



AVALIAÇÃO DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA EM ALVÉOLOS FRESCOS TRATADOS COM L-PRF ASSOCIADA OU NÃO A ENXERTO SINTÉTICO: ESTUDO PILOTO

ARTIGO ORIGINAL

GUSMÃO, Pricila da Silva¹, NUNES, Luiz Marcelo Amaral Galvão², FABRI, Gisele Maria Campos³, CHAVES NETTO, Henrique Duque de Miranda⁴

GUSMÃO, Pricila da Silva *et al.* **Avaliação da neoformação óssea em alvéolos frescos tratados com L-PRF associada ou não a enxerto sintético: estudo piloto.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 09, Ed. 05, Vol. 02, pp. 122-143. Maio de 2024. ISSN: 2448-0959, Link de acesso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/odontologia/avaliacao-da-neoformacao>, DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/odontologia/avaliacao-da-neoformacao

RESUMO

Introdução: A extração do elemento dentário é seguida por mudanças nos tecidos moles e duros que podem comprometer a colocação de implantes. **Objetivo:** Comparar, por histomorfometria, a eficácia da L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ β -TCP, no processo de neoformação óssea em alvéolos humanos, após um período de oito semanas das extrações dentárias. **Método:** Para este estudo piloto, um total de dez participantes foi alocado em dois grupos: G1 (n = 8) para quatro alvéolos maxilares (n = 8) e G2 (n = 2) para quatro alvéolos mandibulares. De cada grupo foram obtidos quatro subgrupos de acordo com o tratamento dos alvéolos (G1, n = 32; G2, n = 8): controle (CTR), apenas exodontias dos elementos dentários, servindo como parâmetro para comparação com os subgrupos experimentais; *Autogenous bone* (AB), osso autógeno particulado; L-PRF (LPRF), membrana de L-PRF, e; L-PRF + HA/ β -TCP (LPRFHA/ β TCP), membrana de L-PRF associada ao enxerto sintético. Os participantes passaram por dois procedimentos cirúrgicos: primeira fase de exodontia e enxertia e a segunda, após oito semanas, coleta de material para análise histomorfométrica e instalação dos implantes. **Resultados:** Seis dos dez participantes iniciais apresentaram idades entre 49 e 68 anos (média $60,83 \pm 2,23$ anos) e as mulheres foram prevalentes com 66,7% (n = 4). Análises qualitativas de 240 lâminas (24 alvéolos) demonstraram neoformação óssea com diferentes graus de maturidade. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos ($p > 0,10$). **Conclusão:** A L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ β -TCP demonstrou ser um biomaterial previsível para alvéolos humanos pós-extração, havendo uma tendência de a L-PRF associada à biocerâmica reduzir a neoformação óssea para o período de oito semanas.



Palavras-chave: Alvéolo Dental, Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos, Hidroxiapatita- β -Fosfato Tricálcio, Regeneração Óssea.

1. INTRODUÇÃO

As extrações dentárias induzem um inevitável processo de remodelação da crista alveolar, que pode comprometer, subsequentemente, a reabilitação com implantes¹. O processo de reabsorção óssea é iniciado imediatamente após a extração, levando a uma redução de 3-5 mm nas dimensões horizontal e de 1-3 mm nas dimensões verticais nos primeiros três a seis meses. A falta do ligamento periodontal (LP) resultará na falta de suporte vascular e reabsorção óssea². A magnitude da contração horizontal é mais pronunciada quando comparada à vertical e a reabsorção da crista alveolar não pode ser completamente evitada pelas técnicas de preservação alveolar¹⁻³.

O benefício da preservação alveolar em nível histológico, apresenta evidências contraditórias, pois sugere não promover a formação de novos tecidos duros rotineiramente^{2,4,5}. Além disso, alguns materiais de enxerto podem interferir na cicatrização⁴. Devido à grande variedade de materiais utilizados, técnicas, morfologias de defeitos, períodos de cicatrização, bem como o tamanho do defeito ósseo demonstrou que as técnicas de preservação alveolar não são previsíveis². Consequentemente, ainda não existe materiais e técnicas cirúrgicas de preservação alveolar considerados "padrão-ouro"³. Nesse cenário, a melhor escolha da técnica de preservação da crista alveolar permanece um desafio na Odontologia^{4,5}.

