

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JU**  
**FACULDADE DE ODONTOL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**

**Pricila da Silva Gusmão**

**Eficácia da L-PRF isolada ou associada ao enxerto sint**  
**reparo ósseo em alvéolos maxilares frescos: estudo histor**  
prazo em humanos

**Pricila da Silva Gusmão**

**Eficácia da L-PRF isolada ou associada ao enxerto sintético  
reparo ósseo em alvéolos maxilares frescos: estudo histomorfométrico  
prazo em humanos**

Tese apresentada à  
Graduação em Odontologia  
Federal de Juazeiro do Norte  
à obtenção do título de  
Odontologia  
Odontológica

Orientador: Prof. Dr. Henrique Duque de Miranda Chaves M

Ficha catalográfica elaborada através do programa  
automática da Biblioteca Universitária  
com os dados fornecidos pelo(a)

Gusmão, Pricila da Silva .

Efeito da L-PRF isolada ou associada ao uso de  
HA/Beta-TCP no processo de neoformação óssea em  
maxilares frescos: estudo histomorfométrico e  
molecul

20/01/2025, 11:52

SEVUFJF - 2180858 - PROPP 01.5:

**Pricila da Silva Gusmão**

**Eficácia da L-PRF isolada ou associada ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -T  
alvéolos maxilares frescos: estudo histomorfométrico comparativo**

Aprovada em 20 de janeiro de 2025.

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Henrique Duque de Miranda Chaves Netto - Orientador**

**Universidade Federal de Juiz de Fora**

Juiz de Fora, 07/01/2025.



Documento assinado eletronicamente por Henrique Duque  
20/01/2025, às 11:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 7º, inciso I, da Lei nº 11.127/2005, e no art. 10º, inciso I, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por Gisele Maria Cam  
20/01/2025, às 11:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 7º, inciso I, da Lei nº 11.127/2005, e no art. 10º, inciso I, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por Nadia Rezende B  
20/01/2025, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 7º, inciso I, da Lei nº 11.127/2005, e no art. 10º, inciso I, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por nayara fernanda  
20/01/2025, às 11:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 7º, inciso I, da Lei nº 11.127/2005, e no art. 10º, inciso I, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por LEANDRO NAPIER  
20/01/2025, às 11:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 7º, inciso I, da Lei nº 11.127/2005, e no art. 10º, inciso I, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal de Acesso ao Documento, clicando no ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador.

Esta Tese é  
Paulo, por c  
da minha v  
disposto a m  
ensinando-m  
obstáculos.

conhecer junta

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Pai de todos nós! Deus, obrigada por ter me dado a orientação e equilíbrio a cada etapa da minha caminhada.

Meu coração se enche de gratidão às pessoas que estão presentes.

À minha família, por serem presentes, trazendo desconforto e alegria.

Ao professor Doutor Bruno Sales Sotto-Maior, coordenador da Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, pela condução do saber e na coordenação do Doutorado.

De forma muito especial, ao professor Doutor Henrique Netto, meu orientador, minha referência, exemplo de mestre, estando presente nos primeiros ensinamentos da especialidade, me dando potencial e me ajudando a evoluir na profissão que tanto amo, com apoio, mas também pela confiança em mim depositada e pela vontade de compartilhar com sua sabedoria e competência profissional.

Aos professores do doutorado, que não mediram esforços para colocar suas experiências e conhecimentos a disposição para minha melhor formação.

Aos professores Doutores Gisele Maria Campos Fabrício, Nayara Fernanda Barchetta e Leandro Napier de Souza, pela defesa desta tese, tendo desde já a certeza de que seus julgamentos foram favoráveis na condução do saber e para o meu aperfeiçoamento profissional.

Ao Professor Doutor Altineri Cardozo Neto, da Universidade Federal de Pernambuco, pela orientação e apoio durante o doutorado.





## RESUMO

A extração do dente resulta em alterações nos tecidos que podem afetar a instalação de implantes. A utilização de fibrina rica em fatores de crescimento, isoladamente ou em conjunto com outro biomaterial, tem sido estudada para promover a formação óssea e otimizar a adesão dos enxertos ósseos. O objetivo deste estudo randomizado, prospectivo e cegado, foi verificar, com o auxílio da histomorfometria, após um período de oito semanas, a eficácia da utilização da biocerâmica à base de fosfato de cálcio bifásico contendo hidroxiapatita (HA/ $\beta$ -TCP), no processo de reparo ósseo em alvéolos dentários. O estudo foi composto por sessenta leitos cirúrgicos de 15 voluntários de ambos os sexos, com idades entre 41 e 69 anos (média de  $56,7 \pm 8,2$  anos), com indicação de extração de dentes unirradiculares, para manutenção do rebordo alveolar e posterior instalação de implantes. Os alvéolos dentários foram randomizados para uma das quatro técnicas: apenas exodontias; *Autogenous Bone* (AB), osso autólogo; membrana de L-PRF, e; L-PRF + HA/ $\beta$ -TCP (LPRFHA), L-PRF + AB. A conduta cirúrgica foi realizada em duas etapas com intervalo de duas semanas: a primeira para remoção dos elementos dentários e enxertia do biomaterial e a segunda, oito semanas (54-60 dias; média de  $57,5 \pm 1,9$  dias) direcionada para a avaliação histomorfométrica e inserção dos implantes. A histomorfometria (ARO) foi baseada em dez fotomicrografias de cada lâmina, avaliando-se a área de osso novo formado em relação à área total da lâmina.

PRF demonstrou uma tendência em reduzir o processo de reabsorção óssea, validando o uso isolado da L-PRF em humanos, como um biomaterial em alvéolos maxilares pós-exodontias, potencializando a regeneração óssea em 12 semanas.

**Palavras-chave:** Alvéolo Dental. Fibrina Rica em Plaquetas. Fosfato Tricálcio. Regeneração Óssea.

## ABSTRACT

Tooth extraction results in changes in soft and hard tissue placement. The use of platelet- and leukocyte-rich fibrin (L-PRF) and another biomaterial, has been adopted to facilitate bone repair. The objective of this randomized, prospective, blinded controlled trial was to compare L-PRF alone or in combination with biphasic calcium phosphate (HA/ $\beta$ -TCP), hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate (HA/ $\beta$ -TCP), in the maxillary alveoli. The sample consisted of sixty surgical bone grafts in maxillary alveoli, aged between 41 and 69 years (mean  $56.7 \pm 8.2$  years), with the aim of grafting of single-root elements, for maintenance of the alveolar bone for the placement of implants. The dental alveoli were randomized to one of four groups: control (no grafting); autogenous bone (AB), particulate autogenous bone (PAB), AB + membrane, and; L-PRF + HA/ $\beta$ -TCP (LPRFHA), L-PRF alone. The surgical procedure was performed in two stages with an interval of 4-6 weeks between removal of the dental elements and grafting of the alveoli, followed by a healing period (54-60 days; mean of  $57.5 \pm 1.9$  days) aimed at bone collection and insertion of implants. The histomorphometry of the bone was performed using ten photomicrographs of each slide, which were analyzed quantitatively. The analysis of variance method (one-way ANOVA) with

biomaterial for the formation of vital bone in maxillary alveolar  
bone repair in the eight-week period.

**Keywords:** Dental Alveolus. Fibrin Rich in Platelets and  
Tricalcium Phosphate. Bone Regeneration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Fluxograma do grupo CONSORT.....
- Figura 2 - Print de *e-mail* recebido informando publicação.....
- Quadro 1 - Distribuição dos alvéolos nos grupos de tratamento.....
- Quadro 2 - Randomização dos alvéolos.....
- Quadro 3 - Classificação dos defeitos alveolares pós-exat.....
- Figura 3 - Ilustração de um dos guias cirúrgicos com de.....
- Figura 4 - Centrífuga de bancada FibrinFuge25<sup>®</sup> Mont.....
- Figura 5 - Método de obtenção da L-PRF.....
- Figura 6 - Confeção do osso pegajoso (LPRFHA).....
- Figura 7 - Medida de profundidade do alvéolo.....
- Figura 8 - Remoção de enxerto ósseo: área doadora sín.....
- Figura 9 - Remoção de enxerto ósseo com broca trefina.....
- Figura 10 - Remoção de enxerto ósseo em bloco: área do.....
- Figura 11 - Cavidades alveolares enxertadas e suturadas.....
- Figura 12 - Aspecto intraoral de um dos participantes.....  
semanas.....
- Figura 13 - Momento da coleta de biopsias e instalação d.....
- Figura 14 - Coleta de biopsias dos alvéolos controle e ex.....
- Figura 15 - Núcleos ósseos removidos dos alvéolos enxe.....
- Figura 16 - Imagem de um dos alvéolos controlados.....

- Gráfico 4 - Comparação múltipla das médias ( $E^6 \mu\text{m}^2$ ) c
- Gráfico 5 - Diferenças das médias (%) de ARO na c  
grupos.....

## **LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1 - Taxas médias (%) de tendência central/dispersão
- Tabela 2 - Diferenças das taxas médias (%) de ARO na  
grupos.....

## LISTA DE ABREVIATURAS E

|                 |   |
|-----------------|---|
| $\mu\text{m}$   | - Micrometro                                |
| $\mu\text{m}^2$ | - Micrometro quadrado                       |
| 3D              | - Tridimensional                            |
| AB              | - <i>Autogenous bone</i> (osso autógeno)    |
| ADI             | - Área de defeitos intraósseos              |
| ANVISA          | - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  |
| A-PRF           | - Fibrina rica em plaquetas avançada        |
| A-PRF+          | - Fibrina rica em plaquetas avançada plus   |
| ARO             | - Área de reparo ósseo                      |
| ASA             | - Associação Americana de Anestesiologia    |
| BCP             | - Fosfato de cálcio bifásico                |
| BG              | - Vidro bioativo                            |
| BMP             | - Proteínas morfogenéticas ósseas           |
| BSM             | - Material substituto ósseo                 |
| CAAE            | - Certificado de Apresentação de Apreciação |
| CAM             | - Ensaio da membrana corioalantoide         |
| CBCT            | - Tomografia computadorizada volumétrica    |
| CBR             | - Centro de Biologia da Reprodução          |
| CE              | - Conformidade Europeia                     |
| CEP             | - Comitê de Ética em Pesquisas              |



|                  |  |
|------------------|--|
| Dp               | - Desvio-padrão                                    |
| ECC              | - Ensaio clínico controlado                        |
| ECCR             | - Ensaio clínico controlado randomizado            |
| ECF              | - Epitelização completa da ferida                  |
| EDS              | - <i>Extraction defect sounding</i> (sondagem de d |
| EDTA             | - Ácido etilenodiamino tetra-acético               |
| EGF              | - Fator de crescimento epidérmico                  |
| ELISA            | - Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELIS         |
| EVA              | - Escala visual analógica                          |
| FBS              | - Soro bovino fetal                                |
| FC               | - Fatores de crescimento                           |
| FCR              | - Força de centrifugação relativa                  |
| FDA              | - <i>Food and Drugs Administration</i> (Administra |
| FDBA             | - Aloenxerto ósseo liofilizado                     |
| FFL              | - Fibrina em fase líquida                          |
| G                | - Gauge  |
| GNP              | - Gel de nanopartículas de polímeros               |
| g                | - Grama  |
| H&E              | - Hematoxilina e Eosina                            |
| HA               | - Hidroxiapatita                                   |
| HA/ $\beta$ -TCP | - Biocerâmica à base de BCP contendo HA e          |
| IC               | - Intervalo de confiança                           |

|                 |  |
|-----------------|--|
| mL              | - Mililitro  |
| mm              | - Milímetro  |
| mm <sup>2</sup> | - Milímetro quadrado                               |
| n               | - Número na amostra                                |
| NcHA            | - Hidroxiapatita nanocristalina                    |
| NCI             | - Nível clínico de inserção                        |
| NMG             | - Nível da margem gengival                         |
| nº.             | - Número   |
| OPG             | - Osteoprotegerina                                 |
| PBP             | - Profundidade da bolsa periodontal                |
| PDGF            | - Fatores de crescimento derivados de plaqueta     |
| pH              | - Potencial hidrogeniônico                         |
| pOB             | - Osteoblastos primários humanos                   |
| PRF             | - Fibrina rica em plaquetas                        |
| PRP             | - Plasma rico em plaquetas                         |
| PS              | - Profundidade de sondagem                         |
| RANKL           | - Ligante do receptor do ativador do fator nuclear |
| ReBEC           | - Registro Brasileiro de Ensaio Clínico            |
| rhBMP-2         | - Proteína morfogênica óssea humana recombinante   |
| ROG             | - Regeneração óssea guiada                         |
| rpm             | - Rotação por minuto                               |
| TCLF            | - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido       |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|  |                                  |
|--|----------------------------------|
| $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | - Hidroxiapatita                 |
| $\beta$                                      | - Beta                           |
| $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$                 | - Fosfato tricálcico             |
| %  | - Percentual                     |
| Ca   | - Cálcio                         |
| P  | - Fósforo                        |
| Na   | - Sódio                          |
| Mg   | - Magnésio                       |
| K  | - Potássio                       |
| ®  | - Marca registrada               |
| $\gamma$                                     | - Gama                           |
| $\alpha$                                     | - Alfa                           |
| $\delta$                                     | - Delta                          |
| $\lambda$                                    | - Lambda                         |
| +  | - Mais                           |
| ™  | - <i>Trademark</i>               |
| ±  | - Mais ou menos                  |
| <  | - Menor                          |
| &  | - <i>Ampersand</i> (e comercial) |

## SUMÁRIO

|              |   |
|--------------|---|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO .....</b>   |
| <b>2</b>     | <b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>  |
| 2.1          | TECIDO ÓSSEO.....   |
| 2.2          | SUBSTITUTOS ÓSSEOS .....  |
| 2.3          | PRIMEIRA GERAÇÃO DE AGREGADOS<br>FIBRINA E PLASMA RICO EM PLAQUETAS (I)         |
| 2.4          | SEGUNDA GERAÇÃO DE CONCENTRADO<br>RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PR)         |
| <b>2.4.1</b> | <b>Componentes biológicos da fibrina rica em pl<br/>mecanismos de ação.....</b> |
| <b>2.4.2</b> | <b>Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) :</b>                         |
| 2.5          | ESTUDOS CORRELATOS.....   |
| <b>3</b>     | <b>PROPOSIÇÃO .....</b>   |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>  |
| 4.1          | ASPECTOS ÉTICOS .....   |
| 4.2          | CÁLCULO AMOSTRAL .....  |
| 4.3          | DESENHO DO ESTUDO .....   |
| 4.4          | CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DOS PAC<br>PESQUISA.....                             |
| 4.5          | CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO  |

|          |  |
|----------|--|
| <b>6</b> | <b>DISCUSSÃO .....</b>                             |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>                             |
|          | <b>REFERÊNCIAS .....</b>                           |
|          | <b>ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pes</b> |
|          | <b>ANEXO B – Artigo publicado .....</b>            |
|          | <b>APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre</b>   |
|          | <b>APÊNDICE B – Publicação ReBEC - RBR-8hfz</b>    |
|          | <b>APÊNDICE C – Dados quantitativos de ARO d</b>   |

# 1 INTRODUÇÃO

As extrações dentárias dão início a um processo imune alveolar, o que pode afetar, posteriormente, a reabilitação (Yoshida et al., 2013). A reabsorção óssea se inicia imediatamente após a extração, com uma perda de 3 a 5 mm nas dimensões horizontais e de 1 a 3 mm na vertical nos primeiros três a seis meses. A ausência do ligamento periodontal e da rede vascular, acarretando na reabsorção óssea subsequente (Yoshida et al., 2013). A contração horizontal é mais acentuada em comparação à vertical. Os enxertos alveolares não são capazes de impedir completamente a reabsorção óssea (Yoshida et al., 2013; Joly; Carvalho; Silva, 2015; Pluemsakunthai; Lertkietumkarn et al., 2018).

Assim, visando reduzir as modificações dimensionais que surgem após procedimentos de exodontia e otimizar a regeneração e materiais substitutos ósseos (BSM) para estes, destacam-se a regeneração óssea guiada (ROG), os diferentes tipos de enxertos ósseos: autógenos, alógenos, e os materiais biologicamente ativos, como fatores de crescimento, técnicas cirúrgicas minimamente invasivas e sem retalho, bem como os enxertos ósseos (De Angelis et al., 2019; Lee et al., 2012; Mardas; Chadha; Van Der Weijden, 2011).

A vantagem histológica da preservação alveolar após a extração, que indica que não favorece a formação de novos tecidos

para estimular a regeneração tecidual (Canellas et al., 2020; Dohan et al., 2006a, 2006b, 2006c; Zhao; Tsai; Chang, 2015).

A L-PRF foi introduzida pela primeira vez por Chou e França, emergindo como uma segunda geração de concentrado de uma versão aprimorada do plasma rico em plaquetas (PRP) (De Angelis et al., 2019). Na prática clínica, a L-PRF tem sido utilizada por quem busca a excelência nos processos de cicatrização tanto quanto assim como na diminuição do tempo necessário para a cicatrização (2020; Chang; Wu; Zhao, 2011; Somani; Rai, 2017).

Diversas investigações evidenciaram que a membrana isoladamente, apresentou resultados clínicos benéficos no tratamento de lesões infraósseas (Ajwani et al., 2015; Chandradas et al., 2016; Choudhary, 2022), além de ter a capacidade de proteger feridas abertas (Choudhary, 2017). Também acelerou o processo de cicatrização dos tecidos moles (Bhoria, 2015; Kotsakis et al., 2016), contribuiu para a redução de abscessos exodontias (Kumar et al., 2015) e melhorou tanto o volume quanto a osseointegração de implantes (Boora; Ramesh, 2017; Kanayama et al., 2016). Além disso, promoveu a estabilidade da ferida e hemostasia (Walia et al., 2022; Zhang et al., 2017).

A L-PRF, por si só, não é reconhecida como osteoindutora, pois não implica na iniciação de formação óssea heterotópica (ectotópica), onde a osseificação fisiologicamente não existe normalmente.

et al., 2016; Nacopoulos et al., 2014; Oliveira et al., 2015; combinação de L-PRF com enxertos ósseos pode direcionar procedimentos cirúrgicos voltados à reconstrução óssea (Dehane; Mahindra, 2011). Assim, se estabelece como um agente de proliferação e diferenciação celular (Acar et al., 2015; Canellas; Ritt; Leepong, 2013). As propriedades benéficas da L-PRF para os enxertos são ainda mais relevantes quando combinadas com enxertos de matriz de polipropileno (No entanto, são escassas as pesquisas (Acar et al., 2015; Nacopoulos et al., 2014) que exploram a combinação da L-PRF com o TCP.

No que se refere à aplicação clínica, têm-se monitorado os resultados e indicam melhorias no padrão de reparação em tecidos moles e duros. As indicações clínicas para a utilização da L-PRF incluem o tratamento de extração, o recobrimento de áreas enxertadas, a elevação do alvéolo gengival e sua associação com a instalação de implantes (Agarwal; Thorat; Malpani, 2023; Blatt et al., 2021; Elgendy; Abo Shaiba et al., 2012; Shivashankar et al., 2013). Entretanto, os resultados ainda se mostram insatisfatórios (Abdullah, 2016; Choukroon; Ezirganli et al., 2015; Pripatnanont et al., 2013; Zhang et al., 2013). São amplamente empregadas e apresentem resultados promissores, porém, necessitam de comprovações por meio de ensaios clínicos controlados randomizados e metodologicamente defnídos. De maneira adicional,



## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 TECIDO ÓSSEO**

O tecido ósseo constitui a base estrutural do esqueleto humano, representando cerca de 20,0% do peso total do corpo humano. A interação funcional entre o tecido ósseo e o tecido estriado esquelético, bem como a associação com cartilagem, são fundamentais para o funcionamento do sistema musculoesquelético. Dentre as várias funções do tecido ósseo, destacam-se: o suporte de tecidos moles, a proteção anatômica de órgãos e a ampliação da força (Aarestrup; Mourão Júnior; Abramovici, 2001). Além disso, o tecido ósseo apresenta uma função metabólica fundamental ligada à homeostase mineral, atuando como um reservatório de íons. Essa importância é evidenciada pelo fato de que cerca de 99,0% do cálcio (Ca), 85,0% do fósforo (P), 90,0% do sódio (Na) e 50,0% do potássio (K) do organismo estão relacionados ao cristal de HA (Cruz, 1999; Straalen et al., 1991; Vianna, 1988; Zeni et al., 2001). Trata-se de um tecido vivo e ativo que passa por um processo contínuo de renovação e remodelação (Monge, 1999; Vieira, 1999).

Do ponto de vista histológico, o tecido ósseo é constituído por células e uma grande quantidade de material extracelular e, assim como os outros tecidos, pode ser identificado pela morfologia celular e pela organização do material extracelular. O tecido ósseo se caracteriza pela presença de células pertencentes a diferentes origens mesenquimais: a célula osteoprogenitora, responsável

envolvê-los, resultando em seu aprisionamento em uma la perde espaço para a produção adicional de matriz e, po necessária. Nesse contexto, o osteoblasto transforma-se em o ser entendido pela disposição do osteócito na matriz, essa vista metabólico. Apesar de estarem separados por permanecem interligados através de prolongamentos citop essencial para o metabolismo ósseo devido à impossibilidade através da matriz mineral (Aarestrup; Mourão Júnior; Abran

Sob uma análise microscópica, os osteócitos situan osteoplastos, inseridos na matriz extracelular minera prolongamentos se estendem por diversos canalículos que essas células e também com o sistema circulatório. Os núcle dimensões e basofílicos, apresentando finíssimos prol conferem ao aspecto celular uma morfologia estrelada osteoclastos se caracterizam como células móveis e gigan ramificações extensivas, um citoplasma volumoso intensa irregular. Essas células são localizadas na superfície da próximas às áreas ocupadas por osteoblastos inativos em de reabsorção, as quais são denominadas lacunas de Howship (1988). Parte integrante do sistema fagocitário mononucle primária de promover a reabsorção tecidual. É importante n não é exclusivamente fagocitário; na fagocitose convencional

osteoclástico; a osteoprotegerina (OPG), que atua na morte dos osteoclastos; e as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), que estimulam a formação de novos osteoblastos. A produção dessas células osteoclastas e osteoblastos é fundamental no controle metabólico do tecido, regulando tanto os processos de diferenciação, amadurecimento e atividade quanto a renovação tecidual fisiológica (Aarestrup; Mourão Júnior, 2012). A matriz mineral ou inorgânica representa 65,0% do total da matriz óssea. A matriz inorgânica consiste em fosfato de cálcio disposto em cristais hexagonais, com íons de magnésio (Mg), sódio (Na) e potássio (K) em quantidades menores. A matriz orgânica é quimicamente semelhante às partes orgânicas distribuídas entre os tecidos conectivos (Carneiro, 2012).

Ao realizar uma análise anatômica de um osso, pode-se observar a presença de um tecido inerte e metabolicamente sem atividade. No entanto, o osso é extremamente ativo. A vascularização do tecido ósseo ao longo de um sistema de canais, já que a difusão de nutrientes ocorre através dele. Os ossos são revestidos externamente pelo perióstio, que se ramifica e penetra no tecido pelos canais intersticiais. Os canais transversalmente em relação ao eixo anatômico maior do osso são os canais de Havers; aqueles que se organizam longitudinalmente, intersticialmente, recebem a designação de canais de Volkmann. Adicionalmente, no interior do endóstio, uma membrana que reveste as cavidades internas do osso desempenha um papel importante na formação e manutenção

de tecido é organizada em lamelas concêntricas em torno de unidades denominadas ósteons. Neste estágio, o osso já mineralizada e ordenada, adequando-se para resistir às forças

O tecido ósseo, ao sofrer lesão devido a traumas ou processo caracterizado por uma fase inflamatória inicial, que finalmente, de remodelação. O reparo do osso representa um eventos celulares e extracelulares, sendo afetado por diversos (cortical ou trabecular), a natureza do trauma e a idade do bem-sucedido é aquele em que há a reconstituição da contin tecido (Bafijari et al., 2019).

O reparo ósseo em condições normais representa uma série de eventos biológicos, os quais são regulados habitado por células ósseas, tem como objetivo a formação osteogênese de contato ou em seu entorno, onde a formação osteoclastogênese do tecido pré-existente, denominada oste que a remodelação óssea ocorre mediante a substituição de área cirúrgica (Alghamdi, 2018).

Em 1960, Amler, Johnson e Salman conduziram um sobre a reparação tecidual fisiológica do alvéolo. Essa pe tecidos humanos obtidas após a extração dentária, realizada ao longo de um período total de cinquenta dias. Os eventos cavidade alveolar durante o processo de cicatrização fisi

do tecido ósseo teve início nas paredes laterais. Após du observado ainda era rudimentar e se apresentava em quantid exodontia, o osso que preencheu o alvéolo manifestava si disposição uniforme de trabéculas ósseas mais espessas e am (2004). Foi identificada uma área de formação mais precoce à sua conformação cônica, que favoreceu uma maior prox estava localizado o ápice dentário em comparação com a reg

## 2.2 SUBSTITUTOS ÓSSEOS

Conforme descrito na literatura, em razão das caracte é considerado o padrão-ouro para enxertos ósseos. Sua prin osteogênico, osteoindutor e osteocondutor. No entanto, alt são buscadas devido à morbidade cirúrgica e à quantidade considerados aspectos negativos dessa técnica, além de sua o volume ósseo, conforme evidenciado por Araújo e Lindhe eficácia limitada ao utilizar osso autógeno como material d após a extração.

Os BSM desempenham a função de osteocondu gradualmente, é penetrada por vasos sanguíneos e célu substituída por novo tecido ósseo ao longo de diferentes exibem propriedades análogas à composição mineral do osso

considerada uma faca de dois gumes. De um lado, esses BSM permitem tal reabsorção, mas, por outro lado, podem retardar o processo de cicatrização depende da neovascularização e da regeneração pelo BSM na ferida (Clark et al., 2018).

O BSM ideal deve ser gradualmente incorporado para estimular um novo processo de formação óssea, osseocondutoras apenas durante o período necessário à regeneração limite (Alam et al., 2009; Tanigo; Takaoka; Tabata, 2011). Esta ideia é contestada por outros pesquisadores, como Jensen et al. (2009), em determinados contextos clínicos uma baixa taxa de sucesso é observada, especialmente quando a estrutura física do BSM impede o crescimento e aumento do volume por um período prolongado.

Os enxertos sintéticos são produzidos em diversas formas, apresentando diferentes propriedades físico-químicas. Variam podendo ser porosos ou não porosos, além de possuírem tamanhos e estruturas distintas (Sheikh; Sima; Glogauer, 2015). Esses materiais são osteocondutores, embora não possuam potencial osteoindutivo, comumente sendo compostos por HA ou  $\beta$ -TCP (Singh et al., 2012). As limitações associadas ao uso desses materiais incluem a ausência de integração química com o tecido receptor e a inexistência de reações regenerativas (Lee; Chen; Darby, 2013; Riekerdt et al., 2012).

Levando em consideração que a L-PRF deve ser totalmente absorvida e não deixar partículas residuais na área destinada à regeneração, é fundamental a escolha do BSM para a mistura (Del Corso; Dohan Ehrenfest, 2013). Atualmente, a mais comumente empregada é a HA sintética. Elgendy e Abou-El-Enen (2014) avaliaram o enxerto ósseo combinado com HA nanocristalina (NcHA) em estudos clínicos em comparação ao uso isolado da NcHA no tratamento de defeitos ósseos humanos de três paredes (Pradeep et al., 2011). Outros estudos evidenciaram que a HA potencializa os efeitos regenerativos da L-PRF. A combinação provoca efeitos sinérgicos (Pradeep et al., 2011). Em estudos em calvárias de coelhos, foi observado que a associação de L-PRF com HA promoveu um aumento significativo na formação óssea se comparada ao uso isolado de cada um (Acar et al., 2015). Em outro estudo também utilizando coelhos, foi observado que a L-PRF promoveu um incremento considerável na formação óssea em um substrato otimizado para a cicatrização óssea (Nacopoulos et al., 2015).

O enxerto sintético Osteosynt<sup>®</sup> caracteriza-se como um material poroso cuja origem é sintética e apresenta alta pureza, sendo aplicada em defeitos ósseos. Esta substância é composta predominantemente por duas fases cristalinas de apatitas. A fase majoritária corresponde à HA, enquanto a menor corresponde ao TCP. O material possui macroporos interconectados com diâmetro médio de 150 µm e apresenta microporosidade que varia entre 1-10 µm. Sua esterilização por radiação gama ( $\gamma$ ), destacando-se suas principais vantagens: a biocompatibilidade, a transmissão de doenças infectocontagiosas e a eliminação

efetivamente, semelhanças significativas, uma vez que ambos utilizam a polimerização do fibrinogênio sanguíneo para a formação da rede (Tawes Jr; Sydorak; Duvall, 2015).

De acordo com a pesquisa realizada por Prakash e Tawes Jr (2011), o primeiro aditivo cirúrgico comercializado, tendo surgido em 1970, graças à iniciativa de Matras. Uma característica fundamental no fato de replicar a fase terminal da cascata de coagulação, em relação aos mecanismos internos de coagulação. Em virtude disso, a aplicação da cola de fibrina evita a formação de uma ferida independente dos efeitos associados à coagulação, sendo não tóxica, biodegradável e favorece a regeneração local e os efeitos colaterais envolvidos são reduzidos em comparação com os significativos da cirurgia (Tawes Jr; Sydorak; Duvall, 1994). Estes adesivos são utilizados para fechar feridas, tópicas, reparar tecidos e estão frequentemente associados a procedimentos cirúrgicos. Quando os homólogos existe um risco potencial de infecção cruzada, o uso de uma cola de fibrina autóloga, derivada do plasma do paciente, apresenta propriedades físicas sejam menos favoráveis. As colas com dois componentes preparatórios: um concentrado que contém o fator XIII dissolvido em uma solução antifibrótica (geralmente citrato de cálcio) e a trombina diluído em cloreto de cálcio. A combinação destas substâncias desencadeia a cascata de coagulação, resultando na formação de um coágulo (Tawes Jr; Sydorak; Duvall, 2011).

O estudo realizado por Tawes Jr, Sydorak e Duvall (1994) avaliou a eficácia da aplicação de uma cola de fibrina autóloga em feridas abertas.



tratamento de defeitos intraósseos, o aumento do rebordo a reparo ósseo relacionado a implantes, a elevação do assoalho feridas cirúrgicas decorrentes de extrações. Contudo, apesar da fragilidade e uma resistência inferior a estresses físicos em homólogas. Embora seus efeitos benéficos sobre os tecidos documentados, sua eficácia na cirurgia óssea e periodontal demanda uma pré-doação ou um processamento oneroso de (Sato, 2011).

Os produtos sanguíneos autólogos com altas concentrações de plaquetas com o objetivo de substituir os selantes de fibrina e otimizar a cicatrização é considerado a primeira geração de concentrados plaquetários. Foi criada pela primeira vez em 1990 por renomados cientistas, como Whittaker e colaboradores (Sato, 2018). Trata-se de uma modificação autóloga da cola de fibrina que promove a concentração de plaquetas autólogas (Sato, 2018). Inicialmente, doses supra-fisiológicas de PRP foram desenvolvidas para aumentar de plaquetas em locais deficientes (Miron; Choukroun, 2018).

O PRP atua como uma matriz de fibrina que apresenta propriedades adesivas, além de possuir características favoráveis à cicatrização e é aplicado em uma variedade de procedimentos. Entretanto, há uma preocupação, visto que o fator V bovino pode interagir com fatores de coagulação e episódios raros de hemorragia. Os protocolos são diversificados e podem ocasionar reações distintas conforme

Foi demonstrado em estudos *in vitro* que o PRP promove a proliferação celular e aumenta a expressão de marcadores de diferenciação (Clausen et al., 2006; Kanno et al., 2005). Contudo, devido à imprevisibilidade de sua eficácia tem sido alvo de questionamentos (Choukroun et al., 2006a; Gassling et al., 2009; Kang et al., 2008; Messori et al., 2008). Adicionalmente, a aplicação do PRP em casos conflitantes em análises *in vivo* (Acar et al., 2015).

Mesmo com o aumento gradual de sua aceitação, a aplicação após sua introdução foi acompanhada por diversos relatos de efeitos adversos e potencial (Miron; Choukroun, 2018).

Os protocolos adotados variavam entre 30 minutos e 1 hora, com diferentes métodos de coleta empregados. Em uma ampla gama de procedimentos, sejam coletados entre 20 e 80 mL de sangue venoso dos pacientes em um tubo contendo anticoagulante, a fim de prevenir a agregação de plaquetas. O protocolo para a extração do PRP pode ser segmentado em duas centrifugações e ativação (Pavlovic et al., 2021). Na primeira centrifugação, normalmente finalizadas em cerca de 10 minutos (Miron et al., 2013). A primeira centrifugação resulta na separação do sangue em três camadas: a camada superior (plasma), a camada intermediária (glóbulos brancos), e a camada inferior (glóbulos vermelhos). Através da utilização de diferentes gradientes de densidade, o plasma se posiciona acima da camada de eritrócitos (no topo do tubo), enquanto as plaquetas se encontram imediatamente abaixo da camada leucocitária e o plasma são aspirados e tratados.

