em procedimentos cirúrgicos²³. Quando a primeira geração de derivados plaquetários, o plasma rico em plaquetas – PRP²⁸, foi desenvolvido, observou-se neste a possibilidade de ser uma fonte de citocinas, o que contribuiu para continuidade das pesquisas e desenvolvimento de um novo protocolo de centrifugação, o qual originou a L-PRF²². A estrutura do PRP se diferencia da L-PRF principalmente devido à adição de trombina bovina e cloridrato de cálcio para obtenção do PRP. Este acréscimo influencia as propriedades mecânicas e biológicas da matriz final. Devido ao processo de coagulação não ocorrer por ativação da cascata fisiológica de coagulação, mas sim pela adição de trombina bovina, não há ligações cruzadas na estrutura do PRP, o que o torna um biomaterial mais friável. Além disso,

como a coagulação que ocorre para obtenção do PRP é rápida, não há muitas citocinas incorporadas à estrutura do concentrado plaquetário, logo a liberação destas no sítio cirúrgico ocorre de maneira rápida^{23,29,30}, diferente da L-PRF. Dohan et al.³¹ em um estudo in vitro buscaram comparar os padrões de liberação de algumas proteínas entre membranas de L-PRF e PRP. Os resultados permitiram observar que a liberação do fator de transformação do crescimento beta - 1 (TGF β -1), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-AB), trombospondina 1 (TSP-1) e fibronectina pela L-PRF foi mais lenta com duração de pelo menos 7 dias. Mesmo quando a liberação pela L-PRF 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 aplicação clínica da L-PRF na odontologia é diversa, estudos têm mostrado resultados favoráveis quando utilizada para recobrimento radicular, reparo de membranas sinusais, regeneração óssea, hemostasia, tratamento de defeitos periodontais e até tratamento de regiões com necrose dos maxilares³²⁻³⁴. Contudo, de acordo com Pjetursson e Lang³⁵, o maior sucesso da L-PRF é quando utilizada para tratamento de perfurações da membrana de Schneider durante procedimentos de levantamento do seio maxilar.

Elif Oncu et al.³³ com o intuito de avaliar a efetividade das membranas de L-PRF no reparo de membranas de Schneider, compararam por meio de análises histológicas e radiográficas a neoformação óssea de 20 seios maxilares enxertados com osso heterógeno, sendo que 10 destes seios tiveram a membrana sinusal acidentalmente perfurada e reparada com membranas de L-PRF. Os resultados deste estudo puderam confirmar a capacidade da L-PRF em ser utilizadas para reparo das membranas de Schneider, uma vez que não houve diferença estatística em relação à neoformação óssea entre seios maxilares que sofreram ou não perfuração da membrana sinusal.

Da mesma maneira que membranas de L-PRF possuem efeito benéfico no reparo de tecido mole, também parecem exercer efeito favorável no tecido ósseo, uma vez que são consideradas fontes de células mesenquimais e fatores de crescimento que contribuem com a neoformação óssea³⁶. Os fatores de crescimento são proteínas

bioativas que controlam o processo de reparo tecidual. O seu mecanismo de ação se dá pela ligação destas proteínas a 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 extracelular^{30,38-40}. A atuação controlada e temporária das citocinas e fatores de crescimento são cruciais após intervenções cirúrgicas e no tratamento de distúrbios musculoesqueléticos^{38,40}.

A associação da L-PRF ao enxerto ósseo parece potencializar as características do enxerto ao induzir neoformação óssea. Em relação aos enxertos ósseos utilizados no seio maxilar, o osso bovino desproteinizado (OBD) tem sido frequentemente utilizado como único material para enxerto na região, já que possui resultados estatisticamente semelhantes aos de quando são usados em associação ao enxerto autógeno⁴¹, com a vantagem de eliminar a necessidade de um segundo leito cirúrgico, diminuindo a morbidade pós-operatória⁴². O OBD tem mostrado ainda sucesso clínico, histológico e longevidade do enxerto, que pode ser explicada pela característica de reabsorção bastante lenta deste biomaterial^{41,43,44}. No entanto, o OBD também apresenta desvantagens como alto custo, longo período de reparo⁴⁵ e ausência de propriedades osteoindutoras⁴². Por esta razão a utilização da L-PRF no reparo ósseo vem sendo estudada em associação ou não à enxertos ósseos.

Os estudos iniciais em animais foram realizados para avaliar o efeito da L-PRF em defeitos de calvária e defeitos ao redor de implantes^{46,47}. Os resultados demonstraram que a L-PRF foi satisfatória para a regeneração tecidual e ainda acelerou a neoformação óssea. Apesar dos resultados destes estudos serem favoráveis, Dohan et al.⁴⁸ chamaram atenção para a obtenção da amostra sanguínea em estudos em animais, salientando que coelhos e camundongos são animais pequenos, com veias e artérias pequenas^{48,49}, sendo na maioria das vezes impossível obter uma coleta sanguínea homogênea, rápida e com volume significativo em um tubo adequado para obtenção da L-PRF. Dohan et al.⁴⁸ ainda reforçaram que a L-PRF de Choukroun foi desenvolvida para uso em humanos e requer uma coleta sanguínea com um mínimo de pressão, volume e velocidade para ser adaptada a outras espécies.

A primeira associação da L-PRF como material de enxerto na cavidade do seio maxilar em humanos foi publicada por Choukroun et al.⁵⁰. Os pacientes do grupo teste

tiveram o seio maxilar enxertado com osso alógeno em associação com L-PRF, já os do grupo controle, tiveram como material de enxerto apenas o osso alógeno. Devido à capacidade da L-PRF em acelerar a formação óssea, os pacientes do grupo teste tiveram os seios maxilares reabertos para obtenção de biópsia e instalação de implantes após 4 meses e o grupo controle, somente após 8 meses. A análise histológica não encontrou diferença significativa entre a neoformação óssea dos dois grupos, indicando que o uso de L-PRF permitiu diminuir o período de reparo para instalação de implantes, utilizando menor quantidade de enxerto ósseo, sem comprometer a quantidade de osso neoformado.

Com o intuito de avaliar a influência da L-PRF na neoformação óssea do seio maxilar, outros estudos também foram realizados. Zhang et al.⁵¹ compararam seios maxilares enxertados apenas com OBD com o de seios maxilares enxertados com a associação entre L-PRF e OBD. Apesar da porcentagem de neoformação óssea ter sido superior no grupo que utilizou L-PRF, esta diferença não foi considerada estatística. Resultados semelhantes também foram encontrados por Nizam et al.⁵² em um estudo de boca dividida, em que pacientes com necessidade de levantamento bilateral de seio maxilar foram avaliados, de forma que o grupo controle teve os seios maxilares enxertados apenas com OBD e o grupo teste, OBD associado à L-PRF. Neste estudo, nenhum benefício adicional na regeneração óssea foi observado com a utilização da L-PRF. Contudo, outros estudos recentes como o de Pichotano et al.⁵³ apresentaram resultados significativamente favoráveis para a neoformação óssea quando a L-PRF é utilizada. Neste estudo de boca dividida, 24 seios maxilares de 12 pacientes foram alocados aleatoriamente para os grupos teste e controle. No grupo controle, os seios maxilares foram preenchidos apenas com osso bovino e no grupo teste, com osso bovino associado à L-PRF. Após 4 meses, biópsias foram obtidas do grupo teste e implantes instalados. Já no controle, foi aguardado 8 meses para obtenção de biópsias e instalação dos implantes. Em relação às análises histomorfométricas, o grupo teste apresentou porcentagem de neoformação óssea significativamente maior do que o grupo controle com 8 meses, indicando que a L-PRF associada ao osso bovino no seio maxilar permitiu a instalação precoce de implantes e ainda contribuiu com a neoformação óssea da região.

Liu et al.⁵⁴, em uma meta-análise sobre os efeitos da L-PRF como material de enxerto no seio maxilar, concluíram que embora a adição de L-PRF aos substitutos

ósseos possa ajudar a reduzir o tempo de reparo, seu uso como material adjunto parece não melhorar realmente o aumento ósseo em seios maxilares. No entanto, o estudo afirma que as técnicas para obtenção da L-PRF foram diferentes nos estudos incluídos, o que pode contribuir com um grande viés. 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 necessário outros estudos a longo prazo incluindo a mesma versão da L-PRF. Resultados de outras revisões sistemáticas e meta-análises sobre o efeito da L-PRF na neoformação óssea em seio maxilares também permanecem inconclusivos^{32,55}. Pesquisas apontam limitações dos estudos e heterogeneidade da metodologia das pesquisas, que influenciam diretamente no poder estatístico das revisões sistemáticas. O número de membranas de L-PRF utilizadas varia enormemente entre os estudos, assim como a quantidade de sangue coletado, o tipo de centrífuga utilizada e a força de centrifugação atribuída. Protocolos mais padronizados ainda são necessários para melhor comparar e padronizar os resultados.

Portanto, o efeito da utilização da L-PRF em procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar permanece questionável. Assim, dois estudos clínicos foram delineados para avaliar a efetividade da L-PRF nestes procedimentos. O primeiro refere-se a um estudo controlado randomizado com o intuito de avaliar a influência da L-PRF na neoformação óssea quando associada ao OBD em procedimentos de levantamento do seio maxilar, já o segundo estudo refere-se a uma série de casos clínicos em que membranas de L-PRF foram utilizadas para tratamento de grandes perfurações de membranas de Schneider que ocorreram acidentalmente durante procedimentos de levantamento de seio maxilar.

2 PROPOSIÇÃO

O propósito geral deste estudo foi avaliar a efetividade da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar, avaliando a neoformação óssea e também o reparo tecidual da membrana de Schneider.

Publicação 1- Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) ao osso bovino desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: Análise histomorfométrica e imuno-histoquímica

Objetivo: Avaliar o potencial da L-PRF em aumentar a neoformação óssea quando associada ao OBD para enxerto ósseo no seio maxilar, além de avaliar a influência da L-PRF nas respostas celulares envolvidas tanto na maturação do tecido ósseo neoformado, quanto na atividade de diferenciação de células osteoblásticas e endoteliais por meio da quantificação de fator de transcrição relacionado a Runt-2 (RUNX-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), Osteopontina (OPN) e Osteocalcina (OCN).

Publicação 2- The effectiveness of L-PRF in the treatment of Schneiderian membrane large perforations: long-term follow-up of a case series

Objetivo: Avaliar a efetividade da L-PRF no reparo de grandes perfurações de membranas sinusais durante o procedimento de levantamento do seio maxilar, permitindo a continuidade do procedimento cirúrgico e o preenchimento da cavidade do seio maxilar com enxerto ósseo particulado, sem risco de complicações pós-operatórias.

3 PUBLICAÇÕES

Esta dissertação envolve dois artigos independentes, que foram delineados para avaliar a utilização da L-PRF em procedimentos de levantamento do assoalho do seio maxilar.

3.1 Publicação 1*

Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) ao osso bovino desproteinizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: Análise histomorfométrica e imuno-histoquímica

* O artigo segue o estilo Vancouver, normas adaptadas pela FOAr.

RESUMO

A elevação do assoalho do seio maxilar é uma das principais técnicas desenvolvidas na implantodontia, permitindo a reabilitação oral implanto-suportada de casos limítrofes em região posterior de maxila. O enxerto ósseo bovino desproteínizado (OBD) tem sido bastante utilizado nos procedimentos de levantamento de seio maxilar demonstrando resultados favoráveis e seguros para regeneração óssea. Porém, este biomaterial osteocondutor apresenta uma taxa de reabsorção bastante lenta. Com intuito de diminuir o tempo de maturação óssea do enxerto e aumentar a neoformação óssea, diferentes fatores de crescimento têm sido associados ao OBD. O propósito geral desse estudo foi avaliar a influência da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) na regeneração óssea quando associada ao OBD em procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar. Para isso, um estudo clínico randomizado controlado foi realizado envolvendo 19 pacientes com edentulismo na região posterior de maxila. De forma aleatória, o grupo teste envolveu 12 seios maxilares que foram enxertados apenas com OBD, já o grupo controle envolveu outros 12 seios maxilares que foram enxertados com OBD associado à L-PRF. Para padronizar as análises, o período de reparo para instalação de implantes dentários em ambos os grupos foi de 8 meses. Todas cirurgias foram realizadas pelo mesmo operador. No momento do preparo da loja cirúrgica para instalação dos implantes, foi obtida uma biópsia com utilização de broca trefina. As biópsias obtidas foram processadas para análise histomorfométrica e imuno-histoquímica. Baseado nos resultados deste estudo, a associação da L-PRF ao OBD promoveu maior neoformação óssea no seio maxilar, sem apresentar diferenças estatísticas em relação à quantidade de tecido mole e enxerto ósseo residual. Na análise imuno-histoquímica para as proteínas RUNX-2, VEGF, OCN e OPN, foi possível visualizar que o grupo teste apresentou maiores valores de imunomarcagem para VEGF e OPN e valores inferiores para OCN em relação ao grupo controle. Os valores para RUNX-2 foram similares entre os grupos. Pode-se concluir, portanto, que a associação da L-PRF ao OBD potencializou a atividade angiogênica da região, aumentando e acelerando a neoformação óssea em um período de 8 meses de reparo, sendo uma alternativa viável e benéfica para utilização nos procedimentos de elevação do assoalho do seio maxilar.