Nas últimas décadas, estudos relacionados à engenharia tecidual envolvendo biomateriais estão ganhando ênfase na área médica e odontológica. Nesse contexto, o uso de materiais enriquecidos com plaquetas tem proporcionado bons resultados, sobretudo a fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF), a qual se apresenta como uma das alternativas promissoras de fonte autóloga de citocinas e fatores de crescimento capazes de favorecerem a regeneração tecidual⁶⁻¹¹.

A L-PRF foi descrita pela primeira vez por Choukroun e seus colaboradores, na França, em 2001¹², e surgiu como segunda geração de concentrados de plaquetas, como uma formulação melhorada do plasma rico em plaquetas (PRP), apresentando excelência nos processos de cicatrização de tecidos moles e duros assim como na redução do tempo de cicatrização dos tecidos^{4,13-15}.



A L-PRF isoladamente não é considerada osteoindutora devido à sua incapacidade em formar osso ectópico, mas sua combinação com células osteoprogenitoras melhora o potencial osteoindutor das células-tronco¹⁶. A hidroxiapatita (HA) e o beta fosfato tricálcico (β -TCP) são materiais de enxerto sintético geralmente usados em combinação¹⁷. Alguns autores¹⁷⁻¹⁹ demonstraram que a L-PRF associada ao HA/ β TCP é osteoindutora pela capacidade de promover osteogênese. Foi admitido que esses materiais de enxerto, embora careçam de propriedades osteoindutoras e osteogênicas têm efeitos osteocondutores^{17,19,20}. A questão que tem sido relatada é se a combinação da L-PRF com os enxertos ósseos tem o potencial de figurar como agente osteoindutor^{13,17,19,21}.

Quanto ao uso clínico da L-PRF, tem-se acompanhado os resultados de estudos em modelos animais que apresentaram melhoras no padrão de reparação em tecidos moles²⁰. Também, o uso isolado ou em combinação com enxertos autógenos, alógenos, xenoenxertos e β -TCP aumenta a formação de novo osso e estimula a regeneração óssea^{11,17, 22-27}. Porém, os resultados em reparação óssea ainda são insatisfatórios.

Apesar de serem técnicas largamente utilizadas e com resultados promissores, ainda carecem de evidências com ensaios clínicos controlados randomizados (ECCR) com metodologias bem definidas, o efeito da L-PRF em nível histológico/histomorfométrico em humanos ainda não foi totalmente elucidado, justificando, desta forma, investigações de cunho científico que esclareçam a ação da L-PRF na neoformação óssea em alvéolos humanos pós-extração.

Frente ao apresentado, os pressupostos teóricos indicam que a hipótese mais coerente é de que haverá influência da L-PRF, em potencializar o processo de neoformação óssea em alvéolos humanos, após um período de oito semanas das extrações dentárias.

Assim, este estudo centra-se em comparar, por histomorfometria, a eficácia da L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ β -TCP, no processo de neoformação óssea em alvéolos humanos, após um período de oito semanas das extrações dentárias.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo piloto (ECCR) prospectivo e cegado conduzido de acordo com as diretrizes do grupo *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) e pela Declaração de Helsinque da *World Medical Association*, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa

(CEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) sob o parecer nº. 4.875.915, em 30 de julho de 2021.

Foram selecionados participantes de ambos os sexos, atendidos nas clínicas de Cursos de Especialização em Implantodontia de Juiz de Fora-MG, coordenados pelo Professor orientador. Para a seleção foram realizadas análises de imagem diagnóstica (radiografia panorâmica, radiografias periapicais intraorais padronizadas) e exame clínico. 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"> Participantes de ambos os sexos classificados como ASA I e II, idades entre 18 e 70 anos. 	<ul style="list-style-type: none"> Participantes com desordem sistêmica não controlada que pudesse interferir na cicatrização óssea²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Em terapia com uso de bifosfonatos, denosumabe e em uso de corticoides²⁸.
<ul style="list-style-type: none"> Com necessidade de extração de pelo menos 4 elementos dentários unirradiculares com presença de dentes adjacentes, para futura reabilitação com implantes (tipo 2, Classificação da IT²⁹). 	<ul style="list-style-type: none"> Que receberam radiação terapêutica na região de cabeça e pescoço nos últimos 5 anos²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Histórico de tabagismo intenso (> 10 cigarros/dia)²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Imunossupressão²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Participantes com má higiene bucal²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Gestantes²⁸.
	<ul style="list-style-type: none"> Aqueles que apresentaram elementos dentários com lesão periapical em fase aguda; presença de cisto ou tumor periapical, procedimento cirúrgico invasivo de exodontias com necessidade de osteotomia e elevação do retalho, doença periodontal não controlada com PS > 4 mm.