## 2.4 SEGUNDA GERAÇÃO DE CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS E LEUCÓCITOS (L-PRF)

A L-PRF é um concentrado plaquetário desenvolvido em França, para ser utilizado na Cirurgia Oral e Maxilofacial. É produzido a partir de sangue autólogo com a finalidade de favorecer uma cicatrização e regeneração de tecidos moles e duros (Das et al., 2016).

A fibrina refere-se à forma ativada do fibrinogênio. Esta substância solúvel é encontrada em quantidades significativas nos grânulos alfa ( $\alpha$ ) das plaquetas. A fibrina exerce um papel crucial durante o processo de hemostasia. O suporte oferecido pela rede biológica tridimensional (3D) (Saluja; Dehane; Mahindran) por delicadas redes de fibrina nos coágulos atuam como suporte para a proliferação e diferenciação das células osteoprogenitoras. A estrutura da fibrina e sustentam os FC incorporados nessa rede, permitindo a liberação lenta e gradual desses FC ao longo do tempo (Miranda).

A L-PRF proposta por Choukroun apresenta distinções em relação aos concentrados plaquetários: a coleta sanguínea é realizada de forma simplificada e a ausência de intervenções bioquímicas é fundamental para a definição da organização 3D da rede de fibrina.

apresenta uma distribuição mais homogênea das plaquetas e leucócitos, visando otimizar os FC e a resposta celular. A velocidade deu origem às denominadas PRF avançadas (A-PRF) entre si em função dos diferentes protocolos de centrifugação: 1.300 rpm/14 minutos e 1.300 rpm/8 minutos, respectivamente. A PRF injetável (i-PRF) obtida a 3.300 rpm por 2 minutos. Fujioka-Kobayashi e Miron (2018) explicam que os resultados mostram que altas velocidades de centrifugação têm a tendência de separar as plaquetas e leucócitos, para longe do coágulo. O método de PRF com plaquetas preparada com titânio (T-PRF), desenvolvido por Miron, é uma nova forma de fibrina rica em plaquetas baseada em um protocolo de centrifugação (3.500 rpm por 15 minutos), sustentando a hipótese de que as altas velocidades podem ativar as plaquetas com maior eficácia do que os tubos de PRF. Segundo Choukroun, resultando na formação da PRF como uma matriz de fibrina.

O protocolo originalmente utilizado para a obtenção de PRF com velocidade e no tempo de centrifugação de 3.000 rpm por 15 minutos, progressivamente trocado pelo novo protocolo de 2.700 rpm por 15 minutos, resulta em uma L-PRF com uma estrutura mais organizada e homogênea em comparação ao protocolo anterior (Agrawal, 2017).

Levando em consideração a condição clínica particular de cada paciente, é possível empregar diferentes protocolos para a obtenção de matrizes de PRF e células aderidas. A proposta consiste em modificar a velocidade de centrifugação e o tempo de centrifugação para obter diferentes tipos de PRF e células aderidas.

proliferação de várias linhagens celulares por pelo menos como fibroblastos, pré-queratinócitos, pré-adipócitos, mesenquimais (Dohan Ehrenfest et al., 2018; Ghanaati et al.

A utilização de L-PRF oferece diversas vantagens: dotado de propriedades regenerativas, isento dos custos associados, não exige uma segunda intervenção cirúrgica para a obtenção e não demanda procedimentos invasivos além da coleta de sangue (Göller Bulut; Gümüş, 2020). Além disso, pode permanecer no local favorecendo uma cicatrização tecidual acelerada em virtude da ação imunológica e das células-tronco circulantes (De Angelis et al.

No manejo do alvéolo pós-extração, o uso da L-PRF melhora a qualidade e densidade do rebordo residual, contribuindo para a preservação (Miron; Choukroun, 2018). De acordo com a revisão sistemática (2017), a L-PRF demonstrou uma melhora na preservação do rebordo e reabsorção óssea vestibular em comparação com o processo natural, além de se também uma cicatrização mais eficiente dos tecidos moles após a extração. Contudo, estudos realizados por meio de técnicas de imagem de regeneração superior no osso das áreas tratadas com L-PRF ainda os resultados impede a obtenção de conclusões definitivas, tornando a preservação do rebordo alveolar um tema em debate (Castro

As L-PRF são frequentemente empregadas como estratégia para a preservação alveolar (Yalçıneli; Saitirishne, 2015), após a

concentrações de leucócitos, que atuam no bloqueio da ação (Del Corso; Toffler; Ehrenfest, 2019).

A L-PRF também pode ser empregada como uma membrana. Sua robusta e elástica arquitetura 3D funciona como uma tela que estabiliza o material enxertado. Esse recurso protege tanto o material quanto o tecido adjacente, permitindo a aproximação dos bordos gengivais e, assim, a cicatrização. Dessa maneira, a aceleração do processo cicatricial torna o material resistente a agressões, diminuindo a sensibilidade pós-operatória e contribuindo para a estabilidade (Del Corso; Toffler; Ehrenfest, 2010).

Existem várias potenciais aplicações clínicas da L-PRF. No momento, os resultados clínicos dessas aplicações têm sido variados e as aplicações clínicas heterogêneas e apresentam resultados inconsistentes.

#### **2.4.1 Componentes biológicos da fibrina rica em plaquetas e seus mecanismos de ação**

Os FC são proteínas bioativas localizadas nos grânulos das plaquetas e exercem o controle do processo de reparo tecidual. Seu mecanismo de ação envolve a interação dessas proteínas com receptores-alvo na superfície celular. Essa interação desencadeia uma cascata de sinais e induz as células a executar funções como quimiotaxia, angiogênese (Anitua et al., 2006; Lieberman; Daluiski; Einhorn; 2006).

Classicamente, as FC mais relevantes e empregadas são:

inibe a formação de osteoclastos e o processo de degeneração (Kumar; Shubhashini, 2013; Pavlovic et al., 2021). O PDGF promove a proliferação e sobrevivência das células mesenquimais, facilita a quimiotaxia e ativação dos macrófagos (Dohan et al., 2006). É responsável por estimular tanto a diferenciação quanto a proliferação de células mesenquimais, promovendo ainda a quimiotaxia e ativação dos macrófagos, resultando em uma formação óssea melhorada (Dohan et al., 2006a; Marq et al., 2006). É considerada como a molécula reguladora primordial nos processos relacionados à cicatrização, desempenhando um papel essencial na proliferação, migração e sobrevivência das células (Barrientos et al., 2008; Dohan et al., 2006a; Mattuella et al., 2006). O fator de crescimento epidérmico (EGF) favorece angiogênese, quimiotaxia das células e acelera a cicatrização, reduzindo o tempo necessário para cicatrização. Além disso, o EGF é produzido pelas células epiteliais e mesenquimais (Barrientos et al., 2008).

As plaquetas, enquanto componente predominante da matriz extracelular, são responsáveis pela atividade biológica dessa matriz. Apesar de serem fundamentais na formação de coágulos sanguíneos, essas células também produzem proteínas que participam da cascata de sinalização associada à cicatrização. Essas substâncias estão armazenadas em três tipos distintos de grânulos ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ). Os grânulos  $\alpha$  se destacam como os principais reservatórios de fatores de crescimento plaquetários mais abundantes. Esses componentes são responsáveis pela regeneração dos tecidos moles e duros após lesão, ocorrendo por meio do processo de apoptose quando as plaquetas

manutenção dos tecidos são facilitadas pelas células e FC p durabilidade da ação contribui para a eficácia do tratamento

Kobayashi et al. (2016) conduziram um estudo sob tempo, com os resultados revelando que o PRP apresenta significativamente mais elevados de FC nas fases iniciais oposição, o emprego de L-PRF e A-PRF resultou em uma lib um período que se estendeu até dez dias, sendo que a A-PRF substancialmente maior ao longo do tempo, o que poderia te

Algumas investigações realizaram comparações entre os níveis de TGF- $\beta$  e PDGF são inferiores no sobrenadante e PRP. Essa constatação indica que as plaquetas e citocinas p matriz de fibrina, sendo liberadas de maneira gradual ao l (Dohan et al., 2006a, 2006b; Zhang et al., 2012).

#### **2.4.2 Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) asso**

A identificação da principal característica biológica, capacidade do BSM de promover a osteoindução. Nesse c gerais em que os BSM podem ser associados: tanto com célu mesenquimais quanto com FC bioativos (Miron; Choukroun como objetivo a utilização de células-tronco mesenquimais as quais são isoladas e semeadas diretamente em arcabou



um aglutinante biológico, promovendo a união das partículas e a manipulação do BSM e assegura a retenção na região afetada.

Entretanto, não existem evidências robustas provenientes de estudos que sustentem a ideia de que a L-PRF pode promover a osteogênese (Pripatnanont et al., 2013; Yoon; Lee; Yoon, 2014). A L-PRF é considerada satisfatória em tecidos moles, todavia, sua função no reparo ósseo e seus determinantes biológicos ainda não foram completamente elucidados (Olate, 2018). É imperativo realizar estudos clínicos para avaliar a eficácia de diferentes combinações de BSM em procedimentos cirúrgicos (Angelis et al., 2019).

## 2.5 ESTUDOS CORRELATOS

Choukroun et al. (2006b) investigaram a eficácia da L-PRF com o alógeno desmineralizado liofilizado (DFDBA) na promoção da cicatrização do assoalho sinusal. A pesquisa abarcou nove procedimentos cirúrgicos em que, em seis locais, a L-PRF foi incorporada às partículas de DFDBA e em três locais foram utilizados DFDBA sem a adição da L-PRF. No início da intervenção cirúrgica para elevar o assoalho do seio maxilar, por meio de um protocolo que envolveu centrifugação a 2000 rpm em centrífuga de laboratório (Process<sup>®</sup>). Os coágulos gerados foram

a L-PRF possa não promover um incremento significativo a longo prazo, parece exercer um papel crucial na revascularização e na angiogênese. Sob uma perspectiva histológica, esse intervalo poderia ser abreviado para quatro meses; contudo, estudos histológicos adicionais são necessários para validar essas conclusões preliminares.

Por meio de um ECCR, Mardas, Chadha e Donos (2012) compararam o uso de um substituto ósseo sintético (HA/ $\beta$ -TCP, BoneMatrix) com o de um substituto ósseo proveniente de osso bovino (Bio-Oss®, Geistlich) associado a uma barreira de colágeno, com o objetivo de preservar as dimensões do rebordo alveolar. Neste estudo envolveu 26 pacientes que foram aleatoriamente alocados em dois grupos: o grupo experimental recebeu HA/ $\beta$ -TCP, enquanto ao grupo controle foi aplicado o Bio-Oss. Em ambas as situações, utilizaram uma barreira de colágeno para isolar o sítio de implantação. Contudo, não conseguiram atingir a cobertura completa do defeito. Após um período de oito meses, durante os procedimentos de remoção do implante, foram reavaliadas as dimensões horizontal e vertical da crista alveolar por meio de biópsias para análise histológica em todos os pacientes. Os resultados mostraram que o grupo HA/ $\beta$ -TCP apresentou uma redução média de 2,1 mm na altura vestibulolingual da crista alveolar, enquanto o grupo Bio-Oss apresentou uma redução média de 1,1 mm (p < 0,05). Ambos os grupos utilizaram a barreira de colágeno para preservar a altura óssea mesiodistal da crista. A avaliação histológica das biópsias de reparo ósseo na porção apical das biópsias, sendo que em

quantidade de vasos sanguíneos e volume do espaço medular em duas, três e quatro semanas. A análise histológica revelou formação óssea e um maior ritmo de cicatrização na cavidade em relação à cavidade controle. As avaliações radiográficas mostraram que a ossificação do alvéolo tratado com L-PRF começou após duas semanas e atingiu a radiopacidade plena após quatro semanas. Concluíram que a L-PRF é um osteoindutor que promove a osteogênese em alvéolos extraídos e acelera o processo de cicatrização fisiológica. Assim, a L-PRF apresentou efeitos benéficos na aplicação na prática odontológica.

Em uma investigação histológica, Kim et al. (2012) estudaram o uso de um implante recoberto com proteína morfogênica óssea humano recombinada combinado com L-PRF na promoção da regeneração óssea em coelhos, além de suas características inflamatórias. Defeitos de 8,0 mm de diâmetro, foram criados nas paredes anteriores do maxilar da Nova Zelândia. Os defeitos foram preenchidos exclusivamente com L-PRF (grupo experimental A, n = 12), com TCP revestido por rhBMP-2 (grupo experimental B, n = 12) ou com L-PRF (grupo experimental B, n = 12). Os animais foram sacrificados em dias e de uma, duas, quatro, seis e oito semanas após o procedimento. Os ossos foram corados por descalcificação e foram coradas utilizando H&E e Tricrômio de Masson para análise histológica. Verificaram a proliferação de osteoblastos nos grupos A e B na fase inicial da formação do novo osso, especificamente nos grupos correspondentes ao osso recém formado nos segundos e

TCP misturado à L-PRF (B) evidenciou um processo cicatricial. O grupo controle (A) e o grupo TCP revestido com rhBMP-2 (A) ou à condição controle apresentaram resultados semelhantes.

No contexto de modelo animal, Lee et al. (2012) relatou a utilização de L-PRF em defeitos peri-implantares *in vivo* em ratos brancos da Nova Zelândia nos quais foram criados dois defeitos ósseos de  $3,0 \times 5,0$  mm com uma distância de 5,0 mm na tíbia, após a instalação dos implantes. Na sequência, foram instalados os dois implantes. No grupo experimental, foi aplicada L-PRF no defeito ósseo. No grupo controle, o defeito peri-implantar foi mantido sem preenchimento. Ocorreu a formação de novo tecido ósseo 4 semanas após a instalação dos implantes para que fosse realizada a análise histomorfométrica. A média do novo tecido ósseo formado foi de  $11,06\% \pm 8,94\%$  no grupo experimental e de  $17,11\% \pm 8,12\%$  no grupo controle, diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,020$ ). O contato médio entre osso e implante foi de  $17,11\% \pm 8,12\%$  no grupo experimental e de  $11,06\% \pm 8,94\%$  no grupo controle, diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,006$ ). Concluíram que o defeito ósseo de dimensões  $3,0 \times 5,0$  mm foi reparado com sucesso pela aplicação de L-PRF em modelo animal *in vivo*. Com base nos resultados afirmaram a viabilidade da utilização de L-PRF na reparação de defeitos ósseos moderados devido ao fato de ser derivada do próprio sangue do paciente, o que confere alta biocompatibilidade e manuseabilidade. Contudo, ressaltaram que os dados obtidos

perda em largura foi superior à perda em altura, tanto clinicamente quanto radiologicamente. Especificamente, nos casos envolvendo materiais aloplásticos (Bio-Oss<sup>®</sup>, sulfato de cálcio [CS] e HA), constataram um aumento significativo na formação óssea vital, que variou de 6,2% para 23,5%, quando comparado aos controles. Entre os BSM, o mais reabsorvível foi o CS, seguido pelo BG e pela HA. Os materiais autógenos e alógenos (DFDBA e liofilizado [FDBA]), não apresentaram alteração óssea. No contexto dos BSM xenógenos, como o Bio-Oss<sup>®</sup>, a reabsorção variou entre -22,2% e 9,9%. As conclusões indicaram que os BSM xenógenos sugeriram que os BSM xenógenos podem dificultar a formação de tecido conjuntivo devido à sua lenta taxa de reabsorção. Também constataram que esses xenógenos e da HA permaneceram nas cavidades por um longo período de procedimento de aumento volumétrico; essa reabsorção lenta ocorreu ao longo prazo desses materiais. Quanto à porcentagem de reabsorção, não houve redução significativa com a maioria dos BSM aplicados (Duffy et al., 2008). Uma quantidade limitada de estudos comparativos prospectivos demonstraram que para preservar tanto a altura quanto a largura do alvéolo pode ser necessário ósseo em comparação ao processo natural de cicatrização.

Girish Rao et al. (2013) realizaram uma avaliação de pacientes que necessitavam de extrações bilaterais dos terceiros molares selecionado aleatoriamente para receber L-PRF, enquanto o grupo controle recebeu aplicação de qualquer preenchimento. Os pacientes foram

Hauser et al. (2013) realizaram um estudo para determinar se o preenchimento de alvéolos poderia promover melhorias na qualidade do tecido ósseo intrínseco do osso alveolar após a extração de dentes. O impacto do procedimento cirúrgico antes da inserção do implante foi avaliado em 23 pacientes randomizados (14 mulheres e 9 homens) que passaram por extração molar seguida pela colocação de implantes, distribuídos em três grupos: G1, extração simples e o alvéolo foi preenchido com L-PRF; G2, extração com retalho mucoso e preenchimento com L-PRF; e G3, um grupo controle sem o preenchimento do alvéolo. A colocação dos implantes foi realizada e, sendo realizada uma biópsia óssea para fins de análise histomorfométrica através da microtomografia computadorizada (micro-CT) para avaliar a consolidação óssea e aprimoramento da microarquitetura (BV/TV). O tratamento demonstrou ter um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na consolidação óssea e na preservação da largura alveolar. Por outro lado, um retalho mucoso envolvendo retalho mucoso pareceu anular completamente o efeito do L-PRF. Concluíram que a utilização de L-PRF para o preenchimento do alvéolo resultou em melhorias na consolidação óssea alveolar e melhor preservação da largura alveolar.

Ozdemir et al. (2013) investigaram os impactos da extração de dentes associada a barreiras de Ti em um modelo experimental utilizando implantes. A amostra foi constituída por 24 coelhos adultos machos da raça Nova Zelândia Branco, divididos em quatro grupos: um grupo controle (G1) e três grupos experimentais.

Em um estudo experimental randomizado, Yazdi et al. (2010) avaliou diversos BSM na cicatrização de defeitos críticos com 8 mm em porquinhos-da-índia com seis meses. Os animais foram distribuídos recebendo um protocolo experimental distinto: no protocolo A, o defeito à esquerda foi preenchido com HA/ $\beta$ -TCP (Biomatlante<sup>®</sup>), que possui uma fase carreadora de gel que facilita o manuseio, enquanto o lado esquerdo ficou com B, o defeito à direita foi preenchido com DFDBA (Exfuse<sup>®</sup>), e no protocolo C, com Stypro<sup>®</sup> (Curasan), uma esponja biodegradável de celulose para hemostasia; no protocolo C, o defeito à direita foi preenchido com DFDBA e o lado esquerdo recebeu osso autógeno. A porcentagem de preenchimento histomorfometricamente após oito semanas, resultando em 68,19% para osso autógeno; 66,9% para HA/ $\beta$ -TCP; 57,1% para DFDBA; 18,8% para Stypro<sup>®</sup> e 10,6% para o controle vazio. Quando HA/ $\beta$ -TCP e osso autógeno ( $p = 0,6$ ), as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Notaram que no grupo A, o material se distribuiu pelo defeito e não se restringiu às margens, formando uma rede. Também identificaram sinais de reabsorção do material. Além disso, observaram reações inflamatórias significativas nos casos de controle e Stypro. Nesse sentido, destacaram a angiogênese e osteogênese satisfatórias observadas em ambos os lados quanto em profundidade do defeito, indicando que HA/ $\beta$ -TCP possui uma osteocondutividade em comparação ao Bio-Oss<sup>®</sup>. Tal fato pode ser explicado pelo fato de que HA/ $\beta$ -TCP possui uma alta porosidade e uma alta área de superfície.

Foram criados cirurgicamente defeitos ósseos de 4 mm de comprimento em cada côndilo femoral de 15 coelhos brancos da Nova Zelândia, sendo que um grupo recebeu exclusivamente com L-PRF, enquanto outro recebeu L-PRF associado com um enxerto ósseo. Os animais foram sacrificados três meses após o procedimento. O enxerto ósseo foi preparado previamente à cirurgia, mediante a centrifugação de sangue coletado a 3.000 rpm durante 12 minutos. As análises radiográficas avaliaram a densidade do enxerto e continuidade da cortical óssea, visto que, na área de inserção, empregando-se uma escala numérica de 0 a 10, com valores crescentes tanto na densidade do enxerto quanto na continuidade da cortical. Na análise histológica, as amostras foram fixadas e coradas com hematoxilina e eosina. Os resultados mostraram que a densidade média do osso foi estatisticamente significativamente maior quando foi utilizado juntamente com a L-PRF ( $p < 0,0005$ ). No que diz respeito à continuidade cortical, perceberam que ambos os tipos de enxertos contribuíram para a cicatrização óssea. Entretanto, devido à ausência de uma escala numérica, não foi possível quantificar a nova formação óssea. Concluíram que o uso de L-PRF resultou em um aumento significativo na formação óssea na região do defeito, sendo mais eficaz para o reparo ósseo.

Yilmaz et al. (2014) analisaram o impacto da L-PRF associada com um enxerto ósseo de 2000  $\mu\text{m}$ , tanto isoladamente quanto em associação, no reparo de defeitos ósseos em suínos. Foram criados quatro tipos de defeitos ósseos com comprimento de 10 mm, dispostos a uma distância de 10 mm entre si, totalizando 24 defeitos em 6 experimentais. Esses defeitos foram organizados em quatro grupos: controle, L-PRF, enxerto ósseo e L-PRF associado com enxerto ósseo. Os resultados mostraram que a densidade média do osso foi estatisticamente significativamente maior quando foi utilizado juntamente com a L-PRF ( $p < 0,0005$ ). No que diz respeito à continuidade cortical, perceberam que ambos os tipos de enxertos contribuíram para a cicatrização óssea. Entretanto, devido à ausência de uma escala numérica, não foi possível quantificar a nova formação óssea. Concluíram que o uso de L-PRF resultou em um aumento significativo na formação óssea na região do defeito, sendo mais eficaz para o reparo ósseo.



azul de toluidina. Análises estereológicas foram realizadas sob um microscópio Leica DM4000B<sup>®</sup>. Em cada seção compreendendo os espaços vazios adjacentes sob ampliação trinta microfotografias aleatórias para avaliação. Para medição contagem por pontos (Cavalieri). Os exames histológicos quantidade formada de osso novo foi significativamente superior combinação de  $\beta$ -TCP/L-PRF quando comparada aos casos que não foram utilizado. Assim, concluíram que a associação da L-PRF com  $\beta$ -TCP efetivamente nova formação óssea.

Acar et al. (2015) realizaram um estudo sobre a eficácia da L-PRF isoladamente quanto em associação com HA/ $\beta$ -TCP. Utilizaram-se 20 coelhos Zelândia, nos quais foram preparados quatro defeitos calvários de 10 mm<sup>2</sup> no animal. Esses defeitos foram distribuídos em quatro grupos: o primeiro com L-PRF; um segundo apenas com HA/ $\beta$ -TCP; um terceiro com HA/ $\beta$ -TCP e L-PRF; e um grupo controle, que não recebeu tratamento. Após a coleta coletados 8 mL de sangue proveniente das orelhas, o qual foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos em 4°C. No primeiro grupo (T1), dez coelhos foram sacrificados e outros dez ao término de 12 semanas uma varredura por micro-CT das amostras as quais posteriormente foram analisadas histológica e histomorfométrica, visando avaliar e comparar a quantidade de osso regenerado. As amostras fixadas sofreram descalcificação por método de Goldmann e férmico. Após esse processo, duas amostras de tecido ósseo foram analisadas por

de um período de dois anos, 31 pacientes (idade média de 35,5 anos) foram submetidos à remoção cirúrgica de um único terceiro molar impactado. Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo controle (fechamento primário) e grupo experimental (L-PRF). Os parâmetros analisados incluíram dor, edema, abertura máxima da boca, PBP e formação óssea, com um acompanhamento de três meses. Os resultados mostraram que o grupo experimental apresentou dor ( $p = 0,017$ ), o inchaço ( $p = 0,022$ ) e a distância pré-operatória ( $p < 0,001$ ) significativamente menores no grupo experimental em comparação com o grupo controle no primeiro dia pós-operatório. A PBP apresentou redução significativa no grupo experimental ( $p < 0,001$ ) quanto no controle ( $p = 0,014$ ) quando avaliada no primeiro dia pós-operatório. Além disso, a formação óssea foi significativamente maior no grupo experimental em relação ao controle quando avaliada um mês e três meses pós-operatórios da PBP tanto no grupo controle quanto no grupo experimental ( $p < 0,001$ ). Embora a densidade da lâmina dura e das pontuações do padrão trabecular tenha sido avaliada, não alcançou significância estatística. Concluíram que a aplicação de L-PRF ajudou a reduzir a severidade das sequelas imediatas pós-operatórias, diminuir a distância pré-operatória e acelerou o processo de formação óssea.

Oliveira et al. (2015) examinaram os impactos

tubo, foi separada dos demais componentes sanguíneos por n  
ou sessenta dias, os animais foram sacrificados e o repa  
histomorfométrica. Cortes de tecido com espessura de 6  $\mu$ m  
H&E para subsequente avaliação microscópica. As maiores  
osso novo foram no grupo BO/L-PRF após trinta dias (54,  
5,8%); especialmente aos trinta dias, a porcentagem  
significativamente superior à registrada nos outros grupos (p  
o BO/L-PRF ( $63,6 \pm 5,8\%$ ) quanto o BO ( $57,3 \pm 5,8\%$ ) apre  
ambos demonstraram diferença estatística em relação  
Concluíram que a L-PRF exerceu um efeito benéfico sobre  
utilizada conjuntamente com o Bio-Oss<sup>®</sup>.

Abdullah (2016) realizou uma análise comparativa  
críticos da calota craniana de ratos, os quais foram preench  
em associação com  $\beta$ -TCP, utilizando a avaliação por micro  
dois defeitos ósseos na calvária de cada um dos 45 ratos ma  
(idade: 20-22 semanas, peso: 350-450 g), empregando uma  
mm. Os noventa defeitos foram distribuídos aleatoriamente  
(defeitos deixados para cicatrizar espontaneamente); L-PRF  
PRF); e L-PRF/ $\beta$ -TCP (defeitos tratados com L-PRF comb  
50:50). Nove animais (3 por grupo) foram sacrificados ap  
semanas pós-operatórias; nesse intervalo, 18 defeitos calvári

consolidar a base probatória existente e investigar o possível papel da abordagem terapêutica no contexto da formação óssea intramembrana.

Em ECCR, Clark et al. (2018) investigaram a eficácia da associação com o FDBA na promoção do processo de remodelação dimensional do rebordo alveolar. A amostra foi composta por pacientes que necessitaram passar pela extração de dentes unirradiculares e receber implantes. Os alvéolos resultantes das extrações foram tratados com diferentes protocolos: A-PRF, A-PRF/FDBA, FDBA e coágulo sanguíneo. O estudo envolveu um protocolo de centrifugação a 1.300 rpm durante 10 minutos, realizadas de forma atraumática, garantindo a preservação da arquitetura. Durante o período de cicatrização que durou 15 semanas, as amostras foram coletadas para análises histomorfométricas e microtomografia. Comparações foram feitas entre os grupos no que diz respeito à altura dos resíduos de enxerto e tecido conjuntivo. Observaram uma maior altura da crista no grupo tratado somente com coágulo sanguíneo, quando contrastado aos grupos A-PRF ( $1,8 \pm 2,1$  mm) e A-PRF/FDBA. Por outro lado, não notaram diferenças estatisticamente significativas no rebordo entre os diferentes grupos. O grupo A-PRF apresentou um volume significativamente maior de osso vital ( $46,0 \pm 18,0\%$ ) em comparação com o grupo coágulo ( $14,0\%$ ) ( $p < 0,05$ ). Também, a densidade mineral óssea foi significativamente maior ( $1.047 \pm 67$  mg/cm<sup>3</sup>) em relação ao grupo coágulo sanguíneo ( $487 \pm 67$  mg/cm<sup>3</sup>).

grupo experimental, duas amostras de sangue venoso (9 mL) foram coletadas antes da extração dentária. Esse sangue venoso foi submetido a 3000 rpm por 10 minutos, utilizando uma centrífuga de mesa (Heittich Universal 3000), em repouso por 3-5 minutos. O gel de L-PRF foi então colocado no alvéolo sob leve pressão por 10 segundos, resultando em uma matriz de L-PRF. Após a extração dentária, o alvéolo do grupo experimental foi preenchido com o gel de L-PRF, enquanto o grupo controle recebeu um coágulo sanguíneo. A avaliação clínica foi realizada em sete dias, um mês e três meses após o procedimento. Uma tomografia volumétrica de feixe cônico (CBCT) foi realizada imediatamente após a extração do dente. As modificações em largura, altura e volume do alvéolo foram comparadas entre os dois grupos. Três meses após a cirurgia de instalação do implante, foi retirada uma amostra de osso variando entre 3-4 mm no centro do alvéolo utilizando brocas de 1 mm. As seções foram seccionadas com espessura de 10 µm e coradas usando o método de Goldner. As seções coradas foram examinadas sob microscópio óptico utilizando o *software* Leica Application Suite (versão 4.5). A nova formação de osso foi analisada através do *software* SimplePCI<sup>®</sup>. Os resultados mostraram que o tecido mole no grupo experimental superou aquela observada no grupo controle. A formação de osso novo no grupo L-PRF ( $9,7 \pm 4,0\%$ ) revelou significância estatística comparada ao grupo controle ( $2,8 \pm 1,2\%$ ) ( $p < 0,01$ ). Contudo, as análises realizadas pelo *software* quantitativo indicaram que não

cicatrizar espontaneamente. Após um período de oito semanas, a nova formação óssea na crista alveolar foi avaliada. As amostras foram preparadas com broca trefina no centro do alvéolo, seguida da preparação e coloração complementar pelo uso de corante básico de fucsina. O protocolo de L-PRF consistiu em centrifugação a 2.700 rpm durante 12 minutos. O tecido ósseo alveolar foi inserido para análise. A formação de novo osso em 28 cavidades, enquanto em oito não houve detecção dessa formação (3 no controle e 3 ao grupo tratado com L-PRF). Essa ausência de formação incompleta de formação óssea que tem início nas paredes laterais do alvéolo que a broca trefina tinha um diâmetro de 2 mm, é possível que a formação de novo osso no alvéolo não tenha sido evidenciada. As médias das taxas de formação de novo osso foram  $31,3 \pm 18,0\%$  para o grupo L-PRF e  $26,3 \pm 19,6\%$  para o grupo controle, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Concluíram que o emprego da L-PRF na preservação do rebordo alveolar após a extração de dentes não promoveu aumento significativo na formação de novo osso após extração de dentes e cicatrização normal das feridas.

Em estudo retrospectivo, De Angelis et al. (2019) avaliaram a preservação do rebordo alveolar utilizando a L-PRF em pacientes submetidos a exodontia, antes da instalação do implante. A investigação foi realizada entre setembro de 2017 e janeiro de 2018, voltado à preservação do rebordo alveolar após a extração de dentes. Foram avaliados 15 pacientes submetidos a extração de dentes e instalação de implantes. Os resultados mostraram que a utilização da L-PRF promoveu a preservação do rebordo alveolar e a cicatrização normal das feridas. Os autores concluíram que a utilização da L-PRF promoveu a preservação do rebordo alveolar e a cicatrização normal das feridas.

uma alteração média menor na reabsorção em largura (1,05 mm) em relação ao grupo Bio-Oss<sup>®</sup> (alteração média: 1,12 ± 0,28 mm), sendo esta diferença estatisticamente significativa (p = 0,44). Observaram também que o grupo submetido à L-PRF apresentou menor reabsorção óssea tanto horizontal quanto verticalmente. As diferenças estatisticamente significativas foram registradas em relação à dor pós-operatória em favor do grupo que recebeu somente L-PRF. Concluíram que o uso de L-PRF em associação com Bio-Oss<sup>®</sup> limitou consideravelmente a reabsorção óssea.

No contexto de um estudo experimental, Karayürek et al. (2006a) avaliaram o efeito da L-PRF na formação e maturação óssea em associação com Bio-Oss<sup>®</sup> e  $\beta$ -TCP, aplicados a defeitos críticos intraósseos em coelhos da raça Nova Zelândia, distribuídos em quatro grupos, sendo cada grupo subdividido em dois subgrupos. Foram criados dois defeitos críticos (2 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade) em ambos os lados da tíbia de cada animal. A L-PRF ocorreu a 3.000 rpm durante 10 minutos, conforme descrito anteriormente (2006a). Após a preparação da L-PRF, os defeitos foram tratados de duas maneiras: o lado direito foi designado como defeito vazio ou grupo controle (G1) e o lado esquerdo correspondeu ao grupo teste (L-PRF). Para o G1, o defeito do lado direito foi preenchido com enxerto ósseo autógeno particulado da tíbia ipsilateral da calvária, enquanto que no lado esquerdo recebeu uma combinação de Bio-Oss<sup>®</sup> e  $\beta$ -TCP com L-PRF; no G3, o defeito do lado direito foi preenchido

superior ao grupo  $\beta$ -TCP isoladamente. As associações entre PRF demonstraram importância estatística quando comparadas com o grupo  $\beta$ -TCP (p = 0,046, respectivamente). Concluíram que a combinação demonstrou desempenho superior em termos de formação de novo osso e diferenças significativas nos parâmetros referentes à necrose e infecção.