Palavras – chave: Seio maxilar. Implante dentário. Fibrina rica em plaquetas. Materiais biocompatíveis

INTRODUÇÃO

Os implantes dentários desenvolvidos inicialmente por Brånemark em 1969¹ são amplamente utilizados na odontologia, eliminando a necessidade e o desconforto do uso de próteses removíveis. No entanto, para a colocação de implantes, a disponibilidade de tecido ósseo na região é de extrema importância. Quando se trata da região posterior de maxila, a insuficiência óssea é frequentemente detectada devido à pneumatização do seio maxilar atrelada à reabsorção progressiva do osso alveolar². Para intervir nestas regiões, foi desenvolvida em 1986 por Tatum³ uma técnica para acesso à parede lateral do seio maxilar, possibilitando desta forma, a elevação de seu assoalho e seu preenchimento com enxertos ou substitutos ósseos⁴.

Entre os enxertos ósseos utilizados para preenchimento da cavidade do seio maxilar, o osso mineral bovino desproteinizado (OBD) tem sido frequentemente utilizado como único material para enxerto na região, mostrando resultados clínicos e histológicos favoráveis, além de estabilidade do volume do enxerto, devido à característica de reabsorção bastante lenta deste biomaterial^{5,6}. A utilização de OBD também elimina as desvantagens do uso de enxerto autógeno, como morbidade pós-operatória e limitação da quantidade de enxerto ósseo⁷. No entanto, este enxerto de origem bovina apresenta alto custo⁸, ausência de propriedades osteoindutoras⁹ e longo período de reparo⁸. Na tentativa de acelerar a maturação do enxerto ósseo e potencializar a neoformação óssea, fatores de crescimento vêm sendo pesquisados em associação ao OBD.

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) foi desenvolvida na França por Choukroun e é obtida pela centrifugação do sangue colhido do paciente sem a adição de anticoagulantes, o que a torna um material totalmente autógeno e de baixo custo¹⁰. A L-PRF se apresenta como uma membrana gelatinosa constituída de uma concentração de fatores de crescimento e citocinas favoráveis à cicatrização e imunidade¹¹. A L-PRF influencia diretamente nos fenômenos e complicações de remodelação dos tecidos, melhorando os resultados e diminuindo os riscos de problemas infecciosos e hemorrágicos¹². Contudo, apesar dos resultados favoráveis encontrados, a literatura ainda apresenta resultados divergentes em relação à influência da L-PRF no tecido ósseo^{13,14}.

Em uma revisão sistemática recente sobre o potencial regenerativo da L-PRF¹⁵, nenhuma meta-análise pode ser realizada devido à heterogeneidade dos desenhos dos estudos, porém foi concluído que existem evidências moderadas de que a L-PRF atue de forma benéfica na preservação da crista óssea e na fase inicial da osseointegração. Em relação à utilização da L-PRF em procedimentos de elevação do seio maxilar, resultados discordantes^{13,16,17} também são encontrados em virtude da pequena quantidade de estudos clínicos randomizados existentes e das diferentes metodologias aplicadas entre eles. Assim, este estudo clínico randomizado controlado foi delineado para avaliar o potencial da L-PRF na regeneração óssea quando usada em combinação com o OBD na região posterior de maxila após procedimentos cirúrgicos de elevação do assoalho do seio maxilar.

MATERIAL E MÉTODOS

Os participantes deste estudo foram recrutados no Curso de Especialização em Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP. Foram selecionados 19 pacientes que buscavam reabilitação bucal por meio de próteses implanto-suportadas, porém necessitavam de procedimento prévio de enxerto ósseo no seio maxilar para instalação de implantes na região posterior de maxila atrófica. Estes pacientes parcialmente ou totalmente edêntulos tinham que apresentar altura residual do rebordo alveolar inferior ou igual a 4 mm (confirmado por meio de tomografia computadorizada de feixe cônico – CBCT) e idade superior a 18 anos. Foram excluídos pacientes com algum tipo de comprometimento de saúde, 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 seios maxilares, referentes à 19 pacientes, foram divididos aleatoriamente em 2 grupos. No grupo controle foi realizado enxerto apenas com OBD (Bio-Oss®, Geistlich Pharma AG, Suíça) e no grupo teste, foi realizada associação da L-PRF ao OBD. Os pacientes foram agrupados de forma aleatória nos diferentes grupos experimentais por meio de uma lista de randomização gerada por computador. Os números foram selados em envelopes opacos por uma pessoa não envolvida no estudo. Este estudo clínico controlado 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. Todos os pacientes foram esclarecidos sobre objetivos do estudo e concordaram espontaneamente em participar do mesmo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cálculo Amostral

Para o cálculo amostral foi utilizado o G*Power 3.1 (Faul et al. 2009¹⁸). O tamanho da amostra foi calculado baseado nos resultados prévios de porcentagem de osso neoformado (Zhang et al. 2012¹⁶). O desvio padrão do resultado primário foi estabelecido em 5,0% e a diferença média entre o grupo controle e o teste foi assumida em 5,5%. Usando o tamanho do efeito encontrado com um poder de 80% e

um nível alfa de 0,05, foi necessário um tamanho de amostra de 12 seios maxilares por grupo (Nizam et al., 2018¹⁷).

Técnica de obtenção da 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 - Divisão Brasil). Foram coletados 4 tubos de vidro com capacidade de 10 mL. Na sequência, os tubos foram centrifugados a 400G, seguindo o protocolo proposto inicialmente por Dohan em 2006¹¹. Os coágulos de fibrina foram então obtidos e depositados em uma caixa metálica específica (Xpression, Intra-lock System, São Paulo, Brazil) que permitiu a eliminação do exsudato para obtenção das membranas de L-PRF.

Procedimento cirúrgico para elevação do assoalho do seio maxilar

Após a antissepsia extra-bucal com digluconato de clorexidina a 2% e intra-bucal com digluconato de clorexidina a 0,12%, foi realizada a anestesia da região com cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000 (DFL, Brasil). Uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões verticais na região vestibular foram efetuadas. O retalho mucoperiosteal foi descolado e a osteotomia para acesso à parede lateral do seio maxilar foi realizada por meio de uma fresa esférica sob irrigação com cloreto de sódio a 0,9%. A membrana do seio maxilar foi descolada e elevada. Não foram detectadas perfurações das membranas durante a execução dos procedimentos cirúrgicos. Os seios maxilares do grupo controle foram então enxertados com OBD e os do grupo teste, com L-PRF associada ao OBD. Para cada membrana de L-PRF picotada, 0,5 g de OBD foi utilizado. O tamanho das partículas de OBD utilizado nos dois grupos foi de 0,25 - 1 mm (Bio-Oss®, Geistlich Pharma AG). Em ambos os grupos, uma membrana de colágeno reabsorvível (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG) foi posicionada na parede lateral da cavidade sinusal. As áreas cirúrgicas foram então suturadas com fio de nylon 5-0 (Ethicon®, Johnson & Johnson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA) por meio de pontos interrompidos.

Todos os pacientes foram operados pelo mesmo profissional especialista. O profissional soube qual material de enxerto iria utilizar somente no momento de preenchimento da cavidade do seio maxilar com o enxerto ósseo, quando um

colaborador abria o envelope e informava qual tratamento aquele paciente iria receber. 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. O tempo de reparo para a instalação dos implantes dentários foi de 8 meses para os dois grupos.

Instalação de implantes e obtenção da biópsia

Em uma segunda etapa cirúrgica, o leito foi reaberto para instalação de implantes. Em ambos os grupos a reabertura foi realizada após 8 meses. Os mesmos procedimentos de assepsia e técnicas cirúrgicas realizadas na primeira etapa foram repetidos para acesso à região. O retalho mucoperiostal foi descolado e, antes do início da fresagem para instalação dos implantes, uma biópsia foi obtida por meio de broca trefina (3i Implant Innovations, Flórida, EUA) de 2,0 mm de diâmetro interno e 3,0 mm externo. A broca foi posicionada no mesmo eixo de perfuração e inserção dos implantes e o osso colhido foi removido cautelosamente do interior da trefina. Após a perfuração única, implantes foram inseridos nos leitos preparados (TitamaxTi EX ACQUA, Neodent, Curitiba, Brazil).

Processamento da biópsia

As biópsias obtidas foram imediatamente fixadas em solução de paraformol 10% e, então, processadas (de Molon et al. 2015¹⁹). Foram obtidos cortes seriados com 4 µm de espessura ao longo de toda extensão do bloco para análise histológica. As lâminas que foram destinadas à análise histomorfométrica, foram coradas com hematoxilina e eosina (HE, Merck & Co. Inc., Nova Jersey, EUA), já as destinadas à análise imuno-histoquímica foram lâminas com superfície de vidro apropriada (Fisher Superfrost plus; Thermo Fisher Scientific - Waltham MA, EUA) e os anticorpos primários utilizados foram contra fator de transcrição relacionado à Runt-2 (RUNX-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), osteocalcina (OCN) e osteopontina (OPN) (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, EUA).

Análise histomorfométrica

As imagens das lâminas coradas com HE foram capturadas e digitalizadas com utilização de um microscópio óptico de luz (Diastar - Leica eichert & Jung products, Alemanha), com câmara fotográfica digital (DFC-300-FX, Leica Microsystems, Alemanha) acoplada a este microscópio e conectada a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas. A região de interesse (ROI) de 5,3 mm² foi determinada logo após o término do osso remanescente do paciente e início de osso neoformado para que não houvesse viés entre os pacientes. As análises foram realizadas por um examinador experiente cego utilizando o software Image J 1,45 (Wayne Rasband National Institutes of Health, EUA). Os seguintes parâmetros foram avaliados: porcentagem de tecido ósseo neoformado, porcentagem de tecido mole e porcentagem de enxerto residual.

Análise imuno-histoquímica

Anticorpos policlonais primários de cabra criados contra RUNX2, VEGF, OCN e OPN (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, EUA) foram utilizados nos ensaios imuno-histoquímicos. Como anticorpo secundário, foi utilizado o biotilado 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). 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. A atribuição de escores de intensidade da imunocoloração estão de acordo com estudos publicados anteriormente²⁰⁻²².

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism (versão 6.0, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA). Os dados foram descritos por meio de medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão e intervalo de confiança de 95%). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a

normalidade da distribuição dos dados. O seio maxilar foi considerado a unidade amostral. Diferenças significativas entre os grupos nos dados histológicos foram avaliadas pelo teste t não pareado. As diferenças foram consideradas significativas em $P < 0,05$.

RESULTADOS

Características dos participantes

A amostra do estudo foi composta por 19 pacientes, com um total de 24 seios maxilares, sendo que 5 pacientes receberam tratamento de boca dividida. Entre os pacientes, 11 eram mulheres e 8 eram homens, com idade média de 54 anos (faixa 26-69) (Tabela 1). Não foram observadas complicações durante ou após os procedimentos cirúrgicos. Não foram detectadas perfurações nas membranas sinusais e nenhum participante foi perdido durante a pesquisa. Foi aguardado o período de 8 meses após a realização de enxerto ósseo no seio maxilar para a instalação de 36 implantes, 19 no grupo teste e 17 no grupo controle. Durante o período de reparação, os participantes não usaram nenhuma prótese removível provisória. Nenhum implante foi perdido durante o acompanhamento dos pacientes até o momento.

Análise histomorfométrica

Em relação à histologia, não houve diferença do ponto de vista qualitativo. Em todas as biópsias o osso neoformado estava em contato direto com o material de enxerto residual. Porém, a histomorfometria indicou diferença significativa na porcentagem óssea recém-formada nos dois grupos (teste; $46,56 \pm 12,28\%$ e controle; $34,52 \pm 7,81\%$) ($P = 0,0097$). A porcentagem de enxerto ósseo residual (teste; $7,01 \pm 8,49\%$ e controle; $9,95 \pm 6,66\%$), bem como a porcentagem de tecido mole (teste; $17,76 \pm 12,03\%$ e controle; $23,10 \pm 11,48\%$) foram semelhantes entre os grupos ($P > 0,05$).

Análise imuno-histoquímica

Os escores da análise imuno-histoquímica apresentaram maiores valores de OPN e VEGF no grupo teste. O grupo controle apresentou maiores valores de OCN que o grupo teste e os valores de RUNX-2 encontrados nos grupos foram similares.

DISCUSSÃO

As análises deste estudo clínico controlado randomizado evidenciaram que a associação de L-PRF ao OBD proporcionou maior neoformação óssea no seio maxilar e maior expressão de VEGF que caracteriza uma maior angiogênese na região.