ASA (American Society of Anesthesiologists); ITI (International Team for Implantology); PS (profundidade de sondagem); > (maior); mm (milímetro). Fonte: Autores (2023).

Para este estudo piloto, um total de dez participantes foi selecionado obtendo-se dois grupos (G1, n = 8, maxila; G2, n = 2, mandíbula), que foram distribuídos em quatro subgrupos de acordo com o tratamento dos alvéolos (n = 40): controle (CTR), apenas a exodontia do elemento dentário, servindo como parâmetro para comparação com os subgrupos experimentais; *autogenous bone* (AB), osso autógeno particulado; L-PRF (LPRF), membrana de L-PRF, e; L-PRF + HA/β-TCP (LPRFHA/βTCP), L-PRF associada ao enxerto sintético HA/βTCP (partículas 150 a 425 µm - OsteosyntTM 20:40, EincoBio, Belo Horizonte-MG, Brasil) (Quadro 2).

Quadro 2: Alocação dos alvéolos nos grupos/subgrupos

Região	Grupo	N	Subgrupo	n	Enxerto
Maxila	G1	8	CTR	4	Apenas exodontia
			AB	4	Osso autógeno particulado
			LPRF	4	Membrana de L-PRF
			LPFRHA/βTCP	4	Membrana de L-PRF + osso sintético



Mandíbula	G2	2	CTR	4	Apenas exodontia
			AB	4	Ossos autógenos particulados
			LPRF	4	Membrana de L-PRF
			LPFRHA/βTCP	4	Membrana de L-PRF + osso sintético
Total		10		40	

N (número de participantes na amostra); n (número de alvéolos na amostra); CTR (controle); AB (*autogenous bone*); LPRF (membrana de fibrina rica em plaquetas e leucócitos); LPFRHA/βTCP (L-PRF + osso sintético). Fonte: Autores (2023).

Os quarenta alvéolos foram randomizados por meio de um gerador de sequência aleatória, que foi ocultado dos participantes e dos profissionais envolvidos no estudo; a atribuição só foi revelada à cirurgiã responsável (esta pesquisadora) no momento das cirurgias.

As indicações diagnósticas para as extrações dentárias incluíram: falhas no tratamento endodôntico, fraturas radiculares e lesões avançadas de cárie, periodontites ou por razões protéticas. Os elementos unirradiculares extraídos apresentavam uma posição radicular consistente com a colocação planejada do implante, remanescente ósseo com pelo menos 2 mm da raiz até fossa nasal anterior, seio maxilar, boas condições de tecidos moles e duros intraorais com mucosa ceratinizada circundante na margem gengival do elemento dentário (Classificação de Caplanis et al.³⁰; *Extraction Defect Sounding* [EDS]: EDS-2 e EDS-3; Quadro 3).

Quadro 3: Classificação dos defeitos alveolares pós-exodontia³⁰

Classificação	EDS-1	EDS-2	EDS-3	EDS-4
Avaliação do alvéolo	Íntegro	Íntegro a pequeno	Dano moderado	Dano severo
Paredes afetadas	0	0-1	1-2	2-3
Biotipo periodontal	Espesso	Fino ou espesso	Fino ou espesso	Fino ou espesso
Perda tecido duro	0,0 mm	0,0-2,0 mm	3,0-5,0 mm	> 6,0 mm
Tratamento	Implante (1 estágio)	Preservação alveolar ou implante imediato (1 ou 2 estágios)	Preservação alveolar e implante (2 estágios)	Preservação alveolar, enxertia gengival e implante (3 estágios)

EDS (*Extraction Defect Sounding*); mm (milímetro); > (maior). Fonte: Elaborado pelos autores (2023, adaptado de Caplanis et al.³⁰).