Em ECCR, Kollati et al. (2019) compararam a eficácia da L-PRF e tampão de colágeno com regeneração natural na prevenção da reabsorção alveolar utilizando análise radiográfica. A amostra foi composta por 20 pacientes (17 e 50 anos), que necessitavam da extração de pelo menos um dente. Em cada paciente, um dos locais de extração foi submetido ao tratamento com L-PRF no rebordo, no qual a L-PRF picotada foi misturada com Cera<sup>®</sup> e, em seguida, o espaço coronal de 1 mm foi preenchido com o material. Enquanto o outro local foi tratado apenas através da extração. Para a análise, seguiu um protocolo que consistiu em centrifugar a amostra de PRF. Impressões de alginato dos arcos dentários superior e inferior foram tomadas antes do procedimento. Modelos pré-operatórios foram confeccionados e desenvolvidos em resina acrílica englobando um dente anterior. As medidas verticais e horizontais da crista alveolar foram avaliadas clinicamente e radiograficamente via *software* AUTOCAD (Autodesk<sup>®</sup>) após seis meses. Para mensurar a altura da crista vertical, foi utilizado um *stent* até a crista alveolar por meio de orifícios criados



adultos da raça Nova Zelândia, nos quais foram criados 24 defeitos ósseos em dois grupos (n = 6). Dois defeitos críticos com diâmetro de 5 mm foram criados nos coelhos, um em cada linha sagital. Os biomateriais empregados foram na seguinte forma: de um lado da linha sagital, o grupo controle (GC) recebeu o material fisiológico e Bio-Oss<sup>®</sup> hidratado coberto com membrana de colágeno e do outro lado o grupo teste (GT) apresentou um defeito preenchido com Bio-Oss<sup>®</sup>/L-PRF coberto por membrana de colágeno do outro lado. Após a criação dos defeitos (grupo teste), foi coletada uma amostra de 10 mL de sangue de cada coelho. Tubos estéreis contendo esse sangue foram levados à centrífuga onde passaram por centrifugação a 3.000 rpm por 10 minutos para obtenção do plasma desidratado, picotado e misturado ao Bio-Oss<sup>®</sup>. Após a preparação, os animais foram submetidos à eutanásia para a realização da análise histológica. Para a análise histológica parietal, aproximadamente 20 mm<sup>2</sup> contendo a área enxe foram coletadas. A análise histológica concentrou-se na parte central das biópsias ósseas. Quando necessário, cortes de 7 µm de cada espécime foram preparados e analisados sob microscopia óptica. As imagens obtidas foram registradas em uma câmera CCD (RT color<sup>®</sup>) e analisadas com o *software* Image Pro Plus. Os resultados incluíram tecido não vital mineralizado (TNVM), tecido vital não mineralizado (TNM), que compreendeu tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e células. Os valores encontrados para TVM no GC e no GT no lado da membrana de colágeno foram, respectivamente  $6,6 \pm 0,1\%$  e  $9,5\% \pm 0,6\%$ , apresentando diferença estatística (p < 0,05). Para o lado da membrana de colágeno, os valores foram, respectivamente  $10,8 \pm 0,4\%$  e  $10,8 \pm 0,4\%$ , não apresentando diferença estatística (p > 0,05).

gerada apenas em procedimentos relacionados ao enxerto desprovidos da proteção oferecida pelas membranas colágenas.

Em pesquisa realizada com um modelo animal, foi avaliada histologicamente a cicatrização de defeitos ósseos que foram tratados isoladamente ou em combinação com Bio-Oss<sup>®</sup> (Geistlich) ou Bio-Oss<sup>®</sup> revestido por uma membrana de colágeno reabsorvível nos períodos inicial e tardio da cicatrização. O processo de cicatrização induzidos em ovelhas foi examinado tanto histologicamente aos dez, vinte e quarenta dias após o procedimento cirúrgico. Foram criados quatro defeitos de 5 mm cirurgicamente na mandíbula a uma distância de 5 mm entre eles. Os defeitos foram randomizados em quatro combinações: Bio-Oss/CM; L-PRF; Bio-Oss/L-PRF; ou placebo. Os animais foram submetidos à eutanásia nos marcos temporais de 10, 20 e 40 dias pós-cirurgia. Em nenhum dos grupos foram detectados sinais de infecção. Inicialmente, constataram que as partículas do enxerto estavam presentes em todos os defeitos. Observações histológicas observacionais nos defeitos tratados com Bio-Oss/L-PRF mostraram que o reparo ósseo foi registrada no grupo do defeito vazio (27,1 ± 10,2%) e ocorreu no grupo que utilizou Bio-Oss/L-PRF (54,8 ± 10,2%). Uma análise comparativa que avaliou as diferentes medidas de reparo ósseo mostrou que Bio-Oss/L-PRF apresentou resultados significativamente superiores (p = 0,091). No vigésimo dia pós-operatório, observaram

ósseo ou da quantidade remanescente do material enxerto. Concluíram que tanto o uso combinado de Bio-Oss/L-PRF quanto o uso de L-PRF e CM resultaram em padrões semelhantes no reparo ósseo. A utilização de L-PRF é preferível devido à sua origem autógena e custo reduzido frente à maior facilidade operacional. No entanto, mais ensaios clínicos randomizados são necessários para corroborar estes resultados iniciais obtidos.

Ustaoglu, Göller Bulut e Gümüş (2020) investigaram a cicatrização dos tecidos moles, bem como a dimensão fractal da ferida após a extração, utilizando L-PRF e T-PRF. O estudo incluiu um grupo controle unirradiculares, os quais foram organizados em três grupos: grupo controle, preenchimento: alvéolos que se curaram naturalmente (grupo controle), alvéolos tratados com L-PRF (n = 19) e alvéolos tratados com T-PRF (n = 19). O teste de Cicatrização de Feridas de Landry (ICFL) e do teste de Epitelização de Hidrogênio ( $H_2O_2$ ) para as taxas de epitelização completa foram realizados uma e duas semanas após a cirurgia. Todos os pacientes foram avaliados na escala visual analógica (EVA) referente à dor sentida e ao número de dias nos três dias seguintes à extração. A ECF, avaliada pelo resíduo de tecido epitelizado, mostrou taxa significativamente inferior no grupo controle em comparação com os grupos L-PRF e T-PRF durante a primeira semana. Na segunda semana, ambos os grupos mostraram 100% de ECF, enquanto o grupo controle mostrou apenas 50%. Em relação ao respeito ao escore da dor na EVA, este foi significativamente menor no grupo L-PRF (2,50 ± 0,62) e T-PRF (2,50 ± 0,62) em comparação com o grupo controle (3,50 ± 0,62).

vasos sanguíneos, considerando o uso clínico e cirúrgico da L-PRF nos BSM. No ambiente *in vitro*, os quatro BSM (AKM, XKM1, XKM2 e APKM) biofuncionalizados com L-PRF e comparados entre si quanto à liberação dos FC (VEGF, TGF- $\beta$  e PDGF) após um período de 24h. Para as interações iniciais entre células, foi empregada a microscopia de fluorescência. Na fase *in vivo*, todos os BSM (com ou sem L-PRF) foram avaliados quanto à presença de vasos recém-formados por meio do ensaio da placa de vidro. A L-PRF isoladamente demonstrou uma contagem média de células por campo de sangue total; no entanto, não alcançou significância estatística. A associação de L-PRF com todos os BSM testados resultou na redução das plaquetas (XKM1:  $p = 0,161$ ; XKM2:  $p = 0,796$ ), com o APKM (HA/ $\beta$ -TCP) mostrando uma redução acentuada quando comparado à L-PRF isolada ( $p = 0,05$ ). A associação de L-PRF levou a uma leve redução na expressão do VEGF em todos os BSM (AKM:  $p = 0,161$ ; APKM:  $p = 0,089$ ; XKM1:  $p = 0,089$ ; XKM2:  $p = 0,089$ ), observando diferença significativa ( $p = 0,35$ ). Em relação à expressão de TGF- $\beta$  (XKM1 e XKM2) mostraram aumento na expressão quando comparados isoladamente, mas também não atingiram significância estatística (XKM1:  $p = 0,775$ ; XKM2:  $p = 0,838$ ). Quanto à expressão de PDGF, não houve diferença significativa em comparação à L-PRF isolada para todos os BSM (AKM:  $p = 0,002$ ; XKM1:  $p = 0,004$ ; XKM2:  $p = 0,013$ ). As diferenças foram estatisticamente relevantes ( $p = 0,009$ ). A MEV evidenciou a presença de cada BSM utilizado com a L-PRF. No estudo *in vivo*, a L-PRF

dos pré-molares esquerdo e direito, assim como do segundo molar superior e inferior bilateralmente; posteriormente, as raízes mesiais foram extraídas, preservando-se todas as paredes ósseas vestibulares intactas e o tecido de granulação. As raízes distais permaneceram *in situ* para tratamento endodôntico. Os locais das extrações foram alocados em quatro grupos (cicatrização natural), Bio-Oss, Bio-Oss/i-PRF, GNP (gel de fibrina) e GNP/i-PRF. O i-PRF foi obtido através da centrifugação de 10 minutos. Todos os BSM foram colocados no nível da crista óssea e o filme absorvível (BioGide<sup>®</sup>, Geistlich) foi aplicada para proteger os locais por 2 semanas da exodontia, três animais foram sacrificados para análise histológica e histomorfométrica. As imagens reconstruídas 2 semanas do procedimento cirúrgico mostraram maior densidade óssea alveolar no grupo GNP/i-PRF, enquanto os demais grupos apresentaram menor densidade óssea; adicionalmente, o grupo controle evidenciou ausência de crista óssea. A análise histológica concentrou-se na porção anterior do tratamento histológico padrão, cortes com espessura de 7 µm corados com H&E, sendo analisados sob microscopia óptica. As imagens digitais foram capturadas em digital CCD (RT color<sup>®</sup>) e avaliadas utilizando o *software* ImageJ. Os parâmetros avaliados incluíram TNVM, TVM e TNM. Duas e oito semanas após o procedimento as análises histológicas indicaram a presença inicial marcante de tecido conectivo no grupo GNP/i-PRF. Em particular, menos vasos sanguíneos foram observados

em oito semanas de pós-operatório; sendo então apontado o impacto na preservação do rebordo alveolar.

Em um ECCR com duração de seis meses, Ba et al. (2005) investigaram o impacto clínico e radiográfico do enxerto aloplástico em aplicação isolada quanto em combinação com a L-PRF, em 40 pacientes (idade média de 40 anos) com periodontite. Os dentes com PS  $\geq 5$  mm foram tratados com retalho aberto utilizando como controle o enxerto ósseo Harlan e o grupo experimental utilizou a combinação desta matriz com a L-PRF. *Stents* acrílicos foram empregados para assegurar medições reprodutíveis dos parâmetros clínicos e radiográficos, que incluíam PS, nível clínico de gengiva (NMG), preenchimento de defeito ósseo vertical (DOV) e ADI (ADI) por meio de radiografias periapicais intraorais. O fechamento primário, enquanto a redução na PS e o preenchimento do DOV foram considerados como desfechos secundários. Os dados pré-operatórios para NCI, NMG, PS, preenchimento do DOV e ADI para o grupo controle foram:  $1,29 \pm 2,29$ ;  $5,24 \pm 1,89$ ;  $6,29 \pm 1,52$ ;  $14,36 \pm 2,65$ , e;  $7,79 \pm 4,3$  mm<sup>2</sup>. Após seis meses esses valores alteraram-se para:  $1,08 \pm 0,14$ ;  $9,34 \pm 2,34$ ;  $5,34 \pm 3,2$  mm<sup>2</sup>. No grupo experimental os valores para PS, DOV e ADI foram:  $1,14 \pm 0,05$ ;  $12,19 \pm 2,86$ ;  $4,38 \pm 10,31 \pm 8,71$  mm<sup>2</sup>. Após seis meses estes resultados mostraram-se superiores ao grupo controle.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Verificar, comparativamente, por histomorfometria, das extrações dentárias, o processo de reparo ósseo em alvéolos com L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP.

Este objetivo se desdobra especificamente em:

- Identificar, em alvéolos maxilares humanos, qual a reparação óssea no período de oito semanas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

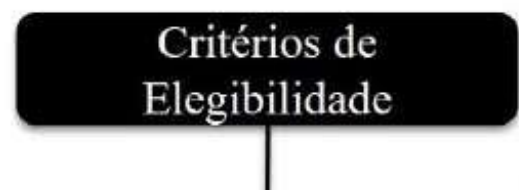
### 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Por se tratar de uma pesquisa envolvendo seres humanos, foi previamente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) de Fora (UFJF), conforme determinam a Resolução nº. 466/2012 e 001/2013 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), com a Aprovação Ética (CAAE) nº. 44815420.5.0000.5147, se nº. 4.875.915, em 30 de julho de 2021 (Anexo A).

Os participantes foram informados dos objetivos da pesquisa e a participação seria voluntária e confidencial, sendo a identidade protegida. Foi assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de cada participante antes de sua inclusão formal no estudo (Apêndice A).

O estudo foi conduzido e relatado de acordo com as diretrizes da *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) (Ferreira et al., 2014) e a Declaração de Helsinque da *World Medical Association* (WMA, 2013).

Figura 1 – Fluxograma do grupo C





Atingiu-se uma amostra inicial de 24 participantes. Após a primeira etapa cirúrgica, cinco participantes não compareceram (perda de 20 alvéolos). Assim, permaneceram 19 participantes para a biópsia e processamento das amostras, porém, no decorrer do estudo houve perda de 16 espécimes (4 participantes), finalizando com 15 alvéolos (15 participantes).

## 4.2 CÁLCULO AMOSTRAL

Para realização do cálculo amostral foi utilizado o software G\*Power, considerando-se o modelo de análise de variância para medidas repetidas com efeito de 0,376, obtido a partir de estudo piloto (24 alvéolos). Com um poder de 80%, o cálculo amostral indicou a necessidade de 48 participantes (48 alvéolos). Para compensação de eventual perda de 20%, foram recrutados 24 participantes (96 alvéolos). Houve perda de 20 alvéolos, sendo cinco (20 alvéolos) após a primeira etapa cirúrgica e 16 alvéolos) no processamento dos espécimes das biópsias, finalizando com 15 participantes (60 alvéolos).

## 4.3 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um ECGP, prospectivo, duplo cego,

Figura 2 – *Print* de e-mail recebido informando



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

#### 4.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE E CEGAMENTO

Foram selecionados participantes de ambos os sexos, identificando o estado físico I e II de acordo com a Classificação de Anestesiologia (ASA), atendidos nas clínicas de Cursos de Odontologia de Juiz de Fora, coordenados pelo professor orientador. Para a obtenção de imagem diagnóstica (radiografia panorâmica, radiografias padronizadas utilizando a técnica de paralelismo) e exame clínico

Um total de 24 participantes foi selecionado para obtenção de cada participante, com necessidade de extração de pelo menos um dente unirradiculares com presença de dentes adjacentes em má

Quadro 1 – Distribuição dos alvéolos nos grupos

| Grupo | Alvéolo               | n  |             |
|-------|-----------------------|----|-------------|
| G1    | CTR (controle)        | 15 | Apenas exc  |
| G2    | AB                    | 15 | Osso autógn |
| G3    | LPRF (experimental)   | 15 | Membrana    |
| G4    | LPFRHA (experimental) | 15 | L-PRF + H   |

Legenda: CTR (controle); AB (*autogenous bone*, osso autólogo); LPRF (membrana de fibrina rica em plaquetas e leucócitos); LPFRHA (L-PRF + HA/ $\beta$ -TCP [osso sintético contendo hidróxiapatita]).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os alvéolos foram randomizados por meio de urna (sorteio) nos quatro grupos (Quadro 1) utilizando-se o método de randomização (Quadro 2) foi ocultada dos participantes. O pesquisador [HDMCN] responsável pelas biópsias e esta pesquisadora (ARA) (lâminas). A randomização foi revelada somente ao cirurgião após as exodontias e tratamentos dos alvéolos (controles e experimentais). No processamento das imagens, a randomização foi revelada à pesquisadora (ARA) possível inserir os dados nos referidos grupos e, então, compará-los (ARO).

Quadro 2 - Randomização dos alvéolos

| Participante | Alvéolo |
|--------------|---------|
| 1            | 23      |
|              | 12      |
|              | 25      |

Quadro 2 – Randomização alvéolos (c)

| <b>Participante</b> | <b>Alvéolo</b> |
|---------------------|----------------|
| <b>5</b>            | 25             |
|                     | 21             |
|                     | 23             |
|                     | 12             |
| <b>6</b>            | 23             |
|                     | 12             |
|                     | 15             |
|                     | 21             |
| <b>7</b>            | 12             |
|                     | 25             |
|                     | 22             |
|                     | 15             |
| <b>8</b>            | 13             |
|                     | 23             |
|                     | 21             |
|                     | 25             |
| <b>9</b>            | 22             |
|                     | 11             |
|                     | 25             |
|                     | 13             |
| <b>10</b>           | 12             |
|                     | 21             |
|                     | 15             |
|                     | 23             |
| <b>11</b>           | 15             |
|                     | 11             |
|                     | 13             |
|                     | 22             |
| <b>12</b>           | 23             |
|                     | 21             |
|                     | 25             |
|                     | 12             |

Quadro 2 - Randomização dos alvéolos

| <b>Participante</b> | <b>Alvéolo</b> |
|---------------------|----------------|
| <b>16</b>           | 21             |
|                     | 23             |
|                     | 25             |
|                     | 12             |
| <b>17</b>           | 13             |
|                     | 11             |
|                     | 15             |
|                     | 23             |
| <b>18</b>           | 21             |
|                     | 12             |
|                     | 15             |
|                     | 23             |
| <b>19</b>           | 25             |
|                     | 12             |
|                     | 21             |
|                     | 23             |
| <b>20</b>           | 11             |
|                     | 25             |
|                     | 22             |
|                     | 13             |
| <b>21</b>           | 13             |
|                     | 11             |
|                     | 22             |
|                     | 15             |
| <b>22</b>           | 25             |
|                     | 11             |
|                     | 13             |
|                     | 15             |
|                     | 22             |

2. Idade entre 18 a 70 anos;
3. Necessidade de extração de pelo menos quatro dentes com presença de dentes adjacentes em maxila;
4. Implantes a serem instalados segundo a Classificação *Implantology* (ITI, 2009), tipo 2;
5. Dentes unirradiculares;
6. Dentes em posição 3D adequada para a colocação;
7. Remanescente ósseo com menos 2 mm da raiz em maxilar;
8. Região alveolar pós-extração classificada EDS-1 (Lozada; Kan (2005; extraction defect sounding [EDS-1]
9. Cirurgias de exodontias por via alveolar;
10. As indicações para as extrações dentárias incluirão:
  - a) falhas no tratamento endodôntico;
  - b) fraturas radiculares;
  - c) lesões avançadas de cárie;
  - d) periodontites;
  - e) razões protéticas.

Quadro 3 - Classificação dos defeitos alveolares

| Classificação        | EDS-1   | EDS-2             |            |
|----------------------|---------|-------------------|------------|
| Avaliação do alvéolo | Íntegro | Íntegro a pequeno | Danificado |

4. Participantes que receberam radiação terapêutica nos últimos cinco anos;
5. Indivíduos com histórico de tabagismo;
6. Participantes com imunossupressão;
7. Indivíduos com má higiene bucal;
8. Gestantes;
9. Procedimento cirúrgico invasivo de exodontias e elevação do retalho;
10. Doença periodontal não controlada com profundidade

#### 4.6 PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS: PRIMEIRO

Para garantir que as biopsias ósseas seriam realizadas, foi confeccionado um guia cirúrgico de placa *soft* composta por acetileno e polietileno tereftalato de etileno glicol de 1,5 mm de espessura (Areewong; Chantaramungkorn; Khongkhunthian, 2019; K

Impressões de alginato (Hydrogum 5 453G, Dentsply) dos arcos superiores foram feitas no primeiro dia de triagem. Os modelos operatórios foram previamente desinfetados com *spray* de álcool 70% e posteriormente vazados em Gesso Pedra Tipo III (Asf). Os modelos foram recortados eliminando as retenções e obtendo

Figura 3 - Ilustração de um dos guias cirúrgicos



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

#### **4.6.1 Obtenção da fibrina rica em plaquetas e leucócitos**

O protocolo de obtenção de fibrina autóloga para implantes dentários foi homologado pelo Conselho Federal de Odontologia (CFO) em 8/06/2015, que regulamenta o uso de agregados plaquetários. O preparo da L-PRF foi realizado de acordo com uma adaptação de Almeida et al. (2006a, 2006b), imediatamente antes do procedimento de



para a obtenção de um PRF utilizável, uma vez que se pro  
procedimento, ocorrerão erros e a fibrina irá polimerizar em  
um pequeno coágulo inconsistente será obtido (Fan; Perez;  
brancos foram posicionados em um dispositivo de centrifu  
(Montserrat, Zenith Lab Co, China) possui registro sa  
internacionais como Conformidade Europeia e FDA como d  
matriz de L-PRF, com um rotor para oito tubos com angulaç  
no máximo (Figura 4).

Figura 4 - Centrífuga de bancada FibrinFuge25<sup>®</sup> Monts



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

tampa vermelha permaneceram em repouso por 30 minutos em um estado viscoso. O tubo de plástico (tampa branca) foi mantido para que a fibrina não polimerizasse de modo que o estado pudesse ser mantida até o momento de seu uso (Yuan et al., 2009) na confecção das membranas de L-PRF. Os coágulos de fibrina, com aproximadamente 5 cm<sup>3</sup>, foram extraídos dos tubos de vidro com auxílio de uma pinça Dietrich (Golgran, São Caetano do Sul, SP) e os vermelhos foram raspados e descartados (Figura 5b). As membranas foram submetidas a um leve processo de drenagem do excesso de soro em uma caixa de drenagem. Os coágulos de L-PRF foram comprimidos utilizando-se um estilete (Intra Lock, Nice, França) sendo colocados na grelha da caixa de drenagem e comprimidos por 1 minuto para liberar lentamente o exsudato (Yuan et al., 2009), resultando em membranas de proporções serenas. As membranas estavam prontas para o uso (Figura 5d), sendo uma membrana pegajosa e outra membrana foi reservada para preenchimento de um molde de plástico (tampa branca), após finalizada a centrifugação. A cor alaranjada compondo a fibrina em fase líquida (FFL) é mostrada logo abaixo. A FFL presente no tubo de tampa branca foi utilizada para confecção do osso pegajoso (LPRFHA) (Figura 5e) (D'Almeida et al., 2009).

Figura 5 - Método de obtenção da



Para a confecção do osso pegajoso, o enxerto sinovial (com tamanho de partículas 150 a 425  $\mu\text{m}$ ) foi depositado em um recipiente. No mesmo, duas membranas de L-PRF foram picotadas com auxílio de uma tesoura. A mistura obtida constituiu um material de enxerto homogêneo, que foi coletada a FFL com auxílio de uma pipeta plástica estéril. A mistura da biocerâmica e membranas de L-PRF picotada foi colocada suavemente durante 10 segundos (Figura 6e). A proporção utilizada foi de cada 0,5 g (quantidade do produto por embalagem) de enxerto e membrana (Kollati et al., 2019). Em um intervalo de tempo de 5 minutos ocorreu a polimerização e a obtenção de um material de enxerto homogêneo para o preenchimento do alvéolo (Figura 6f).

Figura 6 - Confecção do osso pegajoso



## 4.6.2 Procedimento cirúrgico

Como profilaxia antibiótica os participantes receberam 1 g de amoxicilina, 4 mg de dexametasona e 500 mg de clonazepam. Nenhum dos participantes apresentou alergia a algum dos fármacos tiveram a medicação substituída por: 500 mg de azitromicina, 40 mg de prednisolona e 750 mg de clonazepam.

Para a assepsia intraoral os participantes fizeram bochecho com solução de Periogard 0,12% (Periogard – Colgate) por 60 segundos. E para a assepsia extraoral, o gel, foi aplicada na face, ao redor da boca com o auxílio de uma esponja.

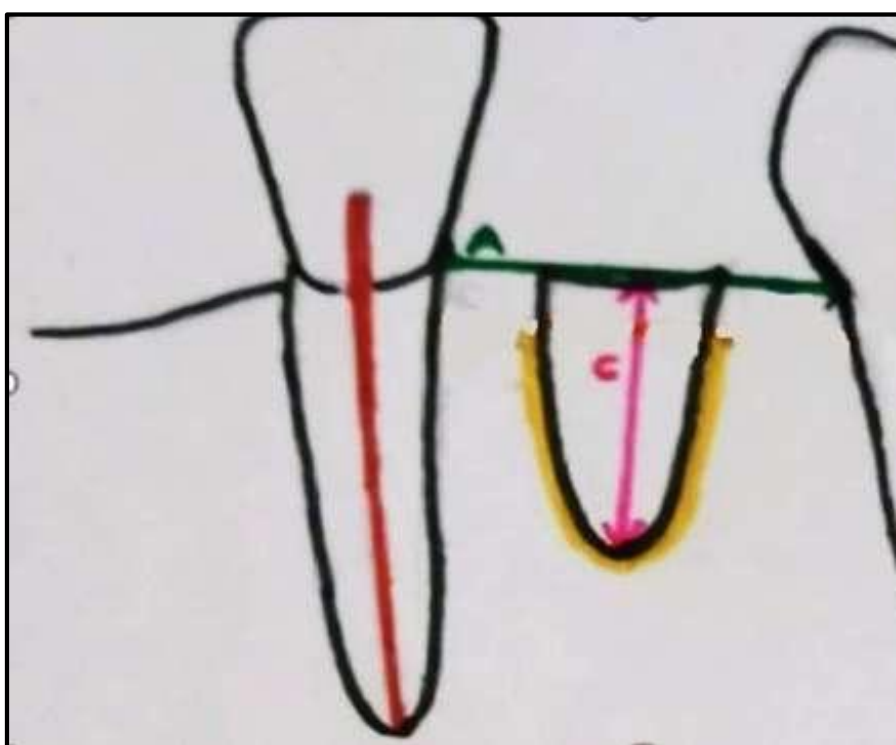
### 4.6.2.1 Exodontias e enxertias

Após os procedimentos de assepsia e antissepsia intraoral os participantes foram anestesiados localmente com lidocaína 2,0% associada à epinefrina 1:100.000. Em caso de alergia à solução anestésica, a mesma foi substituída por prilidocaína 2,0%.

Para se alcançar o máximo de êxito na preservação dos tecidos moles e duros no momento cirúrgico. Os elementos dentários foram mobilizados com auxílio de periótomo e luxadores da forma tradicional. A técnica de flapless (cirurgia *flapless*) e sem procedimento de elevação do retalho (cirurgia *flapless*) visa manter o suprimento sanguíneo adequado dos tecidos moles e duros. Assim, a reabsorção do osso cortical adjacente, sobretudo, a menor espessura óssea alveolar (Amorim; Lindhe, 2005; Suzuki et al., 2005).

al., 2019). As suturas foram realizadas por segunda intenção  
910 5.0-70 cm-Ag1/2cir.cil1.5 (Shalon Medical, São Luis de

Figura 7 - Medida de profundidade

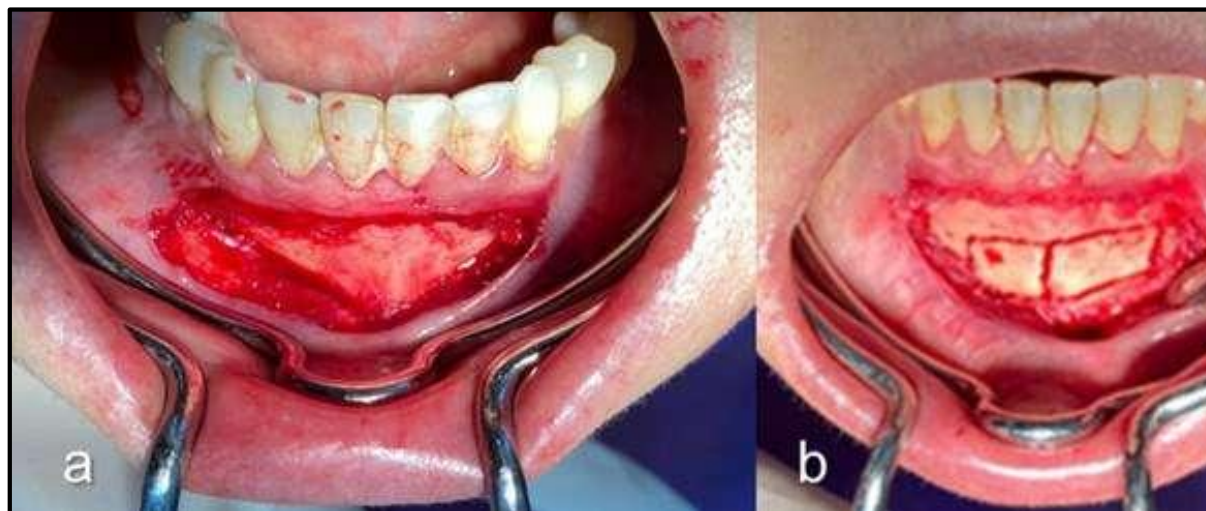


Legenda: medida de preenchimento do alvéolo  
Fonte: Kollati et al. (2019).

#### 4.6.2.2 Área doadora intraoral

Foram utilizadas como áreas doadoras de enxerto ósseo a região do ramo mandibular e sínfise. A escolha da área doadora foi determinada para cada participante. O acesso à área doadora (sínfise ou ramo mandibular) foi descrito por Mazzonetto, Chaves Netto e Nascimento (2012). Antes de ser feito o bloqueio do nervo alveolar inferior e mentoniano

Figura 8 - Remoção de enxerto ósseo: área

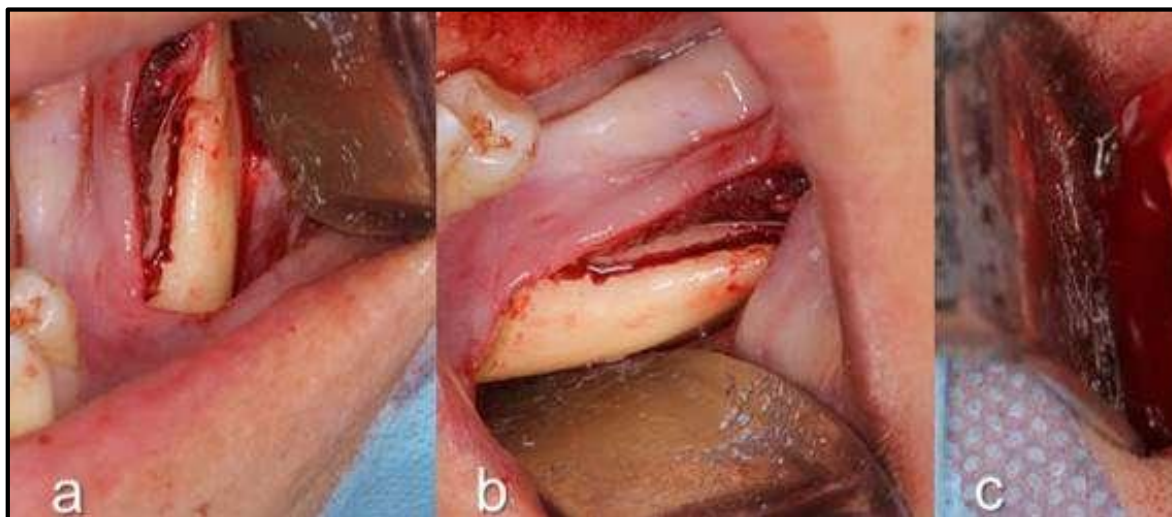


Legenda: a) retalho defletido; b) remoção do enxerto; c) osso  
estéril com solução fisiológica até o preenchimento da  
Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Figura 9 - Remoção de enxerto ósseo com broca tre



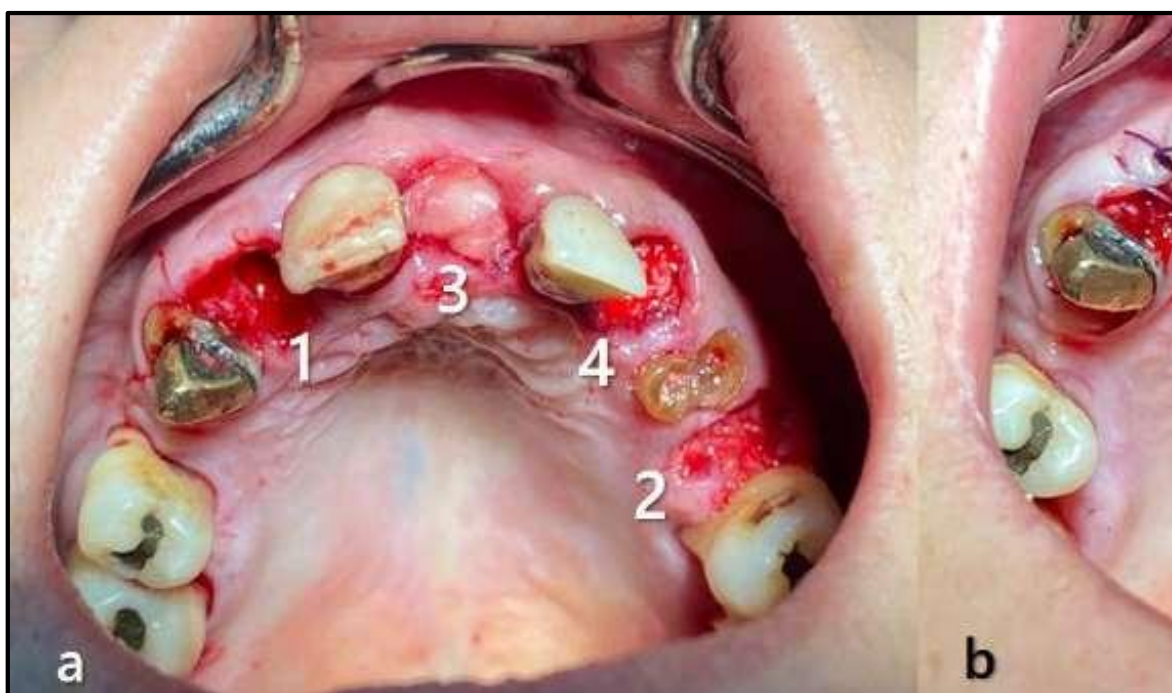
Figura 10 - Remoção de enxerto ósseo em bloco: área



Legenda: a-b) exposição da área retromolar e linha oblíqua e bloco ósseo removido.