A análise histomorfométrica do grupo controle indicou porcentagem de osso neoformado de $34,52 \pm 7,81\%$, enquanto do grupo teste, porcentagem de $46,56 \pm 12,28\%$. Os valores mostram significativa neoformação óssea no seio maxilar quando a L-PRF é associada ao OBD. Isso se deve provavelmente à liberação localizada e contínua de fatores de crescimento e citocinas que favorecem o processo de reparo tecidual²³. Esta propriedade só é possível devido à polimerização natural e lenta da rede de fibrina durante a centrifugação, o que permite uma alta porcentagem de ligações equilaterais, que promovem o estabelecimento de uma estrutura tridimensional flexível, com múltiplas fibras, tornando-a capaz de transplantar e suportar a ativação e migração de citocinas^{24,25} de forma mais lenta e por mais tempo, aumentando a vida útil destas citocinas quando comparada à liberação destas por outros agregados plaquetários^{12,24,26}. O resultado de maior neoformação óssea quando a L-PRF é utilizada está em acordo com o estudo de Tatullo et al.²⁷, em que foi realizado um acompanhamento clínico e histológico de 60 pacientes que necessitavam de elevação do assoalho do seio maxilar prévio à instalação de implantes. O grupo experimental recebeu L-PRF associada ao enxerto ósseo de origem bovina, enquanto o grupo controle recebeu apenas enxerto ósseo. Foram feitas análises histomorfométricas e histológicas com 106, 120 e 150 dias após a cirurgia. A investigação revelou que o uso de L-PRF promoveu neoformação óssea mais intensa mesmo após 106 dias, assim como uma notável neoangiogênese, atuando como um bom suporte trófico ao tecido ósseo recém-formado. Da mesma maneira, Nizam et al.¹⁷ em um estudo clínico randomizado de boca dividida, avaliaram o comportamento da L-PRF associada ao OBD no levantamento do seio maxilar comparada ao uso isolado de OBD. Após 6 meses de reparo, foi obtida uma biópsia de cada seio maxilar previamente à instalação dos implantes para análise histológica e histomorfométrica. Contudo, neste estudo apesar do uso da L-PRF ter proporcionado maior neoformação óssea ($21,38 \pm 8,78$), esta diferença não foi significativa em relação à neoformação óssea do grupo controle ($21,25 \pm 5,59$). Zhang

et al.¹⁶ também compararam a associação de L-PRF e OBD com o uso isolado de OBD em procedimentos de enxertos ósseos no seio maxilar. A análise histológica após 6 meses indicou morfologia celular semelhante entre os dois grupos e a análise histomorfométrica apresentou neoformação óssea no grupo em que o PRF foi utilizado cerca de 1,4 vezes maior do que a do grupo controle ($18,35\% \pm 5,62\%$ vs. $12,95\% \pm 5,33\%$), no entanto esta diferença também não foi considerada significativa estatisticamente. Um estudo realizado anteriormente por nosso grupo de pesquisa¹³ também avaliou a influência da L-PRF em procedimentos de levantamento do seio maxilar. Foi realizado um estudo clínico randomizado de boca-dividida envolvendo 12 pacientes. No grupo controle encontravam-se os seios maxilares enxertados apenas com OBD e no grupo teste foi realizada associação entre OBD e L-PRF. Biópsias do grupo controle foram obtidas após 8 meses da enxertia, enquanto no grupo teste as biópsias foram obtidas após 4 meses, com instalação precoce dos implantes dentários²⁸. A análise histomorfométrica mostrou que a associação de L-PRF ao OBD proporcionou uma neoformação óssea significativamente maior, mesmo com metade do tempo de reparo do grupo controle. Estas diferenças entre os estudos podem ser explicadas pelos diferentes protocolos de obtenção da L-PRF, assim como diferentes quantidades de membranas de L-PRF utilizadas e diferentes períodos de reparo ósseo, o que reforça a necessidade de mais estudos padronizados com descrição detalhada dos protocolos de obtenção da L-PRF e da quantidade de material de enxerto utilizada. Ainda sobre os resultados histomorfométricos obtidos nesta pesquisa, maiores porcentagens de enxerto ósseo residual foram encontradas no grupo controle ($9,95 \pm 6,66\%$) do que no grupo teste ($7,01 \pm 8,49\%$), porém esta diferença não foi significativa, assim como a diferença entre as porcentagens de tecido mole (controle $23,10 \pm 11,48\%$; teste $17,76 \pm 12,03\%$). O mesmo resultado foi encontrado por Nizam et al.¹⁵ quando comparou a porcentagem de enxerto ósseo residual e tecido fibroso entre o grupo teste (L-PRF + OBD) e controle (OBD), também não existindo diferença estatística entre eles.

A reação imuno-histoquímica utilizando proteínas relacionadas ao metabolismo ósseo (RUNX-2, VEGF, OCN, OPN) é de extrema importância em pesquisas que avaliam o efeito da L-PRF no tecido ósseo. Desta forma, a análise deste estudo fornece dados em humanos que são inéditos na literatura, indicando que a associação da L-PRF ao OBD contribui com a neoformação óssea, apresentando grande

quantidade de VEGF, que é de extrema importância na condução do tecido ósseo neoformado. Além disso, a associação de L-PRF também sugere aceleração da neoformação óssea da região, uma vez que no grupo teste foi observada uma maior marcação para OPN e menor marcação para OCN que no grupo controle. Essa relação OPN/OCN poderia caracterizar uma situação de remodelação óssea que já estaria ocorrendo no grupo teste em virtude do longo período de reparo e da ausência de carregamento protético dos implantes¹³. A reação com RUNX-2 apresentou valores similares nos grupos controle e teste, indicando que ambas as técnicas promovem ampla diferenciação osteoblástica e contribuem para deposição de tecido neoformado. Em um estudo em animais²¹, defeitos ósseos de 5 mm foram criados na calvária de camundongos. Estes defeitos foram preenchidos por 5 biomateriais diferentes, sendo eles: osso autógeno, osso mineral bovino desproteínizado (OBD), L-PRF, L-PRF associado ao OBD e apenas coágulo sanguíneo. Após 4 e 8 semanas, foram realizadas análises imuno-histoquímicas de VEGF, OCN e RUNX2, que indicaram aspecto favorável para neoformação óssea no grupo L-PRF + OBD, também com expressão de valores altos de VEGF. Em outro estudo²⁹ 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 (seringa R.T.R., Septodont, EUA) e o esquerdo com L-PRF + β -TCP. Biópsias foram obtidas após 8 semanas e a análise imuno-histoquímica foi realizada utilizando osteonectina e osteopontina. As marcações para osteonectina 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 de osteopontina mostrou também expressão 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 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 semanas de reparo ósseo. Outras análises imuno-histoquímicas de estudos em humanos, com maior tempo de reparo devem ser realizadas.

Liu et al.¹⁴ em uma meta-análise sobre os efeitos da L-PRF como material de enxerto no seio maxilar, concluíram que embora a adição de L-PRF aos substitutos ósseos possa ajudar a reduzir o tempo de reparo, seu uso como material adjunto parece não melhorar a neoformação óssea em seios maxilares. No entanto, o estudo afirma que as técnicas para obtenção da L-PRF foram diferentes entre os estudos, o que pode ter contribuído com um grande viés. A mesma dificuldade em encontrar estudos padronizados e homogêneos envolvendo a L-PRF foi encontrada por Strauss et al.³⁰, que ao avaliarem criteriosamente estudos clínicos randomizados e controlados que tivessem utilizado L-PRF sozinha ou associada a outro material de enxerto, não encontraram efeito para a associação entre L-PRF ao OBD para enxerto ósseo no seio maxilar. No entanto, este achado pode ser explicado pela pequena quantidade de artigos analisados (apenas 2).

Castro et al.³¹ em outra revisão sistemática, apresentaram resultados favoráveis para a associação de membranas de L-PRF em defeitos infra-ósseos, defeitos de furca e cirurgias plásticas periodontais. Contudo, os autores alertam que além do L-PRF possuir muitas aplicações, ainda não existe um protocolo cirúrgico padrão claro. Isso se deve à grande heterogeneidade entre os estudos. 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 melhor comparar os resultados.

Contudo, apesar de ainda não existir um consenso na literatura sobre o efeito da L-PRF na regeneração óssea, os aspectos favoráveis da utilização da L-PRF em procedimentos odontológicos são indiscutíveis. A L-PRF apresenta-se como um biomaterial extremamente favorável ao paciente, sendo um derivado plaquetário totalmente autógeno, que dispensa o uso de anticoagulantes e trombina bovina¹¹, capaz de incorporar à sua estrutura todos os componentes sanguíneos favoráveis à resposta imune e inflamatória³². Além disso, a técnica para obtenção da L-PRF é extremamente simples¹¹, sem oferecer danos ao paciente e ainda possui baixo custo. Neste estudo ainda, a associação da L-PRF ao OBD mostrou-se ótima alternativa para

preenchimento da cavidade do seio maxilar, potencializando neoformação óssea e expressão de VEGF.

Este estudo clínico randomizado possui algumas limitações como a não utilização do modelo de boca dividida e o curto período de acompanhamento dos pacientes. Novos estudos a longo prazo devem ser realizados criteriosamente com descrição da força de centrifugação e qual derivado plaquetário está sendo utilizado (L-PRF¹¹, A-PRF³³, S-PRF³³ ou i-PRF³⁴) para que meta-análises possam ser realizadas comparando o mesmo tipo de coágulo sanguíneo, de forma que os benefícios da associação da L-PRF e a estabilidade do enxerto ósseo no seio maxilar possam ser definidos.

CONCLUSÃO

A utilização da L-PRF mostrou-se uma técnica extremamente viável, sendo um derivado plaquetário autógeno, seguro, com baixo custo, que quando associado ao OBD para elevação do seio maxilar promoveu maior neoformação óssea e maior expressão de VEGF na região.

REFERÊNCIAS

1. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intraosseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969;3(2):81-100.
2. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38(8): 613-6
3. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986; 30(2): 207-29.
4. 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
5. Jensen T, Schou S, Stavropoulos A, Terheyden H, Holmstrup P. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft in animals: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012; 41(1): 114-20
6. 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
7. Zerbo IR, de Lange GL, Joldersma M, Bronckers AL, Burger EH. Fate of monocortical bone blocks grafted in the human maxilla: a histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(6): 759-66
8. Pinchasov G, Juodzbaly G. Graft-free sinus augmentation procedure: literature review. *J Oral Maxillofac Res.* 2014; 5(1): e1.
9. 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.
10. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. An opportunity in perioimplantology: The PRF. *Implantodontie.* 2001; 42: 55-62.
11. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e37-44.
12. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e 45-50

13. 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
14. 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 trails. *Biomed Res Int*. 2019; 7267062
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods*. 2009; 41(4): 1149-60.
19. de Molon RS, de Paula WN, Spin-Neto R, Verzola MH, Tosoni GM, Lia RC et al. Correlation of fractal dimension with histomorphometry in maxillary sinus lifting using autogenous bone graft. *Braz Dent J*. 2015; 26(1): 11-8.
20. 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
21. do Lago ES, Ferreira S, Garcia IR Jr, Okamoto R, Mariano RC. Improvement of bone repair with L-PRF and bovine bone in calvaria of rats. Histometric and immunohistochemical study. *Clin Oral Investig*. 2019 Jul 23
22. 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.
23. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14: 529-35
24. 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.

25. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001; 936: 426-37
26. Everts PA, van Zundert A, Schönberger JP, Devilee RJ, Knape JT. What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A*. 2008; 15;85(4): 1135-6.
27. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, et al. 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.
28. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 101(3): 299-303.
29. Karayürek F, Kadiroğlu ET, Nergiz Y, Coşkun Akçay N, Tunik S, Ersöz Kanay B, et al. 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.
30. 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
31. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intrabony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(1): 67-82
32. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 101(3): e51-5.
33. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol*. 2014; 40(6): 679-89
34. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018; 44(1): 87-95

TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos dos participantes e dos seios maxilares incluídos no estudo.

Fonte: Elaborada pelo autor

Paciente	Idade (anos)	Gênero	Teste/Controle	Seio Maxilar (direito ou esquerdo)	Número de implantes
1	59	F	C	E	1
2	59	M	T e C	T - E / C - D	T - 2 / C - 2
3	26	M	T	D	2
4	63	M	C	D	1
5	58	M	C	D	1
6	58	F	C	E	2
7	43	F	T	E	2
8	43	F	T e C	T - D / C - E	T - 1 / C - 1
9	44	M	C	E	2
10	62	M	T e C	T - E / C - D	T - 1 / C - 1
11	62	F	T e C	T - E / C - D	T - 2 / C - 2
12	60	F	T	D	1
13	41	F	C	E	1
14	60	F	T	D	1
15	69	M	T e C	T - D / C - E	T - 1 / C - 2
16	61	F	T	D	2
17	58	M	C	D	1
18	65	F	T	D	2
19	41	F	T	D	2

Tabela 2 - Porcentagens de osso neoformado, tecido mole e enxerto ósseo residual nos grupos teste e controle.

Fonte: Elaborada pelo autor

Análise Histomorfométrica

	Controle	Teste
Osso neoformado (%)	34.52 ± 7.81 (34.61)*	46.56 ± 12.28 (45.23)*
Enxerto ósseo residual (%)	9.95 ± 6.66 (9.23)	7.01 ± 8.49 (3.81)
Tecido mole (%)	23.10 ± 11.48 (22.25)	17.76 ± 12.03 (19.07)

**Diferença significativa entre os grupos teste e controle (teste T pareado, P <0.05)

FIGURAS

Figura 01 - Fluxograma das atividades desenvolvidas.