2.1 PRIMEIRA ETAPA: PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS

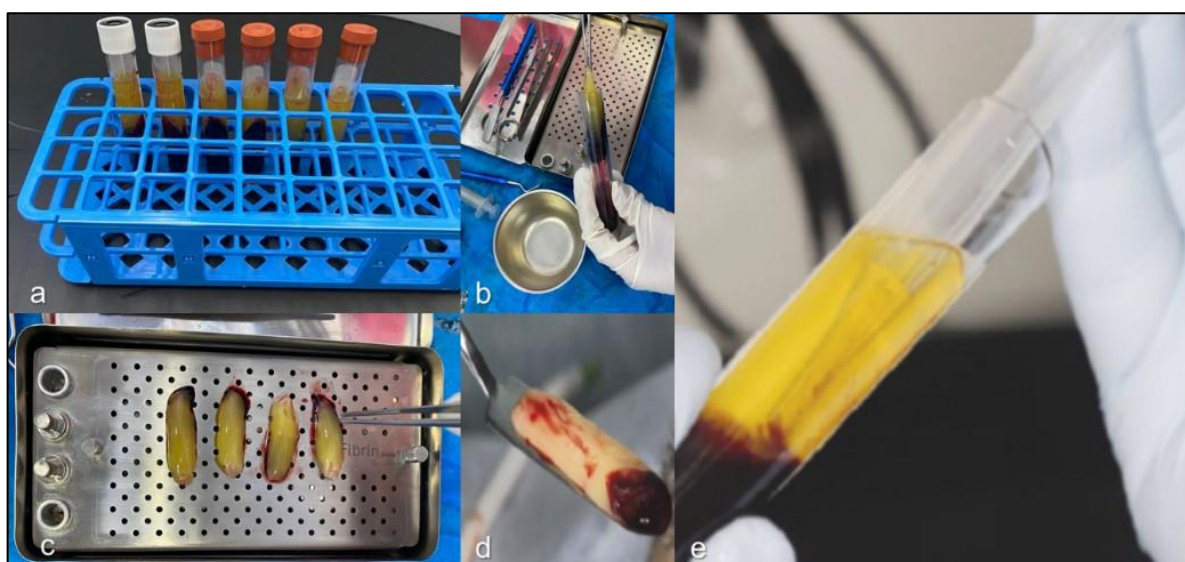
Para garantir que as biopsias ósseas seriam realizadas no centro do alvéolo, foi confeccionado um guia cirúrgico de placa *soft* composta por polímero de acetato-vinilo de etileno (EVA) e polietileno tereftalato de etileno glicol (PET-G) de 1,5 mm de espessura para cada participante^{26,32}. Demarcações e perfurações foram realizadas na região palatina ou

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

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

O preparo da L-PRF foi realizado imediatamente antes do procedimento de extração dos elementos dentários e enxertias nos alvéolos pós-extração; o preparo da L-PRF foi realizado de acordo com o protocolo de Choukroun et al.^{6,7} (Figura 1), com 2700 rpm por 12 minutos, força de centrifugação relativa (RCF-coágulo = 408 g), por centrifugação única e ao final do tempo, a centrífuga foi desacelerada progressivamente.