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Figura 11 - Cavidades alveolares enxertadas e su



Legenda: a) cavidades alveolares enxertadas (1: CTR; 3: LPI) e sutura em “X” com fio absorvível poliglactina 910.

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

#### 4.7 SEGUNDA ETAPA CIRÚRGICA: BIÓPSIAS E INSTA

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados. Os 19 participantes retornaram para o segundo momento cirúrgico na análise final.

Após oito semanas de incorporação dos enxertos de osso autólogo (HDMCN) e os implantes foram inseridos nos sítios tratados. Radiografias periapicais foram realizadas antes e depois da instalação dos implantes. A cicatrização ocorreu sem eventos adversos (controles e experimentais). Os sítios apresentavam um bom nível de formação de tecido gengival saudável e ceratinizado (Figura 12).

Figura 12 - Aspecto intraoral (participante 5) após p





a profundidade de perfuração da trefina no momento da medida do alvéolo original, garantindo que o núcleo ósseo (Clark et al., 2018) (Figura 13). Em seguida, a osteotomia implantes seguindo o protocolo descrito no manual cirúrgico (Sistema de Prótese, Arujá-SP, Brasil).

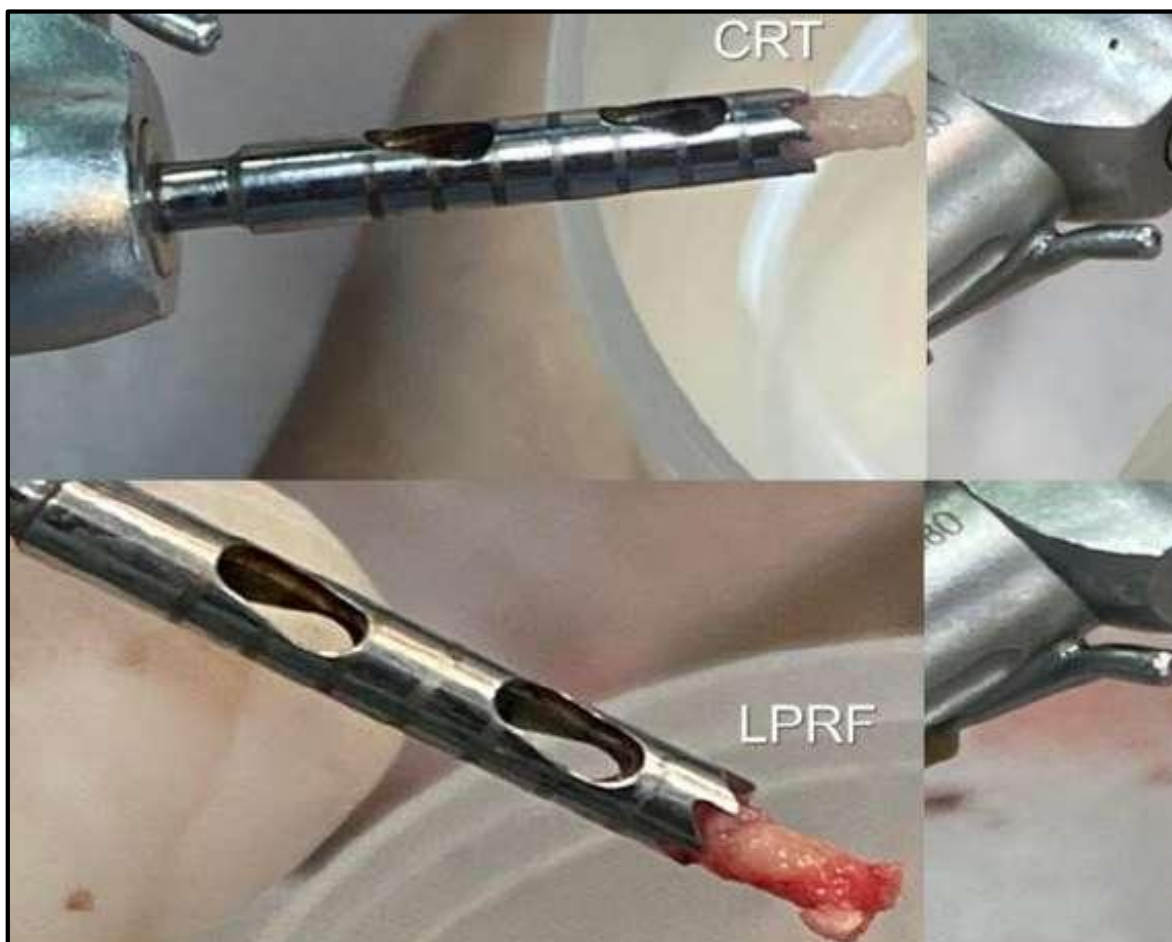
Figura 13 - Momento da coleta de biopsias e in



Legenda: a) guia cirúrgico direcionando a trefina para o alvéolo original; b) momento da coleta do núcleo ósseo.  
Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Os fragmentos ósseos foram removidos da trefina (F) com uma sonda exploratória milimetrada com extremidade de ponta arredondada e armazenados em um recipiente com formol 10% tamponado.

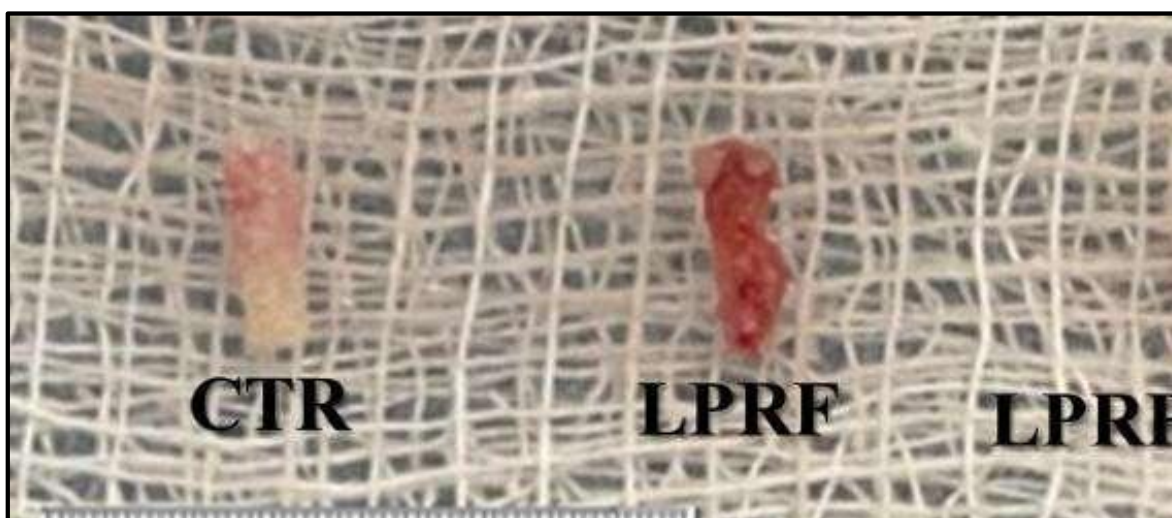
Figura 14 - Coleta de biopsias dos alvéolos com



Legenda: CTR (controle); AB (osso autógeno); L-PRF (membrana associada ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP).

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Figura 15 – Núcleos ósseos removidos dos alvéolos



Alemanha), sob agitação constante à temperatura de 2-8°C, com trocas por nova solução a cada sete dias.

Durante a descalcificação, as peças foram armazenadas em recipientes esterilizados, contendo quantidade de solução descalcificadora em volume. Esse procedimento visa assegurar a preservação da estrutura durante a descalcificação. Em seguida, foi realizada desidratação sucessivamente percentualmente aumentados em concentração 70, 80, 90 e 100% por 60 minutos em cada concentração, na temperatura ambiente. As peças foram diafanizadas através de três banhos de xilol (Xilol I, II e III), cada uma das soluções de Xilol (I, II e III) foi de 40 minutos.

Após o xilol ter substituído todo o etanol nas peças, estas foram submetidas à parafinização lenta, promovida por sucessivos banhos em proporções de v/v 2:1 e v/v 2:2, e parafina pura de baixa temperatura (Reagen), sendo que as peças ficaram imersas 1 hora em cada banho. As peças foram mantidas em uma estufa de temperatura controlada até que o xilol fosse completamente substituído pela parafina fundida. As peças solidificadas foram identificadas e colocados em água gelada para evitar sua cristalização.

Foram realizados cortes seriados longitudinalmente e transversalmente, as peças foram levadas ao cristalizador (Roberts Haw), onde foram produzidas lâminas. As lâminas foram colocados em média três cortes histológicos.

foi realizada em água corrente por 2-5 minutos e álcool 95,0 por 2,5 minutos, dando aos tecidos uma cor rosada. A seguir, através de três banhos de álcool absoluto I, II e III por 3 minutos cada. Os cortes foram corados com hematoxilina de Mayer (II e III também por 3 minutos cada). Finalmente, as lâminas foram montadas com *Entellan* (Merck®).

No decorrer do processamento das amostras histológicas (dos participantes), finalizando o estudo com um total de sessenta e cinco lâminas.

#### **4.7.2 Microscopia de luz e histomorfometria**

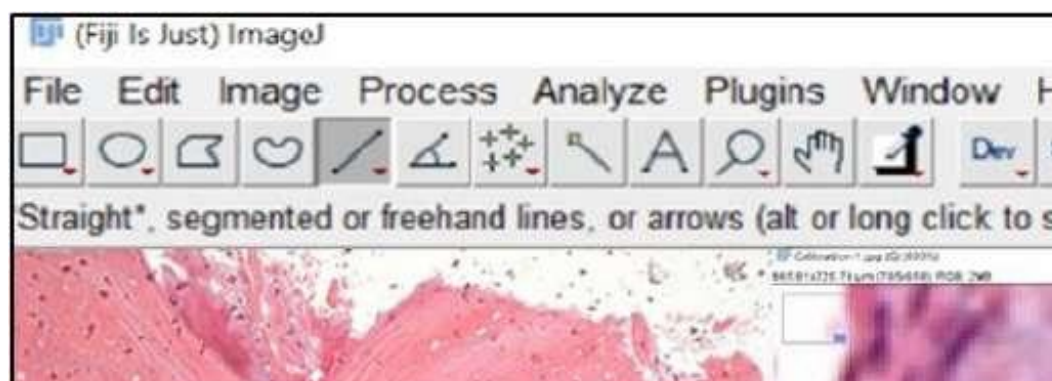
Para análise histomorfométrica, foram selecionadas amostras de osso de 15 participantes de cada grupo (AB, CTR, LPRF e LPRF) no Núcleo de pesquisa em Ciências Experimentais Aplicadas (Núcleo Experimental do Laboratório de Imunopatologia e Patologia Experimental da Biologia da Reprodução (CBR) da UFJF sob orientação do pesquisador Akinori Cardozo Nagato. Os cortes histológicos corados pelo método de Mayer foram analisados por esta pesquisadora, devidamente calibrada e cega quanto ao grupo de origem.

A análise histomorfométrica do tecido ósseo foi realizada por microscopia óptica, utilizando uma ocular de 10X em conjunto com uma objetiva de 40X, no total uma ampliação de 400X (AxioStar Zeiss AxioCam) acoplada a uma câmera (AxioCam Vision), obtendo seiscentas e sessenta e cinco lâminas.

O ImageJ é um *software* de processamento de imagens desenvolvido pelo pesquisador americano Wayne Rasband, voluntário do NIH. O *software* contém inúmeras ferramentas para manipulação de imagens, como: limiarização, ajuste de brilho e contraste, extratores de características (Bailer, 2006). Este *software* gratuito, de domínio público, é escrito em linguagem de programação Java, sendo também um programa que permite o recurso de programação através de macros ou programação de algoritmos e tratamentos de imagens quando necessários, possibilitando novos recursos, possibilitando não só o processamento de imagens (Ferreira; Rasband, 2012).

Primeiramente, antes de realizar a mensuração da área, foi utilizado o *software* a partir de uma imagem com a barra de escala inserida. Para isso, foi utilizado o menu *Pools > Scale bar*. Em seguida, foi realizada a medida do comprimento da barra utilizando a ferramenta *Straight line*, traçando uma linha reta iniciando na borda esquerda do primeiro traço (Figura 16).

Figura 16 – Inserção da barra de escala na fotomicrografia.



para a barra de escala. O ícone “Global” foi acionado para que as medidas na mesma escala, assim não foi necessário refazer a calibração (Figura 17).

Finalizada a calibração do *software*, os seguintes passos foram realizados para a imagem capturada: *File > Open*. Depois que a imagem foi aberta, foi realizada a transformação para 8 *bits*. O principal comando de segmentação foi *Threshold*. No menu do programa foi acionado o comando *Analyze > Histogram* para extraídos da imagem os valores mínimos e valores máximos. Para obter as informações do histograma da imagem, os *pixels* considerados foram os mostrados em vermelho por padrão (Figura 18). Ao aplicar o comando *Image > Color > Convert to Grayscale*, a imagem foi convertida em escala de cinza para preto e branco. O comando *Image > Adjust > Threshold* altera os valores de *pixels* de uma imagem, com a finalidade de isolar o objeto de interesse no fundo da imagem (Gonzalez; Woods, 2010).

Figura 17 – Calibração do *software* ImageJ utilizando um objeto de referência.

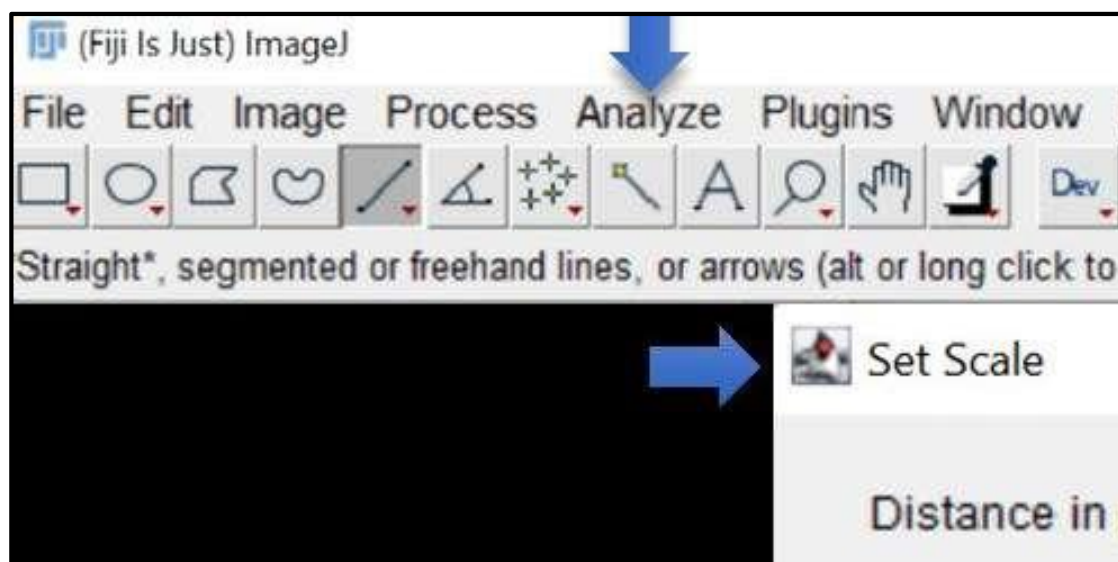
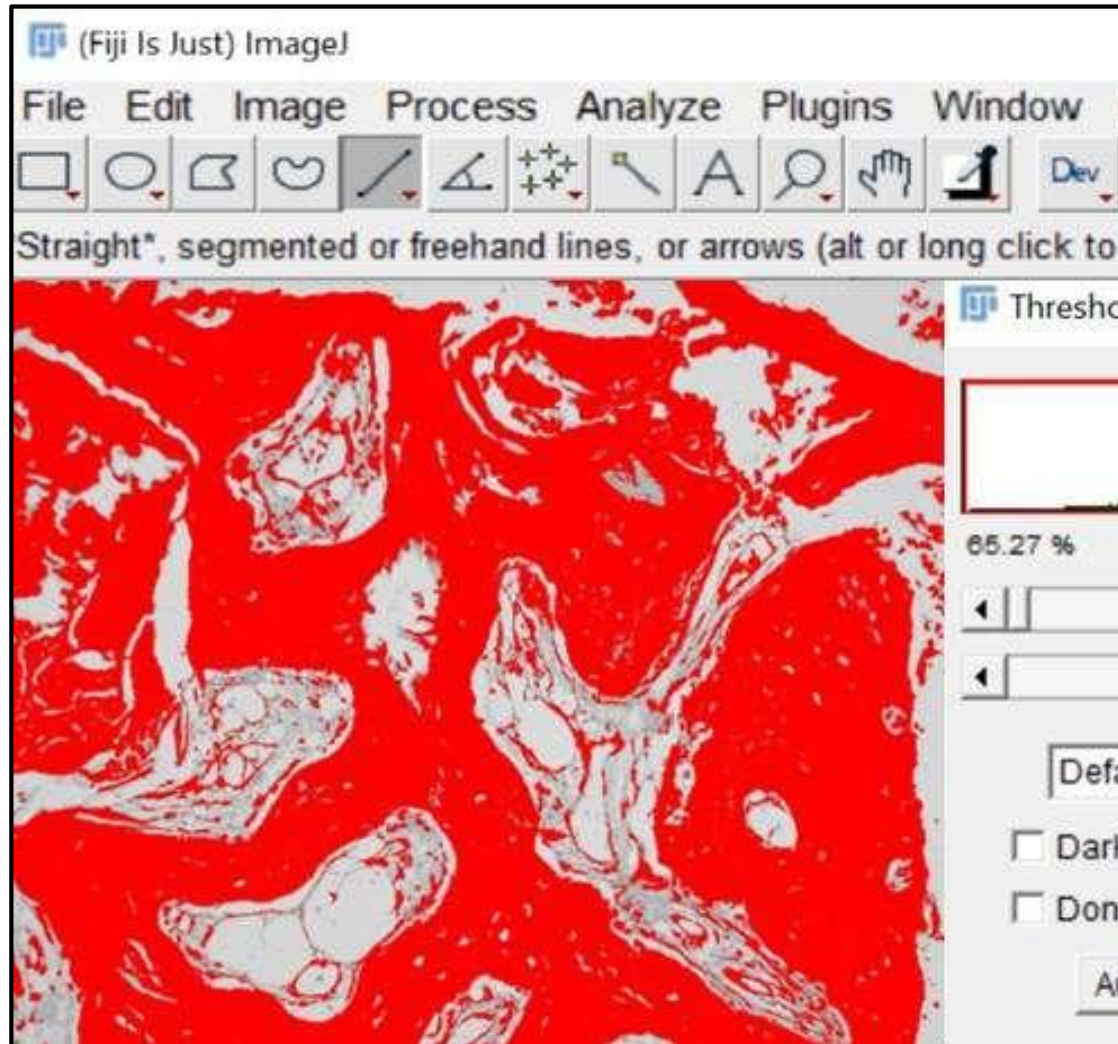


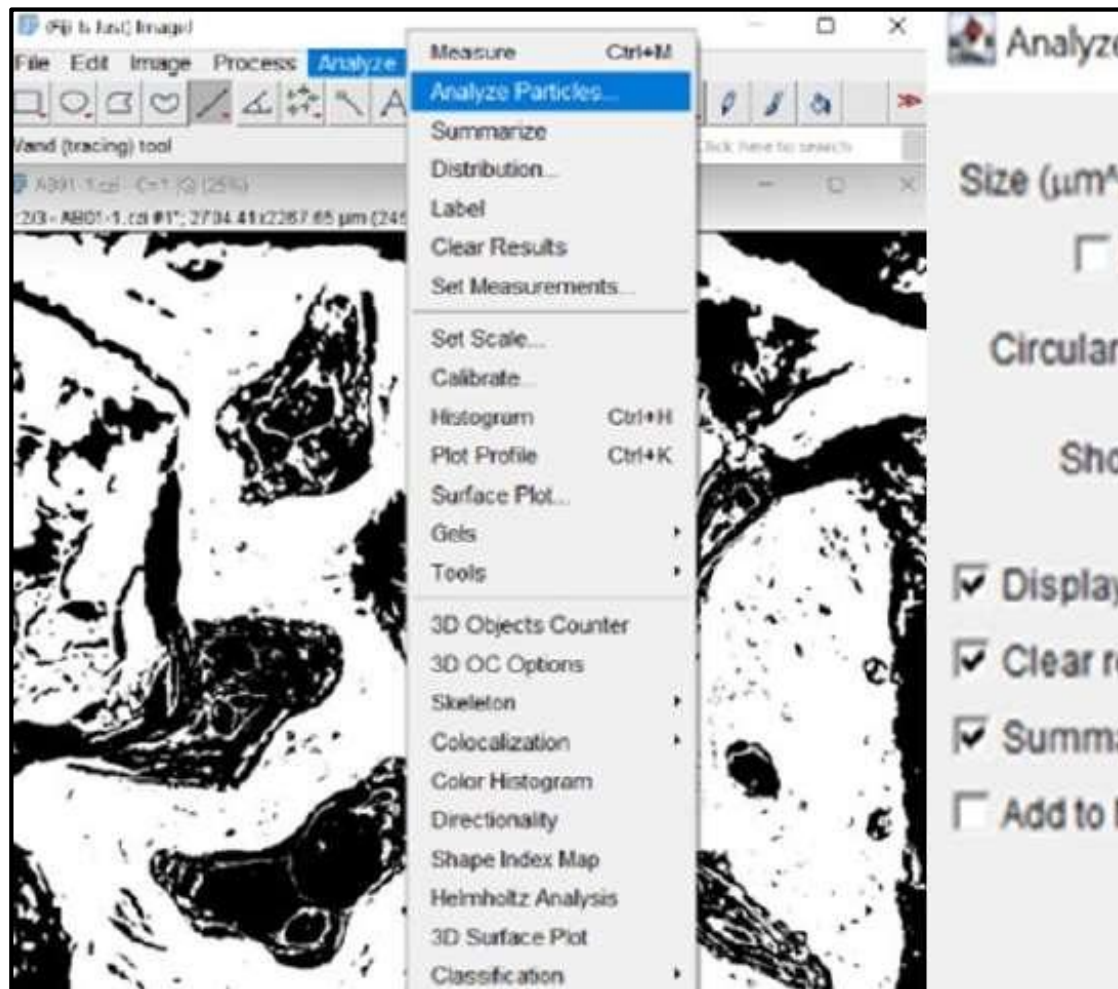
Figura 18 – Aplicação do comando *Threshold* para conver



Fonte: Elaborada pela autora (2024) no *software* ImageJ.

Após aplicar o comando *Threshold*, foi produzida máscaras de imagem em preto e branco, representando tecidos. O branco representou o primeiro plano (a área de interesse, ROI). Foi utilizada a ferramenta de “Análise de Partículas” que permitiu a seleção para cada área óssea acima do limiar mínimo e abaixo do máximo. A ARO (limiar de 255 a *Infinity*) foi extraída a partir da área de interesse em quadrado ( $\mu\text{m}^2$ ). Tecidos moles e espaço morto (limiar ab

Figura 19 – Seleção automática da área de matriz óssea com



Fonte: Elaborada pela autora (2024) no *software* ImageJ.

Figura 20 – Fotomicrografias representativas de

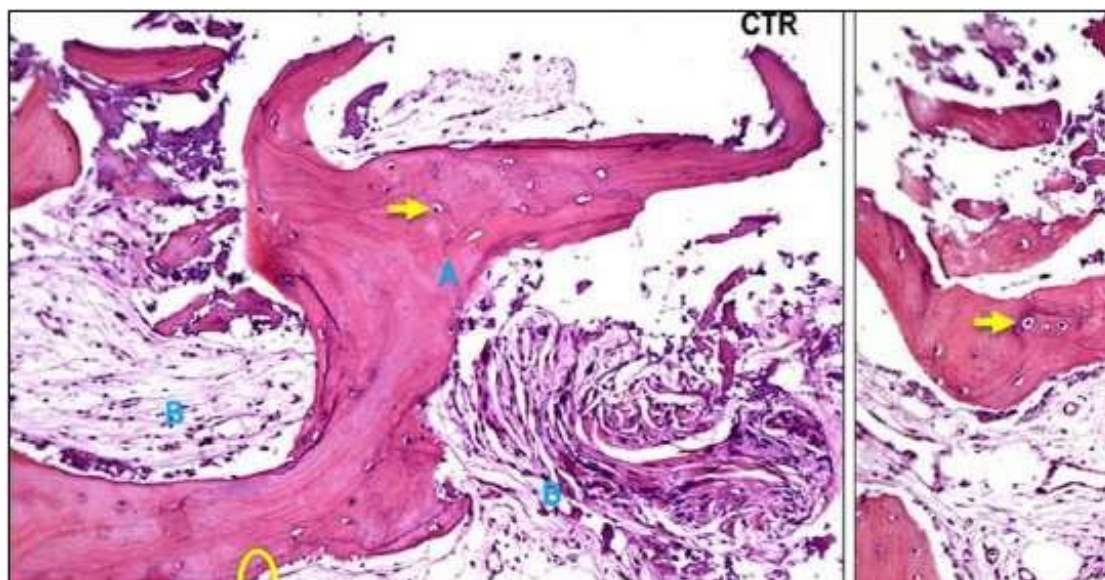
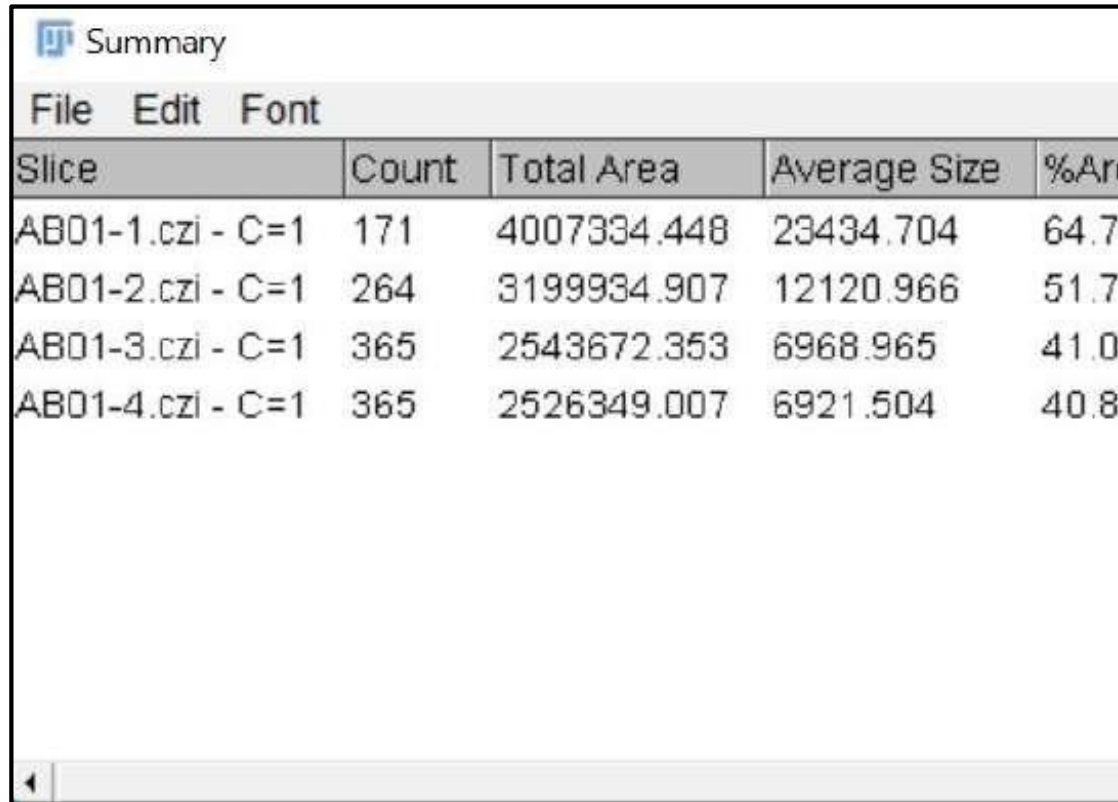




Figura 21 – Mensuração da variável ARO no gru



The screenshot shows the 'Summary' window in ImageJ software. It contains a table with five columns: 'Slice', 'Count', 'Total Area', 'Average Size', and '%Area'. There are four rows of data corresponding to slices AB01-1 through AB01-4. The table is as follows:

| Slice            | Count | Total Area  | Average Size | %Area |
|------------------|-------|-------------|--------------|-------|
| AB01-1.czi - C=1 | 171   | 4007334.448 | 23434.704    | 64.7  |
| AB01-2.czi - C=1 | 264   | 3199934.907 | 12120.966    | 51.7  |
| AB01-3.czi - C=1 | 365   | 2543672.353 | 6968.965     | 41.0  |
| AB01-4.czi - C=1 | 365   | 2526349.007 | 6921.504     | 40.8  |

Fonte: Elaborada pela autora (2024) no *software* ImageJ.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para analisar os dados, utilizou-se estatística descriptiva (medidas de tendência central (médias e medianas) seguidos de medidas de dispersão (valor mínimo e máximo)).

A simetria da distribuição de dados para variáveis contínuas foi avaliada visualmente através dos gráficos quantil-quantil de normalidade (Q-Q Plot).

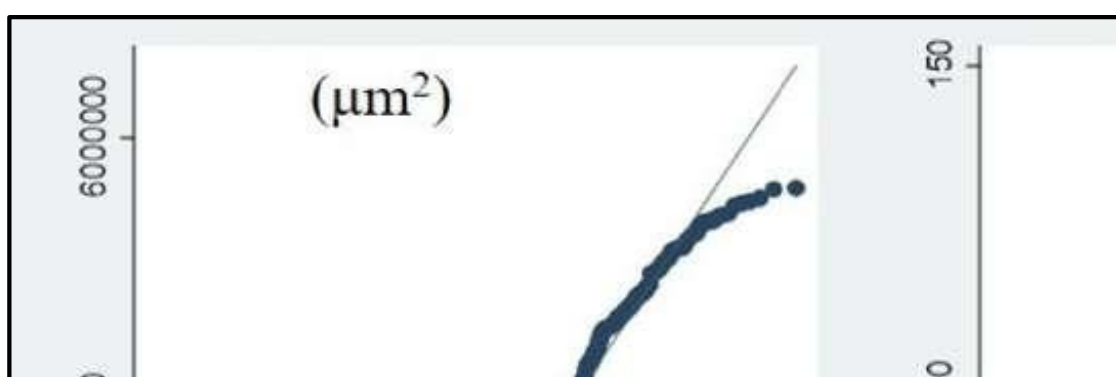
Para comparar a diferença entre as médias dos valores das amostras em condição de amostras aninhadas nos quatro grupos: AB (osso associado) e LPRF (membranas de L-PRF) e LPRFHA (L-PRF associada).

## 5 RESULTADOS

De um total de 15 participantes (7 mulheres e 8 homens) (média  $56,7 \pm 8,2$  anos) foram formados quatro grupos de tratamento proposto para cada alvéolo randomizado ( $n = 15$ ): (AB); L-PRF, e; LPRFHA. Após oito semanas (entre 54-60 dias) a partir dos fragmentos coletados das biópsias foram feitas análises da variável ARO obtendo-se dados quantitativos ( $\mu\text{m}^2$  e %) e analisados em dois grupos.

A inspeção visual dos Q-Q *Plot* demonstrou que os dados se ajustaram perfeitamente ao longo do eixo de identidade ( $y = x$ ) com um teste de normalidade superiores, permitindo assumir que ambos os conjuntos de dados apresentaram uma distribuição normal (Gráfico 1), demonstrando serem distribuídos de forma homogênea na seguinte ordem: AB (24,9%) e LPRFHA (25,0%).

Gráfico 1 – Q-Q *Plot* da variável ARO



ANOVA *one way* demonstrou que houve diferença (LPRF × LPRFHA) entre os grupos avaliados. As medidas de tendência central dos grupos estão apresentadas na Tabela 1 e ilustradas no Gráfico 2. O teste de comparações múltiplas (*post hoc* de *Bonferroni*) observou-se que o grupo LPRF com média (62,4 ± 18,6%) em relação ao grupo LPRFHA com média (55,8 ± 17,2%), com diferença estatisticamente significativa (p = 0,012), no Gráfico 3. Os grupos de interesse (LPRF e LPRFHA) não diferiram estatisticamente.