Fonte: Elaborada pelo autor

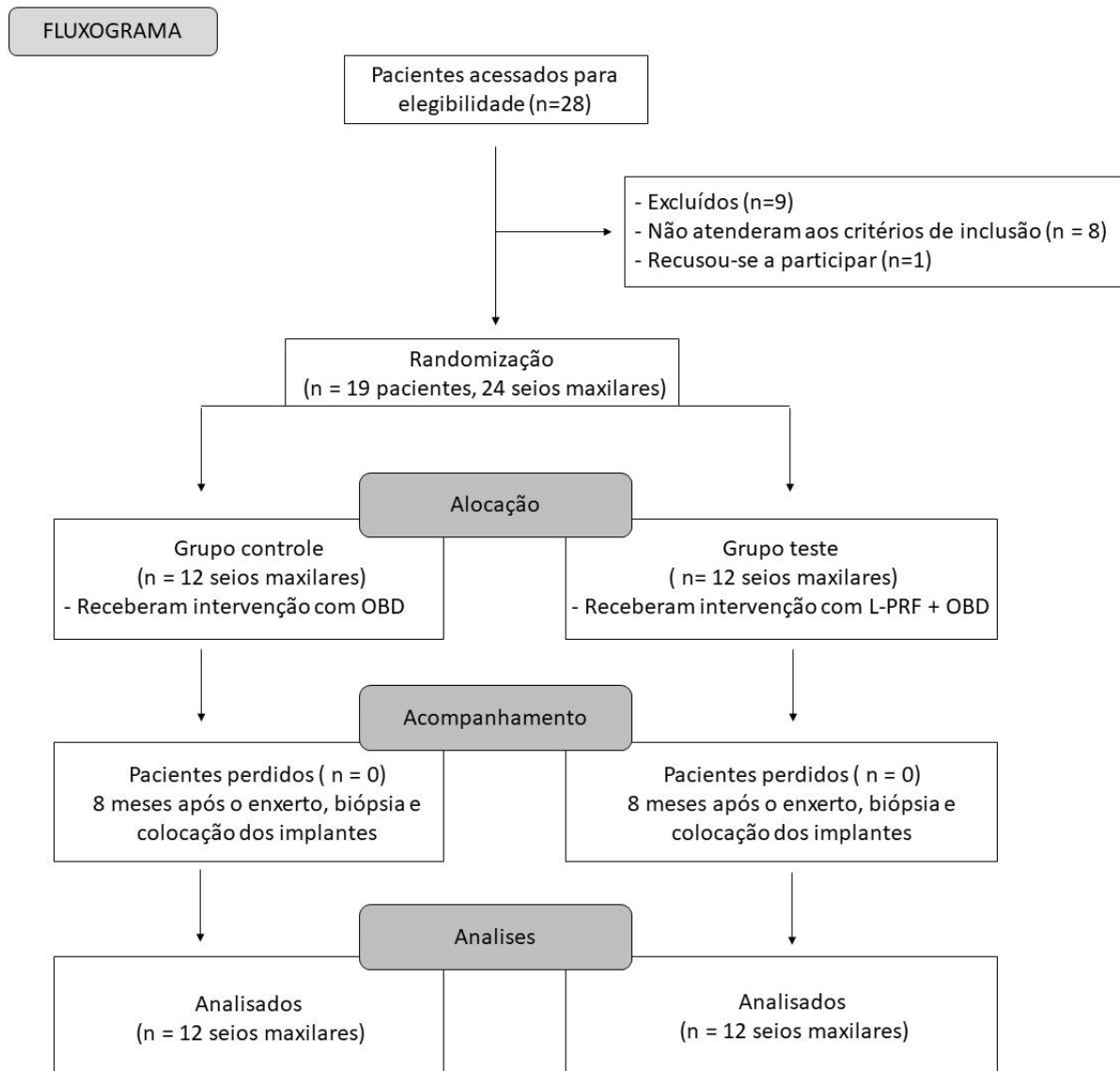


Figura 02 - Imagens histológicas obtidas de biópsias das áreas enxertadas. A) Imagem histológica do grupo controle em aumento de 2,5x B) Imagem histológica do grupo controle em aumento de 10x. C) Imagem histológica do grupo teste em aumento de 2,5x B) Imagem histológica do grupo teste em aumento de 10x. ER: Enxerto ósseo residual; TM: Tecido mole; ON: Osso neoformado.

Fonte: Elaborada pelo autor

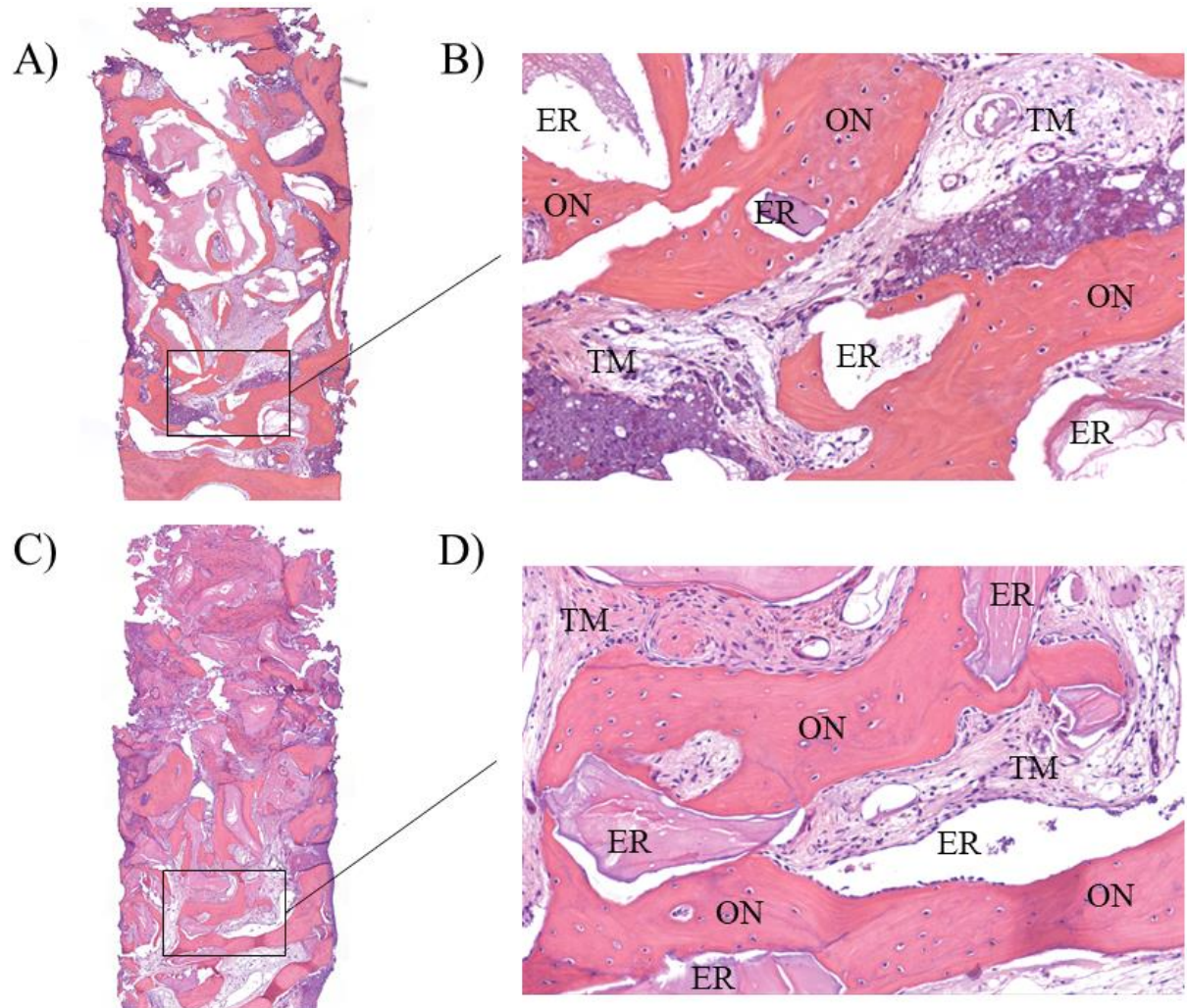


Figura 03 - Imagens representativas das imunomarcações observadas para proteínas avaliadas no grupo controle (A, C, E, G) e teste (B, D, F, H). As imagens mostram a área de osso neoformado junto ao biomaterial e as setas vermelhas representam as marcações positivas. Em A e B, observa-se a imunomarkação positiva para RUNX-2, mostrando células com marcação positiva para este fator de transcrição. Em C observa-se a imunomarkação para VEGF presente em células da linhagem osteoblástica, na proximidade dos remanescentes do biomaterial. Em D, observa-se marcação positiva para VEGF nas células da linhagem osteoblástica. A osteocalcina pode ser observada na forma de precipitações na matriz mineralizada, observado em E e também em células da linhagem osteoblástica, observada em F. A osteopontina apresenta-se marcada também sobre a matriz mineralizada, tanto em G como em H.

Fonte: Elaborada pelo autor

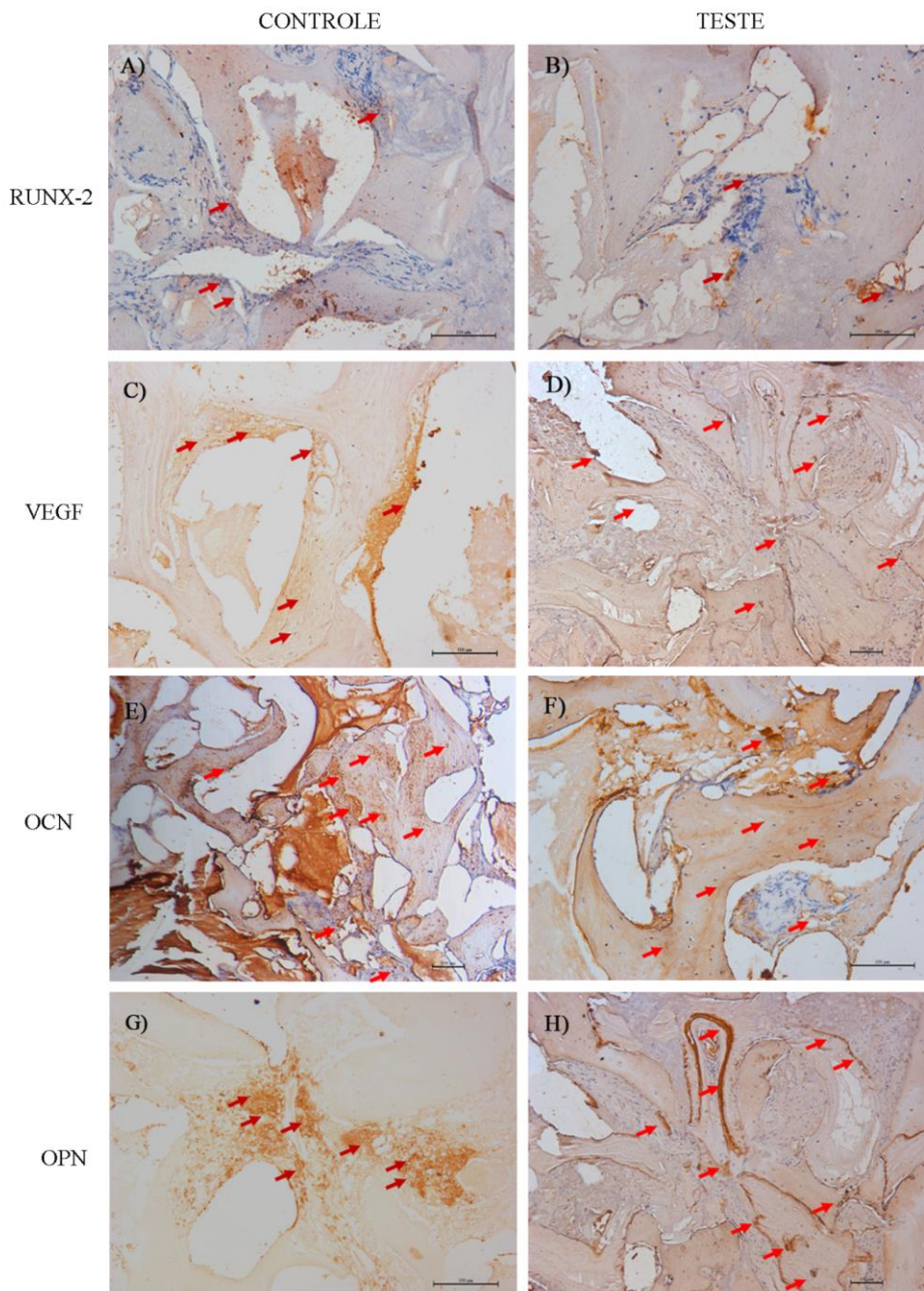
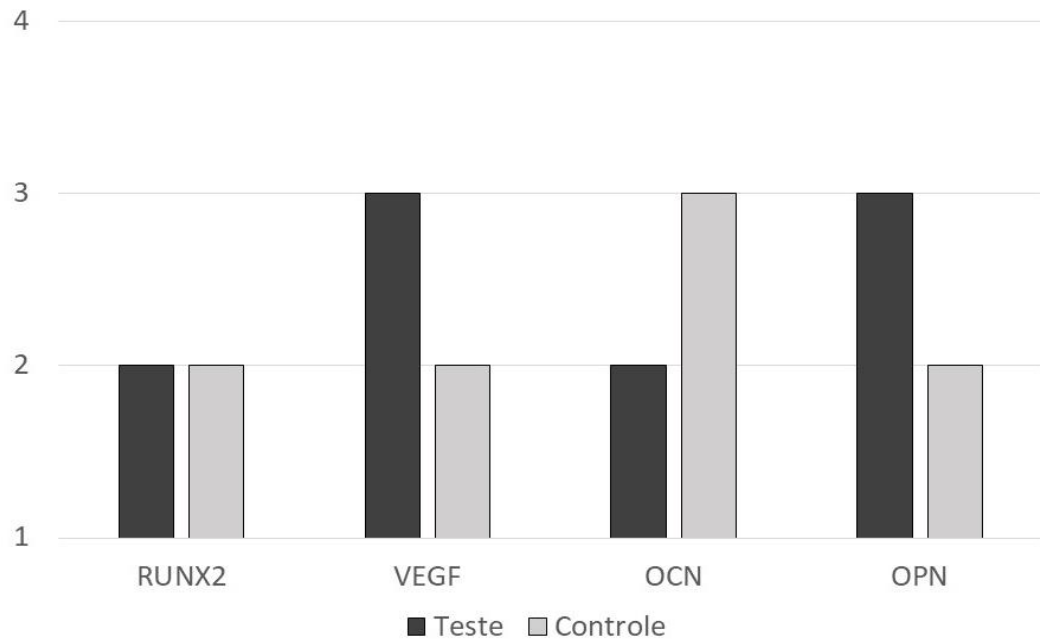


Figura 04 - Gráficos dos escores atribuídos às marcações de RUNX2, VEGF, OPN, OCN em cada grupo. 1 = Marcação ausente; 2 = Marcação leve/discreta, 3 = Marcação moderada; 4 = Marcação intensa.