Figura 1: Método de obtenção da L-PRF

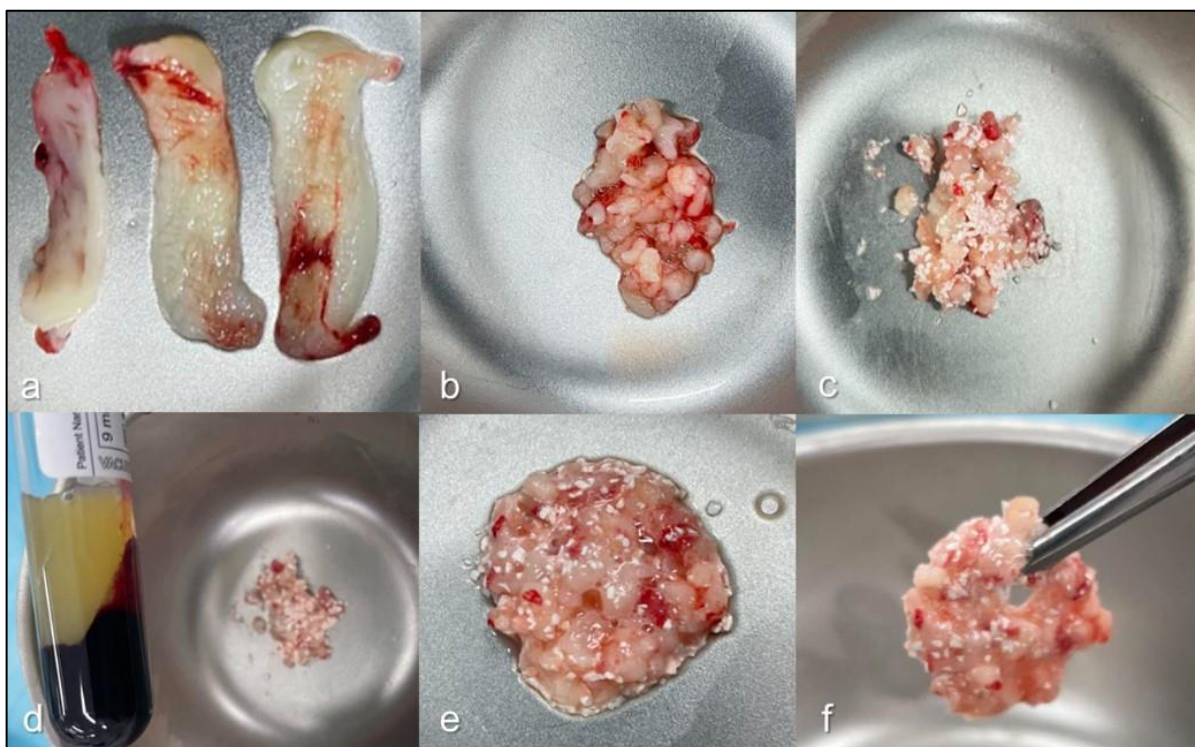


a) tubos de coleta vermelho e branco; b) extração dos coágulos de fibrina; c) membranas submetidas ao processo de drenagem em uma caixa de preparo de L-PRF; d) membrana pronta para o uso; e) FFL presente no tubo branco utilizada como agente polimerizador para confecção do osso pegajoso.

Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

Para a confecção do osso pegajoso com HA/ β -TCP foi utilizada a proporção de uma membrana para cada 0,5 g de enxerto ósseo particulado sintético¹⁰ (Figura 2).

Figura 2: Confeção de osso pegajoso (LPRFHA/βTCP)



a) membranas de L-PRF após processo de desidratação; b) membrana de L-PRF picotada; c) mistura da membrana de L-PRF picotada com biocerâmica; d) adição da FFL à mistura da membrana de L-PRF picotada associada a biocerâmica; e) processo de aglutinação do osso pegajoso; f) osso pegajoso (LPRFHA/βTCP). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

2.1.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

A profilaxia antibiótica dos participantes ocorreu 1 hora antes do procedimento. Aqueles que apresentaram alergia a algum dos fármacos tiveram a medicação substituída. Para a assepsia intraoral os participantes fizeram bochecho com solução de clorexidina 0,12% por 60 segundos; para a assepsia extraoral, clorexidina 2% em gel foi aplicada na face, ao redor da boca com o auxílio de uma gaze estéril.

2.1.2.1 EXODONTIAS E ENXERTIAS

Após os procedimentos de assepsia e antissepsia intra e extraoral, os participantes foram anestesiados localmente com lidocaína 2% associada à epinefrina 1:100.000. Em casos de alergia à solução anestésica, a mesma foi substituída por prilocaína com felipressina 3%.