Tabela 1 – Taxas médias (%) de tendência central/dispersão

| Grupos        | ARO (%)             |         |        |
|---------------|---------------------|---------|--------|
|               | Média ± Dp          | Mediana | Mínimo |
| AB            | 60,1 ± 20,0         | 58,4    | 48,0   |
| <b>CTR</b>    | <b>62,4 ± 18,6*</b> | 64,2    | 50,0   |
| LPRF          | 60,2 ± 17,5         | 63,8    | 48,0   |
| <b>LPRFHA</b> | <b>55,8 ± 17,2*</b> | 54,9    | 48,0   |

Legenda: ARO (área de reparo ósseo); % (percentual); AB (osso sadio); CTR (membrana de L-PRF); LPRFHA (L-PRF associada a membrana de L-PRF); Dp (desvio-padrão); \* (diferença significativa).

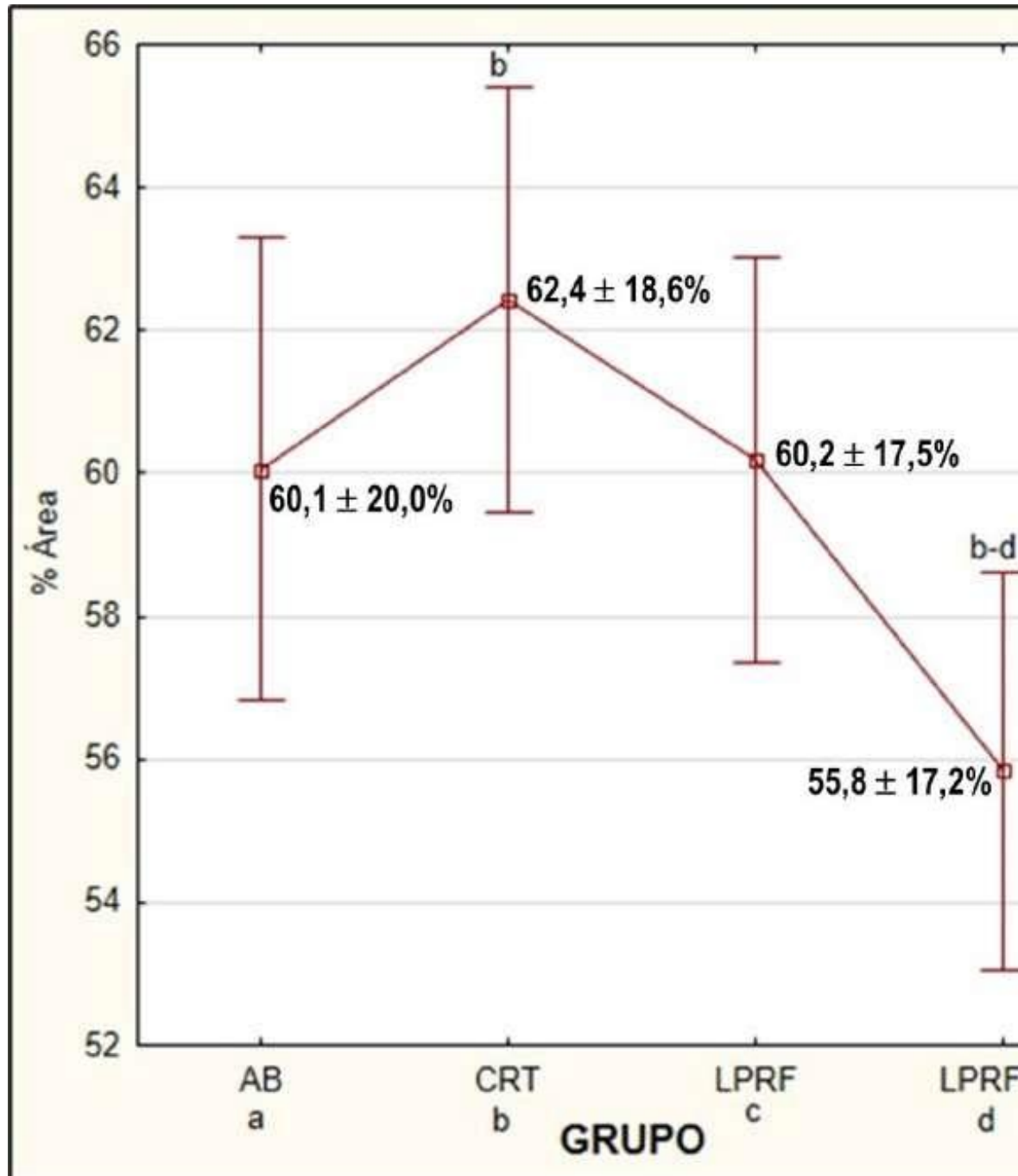
Nota: p-valor do teste F (valor de alfa para se rejeitar a hipótese nula) da estatística (p = 0,012) na comparação múltipla pelo teste de *Bonferroni*.

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Gráfico 2 – Comparação das taxas médias (%) de tendência central/dispersão



Gráfico 3 – Comparação múltipla das médias (%)

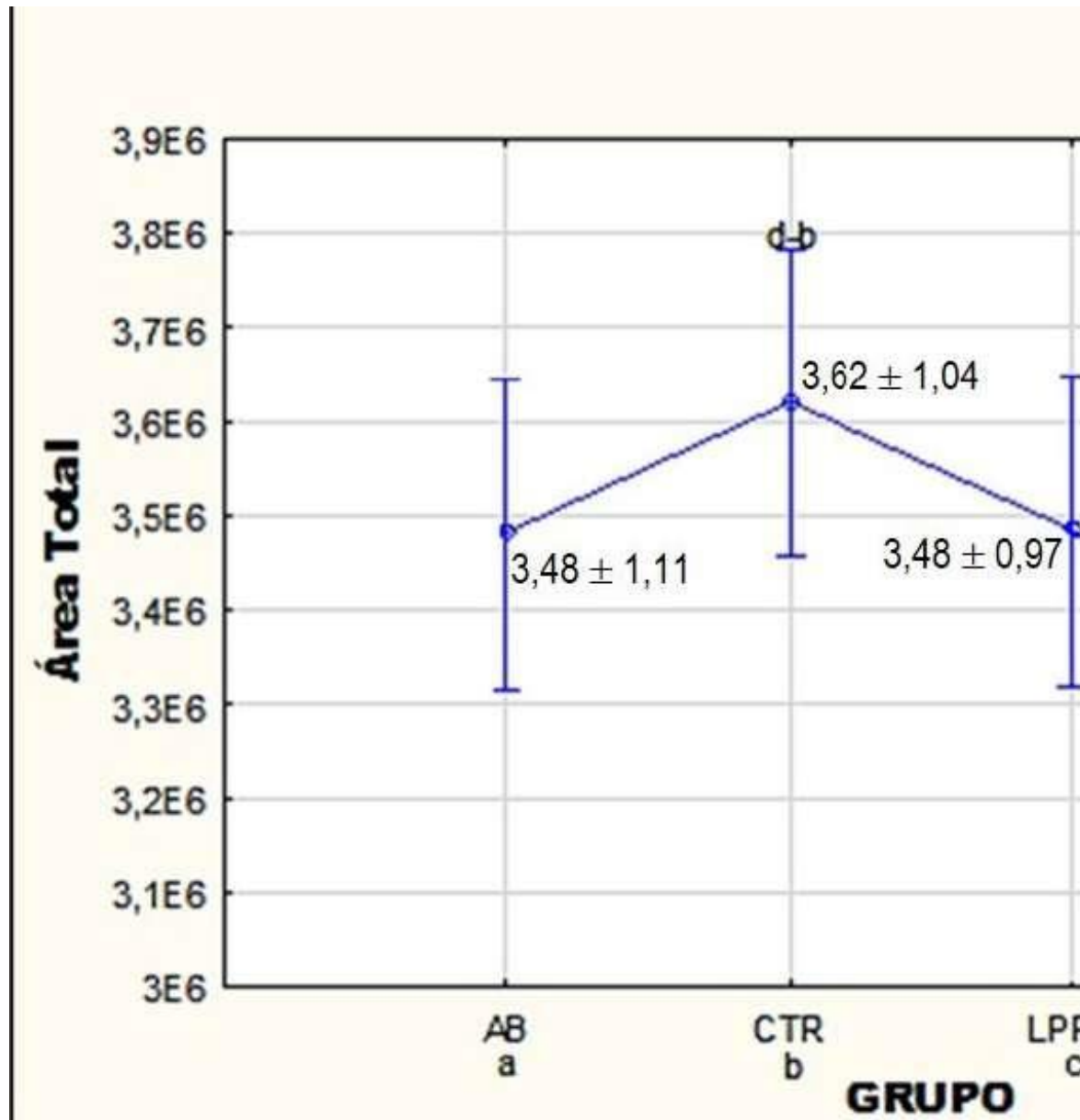


Legenda: AB (osso autógeno); CRT (controle); L-PRF (membrana associada ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Ainda pelo método de ANOVA *one way*, evidência (CTR  $\times$  LPRFHA) de grupos fosse diferente, assumindo

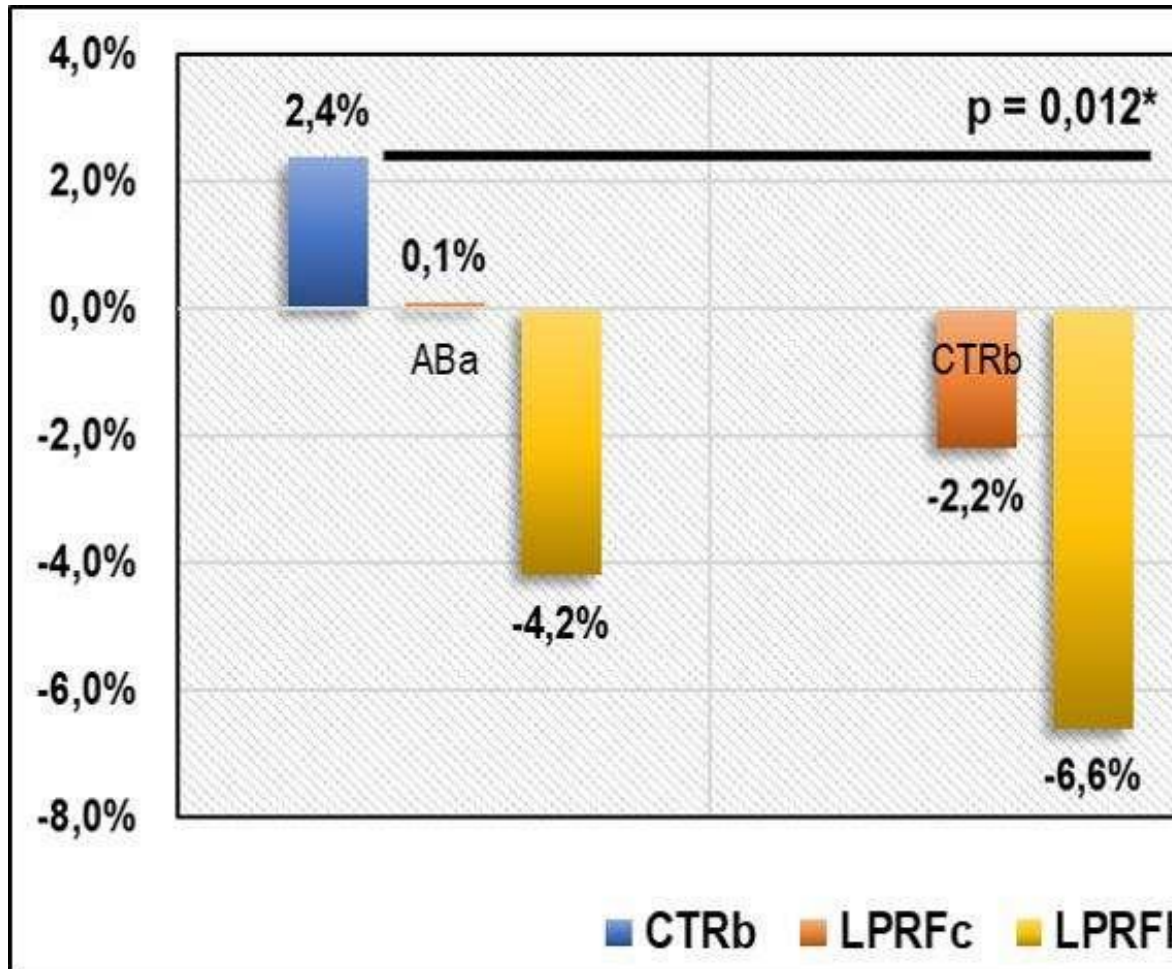
Gráfico 4 – Comparação múltipla das médias ( $E^6 \mu m^2$ )



Legenda: AB (osso autógeno); CTR (controle); L-PRF (membrana associada ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP);  $E^6 \mu m^2$  (Fonte: Elaborado pela autora (2024)).

Fato interessante observado foi a comparação entre AB (osso autógeno – padrão-ouro;  $60,1 \pm 20,0\%$ ), ambos apresentados de ARO (Tabela 1). A Tabela 2 e o Gráfico 5 demonstram as diferenças na comparação múltipla dos grupos analisados, inclusive o

Gráfico 5 – Diferenças (%) das médias de ARO na comp



Legenda: % (percentual); AB (osso autógeno); CTR (controle); LPRFHA (L-PRF associada ao enxerto sintético H significativa).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

## 6 DISCUSSÃO

Embora sejam mais complexos e onerosos, os ECCOs das investigações, apresentando resultados mais confiáveis, possa ser testado em humanos, é imprescindível que tenha sido avaliada em modelos animais (Alhijazi; Mohammed, 2011; Clark et al., 2018; Karayürek et al., 2019; Lee et al., 2012; M 2014; Oliveira et al., 2015; Ondur et al., 2020; Ozdemir et al.; Somani; Rai, 2017; Yazdi et al., 2013; Yilmaz et al., 2014; que as tecnologias recentemente descobertas já podem ser testadas. É pertinente ressaltar que esta investigação representa o primeiro teste em humanos com a finalidade de verificar a eficácia da L-PRF associada ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP no processo de regeneração dos alvéolos maxilares após procedimentos de exodontia.

A hipótese de que a L-PRF, quando utilizada isoladamente com o enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP, poderia potencializar o processo de regeneração dos alvéolos maxilares frescos humanos em curto prazo foi parcialmente refutada, pois verificou-se que a associação da L-PRF com o enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP apresentou maior eficácia, resultou no menor percentual de reparo ósseo (55,8%) em comparação com a L-PRF de forma isolada alcançou percentuais equivalentes ao enxerto particulado; considerado padrão-ouro), apresentando valores

tornem potencializadas, existem várias aplicações clínicas por no reparo ósseo são heterogêneos com resultados inconsistentes, ainda não foram totalmente elucidados (Abdullah, 2016; A Malpani, 2023; Das et al., 2016; Lee et al., 2012; Maia et al. et al., 2014).

O protocolo originalmente utilizado para a obtenção de velocidade e no tempo de centrifugação de 3.000 rpm por Karayürek et al., 2019; Kollati et al., 2019; Maia et al., 2019, progressivamente alterado pelo novo protocolo de 2.700 rpm de velocidades de centrifugação muito altas, deslocar os leucócitos e coágulo de fibrina. As alterações dos protocolos de centrifugação melhorando a distribuição de plaquetas, leucócitos e FC ao longo do coágulo, melhorando o potencial regenerativo (Choukroun et al., 2001). Essa mudança resulta em uma L-PRF com uma estrutura mais densa e maior resistência em comparação ao protocolo anterior, sendo mais favoráveis (Agrawal, 2017). Neste estudo, conforme novo protocolo foram produzidas com 2.700 rpm por 12 minutos. Khongkhunthian (2019), também utilizaram o novo protocolo.

Este estudo não utilizou a L-PRF em forma de membrana reabsorvível e não absorvível para o selamento do defeito, no processo de reparo ósseo ser atribuído ao próprio material e não a densidade de fibrina e sua propriedade adesiva quando associada a



Tais desvantagens contribuíram para uma constante busca por um BSM para superar esses inconvenientes. Dessa forma, foram pesquisados. No presente estudo, ao comparar taxa média de reabsorção (autógeno particulado) com o grupo L-PRF + HA/ $\beta$ -TCP, houve redução do reparo ósseo no grupo PRF + HA/ $\beta$ -TCP, tendo em vista que o enxerto aloplástico tenha impedido a osteogênese, retardando o tempo adicional para reabsorção (Clark et al. 2018). Em contrapartida, a reabsorção lenta pode ser benéfico ao fornecer uma boa matriz para o período de cicatrização (Abdullah, 2016; Choukroun et al., 2006a; et al., 2014; Zhang et al., 2012).

Pesquisadores exploraram os potenciais efeitos sinérgicos de vários BSM. No entanto, os resultados foram amplamente influenciados pelas diferentes propriedades bioativas dos BSM (Abdullah, 2016; Choukroun et al., 2006b; Yazdi et al., 2013; Yilmaz et al., 2013; (2021) em um aprimoramento precoce das propriedades bioativas demonstraram que ao combinar BSM com o biomaterial autólogo, a formação de vasos sanguíneos regulada positivamente *in vivo*; uma das vantagens da engenharia tecidual é que a grande maioria é avascularizada, portanto, o suprimento sanguíneo para se obter uma regeneração óssea adequada. O L-PRF em combinação com BSM pode desencadear o reparo ósseo.

Enxertos sintéticos desenvolvidos à base de HA/ $\beta$ -TCP são biocompatíveis, osteocondutores e suportam a regeneração óssea.

superfície, composição química, micro-macro porosidades para absorver, conduzir e liberar substâncias. Além disso, após comprovado de longo tempo e registro no órgão competente para seu uso pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (Einco Biomaterials, 2019).

A L-PRF quando associada aos BSM age como um condutor de crescimento ósseo (Toffler et al., 2009). Essa associação apresentou resultados promissores em modelos animais (Acar et al. 2014; Maia et al., 2019; Cury et al., 2019). Com todos esses achados, considerou-se promissor o uso da L-PRF associada com o enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP para tratamento de alvéolo dentário.

Neste estudo, a adição de HA/ $\beta$ -TCP associada à L-PRF resultou em maior taxa de formação óssea ( $55,8 \pm 17,2\%$ ;  $p = 0,012$ ) em comparação com o grupo controle ( $62,4 \pm 18,6\%$ ). A presença de um BSM mineralizado pode ter efeito negativo na formação de novo osso, devido ao processo de reparo ósseo, que requer vascularização e crescimento interno de novos tecidos no alvéolo, porém, pode ser benéfico ao fornecer uma boa matriz para o crescimento. É possível que a adição de BSM, como a HA/ $\beta$ -TCP, possa ter efeito negativo retardando a cicatrização ou exigindo um tempo adicional para a cicatrização (Clark et al., 2018). No entanto, no estudo de Yazdi et al. (2018) foram resultados promissores na geração de novo tecido ósseo equivalente ao tecido nativo. Isso deve-se principalmente à combinação macroporosa disponível para manter espaço fornecido pelo HA/ $\beta$ -TCP. Confirmaram também que a

et al., 2018; Kumar et al., 2015; Nacopoulos et al., 2014; C  
al., 2013).

O reparo ósseo é regularmente mais observado nas  
cicatrização de ferida (Alhijazi; Mohammed, 2011;  
Khongkhunthian, 2019; Lee et al., 2012). Kim et al. (2012)  
plaquetários permitem a formação de novo osso nos estágios  
ósseo. Além disso, Choukroun et al. (2006b) usaram a L-1  
cavidade cística e dentro de um período de oito semanas, o c

Portanto, para confirmar a capacidade de reparo ósseo  
ser um tempo apropriado pela observação dos resultados  
Areewong; Chantaramungkorn; Khongkhunthian, 2019; C  
2019; Lee, Nacopoulos 2014; Maia et al., 2019; Oliveira et  
1960, Amler, Johnson e Salman, ao avaliar a reparação fi  
extração, identificaram presença de tecido osteoide na base  
preenchimento de pelo menos 2/3 do alvéolo por trabéculas  
com esses achados, Fisher et al. (2004), após oito semanas, e  
os alvéolos foram preenchidos com osso trabecular, manifi  
Em vista disso, nesta investigação, o tempo para o segundo m  
determinado para coleta das biópsias ósseas e análise hist  
porcentagem da área de reparo ósseo e da área total c  
fotomicrografias aleatórias dos campos representativos dos  
da captura de imagens (Zeiss, Zen 2.3, Alemanha, 2012).

PS assim como nos parâmetros radiográficos DOV e ADI; L-PRF proporcionou benefícios altamente significativos. Ne L-PRF (60,2%) e L-PRF + HA/ $\beta$ -TCP (55,8%), nã estatisticamente significativas quanto ao reparo ósseo. O m grupo L-PRF associado ao HA/ $\beta$ -TCP pode ser atribuído depende da neovascularização e da formação de novos tecid ocupa (Oliveira et al., 2015). Uma possível explicação é a comprometer a real capacidade da L-PRF retardando o proc 2012). Outra explicação é que não foi usada membrana d instabilidade de enxerto (Yazdi et al., 2013).

A anatomia do alvéolo é um importante fator que devido à variedade na largura, altura, espessura e densid presença de fenestração ou deiscência; portanto é difícil qua processo de reparo ósseo (Kollati et al., 2019). O local da co padrão de formação óssea, uma vez que a formação óssea lateral em direção ao centro do alvéolo (Areewong; Cha 2019; Kollati et al., 2019). Neste estudo, para garantir q enxertada foi confeccionado um guia cirúrgico e respeitand alvéolo (Areewong; Chantaramungkorn; Khongkhunthian, al., 2019). Também, a cirurgia minimamente invasiva foi alveolares durante as extrações, quando uma exodontia

Baghele; Thorat; Malpani, 2023; Nacopoulos et al., 2014) em assuntos sobre reparo ósseo comparando a L-PRF de forma isolada com HA/ $\beta$ -TCP.

A limitação deste estudo encontra-se na ausência de estudos realizados por meio do hemograma para avaliar a linhagem de células, bem como os efeitos na regeneração do tecido (plaquetas, leucócitos). A alteração das plaquetas pode estar associada ao tamanho da membrana de eritrócitos no sangue periférico pode estar correlacionada com as plaquetas curtas (Brouwers et al., 2020). Esta pesquisa também não avaliou a L-PRF (HA/ $\beta$ -TCP) de forma isolada, tendo em vista que o objetivo principal da L-PRF, além de a literatura já apresentar estudos consagrando a preservação do rebordo alveolar (Acar et al., 2015; Baghel et al., 2015; Chadha; Donos, 2010; Nacopoulos et al., 2014; Yazdi et al., 2015), a maioria dos estudos foi realizada em modelos animais, e a comparação entre animais com a biologia humana apresenta algumas desconformidades e correlações. Os dados coletados em modelos animais não são diretamente aplicáveis para a prática clínica em humanos. Além disso, no que se refere à L-PRF isolada da L-PRF pode demonstrar restrições no reparo ósseo e estudos complementares para esclarecer seu comportamento em relação a L-PRF em humanos (Lee et al., 2012).

No entanto, esta investigação tem uma grande importância histomorfométrica em humanos, demonstrando a eficácia

De forma isolada, o maior percentual de reparo ósseo (62,4%) em relação à L-PRF (60,2%) e ao AB (osso autógeno) não foi estatisticamente significativa. Uma possível justificativa para que os grupos apresentassem uma similaridade na taxa de reparo ósseo (60,2% e 60,1%, respectivamente) pode ser a membrana para cobertura do enxerto autógeno particulado que, ao redor do local do defeito, pode ter inibido a formação óssea e levado à interrupção do processo de reparo ósseo (Yazdi et al., 2013), além da membrana ser totalmente reabsorvida, sem deixar partículas residuais (Del Corso, Doherty et al., 2013). Isso corrobora com os resultados de Acar et al. (2015), pois, a membrana desempenha um importante papel na hemostasia, produz PDGF, VEGF e promove a expressão de marcadores osteogênicos em osteoblastos (Acar et al., 2015). Apesar da similaridade no processo de reparo ósseo, a membrana de L-PRF pode ser considerada uma boa alternativa para a enxertia óssea ao trazer mais conforto ao paciente.

Neste estudo, uma plausível explicação para o maior percentual de reparo ósseo em comparação ao grupo L-PRF pode ser a membrana densa que se forma no decorrer do processo de processamento, que se dissolve lentamente, ou seja, não se dissolve rapidamente no sítio após a aplicação. Isso ocorre porque se formam e amadurecem (Clark et al., 2018). Apenas o grupo AB apresentou diferença estatística significativa frente à L-PRF ( $p = 0,014$ ). Ainda assim, este biomaterial autógeno foi eficaz tanto em forma isolada ou em associação com HA/ $\beta$ TCP. Então, a

que a L-PRF foi validada como um biomaterial para uso isolado, potencializando o processo de reparo ósseo no período de 0

## 7 CONCLUSÃO

Em humanos, a L-PRF utilizada tanto de forma isolada quanto associada ao sintético HA/ $\beta$ -TCP foram eficazes, em curto prazo, no preenchimento de alvéolos maxilares frescos.

Quando associada ao HA/ $\beta$ -TCP, a L-PRF apresentou resultados superiores em comparação ao controle (CTR, sem preenchimento;  $p = 0,001$ ), não reduzindo o processo de reparo ósseo.

A L-PRF isoladamente e o AB (enxerto autógeno) apresentaram resultados semelhantes de formação óssea (60,0%), sendo, portanto, potencializados para o uso em alvéolos maxilares humanos.

Desta forma, este estudo valida o uso isolado da L-PRF para a promoção da formação de osso vital em alvéolos maxilares frescos, potencializando o processo de reparo ósseo em humanos no período de oito semanas.



## REFERÊNCIAS

AARESTRUP, B. J. V.; MOURÃO JÚNIOR, C. A.; ABRA **essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 746p.

ABDULLAH, W. A. Evaluation of bone regenerative capacity using platelet rich fibrin with and without beta tri calcium phosphate. **Saudi Dent J**, Arábia Saudita, v. 28, n. 3, p. 109-117, July 2016.

ACAR, A. H. et al. Microcomputed tomography and histomorphometry of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvaria. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 60, n. 4, p. 606-614, Apr. 2015.

AGARWAL, A.; GUPTA, N. D.; JAIN, A. Platelet rich fibrin membrane on freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony defects: a randomized split mouth clinical trial. **Acta Odontol Scand**, v. 74, n. 1, p. 1-10, 2016.

AGRAWAL, A. A. Evolution, current status and advances in platelet rich plasma concentrate in periodontics and implantology. **World J Clin Oncol**, v. 8, n. 2, p. 159-171, May 2017.

AJWANI, H. et al. Comparative evaluation of platelet-rich plasma and debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. **J Oral Maxillofac Surg**, Ahmadabad, v. 7, n. 4, p. 32-37, Apr. 2015.

ALAM, S. et al. Statin-induced bone morphogenetic protein-2 expression and bone regeneration: an immunohistochemical study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Endod**, St. Louis, v. 107, n. 1, p. 22-29, Jan. 2009.

ALGHAMDI, H. S. Methods to improve osseointegration of dental implants: a review.

ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. Socket grafting with the use of fibrin glue: a 12-month experimental study in the dog. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2011.

AREEWONG, K.; CHANTARAMUNGKORN, M.; KHONGKAMON, S. The use of platelet-rich fibrin to preserve alveolar bone sockets following tooth extraction: a randomized controlled trial. **Clin Implant Dent Relat Res**, Hamilton, v. 21, n. 6, p. 472-483, 2019.

ASAKA, T. et al. Platelet-rich fibrin may reduce the risk of osteonecrosis of the jaw in extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a retrospective study. **J Oral Maxillofac Surg**, Berlin, v. 21, n. 7, p. 2165-2172, Sep. 2017.

AUKHIL, I. Biology of wound healing. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 42, n. 1, p. 1-10, Feb. 2000.

BAFIJARI, D. et al. Influence of resonance frequency analysis on the success of osseointegration of dental implants during the healing period: a retrospective study. **Open Access Med Dent J**, London, v. 23, p. 4110-4115, Dec. 2019.

BAHAMMAM, M. A. Effectiveness of bovine-derived xenogeneic bone graft substitute periodontally accelerated osteogenic orthodontics in adults: a randomized controlled trial. **BMC Oral Health**, London, v. 16, n. 1, p. 1-9, Jan. 2016.

BAI, M. Y. et al. Three-dimensional structure and cytokine expression of platelet-rich fibrin. **Clinics**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 116-124, Feb. 2017.

BAGHELE, O.; THORAT, M.; MALPANI, P. Clinical and histological evaluation of platelet-rich fibrin and bone graft material ( $\beta$ -tricalcium phosphate) in the treatment of intrabony defects of periodontitis patients: a randomized controlled trial. **Quintessence Int**, Berlin, v. 54, n. 6, p. 472-483, June 2023.

BLUM, A. Which scaffold for which application. **Curr Orth** 280-287, Aug. 2007.

BODNER, L. et al. Extraction site healing in rats. A radiologic study. **J Surg Oral Med Oral Pathol**, St. Louis, v. 75, n. 3, p. 367-71, Aug. 1997.

BOORA, P.; RATHEE, M.; BHORIA, M. Effect of platelet-rich plasma on soft tissue and crestal bone in one-stage implant placement: a retrospective study. **Clin Diagn Res**, India, v. 9, n. 4, p. 18-21, Apr. 2015.

BRAMANTI, E. et al. Postextraction dental implant in the alveolar ridge: a new technique versus conventional protocol. **J Craniofac Surg**, Philadelphia, v. 30, n. 6, June 2018.

BROUWERS, J. E. I. G. et al. Implant stability in patients treated with a bovine bone substitute for alveolar ridge preservation is associated with platelet and coagulation factors. **Clin Exp Dent Res**, v. 6, n. 2, p. 23-28, Apr. 2020.

CANELLAS, J. V. D. S. et al. Tomographic and histomorphometric analysis of bone healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich plasma: a double-blind, controlled clinical trial. **J Craniomaxillofac Surg**, St. Louis, v. 48, n. 1, 2020.

CANELLAS, J. V. D. S.; RITTO, F. G.; MEDEIROS, P. J. et al. Complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich plasma: a systematic review and meta-analysis. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 46, n. 11, p. 1138-1146, Sep. 2017.

CAPLANIS, N.; LOZADA, J. L.; KAN, J. Y. Extraction de la troisième molaire mandibulaire et gestion des complications. **J Calif Dent Assoc**, San Francisco, v. 33, n. 10, p. 530-534, Oct. 2005.

CARDOSO, M. L. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos em implantes dentários: uma revisão de literatura. **Curr Orth**, v. 35, n. 1, p. 1-6, Jan. 2009.

CHANG, Y-C.; WU, K-C.; ZHAO, J-H. Clinical application of platelet-rich fibrin (PRF) as a bone grafting material in periodontal intrabony defects. **J Dent Sci**, v. 188, Sep. 2011.

CHAPPUIS, V. et al. Ridge alterations post-extraction in the maxilla: a retrospective study using CBCT. **J Dent Res**, Washington, v. 92, suppl. 12, p. 195-200, Dec. 2013.

CHOUKROUN, J. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second generation autologous conditioned serum-stimulated clotting fibrin matrix. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft healing. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 101, n. 3, p. 56-60, Mar. 2006a.

CHOUKROUN, J. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second generation autologous conditioned serum-stimulated clotting fibrin matrix. Part IV: clinical effects on tissue healing. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 101, n. 3, p. 56-60, Mar. 2006b.

CHOUKROUN, J. et al. Une opportunit  en parodontologie: le PRF. **Revue de Stomatologie Francaise**, v. 42, p. 55-62, 2001.

CLARK, D. et al. Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft: a randomized controlled clinical trial. **J Periodontol**, v. 79, p. 379-389, Apr. 2018.

CLAUSEN, C. et al. Activated platelets stimulate differentiation of human bone cells. **Cells Tissues Organs**, Basel, v. 184, n. 2, p. 105-112, 2007.

CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA (CFO). **Resolu o de 2015**. Regulamenta o uso de Agregados Plaquet rios Aut logos e Transfusionalis no  mbito da Odontologia. Rio de Janeiro: CFO, 2015.

CORTESE, A. et al. Platelet-Rich Fibrin (PRF) in implants: a bone regenerative flapless technique: evolution of the technique. **J Dent Res**, Washington, v. 92, suppl. 12, p. 195-200, Dec. 2013.

DEL CORSO, M.; TOFFLER M.; EHRENFEST, D. M. D. platelet-rich fibrin (L-PRF) membrane in post-avulsion sites PRF. **J Impl Adv Clin Dentistry**, Nevada, v.1, n. 9, p. 27-3

DOHAN EHRENFEST, D. M. et al. Slow release of growth Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to ac concentrates technologies. **Growth Factors**, Yverdon-Les- 2009.

DOHAN EHRENFEST, D. M. et al. The impact of the cent centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fib and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. **Platele** 184, Mar. 2018.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-g I: technological concepts and evolution. **Oral Surg Oral M Endod**, St. Louis, v. 101, n. 3, p. 37-44, Mar. 2006a.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-g II: platelet related biologic features. **Oral Surg Oral Med C** St. Louis, v. 101, n. 3, p. 45-50, Mar. 2006b.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-g III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentra **Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 101, n. 3, p. 51-55

DUTTA, S. R. et al. A randomized comparative prospective platelet-rich fibrin, and hydroxyapatite as a graft material fo extraction socket healing. **Natl J Maxillofac Surg**, Lucknow 2016.