Fonte: Elaborada pelo autor



3.2 Publicação 2*

The effectiveness of L-PRF in the treatment of Schneiderian membrane large perforations: long-term follow-up of a case series

* O artigo segue o estilo Vancouver, normas adaptadas pela FOAr.

ABSTRACT

The maxillary sinus lifting is routinely used in implant dentistry to ensure the installation of dental implants in atrophic maxilla. However, one of the major difficulties with this technique is the manipulation of the thin Schneiderian membrane. The perforation of this membrane during sinus lifting is of concern, because it is not always possible to restore it. Small perforations can be solved with suture or interposition of collagen membranes. However, large perforations are still difficult to repair, and interruption of the surgical procedure is generally necessary because of the risk of sinusitis and postoperative infections. Thus, the aim of this case series is to evaluate the effectiveness of platelet rich fibrin (L-PRF) in the treatment of Schneiderian membrane large perforations during maxillary sinus lifting. A total of 9 patients received the proposed treatment. Due to interposition of L-PRF membranes over the large membrane perforation, heterogeneous graft could be performed in the same surgical procedure. After 8 months of healing, 13 implants were placed in the augmented sinuses, achieving satisfactory primary stability. The membrane repair and the success rate of dental implants were assessed after 3-5 years of follow-up by clinical and radiographic analysis. The long-term follow up of the patients showed osseointegration of all implants and absence of signs of infection and presence of mucus in the region. It can be concluded that the use of L-PRF is an extremely viable alternative for large Schneiderian membrane perforations repair, eliminating the need of a second surgical intervention for sinus lifting.

Key Words: Maxillary sinus. Bone substitutes. Cone beam computed tomography. Maxillary sinus floor augmentation. Platelet-rich fibrin

INTRODUCTION

The paranasal sinuses are cavities found near the nasal fossa and communicated with it through canals and ostium. Maxillary, frontal, ethmoidal and sphenoid sinus constitute the paranasal sinuses^{1,2}. The maxillary sinus is the largest cavity of them^{1,2} and its shape is subject to variations among individuals and also within a person's life-time^{1,3}. The maxillary sinus is covered by a respiratory mucosa, a mucoperiosteal membrane called Schneiderian membrane⁴. This membrane is thin and has a thickness ranging from 0.3 to 0.8 mm⁵. The epithelial layer, constituted by a ciliated columnar pseudostratified epithelium, is responsible for providing to the maxillary sinus numerous goblet cells that produce mucus⁶. This mucus, besides containing lysozyme (antibacterial), retains bacteria and debris that will later be transported by the cellular cilia towards the ostium², ensuring the maxillary sinus drainage. The physiology between the maxillary sinus and the nasal cavity should be maintained to ensure maxillary sinus health. Any factor that impairs ostium mucus production, ciliary function or patency may increase the risk of sinusitis.

Due to the proximity of the maxillary sinus to the maxillary alveolar process, satisfactory amount of bone tissue is not always found for dental implants placement^{7,8}. To make implant-supported oral rehabilitation possible in this region, the lateral window technique was developed in 1986 by Tatum⁹ to access the maxillary sinus cavity and elevate its floor. Due to the high osteogenic potential of the Schneiderian membrane¹⁰⁻¹³ and the concept of guided bone regeneration, which considers the maxillary sinus cavity a favorable defect for bone formation, the lateral window technique can be performed without the association of bone grafts¹³. However, some authors state that when no biomaterial is used to elevate the maxillary sinus floor, bone gain is limited and the implant apex is surrounded by non-osseointegrated connective tissue¹⁴⁻¹⁶. For this reason, when large bone formation is desired, the maxillary sinus cavity is traditionally filled with particulate bone grafts and the osteotomy window performed to access the maxillary sinus is protected by the interposition of a collagen membrane¹³.

Despite being handled with caution, perforation of the Schneiderian membrane is the most common complication during the maxillary sinus floor elevation procedure. Large perforations (> 1.5 cm) are the biggest challenge for repair¹⁷ and may occur for several reasons, such as operator error, thin-membrane manipulation, presence of

bone septum¹⁷⁻²⁰, presence of pathologies and act secondary to previous surgery¹⁷. Studies have shown that membrane perforation can be solved with resorbable collagen membranes without interfering with bone formation or implant success²⁰⁻²². However, this technique is only successful in perforations up to 1 cm²³, and the use of collagen membranes in large perforations is risky. The most indicated in these cases is the interruption of the procedure to avoid contamination in the maxillary sinus²⁴, as it is extremely important that the integrity of the Schneiderian membrane is maintained to allow particulate bone graft confinement and to reduce the risk of infection¹⁷. However, leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) membranes have been shown to be an alternative in the treatment of large perforation of maxillary sinus membranes, avoiding the interruption of the procedure and the need of a second intervention for maxillary sinus augmentation, after repair of the Schneiderian membrane²⁰.

L-PRF was developed by Choukroun in 2001²⁵ and it is obtained by centrifuging patient blood samples taken from vacutainer tubes without the addition of anticoagulants. For this reason, it is a fully autogenous material capable of releasing cytokines and growth factors favorable to the patient's healing and immune response²⁶. During L-PRF centrifugation, fibrin network polymerization occurs naturally and slowly, ensuring the establishment of equilibrium bonds, which promote a flexible structure capable of transplanting and supporting cytokine activation and migration^{27,28}. Thus, besides presenting all blood components favorable to healing and immunity, L-PRF is also an excellent means for transporting mesenchymal cells. According to Pjetursson & Lang²⁹, the greatest success of L-PRF occurs when it is used for the treatment of Schneiderian membrane perforations during maxillary sinus augmentation procedures. Therefore, this serial case series aimed to perform a long term longitudinal evaluation of 9 patients who suffered accidental large Schneiderian membrane perforations during the maxillary sinus augmentation procedure that were solved by interposition of L-PRF membranes. The membrane repair was radiologically evaluated and the success rate of dental implants was assessed.

MATERIAL AND METHODS

From January 2014 – 2017, 9 healthy patients (5 male and 4 female, mean age $53,22 \pm 12,15$ years), of the Implantology Clinic at the Araraquara School of Dentistry (UNESP) suffered large perforations (> 1 cm) in the Schneiderian membrane during the maxillary sinus augmentation procedure. In these patients, the perforation was treated by the interposition of L-PRF membranes and the maxillary sinus cavity was filled with deproteinized mineral bovine bone graft. The patients remained under follow-up and a cone-beam computed tomography (CBCT) was performed after 3-5 years to verify membrane integrity and bone graft confinement in the maxillary sinus.

Surgical technique

At first, a clinical and radiographic examination of the patients was performed to confirm the insufficient bone volume for implant placement. The augmentation of the sinus floor was performed under local anesthesia. A linear palatinized incision was made over the bony crest, followed by another vertical incision. A mucoperiosteal flap was retracted to access the lateral wall of the maxillary sinus. The osteotomy was performed with ball milling cutter until the Schneiderian membrane could be visualized by transparency. After that, membrane detachment was performed with specific curettes (Neodent®, Curitiba, Paraná, Brazil) and, at this moment, a large disruption of membrane integrity was detected in all patients, making conventional treatment through interposition of collagen membranes impossible. Membrane perforation was isolated in all cases and the interposition of L-PRF membranes was planned due to the perforation dimensions. For L-PRF preparation, six 10 mL glass tubes (without anticlotting agent) of peripheral blood were collected from each patient. The samples were immediately centrifuged at $400G^{26}$ (centrifuge Intra-Spin® - Intra-Lock International, Boca-Raton, FL, EUA; Made in Germany). Afterwards, the tubes were removed from the centrifuge, allowing the visualization of 3 layers. Through a cut, the L-PRF clot was separated from the red corpuscle layer maintaining the Buffy Coat region³¹. Each fibrin clot was placed in a metal box (Xpression, Intra-lock System, Sao Paulo, Brazil). The fluids present in the fibrin clots were squeezed out to obtain L-PRF membranes. The obtained membranes were interposed on the perforated Schneiderian membrane, one over the other, until the rupture of the maxillary sinus

membrane could not be visualized. After repair of the sinus membrane perforation, the maxillary sinus cavities were filled with deproteinized bovine mineral bone (Bio-oss® – Geistlich, Root Längenbold, Switzerland) and a collagen membrane was positioned to cover the lateral access window. Primary closure was achieved in all cases with 5-0 Nylon sutures (Ethicon®, Johnson & Johnson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA). The patients were instructed to perform gentle mouth rinses with 0.12% chlorhexidine gluconate twice daily for 15 days. The postoperative prescription included antibiotics (Amoxicillin, 500 mg, 8/8 hours for 7 days), nonsteroidal anti-inflammatory (Nimesulide, 100 mg, 12/12 hours for 3 days), and analgesics (Dipyrone, 500 mg, 6/6 hours for 3 days). The sutures were removed 10 days after the surgery.

Implant placement

After 8 months of healing, a CBCT was requested for each patient to assess the volume of bone graft as well as to identify any possible existing sinus pathology. Adequate bone volume for dental implant placement was obtained in all patients. After 6 months of implant installation, the patients were referred for prosthetic rehabilitation.

Long-term radiological and clinical assessment

After 3-5 years of the surgical augmentation procedure, the patients were evaluated and the success of the implants were recorded. A CBCT was performed to evaluate the repair of the Schneiderian membrane and the relation between the bone and the implants.

RESULTS

The augmentation procedure was successful in all patients and their postoperative recovery was uneventful. A total of 13 implants were placed in the augmented maxillary sinuses with perforated Schneiderian membranes. The primary stability of implants was measured through implant insertion torque (N.cm). The mean value of the implants primary stability was 30 N.cm. No implants were lost after 3-5 follow-up period. The radiographs showed correct osseointegration of all implants and effective repair of the Schneiderian membrane perforations. Bone graft confinement was observed in all maxillary augmented sinuses, as well as absence of signs of infection and presence of mucus.

DISCUSSION

Schneiderian membrane perforation is the most common complication during the maxillary sinus augmentation procedure, which has a rate of 7-58% during surgery^{30,31}. Small perforations can be easily solved with resorbable collagen membranes without interfering with bone formation or implant success²⁰⁻²². However, in cases of large perforations, the surgical procedure should be aborted²⁴.

Maintaining the integrity of the sinus membrane is important to confine the graft material, preventing its extravasation. Unrepaired or improperly repaired Schneiderian membrane perforation may result in bacterial penetration, mucus invasion into the bone graft and even ostium obstruction due to graft leakage to the perforation site, compromising physiological drainage of the maxillary sinus^{17,32}.

In this context, L-PRF concentrate has been proposed for the repair of large sinus membrane perforations, due to its autogenicity, affordable cost, easy manipulation and release of cytokines and growth factors that favor healing and angiogenesis^{27,33,34}. In addition, L-PRF membranes have natural adhesive properties³⁵⁻³⁷, which guarantee good adhesion of this material to the sinus membrane³⁸ and also, bone graft stabilization capacity, due to the resistance offered by the three-dimensional fibrin network. In the present study, the use of L-PRF membranes for Schneiderian membrane perforation repair avoids the interruption of the surgical procedure and eliminates the need for a new surgical approach after biological membrane repair²⁰. None of the patients developed post-operative complications, including wound dehiscence, sinus infection and exposure or loss of the graft. Thus, the proposed treatment was effective and allowed for the placement of dental implants after 8 months.

A similar result was reported by Elif Oncu³⁰ in 2017. These authors compared bone formation and angiogenesis of 10 maxillary sinuses that had the perforated sinus membrane repaired through L-PRF membranes and 10 non-perforated maxillary sinuses. Both received the same graft material. No statistical difference was found between the groups for the histological and radiographic parameters evaluated. Both groups had similar bone gain, increased area of possible vasculogenesis and dental implant survival. For this reason, the use of L-PRF membranes was considered a viable alternative for repairing maxillary sinus membrane perforations.

Aricioglu et al.²⁴ compared the effectiveness of resorbable collagen membranes and L-PRF membranes for resolution of rat sinus membrane perforations. Both treatments were effective and no significant difference in the number of lymphocytes, fibroblasts, veins and collagen fibers was observed between the groups. However, in this study, the authors standardized maxillary sinus membrane perforations up to 1 cm. According to Hernandez-Alfaro et al.²³, collagen membranes only have success in the treatment of Schneiderian membrane perforations up to 1 cm.

In fact, the literature still lacks longitudinal studies evaluating the success of treatment of large Schneiderian membrane perforations. Thus, this serial case, despite the small sample size and limited analysis, contributes to the literature. The use of L-PRF membranes for repairing large Schneiderian membrane perforation combined with the graft material insertion within the sinus cavity in the same surgical procedure was effective for maxillary sinus augmentation, allowing implant placement after eight months of healing.

CONCLUSION

The findings of this case series demonstrate that L-PRF membranes are an effective alternative for the repair of large Schneiderian membrane perforations, eliminating the need of a second surgical intervention for maxillary sinus augmentation after the biological repair of the sinus membrane. The long-term follow-up of the 9 treated patients showed osseointegration of all implants and absence of signs of infection and presence of mucus in the maxillary sinuses.

REFERENCES

1. Rosano G, Taschieri S, Del Fabbro M, Weinstein T, Testori T, Gaudy J-F. Anatomia chirurgica step by step. Scheda didattica: Il seno mascellare. *Ital Oral Surg.* 2008; 7(4): 39-43.
2. Santana V. Anatomia de la cabeza para odontólogos. 4^a ed: Médica Panamericana; 2007. cap. 2, p. 75
3. Woo I, Le BT. Maxillary sinus floor elevation: review of anatomy and two techniques. *Implant Dent.* 2004; 13: 28-32
4. Scharf KE, Lawson W, Shapiro JM, Gannon PJ. Pressure measurement in the normal and occluded rabbit maxillary sinus. *Laryngoscope.* 1995; 105(6): 570-574.
5. Morgensen C, Tos M. Quantitative histology of the maxillary sinus. *Rhinology.* 1977;15(3):129-40
6. Watzek G, Bernhart T, Ulm C. Complications of sinus perforations and their management in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1997; 41(3): 563-83.
7. Boyne PJ; James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38(8): 613-6
8. 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 and Maxillofac Surg.*1984; 42(8): 497-505
9. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986; 30(2): 207-29.
10. Palma VC, Magro-Filho O, de Oliveria JA, Lundgren S, Salata LA, Sennerby L. Bone reformation and implant integration following maxillary sinus membrane elevation: an experimental study in primates. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2006; 8(1): 11-24.
11. 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: 138–145
12. 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.
13. 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

14. 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): e1-5
15. 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): 684-7.
16. 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
17. Pikos MA. Maxillary sinus membrane repair: update on technique for large and complete perforations. *Implant Dent.* 2008; 17(1): 24-31
18. Wen SC, Lin YH, Yang YC, Wang HL. The influence of sinus membrane thickness upon membrane perforation during transcrestal sinus lift procedure. *Clin Oral Implants Res.* 2015; 26(10): 1158-64.
19. Zijdeveld SA, van den Bergh JP, Schulten EA, Bruggenkate CM. Anatomical and surgical findings and complications in 100 consecutive maxillary sinus floor elevation procedures. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66(7): 1426-38.
20. Pinto GDDS, Pigossi SC, Pessoa T, Nícoli LG, Araújo RFSB, Marcantonio C, et al. Successful use of Leukocyte platelet-rich fibrin in the healing of sinus membrane perforation: A case report. *Implant Dent.* 2018; 27(3): 375-380
21. de Almeida Ferreira CE, Martinelli CB, Novaes AB Jr, Pignatton TB, Guignone CC, de Almeida ALG et al. Effect of maxillary sinus membrane perforation on implant survival rate: A retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017; 32(2): 401-407
22. Al-Dajani M. Incidence, risk factors, and complications of Schneiderian membrane perforation in sinus lift surgery: a meta-analysis. *Implant Dent.* 2016; 25(3): 409–15.
23. Hernandez-Alfaro F, Torradeflot MM, Marti C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(1):91-8.
24. Aricioglu C, Dolanmaz D, Esen A, Isik K, Avunduk MC. Histological evaluation of effectiveness of platelet-rich fibrin on healing of sinus membrane perforations: A preclinical animal study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017; 45(8): 1150-7
25. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. An opportunity in perioimplantology: The PRF. *Implantodontie.* 2001; 42: 55-62.

26. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e37-44
27. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e56-6
28. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e45-50.
29. Pjetursson BE, Lang NP. Sinus floor elevation utilizing the transalveolar approach. *Periodontol 2000.* 2014; 66(1): 59-71
30. Öncü E, Kaymaz E. Assessment of the effectiveness of platelet rich fibrin in the treatment of Schneiderian membrane perforation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2017; 19(6): 1009-14
31. Schwartz-Arad D, Herzberg R, Dolev E. The prevalence of surgical complications of the sinus graft procedure and their impact on implant survival. *J Periodontol.* 2004; 75(4): 511-6
32. Misch CE. The maxillary sinus lift and sinus graft surgery. In: Misch CE, ed. *Contemporary implant dentistry.* Chicago, IL: Mosby;1999. p. 469-95
33. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival. *Implant Dent.* 2009; 18: 220–9
34. Choi BH, Zhu SJ, Jung JH, Lee SH, Huh JY. The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during sinus lifts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(2): 150-4.
35. Öncü E, Erbeyoğlu AA. Enhancement of Immediate Implant Stability and Recovery Using Platelet-Rich Fibrin. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2019; 39(2): e58–e63
36. Öncü E, Bayram B, Kantarci A, Gülsever S, Alaaddinoğlu EE. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016; 21(5): e601-7.
37. Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, Carile F, Tia M, Bucci P. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *J Oral Implantol.* 2011; 37(6): 681-90.

38. Proussaefs P, Lozada J. The "Loma Linda pouch": a technique for repairing the perforated sinus membrane. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003; 23(6): 593-7.

TABLES

Table 1 - Demographic data and primary stability of the implants.

Source: Prepared by the author

Patient	Age	Gender	Perforation side	Primary Stability (N.cm)
1	63	M	L	20 N.cm
2	35	F	L	45 N.cm
3	55	F	R	32 N.cm
4	68	M	L	20 N.cm
5	71	F	R	30 N.cm
6	45	M	L	20 N.cm
7	51	M	L	45 N.cm
8	49	F	R	20 N.cm
9	42	M	R	45 N.cm

FIGURES

Figure 1 - Initial panoramic radiograph indicating the need to maxillary sinus floor augmentation for subsequent implant placement in the region.

Source: Prepared by the author

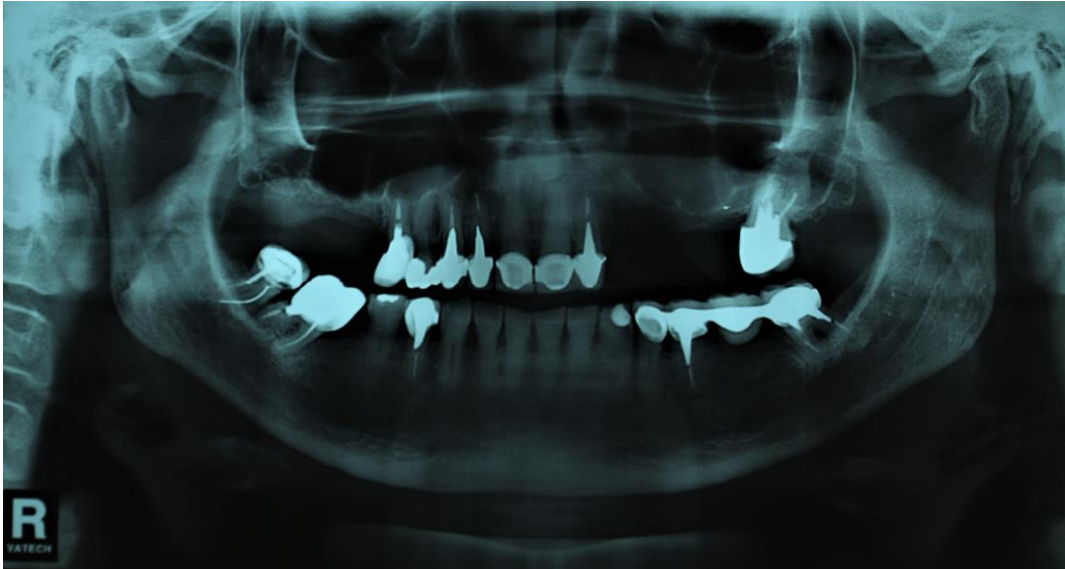


Figure 2 - Large perforation of the Schneiderian membrane detected during the augmentation procedure of the right maxillary sinus.

Source: Prepared by the author

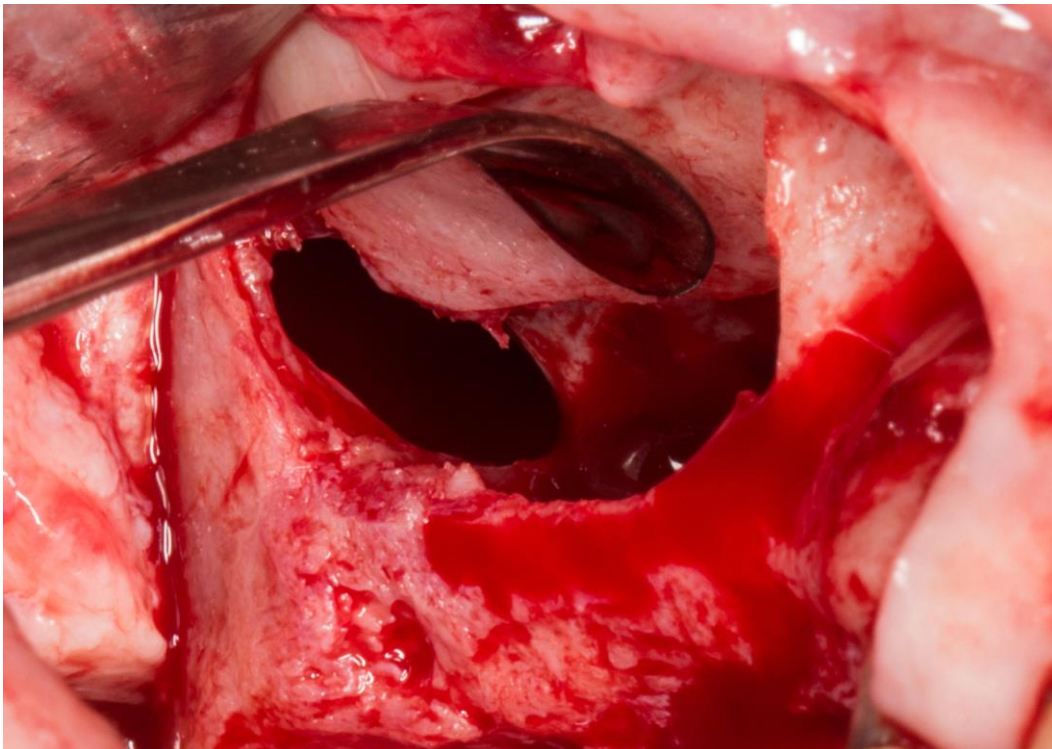


Figure 3 - L-PRF membranes obtained by centrifuging the patient's peripheral blood.
Source: Prepared by the author

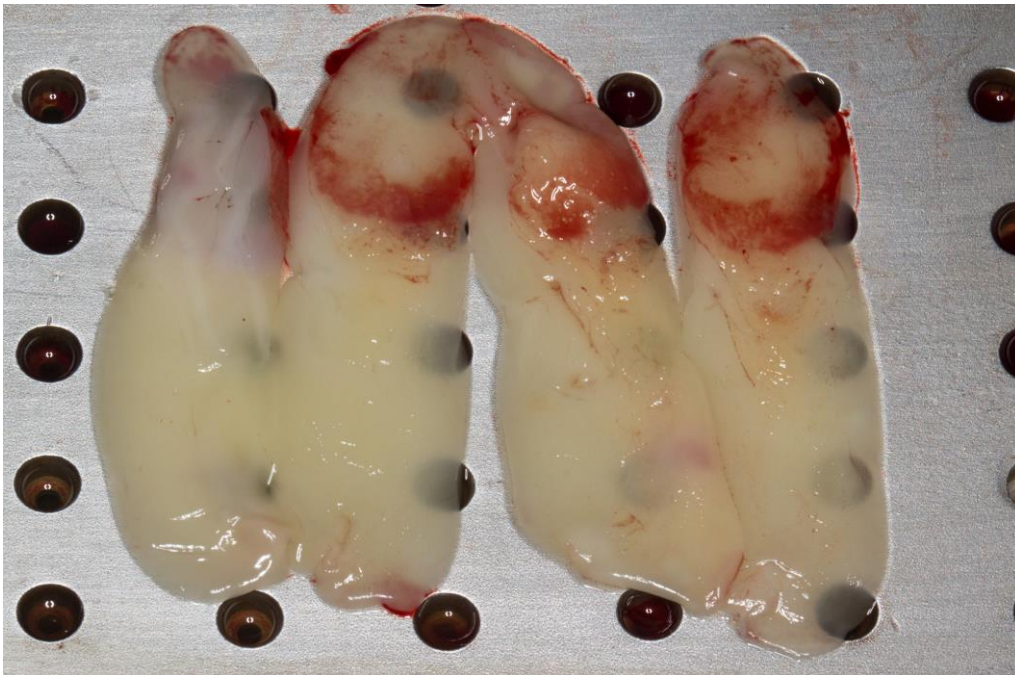


Figure 4 - Interposition of L-PRF membranes on a large perforation of the Schneiderian membrane.
Source: Prepared by the author

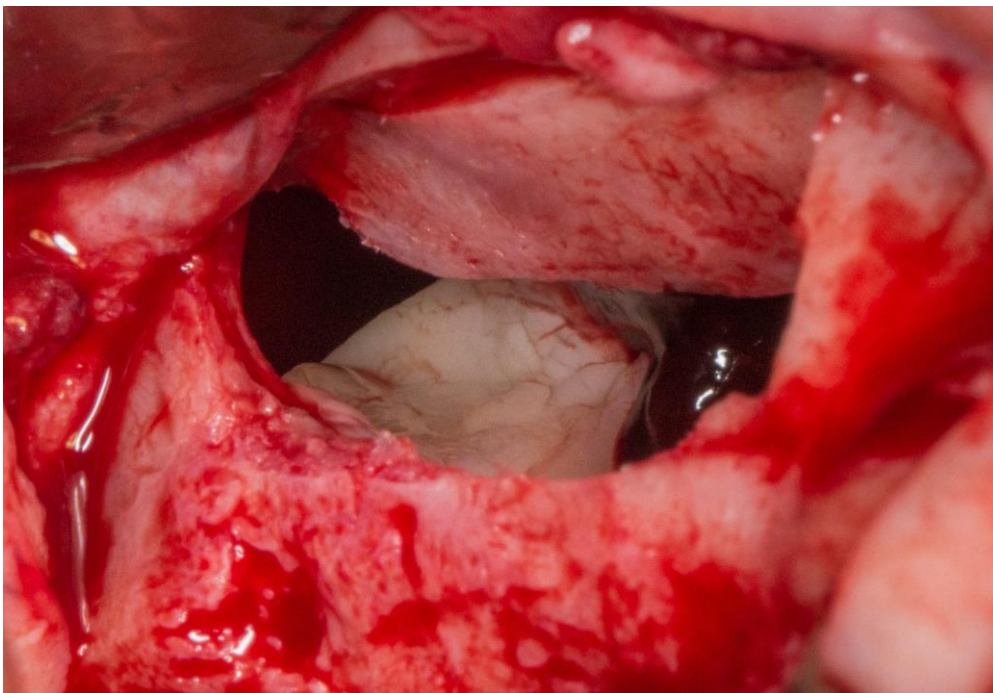


Figure 5 - Cone beam computed tomography 8 months after the surgical procedure in the right maxillary sinus.