EINCO BIOMATERIAL – Osteosynt. Uso da biocerâmica

FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ User Guide IJ 1.**  
Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>. Acesso em 01/01/2017.

FISHER, J. P. et al. Effect of biomaterial properties on bone healing in a rat maxillary extraction socket model. **J Biomed Mater Res Part A**, Hoboken, v. 68, n. 1, p. 112-121, Jan. 2004.

FUJIOKA-KOBAYASHI, M. et al. Optimized platelet-rich plasma for growth factor release, biocompatibility, and cellular response. **J Biomed Mater Res Part B**, Hoboken, v. 88, n. 1, p. 112-121, Jan. 2017.

FUJIOKA-KOBAYASHI, M.; MIRON, R, J. Componentes bioativos de plaquetas: liberação de fator de crescimento e atividade celular. In: **CHOUKROUN, J. Fibrina rica em plaquetas na odontologia estética: bases biológicas e aplicações clínicas.** São Paulo: Elsevier, 2017. p. 31.

GALAV, S. et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin in the treatment of infrabony defects in chronic periodontitis: clinical reentry. **Indian J Dent Res**, Ahmedabad, v. 27, n. 5, p. 502-507, Oct. 2012.

GARG, A. K. The future role of growth factors in bone grafting. **J Oral Maxillofac Surg**, Atlanta, v. 10, n. 1, p. 5-7, Jan. 1999.

GASSLING, V. L, et al. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal defects. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 106, n. 1, p. 1-10, Jan. 2009.

GHANAATI, S. et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept in tissue engineering by means of inflammatory cells. **J Oral Implantol**, Hoboken, v. 37, n. 6, p. 688-694, Dec. 2014.

HAUSER, F. et al. Clinical and histological evaluation of post-implantation socket filling: a prospective randomized controlled study. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 42, n. 3, p. 295-303, June 2013.

HE, L. et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) on the effect of proliferation and differentiation of a rat osteoblast cell line. **Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 14, n. 7, p. 713, Nov. 2009.

INTERNATIONAL TEAM FOR IMPLANTOLOGY (ITI). International Team for Implantology (ITI) Consensus Conference. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 24, n. 1, p. 1-16, 2009.

JENSEN, S. S. et al. Bone healing and graft resorption of autogenous bone and  $\beta$ -tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in minipigs. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 17, n. 3, p. 303-311, 2006.

JIMÉNEZ-DÍAZ, M.; MARTINEZ MONGE, V. Marcador de actividad ósea. **Rev Méd**, San José, v. 66, n. 548, p. 119-126, July/September 2004.

JOLY, J. C.; CARVALHO, P. F. M.; SILVA, R. C. **Perio-implantitis**. São Paulo: Quintessence, 2015. 1106p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. *In*: JUNQUEIRA, L. C. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 115-130.

KANAYAMA, T. et al. Crestal approach to sinus floor elevation using platelet-rich fibrin as the only grafting material: a 1 year prospective study. **J Oral Maxillofac Surg**, Baltimore, v. 74, n. 1, p. 32-38, Feb. 2016.

KANG, Y. H. et al. Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and promotes tissue regeneration. **Tissue Eng Part A**, New York, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2011.

KOLLATI, P. et al. Effectiveness of naturally derived bovine combined with platelet-rich fibrin matrix in socket preservation clinical trial. **J Indian Soc Periodontol**, Mumbai, v. 23, n. 2, p. 104-108, Apr. 2019.

KOTSAKIS, G. A. et al. Extraction socket management utilizing a novel of-principle study of the "Accelerated-Early Implant Placement" technique. **J Oral Maxillofac Surg**, Abingdon, v. 42, n. 2, p. 164-168, Apr. 2016.

KUMAR, N. et al. Evaluation of treatment outcome after implant placement surgery with the use of autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled trial. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 73, n. 6, p. 1042-1048, Jun. 2015.

KUMAR, R. V.; SHUBHASHINI, N. Platelet rich fibrin: a novel approach for bone regeneration. **Cell Tissue Bank**, Dordrecht, v. 14, n. 3, p. 431-438, Sep. 2013.

LABNO, C. **Two ways to count cells with ImageJ**. 2016. [https://www2.wpmucdn.com/voices.uchicago.edu/dist/c/2275/files/2016/02/20160201\\_imagej\\_and\\_manual.pdf](https://www2.wpmucdn.com/voices.uchicago.edu/dist/c/2275/files/2016/02/20160201_imagej_and_manual.pdf). Acesso em: 13 nov. 2023.

LEE, D. Z.; CHEN, S. T.; DARBY, I. B. Maxillary sinus floor augmentation with demineralized deproteinized bovine bone mineral: a clinical and histomorphometric study. **J Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 23, n. 8, p. 918-924, Aug. 2002.

LEE, J. W. et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. **J Med Oral Pathol Oral Radiol**, New York, v. 113, n. 4, p. 431-436, Aug. 2011.

LIEBERMAN, J. R.; DALUISKI, A.; EINHORN, T. A. The use of platelet-rich plasma for the repair of bone. Biology and clinical applications. **J Bone Joint Surg**, Philadelphia, v. 84, p. 1032-1044, June 2002.

LUCARELLI, E. et al. A recently developed bifacial platelet-rich plasma. **J Mater**, Wales, v. 20, n. 1, p. 13-23, July 2010.



MARIANO, R. C.; MELO, W. M.; AVELINO, C. C. Comp alveolar bone healing associated with autologous platelet-rich mandibular third molar surgery. **J Oral Maxillofac Surg**, P Jan. 2012.

MARQUES, L. F. et al. Platelet-rich plasma (PRP): method applications. **Platelets**, London, v. 26, n. 2, p. 101-113, Feb

MARX, R. E. et al. Platelet-rich plasma: growth factor enha **Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis 1998.

MATTUELLA, L. G. et al. Tooth supported prosthetic reha with early childhood caries. **J Clin Pediatr Dent**, Birmingham 2007.

MAZZONETTO, R.; CHAVES NETTO, H. D. M.; NASCI **em Implantodontia**. São Paulo: Napoleão, 2012. 574p.

MESSORA, M. R. et al. Bone healing in critical-size defect a histologic and histometric study in rat calvaria. **J Periodo** p. 217-223, Apr. 2008.

MIHAYLOVA, Z. et al. Use of platelet concentrates in oral overview. **Acta Odontol Scand**, Stockholm, v. 75, n. 1, p. 1

MIRON, R. J. et al. Platelet-rich fibrin and soft tissue woun **Tissue Eng Part B Rev**, New Rochelle v. 23, n. 1, p. 83-99

MIRON, R. J. et al. Standardization of relative centrifugal f rich fibrin. **J Periodontol**, Indianapolis, v. 90, n. 8, p. 817-8

NASIRZADE, J. et al. Platelet-rich fibrin elicits an anti-inflammatory response in macrophages in vitro. **J Periodontol**, Indianapolis, v. 91, n. 1, p. 1-10, 2020.

NAUTA, A.; GURTNER, G.; LONGAKER, M. T. Wound healing: Molecular and clinical strategies. **Oral Dis**, Houndmills, v. 17, n. 6, p. 541-549, September 2010.

NGUYEN, T. T. et al. Regeneration of tissues of the oral cavity: Current status and research advances. **J Can Dent Assoc**, Ottawa, v. 79, n. 1, p. 1-10, 2003.

NIJWEIDE, P. J.; BURGER, E. H.; FEYEN, J. H. M. Cells and bone: Molecular differentiation and hormonal regulation. **Physiol Rev**, Bethesda, v. 66, n. 1, p. 1-10, 1986.

OLIVEIRA, M. R. et al. Influence of the association between platelet-rich plasma and bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the rat. **Maxillofac Surg**, Copenhagen, v. 44, n. 5, p. 649-655, May 2002.

ONDUR, E. et al. Effects of platelet-rich fibrin on hard tissue regeneration: A crossover trial in sheep. **Materials**, Basel, v. 13, n. 7, p. 1-10, 2020.

OZDEMIR, H. et al. Effects of platelet rich fibrin alone use on bone healing. **Oral Biol**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 537-544, May 2013.

PARRA, M.; HAIDAR, Z. S.; OLATE, S. Utilización de PRP y relleno sintéticos (HA y  $\beta$ -TCP) en reconstrucciones óseas. **Revista Colombiana de Odontología**, Bogotá, v. 34, n. 2, p. 79-86, mar./abr. 2018.

PAVLOVIC, V. et al. Platelet-rich fibrin: Basics of biological properties and modifications. **Open Med**, Warsaw, v. 16, n. 1, p. 446-454, 2020.

PINTO, N. R. et al. Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a new strategy for the treatment of refractory leg ulcers: a prospective study. **Wound Repair and Regeneration**, Hoboken, v. 28, n. 1, p. 1-10, 2020.

PRIPATNANONT, P. et al. The primacy of platelet-rich fibrin over various grafts in rabbit's calvarial defects. **J Craniomaxillofac Surg**, Berlin, v. 35, n. 12, p. 191-200, Dec. 2013.

RICKERT, D. et al. Maxillary sinus lift with solely autogenous bone or combination of autogenous bone and growth factors or (solely autogenous bone) - a review. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, v. 41, n. 12, p. 1173-1180, Dec. 2012.

SALUJA, H.; DEHANE, V.; MAHINDRA, U. Platelet-rich plasma, platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgery. **J Oral Maxillofac Surg**, Mumbai, v. 1, n. 1, p. 53-57, Jan. 2011.

SCARSO FILHO, J. et al. Plasma rico em plaquetas. In: **Diagnóstico e Tratamento dos Implantes Osseointegrados: cirurgia e prótese**. São Paulo: Elsevier, 2014. p. 115-125.

SCHULZ, K. F. et al. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting group randomized trials. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v. 154, n. 8, p. 595-600, Oct. 2011.

SHEIKH, Z. et al. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for bone reconstructive applications: a review. **Biomater Res**, London, v. 2017, n. 1, p. 1-10, 2017.

SHEIKH, Z.; SIMA, C.; GLOGAUER, M. Bone replacement using a porous ceramic for achieving vertical alveolar bone augmentation. **Materia**, Belo Horizonte, v. 10, n. 1, p. 1-10, May 2015.

SHIVASHANKAR, V. Y. et al. Combination of platelet rich plasma and collagen membrane in the management of large inflammatory periapical abscesses. **J Oral Maxillofac Surg**, Amritsar, v. 16, n. 3, p. 261-264, Mar. 2013.

SHUANG, Y. et al. In vitro characterization of an osteoinductive protein in combination with recombinant BMP2. **BMC Oral Health**, London, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2017.

TANIGO, T.; TAKAOKA, R.; TABATA, Y. Sustained release from biodegradable hydrogel augments bone regeneration. *J Biomed Mater Res*, New York, v. 143, n. 2, p. 201-206, Apr. 2010.

TATULLO, M. et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstruction of maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Oral Maxillofac Surg*, New York, v. 41, p. 872-880, Oct. 2012.

TAWES JR, R. L.; SYDORAK, G. R.; DUVALL, T. B. Autologous platelet rich plasma in operative hemostasis. *Am J Surg*, New York, v. 168, n. 2, p. 150-153, Feb. 1994.

TEN HEGGELER, J. M. A. G.; SLOT, D. E.; VAN DER WERVEN, J. M. J. Platelet rich plasma preservation therapies following tooth extraction in non-molar teeth: a systematic review. *Clin Oral Impl Res*, Copenhagen, v. 22, p. 105-114, Apr. 2011.

TOFFLER, M. et al. Introducing Choukroun's platelet rich plasma in oral surgery milieu. *J Implant Clin Adv Dent*, St. Louis, v. 2, n. 1, p. 1-6, Jan. 2010.

TRICOT, M. et al. Clinical assessment of 115 cases of hindbrain tumor resection: types of graft: Allograft+DBM+bone marrow aspirate versus autologous bone graft. *Traumatol Surg Res*, França, v. 103, n. 5, p. 697-702, Sep. 2010.

TUNALI, M. et al. Clinical evaluation of autologous platelet rich plasma in multiple adjacent gingival recession defects: a 12-month study. *Restorative Dent*, Chicago, v. 35, n. 1, p. 105-114, Jan./Feb. 2010.

TURRI, A. et al. Guided bone regeneration in maxilla promoted by a collagen membrane compartment. *Biomaterials*, Guildford, v. 84, n. 1, p. 1-10, Jan. 2013.

USTAOĞLU, G.; GÖLLER BULUT, D.; GÜMÜŞ, K. Ç. Effects of platelet rich concentrates effects on early soft tissue healing and socket preservation after extraction. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*, Masson, v. 1, p. 1-6, Jan. 2010.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION (WMA). World Medical Association. Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *WMAJ*, v. 310, n. 20, p. 2191-2194, Nov. 2013.

YAMADA, Y. et al. Angiogenesis in newly augmented bone using a titanium cap. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2008.

YAZDI, F. K. et al. A comparison of the healing capabilities of critical-size defects in guinea pig calvaria. **Int J Oral Maxillofac Surg**, New Delhi, v. 42, n. 12, p. 1370-1376, Sep./Oct. 2013.

YELAMALI, T.; SAIKRISHNA, D. Role of platelet rich fibrin in wound healing of extracted third molar sockets: a comparative study. **Surg**, New Delhi, v. 14, n. 2, p. 410-416, Jun. 2015.

YILMAZ, D. et al. Effect of platelet rich fibrin and beta tricortisol on wound healing. A histological study in pigs. **Acta Cir Bras**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 1-6, 2011.

YOON, J. S.; LEE, S. H.; YOON, H. J. The influence of platelet rich plasma in guided bone regeneration using xenogenic bone substitute in critical size defects. **J Craniomaxillofac Surg**, Stuttgart, v. 42, n. 7, p. 405-410, 2014.

YUAN, H. et al. A comparison of the osteoinductive potential of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate ceramics implanted intramuscularly in goats. **J Mater Sci Mater Med**, v. 13, n. 11, p. 1271-1275, Dec. 2002.

YUAN, S. et al. Ridge preservation applying a novel hydroxyapatite ceramic: osteogenesis evaluation: an experimental study in canine. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 79, n. 1, p. 1-11, July 2021.

ZENI, S. et al. Utilidad clínica de los marcadores de formación ósea en la evaluación de la curación de defectos óseos maxilares. **Revista de la Asociación Española de Odontología**, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2011.

# ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em P



## PARECER CONSUBSTANCIADO D

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise histomorfométrica do processo de neofor  
tratados com fibrina rica em plaquetas e leucócitos  
estudo comparativo in vivo.

**Pesquisador:** Henrique Duque Netto

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 44815420.5.0000.5147

**Instituição Proponente:** FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.875.915

#### Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivos", "Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas do projeto. "Um ensaio clínico controlado randomizado será realizado em 40 pacientes de ambos os sexos, com idade variando entre dezoito e trinta e cinco anos. Os pacientes serão realizadas análise de imagem diagnóstica (radiografias panorâmicas) e os pacientes serão distribuídos em dois grupos experimentais, sendo o G1 com alvéolos em mandíbula (n = 10). Cada grupo experimental será distribuído em alvéolos tratados com L-PRF associada a biomaterial e G1CA, etc.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM  
SERES HUMANOS

ufjf

UFJF - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE JUIZ DE FOR  
MG

Continuação do Parecer: 4.875.915

invés de broca lança e broca de 2 mm do kit de implante, uma vez que o tecido ósseo encontrado em cada região a ser implantada. Após trefinar as brocas cilíndricas no sentido vertical, e o fragmento ósseo retirado da trefinação será tratado com formol a 10% já devidamente especificado de acordo com o grupo a ser estudado. Após realizado o procedimento de instrumentação da cavidade em que serão implantados os alvéolos tratados com L-PRF e enxerto sintético (stick bone) e enxerto autólogo particulado."

#### **Objetivo da Pesquisa:**

"Objetivo Primário: Avaliar comparativamente, o processo de neoformação óssea em alvéolos frescos tratados com L-PRF associado a enxerto ósseo sintético e a enxerto de osso autólogo particulado, almejando a preservação do osso alveolar e as condições para a realização de implantes osseointegrados, em um modelo animal."

"Objetivo Secundário: Decorrido dois meses de incorporação de enxerto ósseo, será realizada coleta de material nos alvéolos(biopsia) e instalação de implante no mesmo local, espera-se uma neoformação óssea que permita a obtenção de implantes de instalação de implantes osseointegravel garantindo a ossointegração."

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

"Riscos: Haverá riscos para o paciente, riscos esses inerentes ao procedimento cirúrgico passível dos riscos inerentes a este ato: formação de edema(inchaço) no local da cirurgia cirúrgica(s) ou próxima(s) a ela(s); sintomatologia dolorosa(normalmente controlada com medicamento);infecção. Os benefícios deste estudo possibilitará a utilização de um material com características de osteoindução e osteocondução semelhante ao enxerto autólogo particulado, permitindo a obtenção de implantes osseointegrados."



COMPETE ÉTICA EM PESQUISA COM  
SERES HUMANOS

ufjf

UFJF - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
MG

Continuação do Parecer: 4.875.915

resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS

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

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresentada e preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela p atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO** em linguagem para participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será e a liberdade do participante recusar ou retirar o consentimento sem pena explicita riscos e desconfortos esperados, indenização diante de eventual contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa do pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a,b,d,e,f,g e h; IV. 5 letra d e XI.2 letra e e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com o Manual Operacional para CPes. Apresenta **DECLARAÇÃO** de infração e realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma item 3.3 letra h.

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

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com a ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional prevista para o término da pesquisa: março de 2023.

**Considerações Finais a critério do CEP:**





COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM  
SERES HUMANOS

ufjf

UFJF - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
MG

Continuação do Parecer: 4.875.915

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento  | Arquivo                                       | Postado em       |
|---|---|------------------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1530479.pdf | 29/07/2014 14:30 |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | Projeto_Detalhado_Corrigido.docx              | 29/07/2014 14:30 |
| Outros  | Carta_Resposta_Comite.docx                    | 27/07/2014 20:10 |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_alterado.docx                            | 11/06/2014 22:40 |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | PROJETO_DETALHADO_CORRIGIDO.docx              | 11/06/2014 22:40 |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | Infra_ISE.pdf                                 | 11/06/2014 22:40 |
| Folha de Rosto  | Folha_de_Rosto.pdf                            | 21/03/2014 13:30 |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

JUIZ DE FORA, 30 de Julho de 2014

Assinado por:  
Jubel Barreto  
(Coordenador(a))

## ANEXO B – Artigo publicado



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC

**NÚCLEO  
CONHECIMENTO**

Declaramos que o artigo:

### **AVALIAÇÃO DA NEOFORMAÇÃO ALVÉOLOS FRESCOS TRATADOS ASSOCIADA OU NÃO A ENXERTO SIN PILOTO**

DO(S) AUTOR(ES): PRICILA DA SILVA GUSMÃO, LUIZ MARCELO  
NUNES, GISELE MARIA CAMPOS FABRI - HENRIQUE DUQUE DE  
(ORIENTADOR(A)).

FOI ACEITO PELA REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR  
CONHECIMENTO, ISSN. 2448-0959, PARA PUBLICAÇÃO

REGISTRATION CODE:  
FECM/GF 18FDS 1G85G 18DG 18DGSD 1G8DG 408SGDS 1G8SDGSD 1GS8DER 1E8T 1G81G81G85G 18DG 18E REH 18ER 1D8RG 1

Em





MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

## **AVALIAÇÃO DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA TRATADOS COM L-PRF ASSOCIADA SINTÉTICO: ESTUDO PILOTO**

### **ARTIGO ORIGINAL**

GUSMÃO, Pricila da Silva<sup>1</sup>, NUNES, Luiz Marcelo  
Maria Campos<sup>3</sup>, CHAVES NETTO, Henrique Duque

GUSMÃO, Pricila da Silva *et al.* Avaliação da neofor  
tratados com I-PRF associada ou não a enxerto s

Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. A

143. Maio de 2024. ISSN: 2448-0

<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/odontologia>

DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br

neoformacao

### **RESUMO**

**Introdução:** A extração do elemento dentário é seguida  
duros que podem comprometer a colocação de imp  
histomorfometria, a eficácia da L-PRF associada ou não  
processo de neoformação óssea em alvéolos humanos,  
das extrações dentárias. **Método:** Para este estudo pilot  
alocado em dois grupos: G1 (n = 8) para quatro alvéolos  
quatro alvéolos mandibulares. De cada grupo foram obtid  
o tratamento dos alvéolos (G1, n = 32; G2, n = 8): com



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDIS

ISSN: 2448-0959 <https://www.>

**Palavras-chave:** Alvéolo Dental, Fibrina Rica em Plaquetas, Fosfato Tricálcio, Regeneração Óssea.

## **1. INTRODUÇÃO**

As extrações dentárias induzem um inevitável processo de reabsorção óssea que pode comprometer, subsequentemente, a reabilitação. A reabsorção óssea é iniciada imediatamente após a extração, com uma perda de 1-2 mm nas dimensões horizontal e de 1-3 mm nas dimensões vertical nos primeiros meses. A falta do ligamento periodontal (LP) resulta em uma maior reabsorção óssea<sup>2</sup>. A magnitude da contração horizontal é comparada à vertical e a reabsorção da crista alveolar não é evitada pelas técnicas de preservação alveolar<sup>1-3</sup>.

O benefício da preservação alveolar em nível histológico, ainda não é claro, pois sugere não promover a formação de novos tecidos dentários. Alguns materiais de enxerto podem interferir na cicatrização dos defeitos. Os materiais utilizados, técnicas, morfologias de defeitos, períodos de tempo e tamanho do defeito ósseo demonstrou que as técnicas de preservação alveolar são previsíveis<sup>2</sup>. Consequentemente, ainda não existe um protocolo de preservação alveolar considerados "padrão-ouro"<sup>3</sup>. Nes



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDIS

ISSN: 2448-0959 <https://www.>

A L-PRF isoladamente não é considerada osteoindutora de osso ectópico, mas sua combinação com células osteoindutoras das células-tronco<sup>16</sup>. A hidroxiapatita (HA) e outros materiais de enxerto sintético geralmente usados em demonstraram que a L-PRF associada ao HA/ $\beta$ TCP é capaz de promover osteogênese. Foi admitido que esses materiais e suas propriedades osteoindutoras e osteogênicas têm efeitos que tem sido relatada é se a combinação da L-PRF com outros materiais de figurar como agente osteoindutor<sup>13,17,19,21</sup>.

Quanto ao uso clínico da L-PRF, tem-se acompanhado os resultados em animais que apresentaram melhoras no padrão de reparação óssea, o uso isolado ou em combinação com enxertos autógenos. Embora aumente a formação de novo osso e estimula a regeneração, os resultados em reparação óssea ainda são insatisfatórios.

Apesar de serem técnicas largamente utilizadas e consideradas eficazes, carecem de evidências com ensaios clínicos controlados e metodologias bem definidas, o efeito da L-PRF em nível humano ainda não foi totalmente elucidado, justificando a necessidade de estudos científicos que esclareçam a ação da L-PRF na regeneração óssea em humanos pós-extração.



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

(CEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) em 15 de julho de 2021.

Foram selecionados participantes de ambos os sexos, a Especialização em Implantodontia de Juiz de Fora-UFJF, orientador. Para a seleção foram realizadas análises de panorâmica, radiografias periapicais intraorais padronizadas. Os critérios de inclusão e exclusão encontram-se descritos no Quadro 1.

Quadro 1: Critérios de inclusão e exclusão

| Inclusão   | Exclusão  |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Participantes de ambos os sexos classificados como ASA I e II, idades entre 18 e 70 anos.</li></ul>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Participantes com desordem sistêmica que pudesse interferir na cicatrização.</li><li>• Em terapia com uso de bifosfonatos ou corticoides<sup>28</sup>.</li><li>• Que receberam radiação no pescoço nos últimos 5 anos.</li><li>• Histórico de tabagismo intenso.</li></ul>                                |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Com necessidade de extração de pelo menos 4 elementos dentários uniradiculares com presença de dentes adjacentes, para futura reabilitação com implantes (tipo 2, Classificação da IT<sup>29</sup>).</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Imunossupressão<sup>28</sup>.</li><li>• Participantes com má higiene bucal.</li><li>• Gestantes<sup>28</sup>.</li><li>• Aqueles que apresentaram lesão periapical em fase aguda; ou que tenham realizado procedimento cirúrgico invasivo com osteotomia e elevação controlada com PS &gt; 4 mm.</li></ul> |

ASA (American Society of Anesthesiologists); ITI (International Team for Implantation); PS (profundidade de sondagem); > (maior); mm (milímetro). Fonte: <https://doi.org/10.24036/nucleodoconhecimento.v11i07.11111>



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

|           |    |    |                     |    |           |
|-----------|----|----|---------------------|----|-----------|
| Mandíbula | G2 | 2  | CTR                 | 4  | Apenas    |
|           |    |    | AB                  | 4  | Ossos     |
|           |    |    | LPRF                | 4  | Membranas |
|           |    |    | LPFRHA/ $\beta$ TCP | 4  | Membranas |
| Total     |    | 10 |                     | 40 |           |

N (número de participantes na amostra); n (número de alvéolos avaliados); AB (osso autólogo); LPRF (membrana de fibrina rica em plaquetas); LPFRHA/ $\beta$ TCP (L-PRF + osso sintético). Fonte: Autores (2023).

Os quarenta alvéolos foram randomizados por meio de um sorteio que foi ocultado dos participantes e dos profissionais envolvidos. A alocação foi revelada à cirurgiã responsável (esta pesquisadora) no momento da cirurgia.

As indicações diagnósticas para as extrações dentárias incluíam: endodôntico, fraturas radiculares e lesões avançadas de cáries protéticas. Os elementos unirradiculares extraídos apresentaram uma altura consistente com a colocação planejada do implante, remanescente de 2-3 mm da raiz até fossa nasal anterior, seio maxilar, boas condições de mucosa intraorais com mucosa ceratinizada circundante na margem gengival (Classificação de Caplanis et al.<sup>30</sup>; *Extraction Defect Soundness* - EDS-3).

Quadro 3: Classificação dos defeitos alveolares pós-exodontia<sup>30</sup>

| Classificação        | EDS-1   | EDS-2             | EDS-3                              |
|----------------------|---------|-------------------|------------------------------------|
| Avaliação do alvéolo | Íntegro | Íntegro a pequeno | Da raiz até a fossa nasal anterior |
| Paredes afetadas     | 0       | 0-1               | 2-3                                |



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

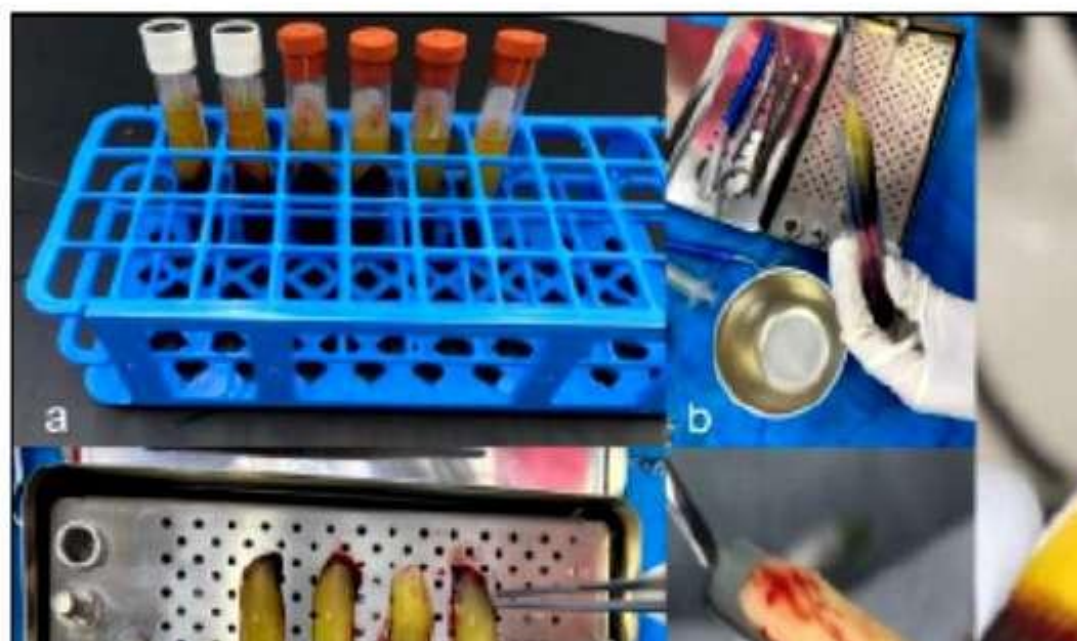
ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

lingual da placa de acetato para delimitar a região central do alvéolo ósseo e instalação dos implantes.

### 2.1.1 OBTENÇÃO DA FIBRINA RICA EM LEUCÓCITOS (L-PRF)

O preparo da L-PRF foi realizado imediatamente antes da instalação dos elementos dentários e enxertias nos alvéolos pós-extração de acordo com o protocolo de Choukroun et al.<sup>6,7</sup> (Figura 1). Após a força de centrifugação relativa (RCF-coágulo = 408 g), por certo tempo, a centrifuga foi desacelerada progressivamente.

Figura 1: Método de obtenção da L-PRF







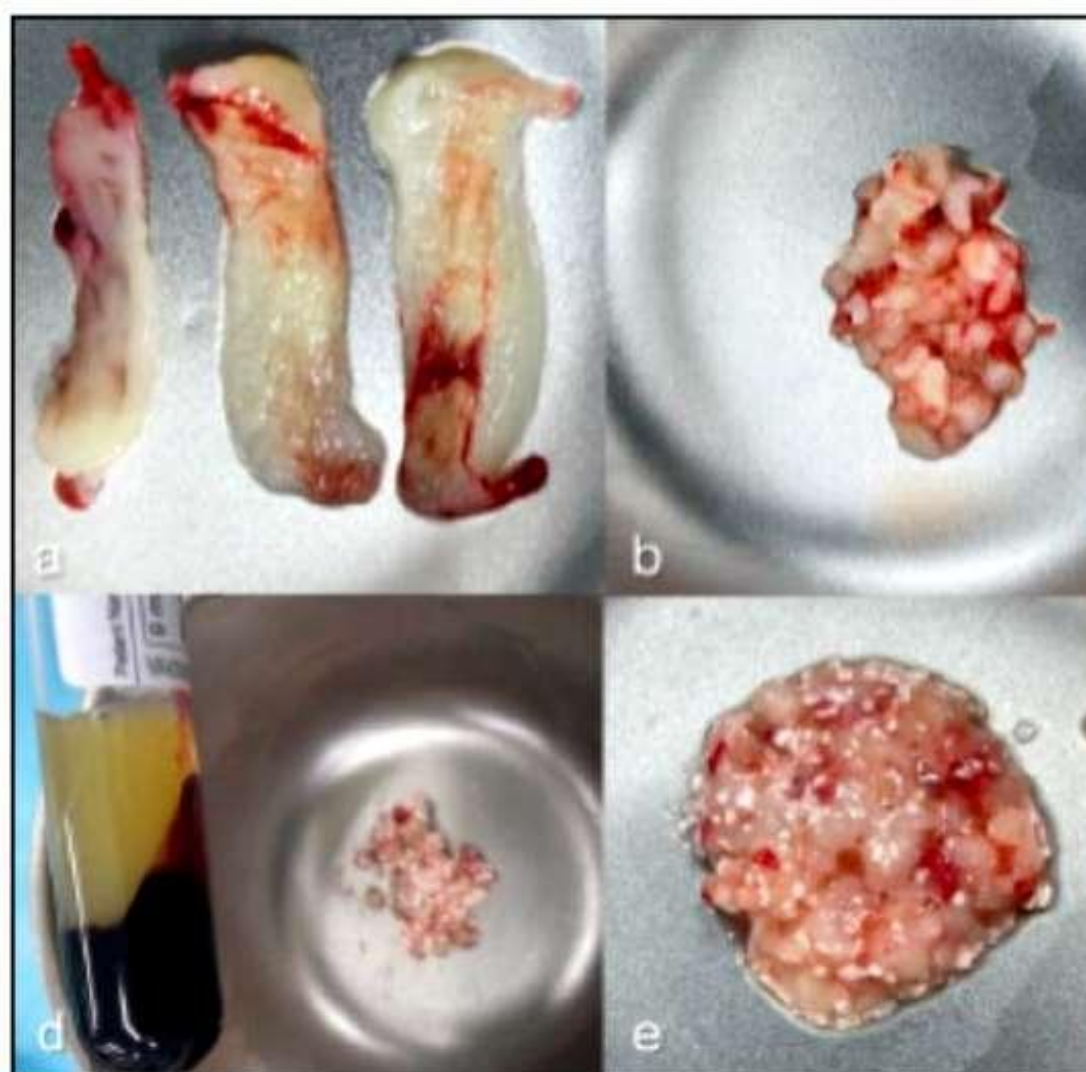
MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

Figura 2: Confeção de osso pegajoso (LPRFHA/ $\beta$ TCP)



a) membranas de L-PRF após processo de desidratação; b) membrana de L-PRF picotada com biocerâmica; c) L-PRF picotada associada a biocerâmica; d) adição de L-PRF picotada associada a biocerâmica; e) processo de aglutinação (LPRFHA/ $\beta$ TCP). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

## 2.1.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISC

ISSN: 2448-0959 <https://www.ncc.org.br>

Para se alcançar o máximo de êxito na preservação do alveólos moles e duros no momento cirúrgico. Tanto na maxila quanto nos dentes dentários foram cuidadosamente mobilizados com auxílio de movimentos menos traumáticos possíveis, sem reflexão do retalho (cirurgia de osteotomia<sup>33</sup>. Uma vez que o elemento dentário foi luxado e removido. Os alvéolos foram completamente desbridados e a granulação com auxílio de cureta tipo Lucas (Fava, Franco) e irrigação com solução salina e inspecionados quanto à presença de hematoma ou deiscência. As cavidades alveolares foram tratadas com enxerto, de acordo com a randomização.