Source: Prepared by the author

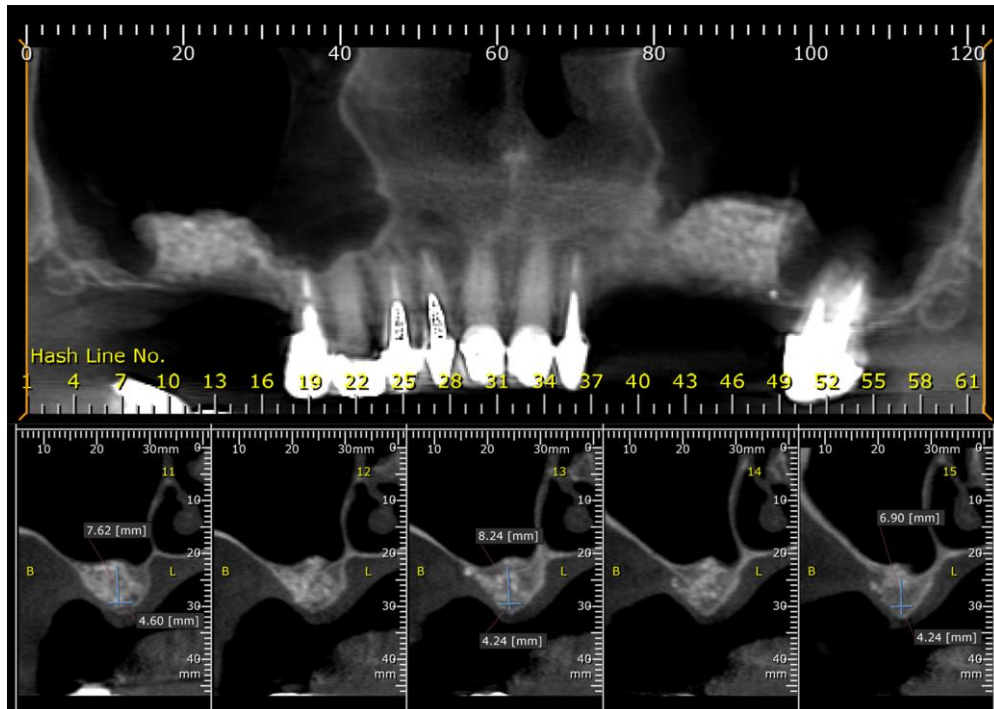


Figure 6 - Clinical view of the posterior maxilla region submitted to sinus floor augmentation with osseointegrated implants ready for prosthetic restoration.

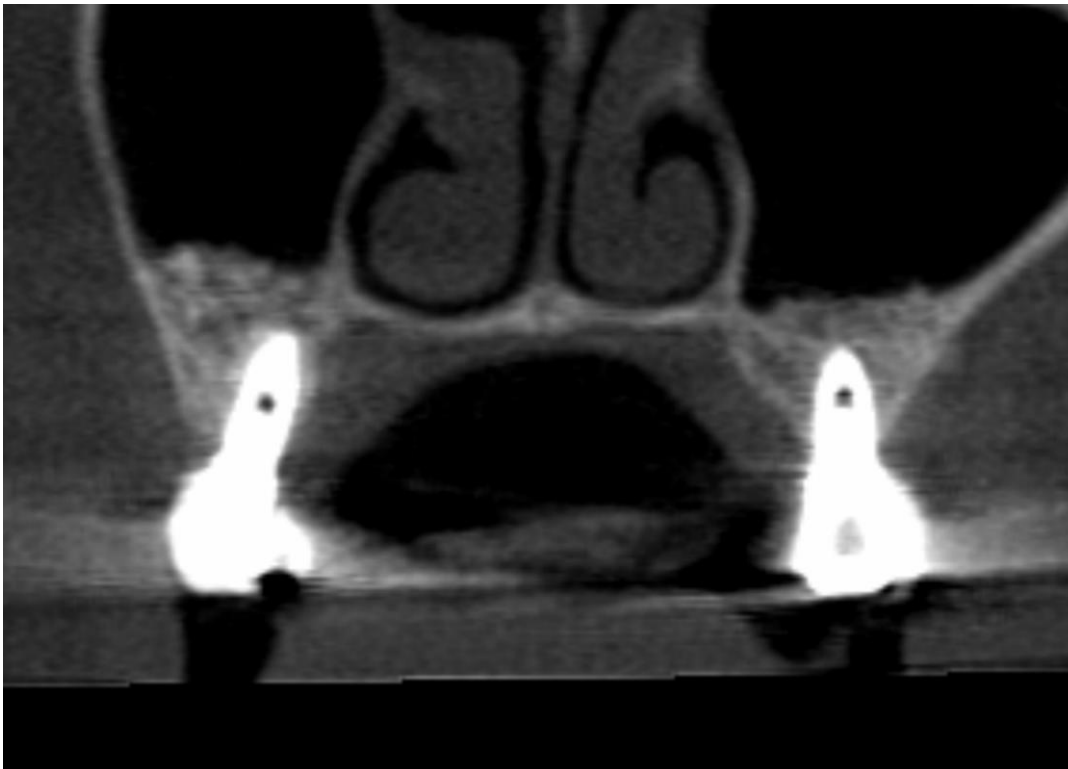
Source: Prepared by the author



Figure 07 - Clinical view of the posterior maxilla region submitted to sinus floor augmentation after 5 years of follow-up.
Source: Prepared by the author



Figure 08 - Coronal section of the cone beam computed tomography exam, 5 years after the surgical procedure in the right side.
Source: Prepared by the author



4 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que a utilização da L-PRF em procedimentos de levantamento do assoalho do seio maxilar é benéfica e versátil. A associação da L-PRF ao osso mineral bovino desproteínizado para enxerto no seio maxilar resultou em maior expressão de VEGF, caracterizando uma maior angiogênese, e maior neoformação óssea após um período de 8 meses de reparo. Já quando utilizada para tratamento de grandes perfurações da membrana de Schneider, a L-PRF permitiu a continuidade do procedimento cirúrgico, mantendo o confinamento do enxerto ósseo, não interferindo na osseointegração dos implantes posteriormente instalados e sem apresentar sinais infecciosos no seio maxilar em um período de acompanhamento de 3 a 5 anos.

REFERÊNCIAS*

1. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38(8): 613-6
2. 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
3. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986; 30(2): 207-29.
4. Morgensen C, Tos M. Quantitative histology of the maxillary sinus. *Rhinology.* 1977; 15(3): 129-40
5. Scharf KE, Lawson W, Shapiro JM, Gannon PJ. Pressure measurement in the normal and occluded rabbit maxillary sinus. *Laryngoscope.* 1995; 105: 570-4.
6. Watzek G, Bernhart T, Ulm C. Complications of sinus perforations and their management in endodontics. *Dent Clin North Am.* 1997; 41(3): 563-83.
7. Santana V: Anatomia de la Cabeza para Odontólogos. 4ª edición 2007, Editorial Médica Panamericana. Capítulo 2, pag. 75
8. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38(8): 613-6
9. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986; 30(2): 207-29.
10. 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 and Maxillofac Surg.* 1984; 42(8): 497-505
11. Palma VC, Magro-Filho O, de Oliveria JA, Lundgren S, Salata LA, Sennerby L. Bone reformation and implant integration following maxillary sinus membrane elevation: an experimental study in primates. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2006; 8(1): 11-24.
12. 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; 84:138–45

* 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>

13. 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.
14. 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): e1-5
15. Pikos MA. Maxillary sinus membrane repair: update on technique for large and complete perforations. *Implant Dent.* 2008; 17(1): 24-31
16. Misch CE. The maxillary sinus lift and sinus graft surgery. In: Misch CE, ed. *Contemporary Implant Dentistry.* Chicago, IL: Mosby;1999: 469-495
17. Pinto GDDS, Pigossi SC, Pessoa T, Nícoli LG, Araújo RFSB, Marcantonio C, et al. Successful use of leukocyte platelet-rich fibrin in the healing of sinus membrane perforation: a case report. *Implant Dent.* 2018; 27(3): 375-80
18. de Almeida Ferreira CE, Martinelli CB, Novaes AB, Pignaton TB, Guignone CC, de Almeida ALG, et al. Effect of maxillary sinus membrane perforation on implant survival rate: A retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017; 32(2): 401-7
19. Al-Dajani M. Incidence, risk factors, and complications of Schneiderian membrane perforation in sinus lift surgery: A meta-analysis. *Implant Dent.* 2016; 25(3): 409–15.
20. Hernandez-Alfaro F, Torradeflot MM, Marti C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(1): 91-8.
21. Aricioglu C, Dolanmaz D, Esen A, Isik K, Avunduk MC. Histological evaluation of effectiveness of platelet-rich fibrin on healing of sinus membrane perforations: A preclinical animal study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017; 45(8):1150-7
22. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. An opportunity in perioimplantology: the PRF. *Implantodontie.* 2001; 42: 55-62.
23. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e37-44
24. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med, Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101(3): e45-50

25. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14: 529-35
26. 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 in biotechnology*. 2009; 27(3):158-67.
27. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001; 936: 426-37.
28. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998; 85(6): 638-46.
29. 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.
30. 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.
31. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F et al. 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.
32. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of leukocyte- 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
33. Öncü E, Kaymaz E. Assessment of the effectiveness of platelet rich fibrin in the treatment of Schneiderian membrane perforation. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19(6): 1009-14
34. Cano-Durán JA, Peña-Cardelles JF, Ortega-Concepción D, Paredes-Rodríguez VM, García-Riart M, López-Quiles J. The role of Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the treatment of the medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). *J Clin Exp Dent*. 2017; 9(8): e1051-9
35. Pjetursson BE, Lang NP. Sinus floor elevation utilizing the transalveolar approach. *Periodontol 2000*. 2014; 66(1): 59-71
36. 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.

37. Clark, R.A. Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001; 936, 355-67.
38. 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.
39. Tabata Y. Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue engineering*. 2003; 9 Suppl 1: S5-15.
40. 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.
41. Jensen T; Schou S; Stavropoulos A; Terheyden H; Holmstrup P. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft in animals: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 41(1):114-20
42. 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.
43. 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
44. Taschieri S, Corbella S, Weinstein R, Di Giancamillo A, Mortellaro C, Del Fabbro M. Maxillary sinus floor elevation using platelet-rich plasma combined with either biphasic calcium phosphate or deproteinized bovine bone. *J Craniofac Surg*. 2016; 27(3): 702-7
45. Pinchasov G, Juodzbaly G. Graft-free sinus augmentation procedure: literature review. *J Oral Maxillofac Res*. 2014; 5: e1.
46. Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, Choi JY, Kim SG. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109(5): e33-8.
47. Jang ES, Park JW, Kweon H, Lee KG, Kang SW, Baek DH, Choi JY, Kim SG. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109(6): 831-6.
48. Dohan Ehrenfest DM, Lemo N, Jimbo R, Sammartino G. Selecting a relevant animal model for testing the in vivo effects of Choukroun's platelet-rich fibrina (PRF): Rabbit tricks and traps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 110(4):413-6
49. Graham J. Common procedures on rabbits. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*. 2006 May; 9(2): 367-88.

50. 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 Endod.* 2006; 101(3): 299-303.
51. 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
52. 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.
53. 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
54. 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 Trails. *Biomed Res. Int.* 2019; 7267062.
55. 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 Oct; 29 Suppl 18:6-19

APÊNDICE A – MATERIAL E MÉTODOS

Esta dissertação foi realizada a partir de dois estudos clínicos independentes. Ambos foram realizados na Faculdade de Odontologia de Araraquara e seus respectivos material e métodos estão subdivididos em Publicação 1 e Publicação 2.

Publicação 1: Associação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) ao osso bovino desproteínizado em cirurgias de elevação do assoalho do seio maxilar: Análise histomorfométrica e imuno-histoquímica

O protocolo do presente estudo 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 (Anexo A).

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. 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 de implantes. Estes pacientes parcialmente ou totalmente edêntulos tinham que apresentar altura residual do rebordo alveolar inferior ou igual a 4 mm e idade superior a 18 anos. Foram excluídos pacientes com algum tipo de comprometimento de saúde, 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 seios maxilares foram incluídos no estudo. Estes seios maxilares foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: Controle - seio maxilar enxertado apenas com OBD (Bio-Oss®, Geistlich Pharma AG, Suíça) e Teste – seio maxilar enxertado com OBD associado à L-PRF, ambos com tempo de reparação para a instalação dos implantes dentários de 8 meses. Os pacientes foram agrupados de forma aleatória

por meio de uma lista de randomização gerada por computador. Os números foram selados em envelopes opacos por uma pessoa não envolvida no estudo.