Foi adotado como medida de preenchimento do alvéolo, a elevação da crista óssea vestibular até o fundo do alvéolo<sup>33</sup> (aferida com cureta Friedy, Mfg. Co., LLC, UK). As suturas para estabilização foram realizadas por segunda intenção com fio absorvível poliglicolico.

### **2.1.2.2 ÁREA DOADORA INTRAORAL**

Foram utilizadas como áreas doadoras de enxerto ósseo a região da mandibular e sínfise, determinada pela disponibilidade óssea. Quando a área doadora (sínfise ou ramo mandibular) foi realizada com o auxílio de um et al.<sup>34</sup> (Figuras 3 e 4). Após o descolamento do enxerto ósseo, foi utilizado um articulador de osso, que foi mantido em uma cuba com solução salina.



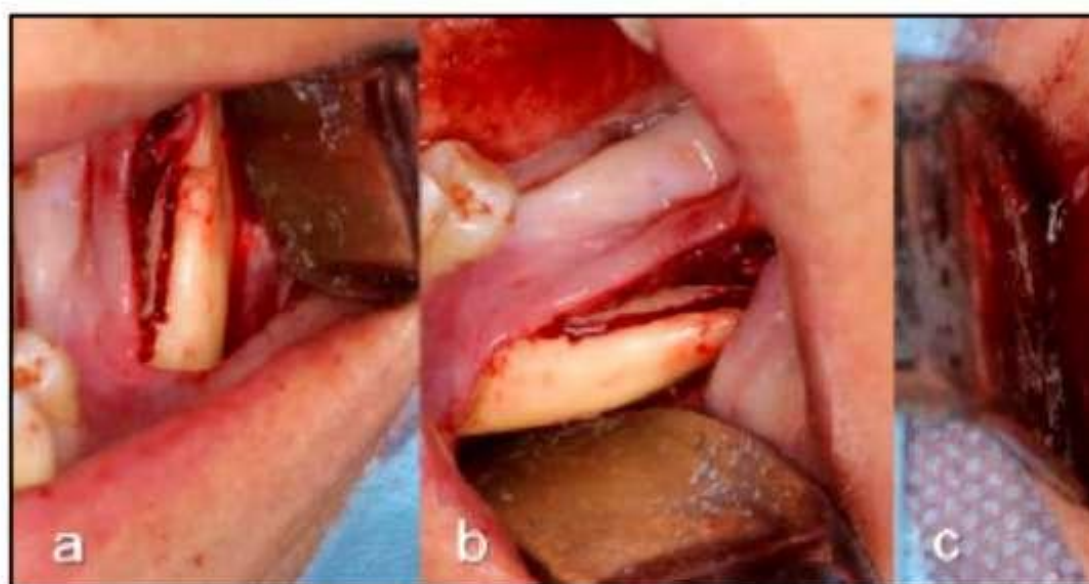
MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

Figura 4: Remoção de enxerto ósseo – área doadora ramo mandibular



a e b) exposição da área retromolar e linha oblíqua externa; c) enxerto ósseo removido. Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

Figura 5: Cavidades alveolares enxertadas e suturadas





MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

ao *recall* e foram excluídos, ficando a amostra composta por 8 no G1; 8 no G2) para análise final. Nesses, a cicatrização ocorreu em todos os alvéolos (controles e experimentais). Os sítios enxertados apresentaram cicatrização, com formação de tecido gengival saudável.

Após anestesia local foi realizada a incisão do tecido gengival e lingual/palatino, para acesso cirúrgico à crista alveolar. A crista alveolar subjacente manteve sua morfologia, sem formação de cavidade residual. A profundidade de perfuração da trefina óssea manteve a medida do preenchimento do alvéolo original, se estivesse restrito à área enxertada (Figura 6). A profundidade do alvéolo preenchido com coágulo (CRT) foi mantida pela perfuração. Seguida, a osteotomia foi ampliada para colocação do implante, conforme descrito no manual cirúrgico do Sistema Conexão (Conexão Brasil).

Figura 6: Coleta de biopsias e instalação dos implantes





MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

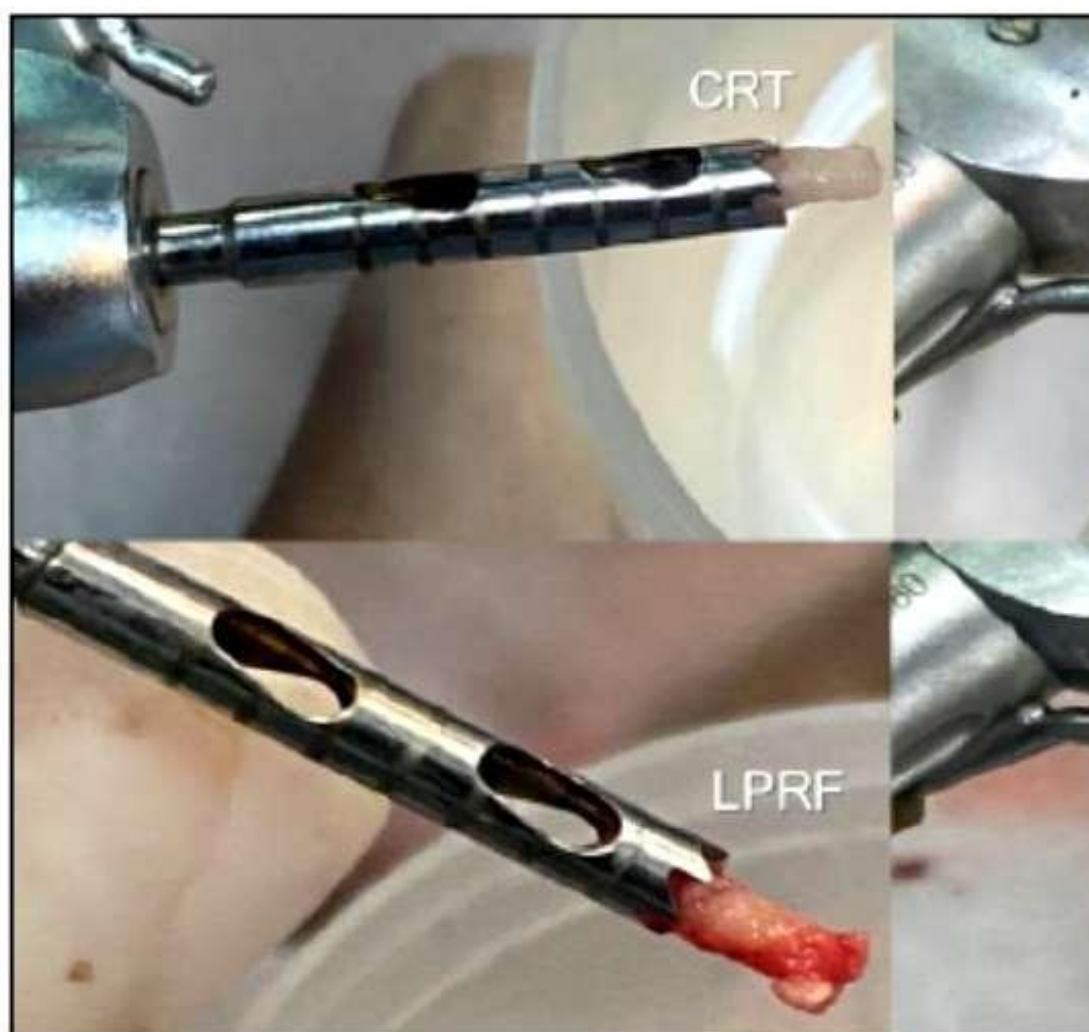
**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

inseridos os implantes nas regiões dos alvéolos controle e enxertados, sendo o procedimento finalizado com suturas em "X" utilizando fio absorvível poli

Figura 7: Coleta de biopsias dos alvéolos controles e enxertados.



Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

## 2.2.1 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDIS

ISSN: 2448-0959 <https://www.>

## 2.2.2 MICROSCOPIA DE LUZ E HISTOMOR

Esta análise foi realizada no Núcleo de pesquisa em O Biofísica e Fisiopatologia Experimental do Laboratório Experimental no Centro de Biologia da Reprodução (CBR) calibrado e cegado ao tratamento realizado.

A análise histomorfométrica do tecido ósseo foi realizada utilizando uma ocular de 10X em conjunto com uma objetiva de uma ampliação de 400X (AxioStar Zeiss AxioCam CHF5, a uma câmera (AxioCam Vision), obtendo-se 240 lâmina/subgrupos). O processamento das imagens foi realizado com o software AxioVision (Zeiss, Alemanha, 2012) e ImageJ (domínio público).

No ImageJ, antes de realizar a mensuração da AON, foi necessário para estabelecer a correta relação entre *pixels* e micrometros na imagem capturada. A área total de osso neoformado foi medida em cada campo microscópico. As áreas foram medidas em fotomicrografias/subgrupos<sup>35</sup>. As mensurações para cada grupo foram realizadas no programa Excel® para análise estatística.

## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

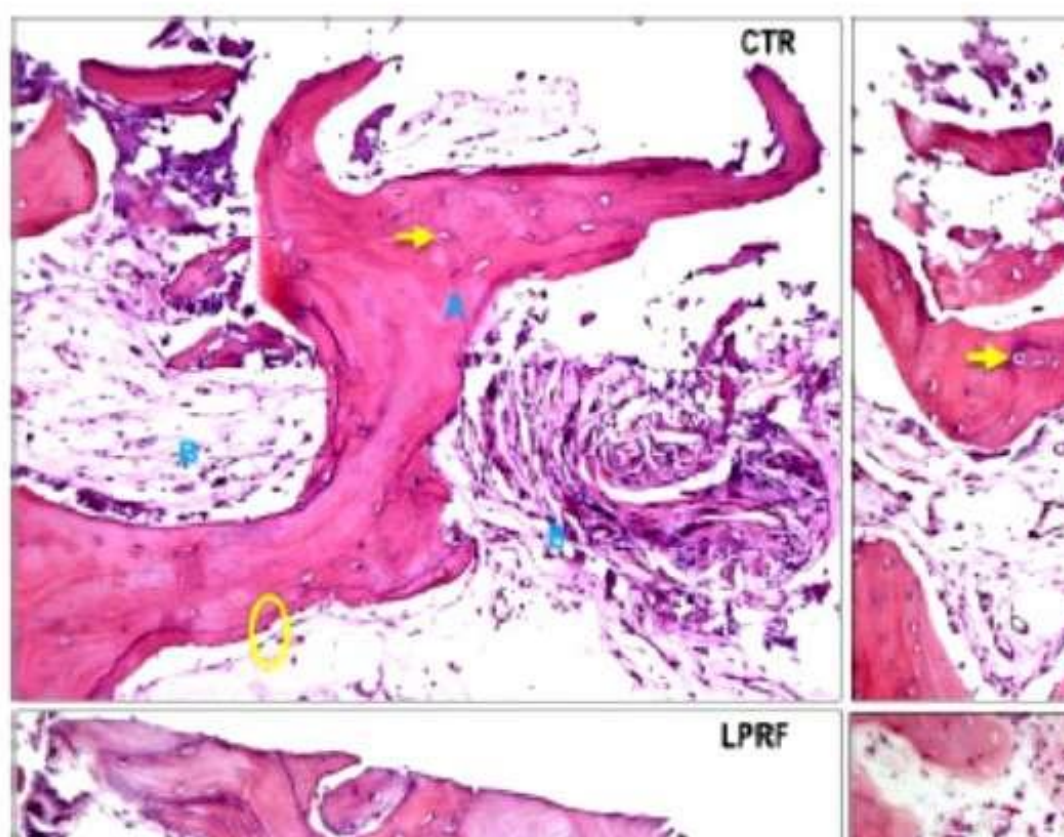
ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

### 3. RESULTADOS

Dentre os seis participantes, a idade variou entre 49 e 68 anos, com prevalência de 66,7% de mulheres (n = 4).

Análises qualitativas demonstraram neoformação óssea com baixa qualidade (Figura 8). As amostras revelaram tecido ainda em processo de organização, com presença de áreas ainda não totalmente organizadas da matriz óssea nos bordos das lesões teciduais.

Figura 8: Fotomicrografias com análises qualitativas dos subgrupos





As análises quantitativas revelaram uma distribuição por entre os subgrupos experimentais (AB, LPRF, LPRFH) e o subgrupo controle (CTR) (Figura 9).

Figura 9: *Boxplot* das microáreas de neoformação óssea dos subgrupos

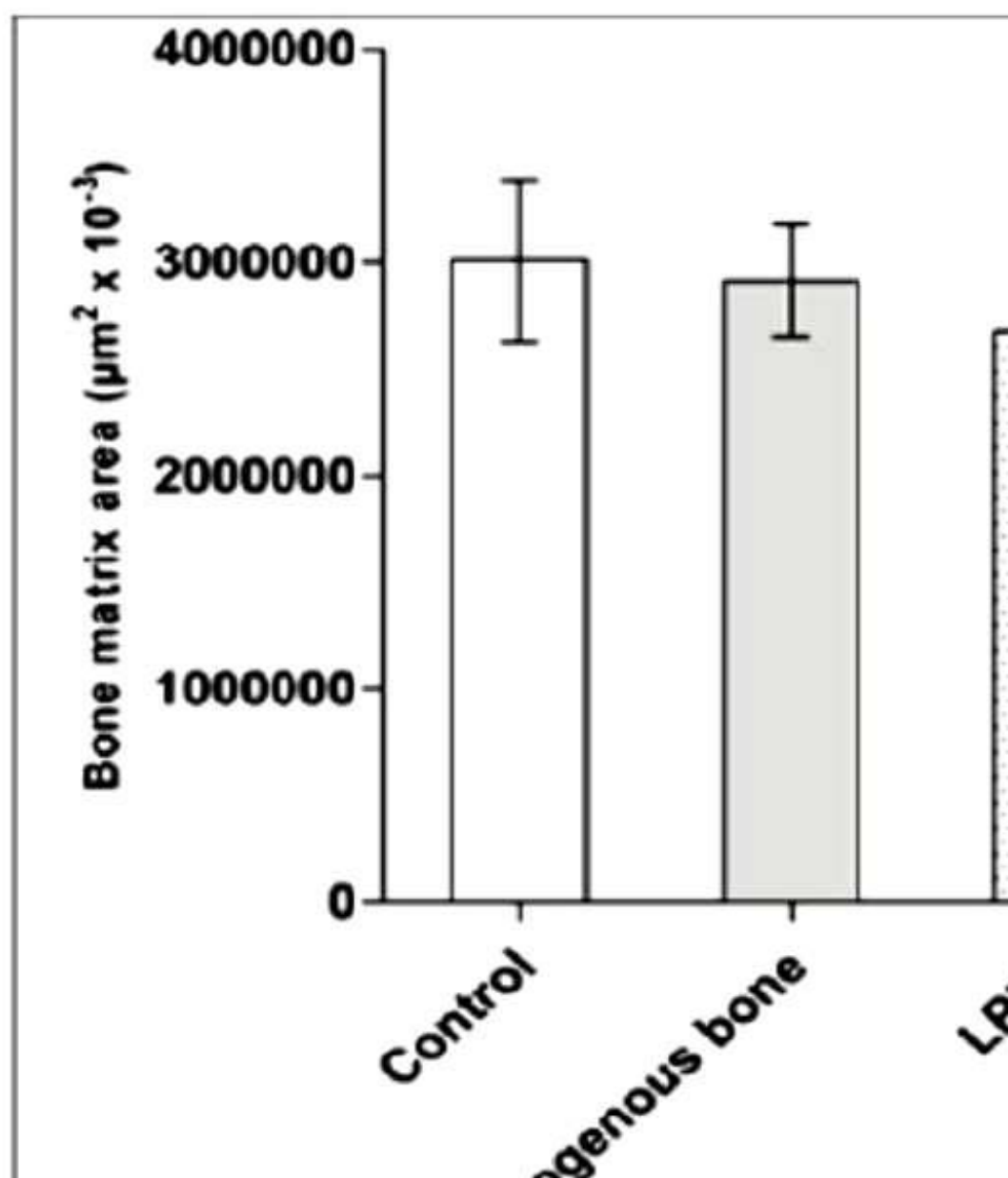






Tabela 1: Comparação dos subgrupos quanto à neoformação óssea

| Subgrupos   | Área da matriz |
|-------------|----------------|
|             | KS             |
| CTR         | 0,18           |
| AB          | 0,22           |
| LPRF        | 0,13           |
| LPRFHA/βTCP | 0,20           |

μm<sup>2</sup> (micrômetro quadrado); KS (*Kolmogorov-Smirnov*); CRT (controlado); AB (membrana de L-PRF); LPRF (membrana de L-PRF); LPRFHA/βTCP (L-PRF associada ao enxerto de βTCP). Pricila Gusmão (2023).

ANOVA *one-way* demonstrou não haver diferença significativa entre os subgrupos. O teste de *Bartlett's* demonstrou subgrupos com variâncias iguais, porém não significativas ( $p = 0,8964$ ).

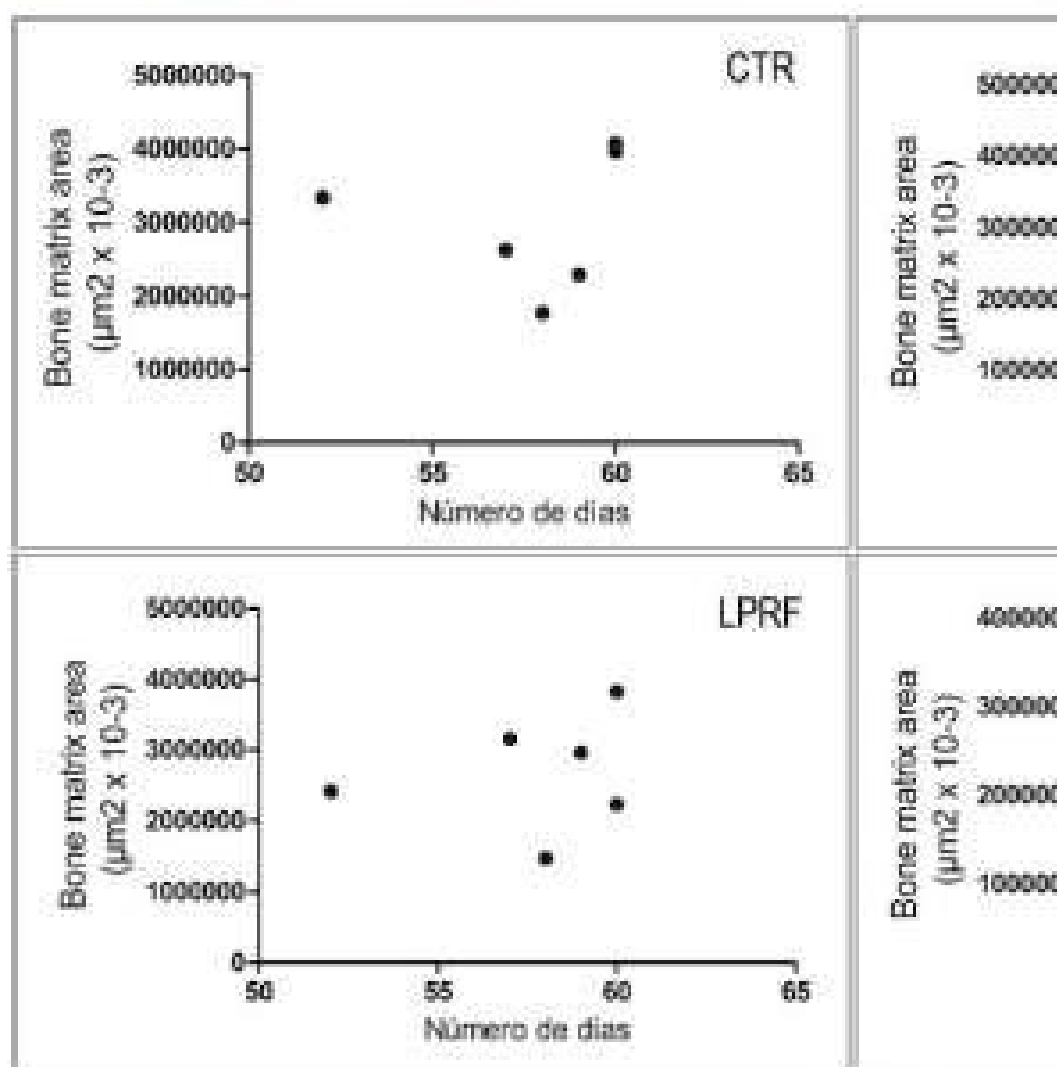
Na comparação dos subgrupos aos pares, o teste de *Tukey* demonstrou que nenhum par apresentou diferença significativa em relação à neoformação óssea.

Tabela 2: Comparação aos pares/subgrupos quanto à neoformação óssea

| Pares Subgrupos   | Área da matriz  |     |
|-------------------|-----------------|-----|
|                   | Diferença Média | p   |
| CTR × AB          | 958801          | 0,2 |
| CTR × LPRF        | 335900          | 1,0 |
| CTR × LPRFHA/βTCP | 575100          | 1,7 |
| AB × LPRF         | 240000          | 0,7 |
| AB × LPRFHA/βTCP  | 479200          | 1,4 |



Figura 10: Gráficos da correlação entre neoformação óssea e tempo



µm<sup>2</sup> (micrômetro quadrado); CRT (controle); AB (Autogenous Bone); LPRFHA/βTCP (L-PRF associada ao enxerto sintético). Fonte:

## 4. DISCUSSÃO

A hipótese deste estudo piloto de que haveria influência da



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

este estudo é o primeiro ECCR histomorfométrico em hu  
PRF, no processo de neoformação óssea, em curto prazo

Neste estudo, previamente aos procedimentos de extraçõ  
guia cirúrgico com demarcações e perfurações na região  
delimitar a região central do alvéolo para coleta do núcleo  
do alvéolos<sup>26,32</sup>, garantindo que o núcleo ósseo estivesse n  
em modelo animal<sup>40</sup>, em alvéolos de extração sem enx  
observando o processo de regeneração óssea iniciado  
formação de novo osso concluída no final de oito seman  
centro do alvéolo, conforme realizado neste estudo e orie

De outra forma, vale lembrar que a L-PRF, dese  
colaboradores<sup>12</sup> é um biomaterial de segunda geração ob  
Esse biomaterial é um coágulo de sangue natural otimiza  
obtida durante o processo de polimerização natural da fib  
fatores de crescimento durante o processo de reparo da  
sem material de enxerto ósseo<sup>2,4,5,11,15,17,19,22-28,31,32,36-39</sup>  
ósseos, a L-PRF age como um conector biológico atraindo  
a migração de células osteoprogenitoras para o cen  
neoangiogênese<sup>21</sup>.

A HA e o  $\beta$ -TCP são materiais sintéticos usados para enxe



quando utilizaram os mesmos biomateriais<sup>2,17,32</sup> ou a osseos<sup>23,32,38</sup>. A regeneração óssea é mais observada nas da ferida<sup>32</sup>, que também foi observado nos estudos de Ch

Corroborando com alguns estudos<sup>17,22,27</sup>, as análises qua uma distribuição proporcional de neoformação óssea qua isolada e quando associada ao HA/ $\beta$ -TCP. Da mesma forma não houve diferença significativa quanto à neoformação ó PRF de forma isolada ou associada ao enxerto sintético resultados de alguns pesquisadores<sup>22,27</sup>.

O HA/ $\beta$ -TCP apresentou resultados promissores na prod enxerto ósseo autógeno. Isto se deve principalmente à c e à estrutura rígida de manutenção de espaço que o HA/ $\beta$

A L-PRF foi capaz de aumentar a qualidade do osso no óssea<sup>24</sup>. O uso da L-PRF na preservação do rebordo alveo a nova formação óssea após a extração dentária, em com de feridas<sup>26</sup>. O uso de L-PRF para preenchimento do alvéo da consolidação óssea com melhor preservação da largur formação de osso novo, o autoenxerto em associa superiores<sup>38</sup>. O uso de L-PRF deve ser preferido devido à e facilidade de uso<sup>39</sup>. As plaquetas e citocinas encontrada da rede de fibrina e liberadas lentamente durante a remo



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

## 5. CONCLUSÃO

As análises qualitativas demonstraram uma distribuição por todo o alvéolo quando se utilizou a L-PRF isoladamente ou quando associada ao enxerto de TCP nos alvéolos humanos pós-extração, demonstrando boa qualidade no período de oito semanas.

Nos resultados quantitativos não houve diferença significativa entre os alvéolos tratados com a L-PRF de forma isolada ou associada ao TCP.

A L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ $\beta$ -TCP mostrou-se previsível para alvéolos humanos pós-extração, havendo a associação à biocerâmica reduzir a neoformação óssea para o alvéolo.

## REFERÊNCIAS

1. Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Nolte LP. Bone healing after tooth extraction in the esthetic zone: a 3D analysis with cone-beam CT. *J Oral Maxillofac Surg*. 2019;77(Suppl):195-201.
2. Yuan S, Li Q, Chen K, Mu Z, Chen T, Wang H, et al. Fabrication of a hydrogel for early angiogenesis and osteogenesis evaluation in a canine. *J Biol Eng*. 2021;15(1):1-11.
3. Bramanti E, Norcia A, Cicciù M, Maticena G, Cervino G. Bone healing of a dental implant in the aesthetic zone, socket shield technique. *J Craniofac Surg*. 2018;29(4):1037-41.



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

10. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan A, Dohan AB, Dohan MH, Dohan EJ, Dohan AS, Dohan AA, Dohan AL, Dohan AO (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: Plateletlet yield, activation, and morphology: does the second-generation platelet concentrate have a unique feature for platelet concentrates? Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2006c;101(3):51-5.
11. Zhao JH, Tsai CH, Chang YC. Clinical application of platelet-rich fibrin (PRF) membrane as a bone graft substitute material in maxillary sinus augmentation. J Formos Med Assoc. 2004;103(12):815-21.
12. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une nouvelle technique de préparation de la fibrine riche en plaquettes (PRF). Implantodontie. 2001;42(1):55-62.
13. De Angelis P, De Angelis S, Passarelli PC, Liguori M, Perrotti G, Perrotti F. Bone and soft tissue evaluation of different socket preservation techniques: a retrospective study on platelet-rich fibrin: a retrospective clinical and volumetric analysis. J Oral Maxillofac Surg. 2019;77(9):1807-15.
14. Chang Y-C, Wu K-C, Zhao J-H. Clinical application of platelet-rich fibrin (PRF) membrane as a bone graft substitute material in periodontal intrabony defects. J Dent Sci. 2005;10(1):1-5.
15. Somani A, Rai R. Comparison of efficacy of autologous conditioned serum serum-derived dressing in chronic venous leg ulcers: a randomised controlled trial. J Wound Care. 2017;10(1):8-12.
16. Miron RJ, Choukroun J. Fibrina rica em plaquetas na Odontologia: aspectos biológicos e estéticos: bases biológicas e aplicações clínicas. São Paulo: Quintessence; 2015.
17. Acar AH, Yolcu Ü, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Altun M. Histological and histomorphometric analysis of the effect of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. Arch Oral Biol. 2014;59(12):1237-43.
18. Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Bellincampi LD. Potential of a new porous hydroxyapatite phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone graft substitute. J Spine (Phila Pa 1976). 2001;26(16):1773-80.
19. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al. Comparison of a porous hydroxyapatite and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: a retrospective study. J Periodontol. 2018;89(4):379-87.
20. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Choukroun J, et al. Platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. J Oral Maxillofac Surg. 2017;21(6):1913-27.
21. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Ehrenfeld M, et al. The use of platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery of the maxilla and mandible: a systematic review.



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR

ISSN: 2448-0959 <https://www.nucleodoconhecimento.com.br>

27. Baghele O, Thorat M, Malpani P. Clinical and radiographic evaluation of bone graft material ( $\beta$ -tricalcium phosphate + hydroxyapatite) in the treatment of intrabony defects of periodontitis patients: a randomized controlled trial. *J Indian Orthod Assoc*. 2023;54(6):472-83.
28. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Berner J. Histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin membrane: a randomized controlled study. *Implant Dent*. 2013;22(3):201-10.
29. International Team for Implantology (ITI). Proceedings of the 10th International Team for Implantology (ITI) Consensus Conference, August 2006. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;24(suppl):7-278.
30. Caplanis N, Lozada JL, Kan JY. Extraction defect management. *J Calif Dent Assoc*. 2005;33(11):853-63.
31. Maia PW, Teixeira ML, Macedo LGS, Aloise AC, Passalunghi AP, et al. Use of platelet-rich fibrin associated with xenograft: a histomorphometric study in rabbits. *Symmetry*. 2019;11(11):1811.
32. Kollati P, Koneru S, Dwarakanath CD, Gottumukkala S. Platelet-rich plasma combined with bovine-derived bovine hydroxyapatite (Cerabone™) combined with socket preservation: a randomized controlled clinical trial. *J Indian Orthod Assoc*. 2019;23(2):145-51.
33. Suaid F, Grisi MF, Souza SL, Palioto DB, Taba M. Bone remodeling after tooth extraction using the flapless approach with bone grafting. A histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2013;13(1):10-17.
34. Mazzone R, Chaves Netto HDM, Nascimento FF. *Enfermagem em Saúde Bucal*. São Paulo: Napoleão; 2012. 574p.
35. Nagato AC, Bezerra FS, Talvani A, Aarestrup BJ, Azeiteiro R. Polarization of the immune response in ovalbumin-induced periodontitis to a TH17 cell phenotype. *Immun Inflamm Dis*. 2015;3(4):251-60.
36. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, et al. Platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;41(8):191-200.



MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC JOURNAL

**NÚCLEO DO  
CONHECIMENTO**

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDIS

ISSN: 2448-0959 <https://www>

Material recebido: 30 de maio de 2024.

Material aprovado pelos pares: 30 de maio de 2024.

Material editado aprovado pelos autores: 10 de Junho de 2024.

---

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Professora em Implante da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Brasil. ORCID: 0000-0002-2389-6570.

<sup>2</sup> Doutorando do programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Cirurgias Avançadas em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Juiz de Fora, Juiz de fora-MG, Brasil; Cirurgião Bucomaxilo da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Guaratinguetá-SP, Brasil. ORCID: 0000-0002-1503-6757.

<sup>3</sup> Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora-MG, Brasil; Doutora em Fisiopatologia Experimental da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil; Pós-doutorado em Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil. ORCID: 0000-0002-1503-6757.

<sup>4</sup> Orientador. Professor Adjunto da Cirurgia Maxilofacial da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Docente do Programa de Pós-graduação em Odontologia (PPgO) (Mestrado e Doutorado) da UFJF, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Juiz de Fora-MG, Brasil. ORCID: 0000-0002-9133-2347.



## APÊNDICE A – Termo de Consentimento



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA –  
JUIZ DE FORA – MG – BRASIL

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCRETO

O Sr. (a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) para participar de um estudo de histomorfométrica do processo de neoformação óssea em alvéolos frescos, associado a plaquetas e leucócitos associado a enxerto sintético – estudo comparativo.

Neste estudo pretendemos avaliar comparativamente, o processo de neoformação óssea em alvéolos frescos tratados com fibrina rica em plaquetas associado a enxerto ósseo sintético e alvéolos frescos tratados com L-PRF associado a preservação do osso alveolar para proporcionar melhores condições de osseointegrados, em um intervalo de tempo de dois meses. Este estudo visa avaliar a arquitetura tridimensional do processo alveolar como também proporcionar uma redução no tempo de espera de incorporação do osso.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: o paciente antes da cirurgia óssea preventiva será submetido(a) a um questionário anamnésico para verificar se o paciente é portador de alguma desordem sistêmica, e ao exame clínico realizado pelo examinador a indicação da técnica cirúrgica de enxertia.

Após a identificação da necessidade de enxertia óssea, o paciente será submetido a uma cirurgia a duas técnicas de enxertia distintas. A primeira técnica será a enxertia imediata de um alvéolo após exodontia com L-PRF associado ao enxerto ósseo e o preparo do L-PRF. A preparação do L-PRF requer uma centrífuga para a obtenção do plasma rico em plaquetas.

cirúrgica(s) ou próxima(s) a ela(s); sintomatologia dolorosa(não medicamentosa); infecção, parestesia(perda de sensibilidade).

Os benefícios deste estudo possibilitarão instalar implante associado a enxerto ósseo sintético, em um intervalo de tempo de 6 meses, o que poderá proporcionar uma redução no tempo de espera de incorporação óssea, otimizar a técnica pela não necessidade de remoção de enxerto anterior, diminuindo a morbidade do ato cirúrgico para o paciente.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo financeiro. Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que lhe for necessário. Sua participação neste estudo é voluntária. A recusa em participar não acarretará qualquer penalidade para você, pois você é atendido pelo pesquisador. Também poderá retirar sua participação a qualquer momento. Os resultados da pesquisa estarão disponíveis para você. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado.

O(A) Sr(a) não será identificado em nenhuma publicação.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo uma arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade de Odontologia, e outra entregue a você.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos do estudo "Processo de neoformação óssea em alvéolos frescos tratados com enxerto associado a enxerto sintético – estudo comparativo *in vivo*", de \_\_\_\_\_, e esclarecidas minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar minha decisão de participar se assim o desejar.

Por este instrumento autorizo e dou plenos poderes a Faculdade de Odontologia, através de seus Professores e alunos, para que realizem estudos, pesquisas, coleta, armazenamento, retenção, para uso em quaisquer fins de ensino, conclave científico, publicação, nacionais e internacionais, no Brasil e no exterior, utilizando de fichas clínicas e prontuários profissionais de sigilo. Declaro que concordo em participar deste estudo e assino este termo de consentimento livre e esclarecido constando de duas vias.

Juiz de Fora, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome Assinatura participante

\_\_\_\_\_  
Nome Assinatura pesquisador

# APÊNDICE B – Publicação ReBEC - I

BRASIL



Public trial

## RBR-8hfzh3t Evaluation of Bone Formation after tooth extraction with Leukocyte-Rich Fibrin alone or...

Date of registration: 08/28/2024 (mm/dd/yyyy)

Last approval date : 08/28/2024 (mm/dd/yyyy)

### Study type:

Interventional

### Scientific title:

**en**

Histomorphometric analysis of the bone neoformation process in fresh sockets treated with fibrin rich in platelets and leukocytes associated with a synthetic graft: in vivo comparative study

**pt-br**

Análise histomorfométrica do processo de neoformação óssea em alvéolos frescos tratados com fibrina rica em plaquetas e leucócitos associado a enxerto sintético: estudo comparativo in vivo

**es**

Histomorphometric analysis of the bone neoformation process in fresh sockets treated with fibrin rich in platelets and leukocytes associated with a synthetic graft: in vivo comparative study

### Trial identification

- UTN code: U1111-1312-1819
- Public title:

**en**

Evaluation of Bone

**pt-br**

Avaliação da Formação

- **Institution:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível S

## Health conditions

- **Health conditions:**

**en**

Alveolar Bone Loss

**pt-br**

Perda do osso alveolar

- **General descriptors for health conditions:**

**en**

G07.345.500.325.377.625  
.050.500.729  
Osteogenesis

**pt-br**

G07.345.500.325.377.625  
.050.500.729 Formação  
Óssea

- **Specific descriptors:**

**en**

C05.116.264.150 Alveolar  
Bone Loss

**pt-br**

C05.116.264.150 Perda do  
osso alveolar

## Interventions

- **Interventions:**

**en**

This is a randomized controlled clinical trial that will be carried out in 40 alveoli, twenty will be selected patients of both sexes, aged between eighteen and seventy years. For the selection of patients will be performed diagnostic image analysis (panoramic radiography) and clinical examination. Participants will be probabilistically allocated to one or the other group of intervention using a table of random numbers. Patients will be divided into two experimental

**pt-br**

Trata-se de um ensaio clínico controlado randomizado que será realizado em 40 alvéolos, serão selecionados vinte pacientes de ambos os sexos, com idade variando entre dezoito e setenta anos. Para a seleção dos pacientes serão realizadas análise de imagem diagnóstica (radiografia panorâmica) e exame clínico. Os participantes serão alocados probabilisticamente a uma ou outro grupo de intervenção utilizando uma tabela de números

with remaining bone < 3 mm up to the anterior nasal fossa, maxillary sinus and mandibular canal, and; patients presenting alveoli with four intact bone walls. After two months of incorporation of the grafts, the implants will be inserted in the region of the alveoli treated with L-PRF associated with graft synthetic and alveoli filled with particulate autogenous bone. The instrumentation for insertion of the implants will be with a trephine drill of 2 mm in diameter, instead of the lance drill and 2 mm drill of the implant kit, since a histological study of the bone tissue found in each region to be implanted. After training the region, biopsies will be collected cylindrical vertically, and the bone fragment removed from the trephine will be stored in a container with 10% formaldehyde already duly specified according to the group to which it belongs. Next will be performed the instrumentation procedure of the cavity in which the implants will be inserted, in the region of sockets treated with L-PRF and synthetic graft (stick bone) and in sockets filled with bone particulate autogenous

com necessidade de exodontia e instalação de implantes no segundo momento cirúrgico; pacientes com remanescente ósseo < 3 mm até fossa nasal anterior, seio maxilar e canal mandibular, e; pacientes apresentando alvéolos com as quatro paredes ósseas íntegras. Após dois meses de incorporação dos enxertos, os implantes serão inseridos na região dos alvéolos tratados com L-PRF associado a enxerto sintético e dos alvéolos preenchidos com osso autógeno particulado. A instrumentação para inserção dos implantes será com uma broca trefina de 2 mm de diâmetro, ao invés de broca lança e broca de 2 mm do kit de implante, uma vez que será feito um estudo histológico do tecido ósseo encontrado em cada região a ser implantada. Após trefinar a região, serão coletadas biopsias cilíndricas no sentido vertical, e o fragmento ósseo retirado da trefina será armazenado em um recipiente com formol a 10% já devidamente especificado de acordo com o grupo a que pertence. Na sequência será realizado o procedimento de instrumentação da

- **Inclusion criteria:**

**en**

Individuals of both sexes aged between 18 and 70 years will be included, with the need for extraction and installation of implants in the second surgical stage, patients with bone remaining < 3 mm up to the anterior nasal fossa; maxillary sinus and mandibular canal; patients presenting alveoli with four bony walls intact

**pt-br**

Serão incluídos indivíduos de ambos os sexos com idade entre 18 e 70 anos, com necessidade de exodontia e instalação de implantes no segundo momento cirúrgico, pacientes com remanescente ósseo < 3 mm até fossa nasal anterior; seio maxilar e canal mandibular; pacientes apresentando alvéolos com as quatro paredes ósseas íntegra

- **Exclusion criteria:**

**en**

individuals with uncontrolled systemic disorder that could interfere with bone healing; using bisphosphonates; denosumab; using corticosteroids; who received therapeutic radiation to the head and neck region in the last five years; history of heavy smoking > 10 cigarettes per day; immunosuppression; individuals with poor oral hygiene and pregnant women

**pt-br**

indivíduos com desordem sistêmica não controlada e que pudesse interferir na cicatrização óssea; em uso de bifosfonatos; denosumabe; em uso de corticoides; que receberam radiação terapêutica na região de cabeça e pescoço nos últimos cinco anos; histórico de tabagismo intenso > 10 cigarros por dia; imunossupressão; indivíduos com má higiene bucal e gestantes

## Study type

- **Study design:**

**en**

No secondary outcomes  
are expected

**pt-br**

Não são esperados  
desfechos secundários

## Contacts

- **Public contact**

- **Full name:** Pricila da Silva Gusmão
- - **Address:** Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro
  - **City:** juiz de fora / Brazil
  - **Zip code:** 36036-900
- **Phone:** + 55 (24) 981542584
- **Email:** pricilasgusmao@gmail.com
- **Affiliation:** Universidade Federal de Juiz de Fora

- **Scientific contact**

- **Full name:** Pricila da Silva Gusmão
- - **Address:** Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro
  - **City:** juiz de fora / Brazil
  - **Zip code:** 36036-900
- **Phone:** + 55 (24) 981542584
- **Email:** pricilasgusmao@gmail.com
- **Affiliation:** Universidade Federal de Juiz de Fora

- **Site contact**

- **Full name:** Pricila da Silva Gusmão
- - **Address:** Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro
  - **City:** juiz de fora / Brazil
  - **Zip code:** 36036-900
- **Phone:** + 55 (24) 981542584
- **Email:** pricilasgusmao@gmail.com
- **Affiliation:** Universidade Federal de Juiz de Fora

## Additional links:

- [Download in ICTRP format](#)

## APÊNDICE C – Dados quantitativos de ARO

| MICROFOTOGRAFIA   | ARO ( $\mu\text{m}^2$ ) | ARO (%) |
|-------------------|-------------------------|---------|
| AB01-1.czi - C=1  | 4.034.716.128           | 64,5    |
| AB01-2.czi - C=1  | 3.236.970.582           | 51,7    |
| AB01-3.czi - C=1  | 2.573.374.218           | 41,1    |
| AB01-4.czi - C=1  | 2.565.394.067           | 41,0    |
| AB01-5.czi - C=1  | 2.360.643.365           | 37,7    |
| AB01-6.czi - C=1  | 3.164.341.593           | 50,6    |
| AB01-7.czi - C=1  | 3.016.610.953           | 48,2    |
| AB01-8.czi - C=1  | 3.085.639.541           | 49,3    |
| AB01-9.czi - C=1  | 3.845.555.517           | 61,4    |
| AB01-10.czi - C=1 | 3.372.283.006           | 53,9    |
| AB02-1.czi - C=1  | 3.819.011.947           | 66,9    |
| AB02-2.czi - C=1  | 3.378.329.545           | 59,2    |
| AB02-3.czi - C=1  | 3.839.568.697           | 67,3    |
| AB02-4.czi - C=1  | 3.480.976.716           | 61,0    |
| AB02-5.czi - C=1  | 2.719.162.550           | 47,7    |
| AB02-6.czi - C=1  | 3.858.594.439           | 67,6    |
| AB02-7.czi - C=1  | 1.784.430.771           | 31,3    |
| AB02-8.czi - C=1  | 2.158.431.367           | 37,8    |
| AB02-9.czi - C=1  | 3.352.294.128           | 58,8    |
| AB02-10.czi - C=1 | 3.800.278.448           | 66,6    |
| AB05-1.czi - C=1  | 3.032.023.482           | 49,4    |
| AB05-2.czi - C=1  | 3.441.671.686           | 56,1    |
| AB05-3.czi - C=1  | 3.197.706.663           | 52,1    |
| AB05-4.czi - C=1  | 3.979.253.239           | 64,9    |
| AB05-5.czi - C=1  | 2.267.503.897           | 37,0    |
| AB05-6.czi - C=1  | 2.027.390.439           | 33,1    |
| AB05-7.czi - C=1  | 2.345.869.467           | 38,3    |
| AB05-8.czi - C=1  | 2.990.149.842           | 48,8    |
| AB05-9.czi - C=1  | 3.025.889.902           | 49,3    |
| AB05-10.czi - C=1 | 3.787.077.398           | 61,8    |
| AB06-1.czi - C=1  | 2.702.656.824           | 44,1    |
| AB06-2.czi - C=1  | 2.311.086.778           | 37,7    |
| AB06-3.czi - C=1  | 2.309.690.259           | 37,7    |
| AB06-4.czi - C=1  | 1.720.669.726           | 28,1    |
| AB06-5.czi - C=1  | 1.623.876.958           | 26,5    |
| AB06-6.czi - C=1  | 2.735.897.151           | 44,6    |
| AB06-7.czi - C=1  | 955.220.856             | 15,6    |
| AB06-8.czi - C=1  | 1.575.361.290           | 25,7    |
| AB06-9.czi - C=1  | 1.768.367.947           | 28,8    |
| AB06-10.czi - C=1 | 1.237.620.418           | 20,2    |
| AB07-1.czi - C=1  | 4.694.358.360           | 82,3    |
| AB07-2.czi - C=1  | 4.222.669.836           | 74,0    |
| AB07-3.czi - C=1  | 4.324.681.990           | 75,8    |
| AB07-4.czi - C=1  | 4.760.564.940           | 83,4    |
| AB07-5.czi - C=1  | 3.146.584.450           | 55,2    |
| AB07-6.czi - C=1  | 1.532.900.616           | 26,9    |
| AB07-7.czi - C=1  | 3.021.010.758           | 53,0    |
| AB07-8.czi - C=1  | 2.904.683.097           | 50,9    |
| AB07-9.czi - C=1  | 2.681.148.824           | 47,0    |
| AB07-10.czi - C=1 | 3.871.276.614           | 67,9    |
| AB08-1.czi - C=1  | 2.343.328.264           | 38,2    |
| AB08-2.czi - C=1  | 2.761.411.482           | 45,0    |
| AB08-3.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-4.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-5.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-6.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-7.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-8.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-9.czi - C=1  | 2.736.471.888           | 45,0    |
| AB08-10.czi - C=1 | 2.736.471.888           | 45,0    |

|                   |
|-------------------|
| AB11-5.czi - C=1  |
| AB11-6.czi - C=1  |
| AB11-7.czi - C=1  |
| AB11-8.czi - C=1  |
| AB11-9.czi - C=1  |
| AB11-10.czi - C=1 |
| AB12-1.czi - C=1  |
| AB12-2.czi - C=1  |
| AB12-3.czi - C=1  |
| AB12-4.czi - C=1  |
| AB12-5.czi - C=1  |
| AB12-6.czi - C=1  |
| AB12-7.czi - C=1  |
| AB12-8.czi - C=1  |
| AB12-9.czi - C=1  |
| AB12-10.czi - C=1 |
| AB13-1.czi - C=1  |
| AB13-2.czi - C=1  |
| AB13-3.czi - C=1  |
| AB13-4.czi - C=1  |
| AB13-5.czi - C=1  |
| AB13-6.czi - C=1  |
| AB13-7.czi - C=1  |
| AB13-8.czi - C=1  |
| AB13-9.czi - C=1  |
| AB13-10.czi - C=1 |
| AB14-1.czi - C=1  |
| AB14-2.czi - C=1  |
| AB14-3.czi - C=1  |
| AB14-4.czi - C=1  |
| AB14-5.czi - C=1  |
| AB14-6.czi - C=1  |
| AB14-7.czi - C=1  |
| AB14-8.czi - C=1  |
| AB14-9.czi - C=1  |
| AB14-10.czi - C=1 |
| AB15-1.czi - C=1  |
| AB15-2.czi - C=1  |
| AB15-3.czi - C=1  |
| AB15-4.czi - C=1  |
| AB15-5.czi - C=1  |
| AB15-6.czi - C=1  |
| AB15-7.czi - C=1  |
| AB15-8.czi - C=1  |
| AB15-9.czi - C=1  |
| AB15-10.czi - C=1 |
| AB16-1.czi - C=1  |
| AB16-2.czi - C=1  |
| AB16-3.czi - C=1  |
| AB16-4.czi - C=1  |
| AB16-5.czi - C=1  |
| AB16-6.czi - C=1  |
| AB16-7.czi - C=1  |
| AB16-8.czi - C=1  |



| <b>MICROFOTOGRAFIA</b> | <b>ARO (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b> | <b>ARO (%)</b> |
|------------------------|---|----------------|
| CTR01-1.czi - C=1      | 2.902.939.143                           | 47,3           |
| CTR01-2.czi - C=1      | 3.116.555.399                           | 50,8           |
| CTR01-3.czi - C=1      | 1.498.507.814                           | 24,4           |
| CTR01-4.czi - C=1      | 2.611.233.509                           | 42,6           |
| CTR01-5.czi - C=1      | 2.032.294.018                           | 33,1           |
| CTR01-6.czi - C=1      | 2.322.509.477                           | 37,9           |
| CTR01-7.czi - C=1      | 1.971.204.882                           | 32,1           |
| CTR01-8.czi - C=1      | 2.350.236.706                           | 38,3           |
| CTR01-9.czi - C=1      | 2.453.801.558                           | 40,0           |
| CTR01-10.czi - C=1     | 1.636.561.155                           | 26,7           |
| CTR02-1.czi - C=1      | 2.838.787.898                           | 49,8           |
| CTR02-2.czi - C=1      | 2.346.149.843                           | 41,1           |
| CTR02-3.czi - C=1      | 3.358.716.703                           | 58,9           |
| CTR02-4.czi - C=1      | 3.654.471.456                           | 64,1           |
| CTR02-5.czi - C=1      | 2.816.597.927                           | 49,4           |
| CTR02-6.czi - C=1      | 2.908.395.311                           | 51,0           |
| CTR02-7.czi - C=1      | 3.150.958.648                           | 55,2           |
| CTR02-8.czi - C=1      | 2.616.162.266                           | 45,9           |
| CTR02-9.czi - C=1      | 3.710.803.521                           | 65,0           |
| CTR02-10.czi - C=1     | 3.536.489.346                           | 62,0           |
| CTR05-1.czi - C=1      | 3.044.405.832                           | 49,6           |
| CTR05-2.czi - C=1      | 3.140.926.303                           | 51,2           |
| CTR05-3.czi - C=1      | 2.484.971.493                           | 40,5           |
| CTR05-4.czi - C=1      | 2.679.890.365                           | 43,7           |
| CTR05-5.czi - C=1      | 4.572.655.524                           | 74,6           |
| CTR05-6.czi - C=1      | 3.796.275.169                           | 61,9           |
| CTR05-7.czi - C=1      | 3.144.789.909                           | 51,3           |
| CTR05-8.czi - C=1      | 2.902.031.653                           | 47,3           |
| CTR05-9.czi - C=1      | 3.810.640.659                           | 62,1           |
| CTR05-10.czi - C=1     | 3.777.054.779                           | 61,6           |
| CTR06-1.czi - C=1      | 2.722.476.946                           | 44,4           |
| CTR06-2.czi - C=1      | 3.387.327.772                           | 55,2           |
| CTR06-3.czi - C=1      | 2.667.170.872                           | 43,5           |
| CTR06-4.czi - C=1      | 3.014.057.238                           | 49,1           |
| CTR06-5.czi - C=1      | 2.242.684.069                           | 36,6           |
| CTR06-6.czi - C=1      | 1.797.682.589                           | 29,3           |
| CTR06-7.czi - C=1      | 1.321.691.291                           | 21,6           |
| CTR06-8.czi - C=1      | 1.709.034.125                           | 27,9           |
| CTR06-9.czi - C=1      | 3.118.316.742                           | 50,8           |
| CTR06-10.czi - C=1     | 4.277.966.879                           | 69,8           |
| CTR07-1.czi - C=1      | 3.951.498.436                           | 69,3           |
| CTR07-2.czi - C=1      | 3.086.403.316                           | 54,1           |
| CTR07-3.czi - C=1      | 3.299.879.926                           | 57,8           |
| CTR07-4.czi - C=1      | 3.884.671.737                           | 68,1           |
| CTR07-5.czi - C=1      | 4.713.075.052                           | 82,6           |
| CTR07-6.czi - C=1      | 4.240.799.012                           | 74,3           |
| CTR07-7.czi - C=1      | 3.417.164.978                           | 59,9           |
| CTR07-8.czi - C=1      | 4.070.992.409                           | 71,4           |
| CTR07-9.czi - C=1      | 4.991.414.699                           | 87,5           |
| CTR07-10.czi - C=1     | 4.232.263.563                           | 74,2           |
| CTR08-1.czi - C=1      | 3.344.156.236                           | 54,5           |
| CTR08-2.czi - C=1      | 3.325.353.158                           | 54,2           |
| CTR08-3.czi - C=1      | 4.218.091.876                           | 68,8           |

|              |
|--------------|
| CTR11-6.czi  |
| CTR11-7.czi  |
| CTR11-8.czi  |
| CTR11-9.czi  |
| CTR11-10.czi |
| CTR12-1.czi  |
| CTR12-2.czi  |
| CTR12-3.czi  |
| CTR12-4.czi  |
| CTR12-5.czi  |
| CTR12-6.czi  |
| CTR12-7.czi  |
| CTR12-8.czi  |
| CTR12-9.czi  |
| CTR12-10.czi |
| CTR13-1.czi  |
| CTR13-2.czi  |
| CTR13-3.czi  |
| CTR13-4.czi  |
| CTR13-5.czi  |
| CTR13-6.czi  |
| CTR13-7.czi  |
| CTR13-8.czi  |
| CTR13-9.czi  |
| CTR13-10.czi |
| CTR14-1.czi  |
| CTR14-2.czi  |
| CTR14-3.czi  |
| CTR14-3.czi  |
| CTR14-4.czi  |
| CTR14-5.czi  |
| CTR14-6.czi  |
| CTR14-7.czi  |
| CTR14-8.czi  |
| CTR14-9.czi  |
| CTR14-10.czi |
| CTR15-1.czi  |
| CTR15-2.czi  |
| CTR15-3.czi  |
| CTR15-4.czi  |
| CTR15-5.czi  |
| CTR15-6.czi  |
| CTR15-7.czi  |
| CTR15-8.czi  |
| CTR15-9.czi  |
| CTR15-10.czi |
| CTR16-1.czi  |
| CTR16-2.czi  |
| CTR16-3.czi  |
| CTR16-4.czi  |
| CTR16-5.czi  |
| CTR16-6.czi  |
| CTR16-7.czi  |
| CTR16-8.czi  |

| <b>MICROFOTOGRAFIA</b> | <b>ARO (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b> | <b>ARO (%)</b> |
|------------------------|---|----------------|
| LPRF01-1.czi - C=1     | 2.455.829.521                           | 40,0           |
| LPRF01-2.czi - C=1     | 3.688.879.546                           | 60,2           |
| LPRF01-3.czi - C=1     | 3.159.694.137                           | 51,5           |
| LPRF01-4.czi - C=1     | 1.660.259.384                           | 27,1           |
| LPRF01-5.czi - C=1     | 1.891.422.105                           | 30,8           |
| LPRF01-6.czi - C=1     | 3.745.926.496                           | 61,1           |
| LPRF01-7.czi - C=1     | 3.253.999.172                           | 53,1           |
| LPRF01-8.czi - C=1     | 4.008.423.233                           | 65,4           |
| LPRF01-9.czi - C=1     | 3.873.705.491                           | 63,2           |
| LPRF01-10.czi - C=1    | 1.829.992.335                           | 29,8           |
| LPRF02-1.czi - C=1     | 3.204.565.389                           | 56,2           |
| LPRF02-2.czi - C=1     | 3.835.028.403                           | 67,2           |
| LPRF02-3.czi - C=1     | 1.959.464.624                           | 34,3           |
| LPRF02-4.czi - C=1     | 3.422.391.414                           | 60,0           |
| LPRF02-5.czi - C=1     | 3.913.182.521                           | 68,6           |
| LPRF02-6.czi - C=1     | 2.991.796.119                           | 52,4           |
| LPRF02-7.czi - C=1     | 3.673.784.462                           | 64,4           |
| LPRF02-8.czi - C=1     | 3.872.231.836                           | 67,9           |
| LPRF02-9.czi - C=1     | 2.187.576.932                           | 38,3           |
| LPRF02-10.czi - C=1    | 3.061.506.445                           | 53,7           |
| LPRF05-1.czi - C=1     | 2.612.937.837                           | 42,6           |
| LPRF05-2.czi - C=1     | 3.140.926.303                           | 51,2           |
| LPRF05-3.czi - C=1     | 2.484.971.493                           | 40,5           |
| LPRF05-4.czi - C=1     | 2.589.035.223                           | 42,2           |
| LPRF05-5.czi - C=1     | 2.317.296.857                           | 37,8           |
| LPRF05-6.czi - C=1     | 3.497.443.516                           | 57,0           |
| LPRF05-7.czi - C=1     | 1.807.780.609                           | 29,5           |
| LPRF05-8.czi - C=1     | 2.790.294.448                           | 45,5           |
| LPRF05-9.czi - C=1     | 2.594.804.918                           | 42,3           |
| LPRF05-10.czi - C=1    | 1.057.749.377                           | 17,2           |
| LPRF06-1.czi - C=1     | 3.989.559.237                           | 65,1           |
| LPRF06-2.czi - C=1     | 4.563.248.365                           | 74,4           |
| LPRF06-3.czi - C=1     | 3.982.953.747                           | 64,9           |
| LPRF06-4.czi - C=1     | 3.203.682.022                           | 52,2           |
| LPRF06-5.czi - C=1     | 2.662.605.346                           | 43,4           |
| LPRF06-6.czi - C=1     | 2.535.738.727                           | 41,3           |
| LPRF06-7.czi - C=1     | 4.084.094.384                           | 66,6           |
| LPRF06-8.czi - C=1     | 2.113.765.267                           | 34,5           |
| LPRF06-9.czi - C=1     | 2.573.029.986                           | 42,0           |
| LPRF06-10.czi - C=1    | 1.752.754.354                           | 28,6           |
| LPRF07-1.czi - C=1     | 3.155.779.805                           | 55,3           |
| LPRF07-2.czi - C=1     | 4.053.604.519                           | 71,0           |
| LPRF07-3.czi - C=1     | 3.802.200.195                           | 66,6           |
| LPRF07-4.czi - C=1     | 3.388.911.173                           | 59,4           |
| LPRF07-5.czi - C=1     | 3.649.667.146                           | 64,0           |
| LPRF07-6.czi - C=1     | 4.727.786.557                           | 82,9           |
| LPRF07-7.czi - C=1     | 5.267.970.931                           | 92,3           |
| LPRF07-8.czi - C=1     | 4.225.854.555                           | 74,1           |
| LPRF07-9.czi - C=1     | 4.020.384.873                           | 70,5           |
| LPRF07-10.czi - C=1    | 3.166.459.982                           | 55,5           |
| LPRF08-1.czi - C=1     | 1.940.998.526                           | 31,7           |
| LPRF08-2.czi - C=1     | 1.776.648.478                           | 29,0           |
| LPRF08-3.czi - C=1     | 2.071.705.499                           | 33,8           |

LPRF11-5.czi  
LPRF11-6.czi  
LPRF11-7.czi  
LPRF11-8.czi  
LPRF11-9.czi  
LPRF11-10.czi

LPRF12-2.czi  
LPRF12-3.czi  
LPRF12-4.czi  
LPRF12-5.czi  
LPRF12-6.czi  
LPRF12-7.czi  
LPRF12-8.czi  
LPRF12-9.czi  
LPRF12-10.czi

LPRF13-1.czi  
LPRF13-2.czi  
LPRF13-3.czi  
LPRF13-4.czi  
LPRF13-5.czi  
LPRF13-6.czi  
LPRF13-7.czi  
LPRF13-8.czi  
LPRF13-9.czi  
LPRF13-10.czi

LPRF14-1.czi  
LPRF14-2.czi  
CTR14-3.czi -  
LPRF14-4.czi  
LPRF14-5.czi  
LPRF14-6.czi  
LPRF14-7.czi  
LPRF14-8.czi  
LPRF14-9.czi  
LPRF14-10.czi

LPRF15-1.czi  
LPRF15-2.czi  
LPRF15-3.czi  
LPRF15-4.czi  
LPRF15-5.czi  
LPRF15-6.czi  
LPRF15-7.czi  
LPRF15-8.czi  
LPRF15-9.czi  
LPRF15-10.czi

LPRF16-1.czi  
LPRF16-2.czi  
LPRF16-3.czi  
LPRF16-4.czi  
LPRF16-5.czi  
LPRF16-6.czi  
LPRF16-7.czi  
LPRF16-8.czi  
LPRF16-9.czi  
LPRF16-10.czi

| <b>MICROFOTOGRAFIA</b> | <b>ARO (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b> | <b>ARO (%)</b> |
|------------------------|---|----------------|
| LPRFHA01-1.czi - C=1   | 1.495.361.967                           | 24,4           |
| LPRFHA01-2.czi - C=1   | 2.032.381.608                           | 33,1           |
| LPRFHA01-3.czi - C=1   | 2.385.118.021                           | 38,9           |
| LPRFHA01-4.czi - C=1   | 2.530.358.283                           | 41,3           |
| LPRFHA01-5.czi - C=1   | 2.297.261.463                           | 37,5           |
| LPRFHA01-6.czi - C=1   | 2.660.315.988                           | 43,4           |
| LPRFHA01-7.czi - C=1   | 2.459.036.159                           | 40,1           |
| LPRFHA01-8.czi - C=1   | 2.191.467.879                           | 35,7           |
| LPRFHA01-9.czi - C=1   | 2.523.520.559                           | 41,1           |
| LPRFHA01-10.czi - C=1  | 1.819.129.121                           | 29,7           |
| LPRFHA02-1.czi - C=1   | 2.797.945.836                           | 49,0           |
| LPRFHA02-2.czi - C=1   | 3.647.325.712                           | 63,9           |
| LPRFHA02-3.czi - C=1   | 4.096.599.208                           | 71,8           |
| LPRFHA02-4.czi - C=1   | 4.351.406.812                           | 76,3           |
| LPRFHA02-5.czi - C=1   | 4.717.686.578                           | 82,7           |
| LPRFHA02-6.czi - C=1   | 4.450.511.585                           | 78,0           |
| LPRFHA02-7.czi - C=1   | 3.755.073.581                           | 65,8           |
| LPRFHA02-8.czi - C=1   | 3.474.496.401                           | 60,9           |
| LPRFHA02-9.czi - C=1   | 4.561.901.187                           | 80,0           |
| LPRFHA02-10.czi - C=1  | 4.066.472.322                           | 71,3           |
| LPRFHA05-1.czi - C=1   | 3.258.741.043                           | 53,1           |
| LPRFHA05-2.czi - C=1   | 3.508.888.066                           | 57,2           |
| LPRFHA05-3.czi - C=1   | 4.054.949.755                           | 66,1           |
| LPRFHA05-4.czi - C=1   | 2.901.739.731                           | 47,3           |
| LPRFHA05-5.czi - C=1   | 4.153.217.173                           | 67,7           |
| LPRFHA05-6.czi - C=1   | 3.709.630.215                           | 60,5           |
| LPRFHA05-7.czi - C=1   | 2.995.081.459                           | 48,8           |
| LPRFHA05-8.czi - C=1   | 3.712.052.223                           | 60,5           |
| LPRFHA05-9.czi - C=1   | 2.143.055.643                           | 34,9           |
| LPRFHA05-10.czi - C=1  | 4.104.966.726                           | 66,9           |
| LPRFHA06-1.czi - C=1   | 2.669.746.172                           | 43,5           |
| LPRFHA06-2.czi - C=1   | 1.604.836.591                           | 26,2           |
| LPRFHA06-3.czi - C=1   | 1.618.764.057                           | 26,4           |
| LPRFHA06-4.czi - C=1   | 2.223.615.776                           | 36,3           |
| LPRFHA06-5.czi - C=1   | 2.193.116.212                           | 35,8           |
| LPRFHA06-6.czi - C=1   | 2.751.578.736                           | 44,9           |
| LPRFHA06-7.czi - C=1   | 2.806.268.012                           | 45,8           |
| LPRFHA06-8.czi - C=1   | 2.443.950.517                           | 39,9           |
| LPRFHA06-9.czi - C=1   | 1.307.257.783                           | 21,3           |
| LPRFHA06-10.czi - C=1  | 779.757.113                             | 12,7           |
| LPRFHA07-1.czi - C=1   | 4.434.363.731                           | 77,7           |
| LPRFHA07-2.czi - C=1   | 4.720.477.606                           | 82,7           |
| LPRFHA07-3.czi - C=1   | 3.710.891.924                           | 65,0           |
| LPRFHA07-4.czi - C=1   | 3.978.072.634                           | 69,7           |
| LPRFHA07-5.czi - C=1   | 3.413.656.705                           | 59,8           |
| LPRFHA07-6.czi - C=1   | 3.429.042.458                           | 60,1           |
| LPRFHA07-7.czi - C=1   | 3.752.401.493                           | 65,8           |
| LPRFHA07-8.czi - C=1   | 3.596.566.295                           | 63,0           |
| LPRFHA07-9.czi - C=1   | 3.418.009.166                           | 59,9           |
| LPRFHA07-10.czi - C=1  | 2.849.393.272                           | 49,9           |
| LPRFHA08-1.czi - C=1   | 3.232.820.406                           | 52,7           |
| LPRFHA08-2.czi - C=1   | 2.590.454.779                           | 42,2           |
| LPRFHA08-3.czi - C=1   | 2.453.008.481                           | 40,0           |

LPRFHA11-5.  
LPRFHA11-6.  
LPRFHA11-7.  
LPRFHA11-8.  
LPRFHA11-9.  
LPRFHA11-10.  
LPRFHA12-1.  
LPRFHA12-2.  
LPRFHA12-3.  
LPRFHA12-4.  
LPRFHA12-5.  
LPRFHA12-6.  
LPRFHA12-7.  
LPRFHA12-8.  
LPRFHA12-9.  
LPRFHA12-10.  
LPRFHA13-1.  
LPRFHA13-2.  
LPRFHA13-3.  
LPRFHA13-4.  
LPRFHA13-5.  
LPRFHA13-6.  
LPRFHA13-7.  
LPRFHA13-8.  
LPRFHA13-9.  
LPRFHA13-10.  
LPRFHA14-1.  
LPRFHA14-2.  
LPRFHA14-3.  
LPRFHA14-4.  
LPRFHA14-5.  
LPRFHA14-6.  
LPRFHA14-7.  
LPRFHA14-8.  
LPRFHA14-9.  
LPRFHA14-10.  
LPRFHA15-1.  
LPRFHA15-2.  
LPRFHA15-3.  
LPRFHA15-4.  
LPRFHA15-5.  
LPRFHA15-6.  
LPRFHA15-7.  
LPRFHA15-8.  
LPRFHA15-9.  
LPRFHA15-10.  
LPRFHA16-1.  
LPRFHA16-2.  
LPRFHA16-3.  
LPRFHA16-4.  
LPRFHA16-5.  
LPRFHA16-6.  
LPRFHA16-7.  
LPRFHA16-8.  
LPRFHA16-9.  
LPRFHA16-10.