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

Técnica de obtenção da 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 - Divisão Brasil). Foram coletados 4 tubos de vidro com capacidade de 10 mL cada sem a adição de anticoagulante ou trombina bovina. Na sequência, os tubos foram centrifugados com uma força de 400 G (Kasvi K14-0815, Curitiba, PR, Brasil) de acordo com protocolo proposto por Dohan em 2006²³. Na parte superior do tubo estava presente o plasma acelular (Plasma Pobre em Plaquetas - PPP), na porção inferior as células vermelhas do sangue (hemácias), e na parte intermediária o concentrado de fibrina e componentes celulares do sangue. A ausência de anticoagulante implica na ativação da cascata de coagulação em poucos minutos quando o sangue entra em contato com as paredes do tubo. O fibrinogênio fica inicialmente concentrado na parte alta do tubo. Um coágulo de fibrina foi então obtido no meio do tubo, entre os glóbulos vermelhos no fundo e o plasma acelular no topo. Os coágulos de fibrina obtidos foram depositados em uma caixa metálica específica que permitiu a eliminação do exsudato para obtenção das membranas de L-PRF.

Procedimento para elevação do assoalho do seio maxilar

Todos os pacientes foram operados pelo mesmo profissional especialista. O profissional soube qual material de enxerto iria utilizar somente no momento exato do procedimento, quando um colaborador abria o envelope e informava qual tratamento aquele paciente iria receber.

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 Tatum⁹ (1986) para elevação da membrana do seio maxilar.

A assepsia extra e intra-bucal foram realizadas com digluconato de clorexidina a 2% e 0,12% respectivamente. Após, a região foi anestesiada por meio do bloqueio dos nervos alveolar superior posterior e médio e nervo palatino maior (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000 DFL, Brasil). 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. 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; Geistlich Pharma AG, Suíça) e na parede vestibular da cavidade sinusal foi posicionada uma membrana de colágeno reabsorvível (Bio-Gide[®], Geistlich Pharma AG). Nos seios maxilares do grupo teste, foi utilizado o Bio-Oss[®] associado à membrana de L-PRF e na parede vestibular da cavidade sinusal também foi posicionada uma membrana de colágeno reabsorvível. Na mistura do OBD com a membrana de L-PRF foi utilizada a seguinte proporção: para cada membrana picotada de L-PRF foi utilizado 0,5 g de OBD. As áreas cirúrgicas foram suturadas com fio de nylon 4-0 (Ethicon[®], Johnson & Johnson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA) por meio de pontos interrompidos. 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.

Instalação de implantes e obtenção da biópsia

Em uma segunda etapa cirúrgica, os leitos foram reabertos para instalação de implantes após 8 meses.

Inicialmente, a antissepsia extra e intra-bucal do campo operatório foram realizadas. Após a injeção local de anestésico (Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000, DFL, Brasil) dos nervos alveolar superior posterior e médio e do nervo palatino maior. Em seguida, foi realizada uma incisão crestal sobre a área edêntula do rebordo alveolar e duas incisões relaxantes na região vestibular, mesial e distal à região de interesse, mesmo procedimento realizado na primeira cirurgia de enxerto ósseo. 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. 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, implantes foram inseridos nos leitos preparados e o osso colhido foi removido cautelosamente do interior da trefina. As biópsias foram imersas em solução de paraformol por 24 horas.

Processamento da biópsia

O processamento foi realizado após a primeira fase de fixação em paraformol. Na sequência, as peças foram lavadas em água corrente, durante 6 horas, e foi iniciado o processo de descalcificação das mesmas com sua imersão em solução EDTA, que foi trocada três vezes por semana, durante 50 dias. Após constatação da correta descalcificação das peças, foi realizado o processo de desidratação. A desidratação foi feita em banhos crescentes de álcool (70º, 90º, álcool absoluto), permitindo que a peça fosse finalmente diafanizada em xilol durante 3 horas e incluída em parafina. Foram obtidos cortes seriados com 4 µm de espessura ao longo de toda

extensão do bloco para análise histológica e histomorfométrica. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE, Merck & Co. Inc., Nova Jersey, EUA).

Análise histomorfométrica

Para a obtenção das lâminas, foi seguido o padrão de selecionar o corte central do bloco. Com o auxílio de um microscópio de luz, as lâminas foram posicionadas sobre a porção central dos tecidos contidos nas lâminas a fim de que a imagem capturada não viesse a favorecer a porção óssea nativa do seio maxilar remanescente no processo de coleta, nem tão pouco a porção mais distante do osso nativo. Essa padronização foi realizada para todas as lâminas analisadas.

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, Alemanha), com câmara fotográfica digital (DFC-300-FX, Leica Microsystems, 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. 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.

Análise imuno-histoquímica

Cortes histológicos dos mesmos blocos de parafina utilizados para as análises histológica e histomorfométrica foram montados em lâminas com superfície de vidro apropriada (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, $\text{pH}=6$, 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. Os anticorpos primários utilizados foram contra RUNX2, VEGF, OCN e OPN (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, EUA). 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. RUNX2 é responsável pela regulação de pré-osteoblastos e produção de colágeno tipo 1 durante o reparo 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 biotilado 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. Os cortes foram analisados em microscópio óptico (LeicaR[®] DMLB, Heerbrugg, Suíça) bem como a expressão das proteínas, acoplado a uma câmera de captura de imagem (Leica[®] DFC 300FX, Leica microsystems, Heerbrugg, Suíça) e conectado a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas (Leica Câmera Software Box[®], Leica Imaging Manager -IM50 Demo Software). Foram utilizados scores para as células marcadas em áreas determinadas, que sabidamente estão envolvidas na dinâmica do tecido ósseo.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism (versão 6.0, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA). Os dados foram descritos por meio de medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão e intervalo de confiança de 95%). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição dos dados. O seio maxilar foi considerado a unidade amostral. Diferenças significativas entre os grupos nos dados histológicos foram

avaliadas pelo teste t não pareado. As diferenças foram consideradas significativas em $P < 0,05$.

Publicação 2: The effectiveness of L-PRF in the treatment of Schneiderian membrane large perforations: long-term follow-up of a case series

População do estudo

Pacientes do curso de especialização em Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara que tiveram a membrana de Schneider acidentalmente perfurada (com dimensões maiores que 1 cm) durante procedimento de elevação do assoalho do seio maxilar.

Técnica de obtenção da L-PRF

A coleta foi realizada por um profissional habilitado para este procedimento, utilizando o sistema de coleta a vácuo - vacutainer (BD Vacutainer® Systems - Divisão Brasil). Foram coletados 4 tubos de vidro com capacidade de 10 mL cada sem a adição de anticoagulante ou trombina bovina. Na sequência, os tubos foram centrifugados com uma força de 400 G (Intra-Spin® - Intra-Lock International, Boca-Raton, FL, EUA; Made in Germany) de acordo com protocolo proposto por Dohan em 2006²³. Na parte superior do tubo estava presente o plasma acelular (Plasma Pobre em Plaquetas - PPP), na porção inferior as células vermelhas do sangue (hemácias), e na parte intermediária o concentrado de fibrina e componentes celulares do sangue. Os coágulos de fibrina obtidos foram então removidos do tubo e depositados em uma caixa metálica específica que permitiu a eliminação do exsudato para obtenção das membranas de L-PRF.

Procedimento para elevação do assoalho do seio maxilar

Primeiramente foi realizado exame clínico e radiográfico (tomografia computadorizada de feixe cônico) dos pacientes para confirmar a insuficiência óssea para instalação de implantes na região. Confirmada a necessidade de enxerto ósseo, os pacientes receberam assepsia extra-oral e intra-oral com digluconato de clorexidina a 2% e 0,12% respectivamente. Após, a anestesia da região foi realizada com Cloridrato de articaína com epinefrina 1:100.000 (DFL, Brasil). Uma incisão linear sobre a crista, seguida de outra vertical na vestibular foram sequencialmente

efetuadas. O retalho mucoperiosteal foi então descolado e a parede lateral para acesso ao seio maxilar foi exposta. A osteotomia foi realizada com broca esférica até que a membrana sinusal pudesse ser visualizada por transparência. Após, a membrana foi delicadamente manuseada e descolada para que sua elevação pudesse ser realizada. Neste momento, grandes perfurações das membranas puderam ser identificadas nos 9 pacientes incluídos neste estudo. As perfurações foram isoladas e então o sangue dos pacientes foram colhidos para obtenção da L-PRF. As membranas de L-PRF foram interpostas sobre a membrana de Schneider perfurada, uma sobre a outra. Após, o enxerto ósseo na região foi realizado com Bio-Oss® (Geistlich, Suíça) e uma membrana de colágeno foi posicionada para recobrir a janela lateral para acesso ao seio maxilar. Suturas foram realizadas com fio Nylon 5-0 (Ethicon®, Johnson & Johnson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA). Os pacientes foram instruídos a fazer bochechos leves com digluconato de clorexidina 0,12% duas vezes ao dia durante 15 dias. Além disso, foi prescrito aos pacientes antibiótico (Amoxicilina 500 mg), anti-inflamatório não esteroideal (Nimesulida 100 mg) e analgésico (Dipirona Sódica 500mg). As suturas foram removidas 10 dias após a cirurgia.

Instalação de implantes

Após 8 meses de reparo, uma nova tomografia computadorizada de feixe cônico foi solicitada para mensurar as dimensões do tecido ósseo neoformado e também avaliar possíveis alterações radiográficas no seio maxilar. Um volume adequado de tecido ósseo para colocação de implantes foi obtido em todos os pacientes, assim como ausência de alterações na cavidade do seio maxilar. O procedimento cirúrgico foi então iniciado seguindo as mesmas etapas de assepsia e anestesia descritas anteriormente para realização do levantamento do seio maxilar. Após, uma incisão linear sobre a crista foi realizada, seguida pelo descolamento do retalho. Os implantes foram instalados na região, apresentando estabilidade primária satisfatória em todos os casos. Suturas com pontos simples foram realizadas com fio de Nylon 5-0 (Ethicon®, Johnson & Johnson, New Brunswick, Nova Jersey, EUA) e as prescrições medicamentosas foram as mesmas do procedimento cirúrgico anterior.

Acompanhamento clínico e radiográfico

Após 3-5 anos do procedimento de enxerto ósseo, os pacientes retornaram para acompanhamento e o sucesso dos implantes foi avaliado. Uma nova tomografia computadorizada de feixe cônico foi realizada para avaliar o reparo das membranas sinusais e a relação entre o tecido ósseo e os implantes instalados.

ANEXO A – CARTA DE ACEITE DO CEP

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP



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: 3

CAAE: 41357514.5.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

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

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.026.690

Data da Relatoria: 16/04/2015

Apresentação do Projeto:

Projeto no qual serão realizados enxertos em pacientes testando-se de um lado somente Bio-Oss e do outro Bio-Oss e fibrina, a fim de verificar se há diminuição do tempo de regeneração óssea. O paciente deverá retirar sangue para fornecer a fibrina, e não terá custo algum para fazer o enxerto. O mesmo paciente será do grupo controle e do grupo teste.

Objetivo da Pesquisa:

O propósito desse estudo é avaliar o potencial da L-PRF em acelerar a regeneração óssea quando usado em combinação com o Bio-Oss® na região posterior de maxila após procedimentos cirúrgicos de elevação da membrana do seio maxilar, por meio de parâmetros clínicos, radiográficos, histológicos, histomorfométricos e imunológicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequadamente pontuados. A saber:

RISCOS: Os riscos aos quais os pacientes estarão sujeitos com a participação no presente estudo são aqueles inerentes aos procedimentos cirúrgicos, tais como, reações adversas a anestésicos

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

Município: ARARAQUARA

CEP: 14.801-903

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep@foar.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP



Continuação do Parecer: 1.026.690

locais, sangramento, dor, infecções pós-operatória. Estes riscos serão evitados ou minimizados com anamnese prévia minuciosa, tomando todos os cuidados necessários nos procedimentos cirúrgicos, seguindo todos os procedimentos de biossegurança e orientando os pacientes quanto aos cuidados necessários no pós-operatório. Os pacientes receberão telefone de contato dos pesquisadoras para entrar em contato caso tenham alguma dúvida ou qualquer desconforto ou problema decorrente dos procedimentos cirúrgicos. Durante as tomadas radiográficas, os pacientes usarão protetor e colar de tireoide. Como a L-PRF é preparada a partir do sangue do próprio paciente não há riscos de rejeição ou infecção cruzada.

BENEFÍCIOS: Os pacientes do presente estudo receberão a cirurgia de regeneração óssea necessária para instalação dos implantes nas regiões posteriores da maxila, incluindo o biomaterial Bio-Oss® e a membrana de colágeno Bio-Guide®, e também receberão os implantes. Estes procedimentos não terão nenhum custo para paciente. Todos os pacientes incluídos no estudo serão encaminhados para reabilitação protética no curso de especialização em Implantodontia da FOAr. As próteses deverão ser custeadas pelos próprios pacientes. Elas não serão fornecidas aos participantes do estudo. Posteriormente, os mesmos serão encaminhados para um projeto de extensão que realiza manutenção e acompanhamento dos implantes. Se for verificada a necessidade de tratamento periodontal, endodôntico e/ou restaurador, e a necessidade de exodontia de algum elemento dental do paciente durante as consultas clínicas do estudo, o paciente será encaminhado para a realização do procedimento nas clínicas específicas da FOAr-UNESP. Com os resultados deste estudo poderemos determinar se a L-PRF pode realmente acelerar a maturação óssea nos procedimentos regenerativos em seio maxilar, o que possibilitará a instalação dos implantes em um período mais curto do que é atualmente preconizado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As adequações foram realizadas de acordo com as pendências apontadas em reunião do colegiado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos apresentados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as adequações solicitadas foram realizadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep@foar.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP



Continuação do Parecer: 1.026.690

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo APROVADO em reunião de 16 de abril de 2015.

ARARAQUARA, 16 de Abril de 2015

Assinado por:
Lígia Antunes Pereira Pinelli
(Coordenador)

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

Telefone: (16)3301-6459

Município: ARARAQUARA

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br

Não autorizo a publicação deste trabalho pelo prazo de 2 anos

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 24 de março de 2020

Carolina Mendonça de Almeida Malzoni