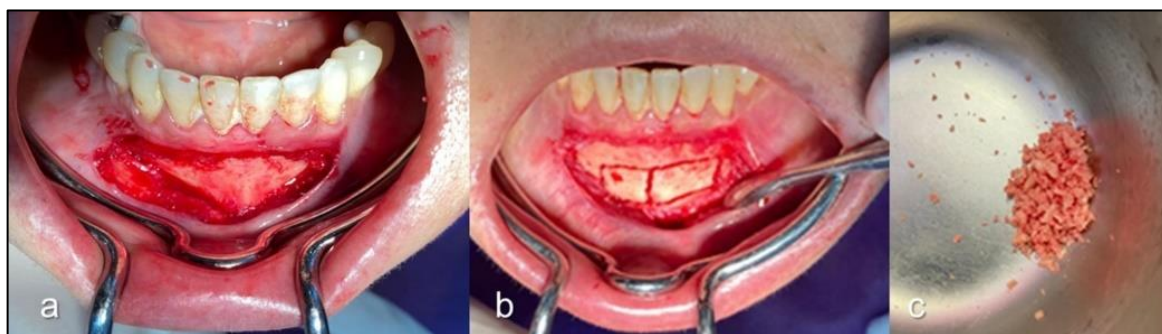
Para se alcançar o máximo de êxito na preservação do alvéolo, evitou-se danos aos tecidos moles e duros no momento cirúrgico. Tanto na maxila quanto na mandíbula, os elementos dentários foram cuidadosamente mobilizados com auxílio de periótomo e luxadores da forma menos traumáticos possíveis, sem reflexão do retalho (cirurgia *flapless*) e sem procedimento de osteotomia³³. Uma vez que o elemento dentário foi luxado dentro do alvéolo, o mesmo foi removido. Os alvéolos foram completamente desbridados dos detritos dos tecidos de granulação com auxílio de cureta tipo Lucas (Fava, Franco da Rocha-SP, Brasil), seguido de irrigação com solução salina e inspecionados quanto à presença de perfurações, fenestrações ou deiscência. As cavidades alveolares foram tratadas de acordo com o tipo de material enxertado, de acordo com a randomização.

Foi adotado como medida de preenchimento do alvéolo, a profundidade (mm), a distância da crista óssea vestibular até o fundo do alvéolo³³ (aferida com uma sonda milimetrada, Hu-Friedy, Mfg. Co., LLC, UK). As suturas para estabilização do enxerto e hemostasia foram realizadas por segunda intenção com fio absorvível poliglactina 910 5.0.

2.1.2.2 ÁREA DOADORA INTRAORAL

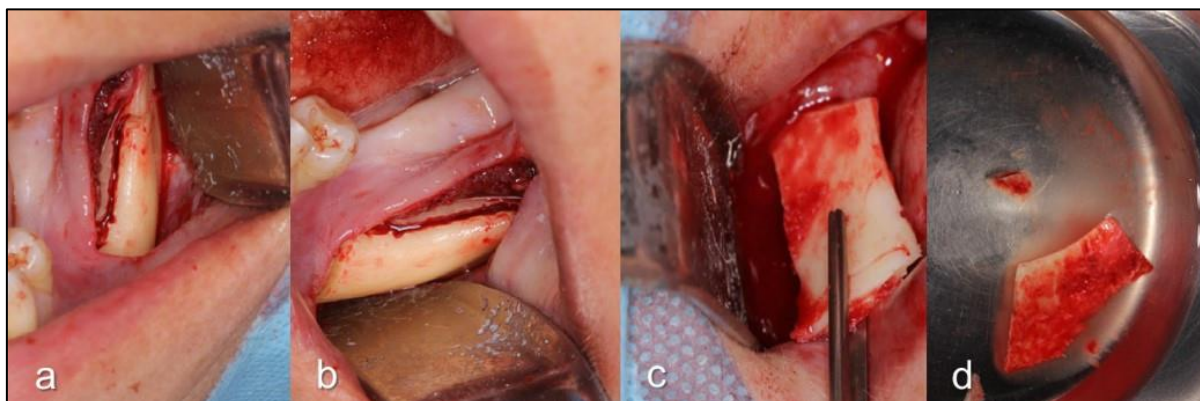
Foram utilizadas como áreas doadoras de enxerto ósseo autógeno as regiões de ramo mandibular e sínfise, determinada pela disponibilidade óssea de cada participante. O acesso da área doadora (sínfise ou ramo mandibular) foi realizado conforme descrito por Mazzonetto et al.³⁴ (Figuras 3 e 4). Após o descolamento do enxerto ósseo, o mesmo foi particulado com um particulador de osso, que foi mantido em uma cuba estéril com solução fisiológica até o preenchimento da cavidade alveolar. As suturas foram realizadas com fio absorvível poliglactina 910 5.0 com pontos simples (Figura 5).

Figura 3: Remoção de enxerto ósseo: área doadora sínfise



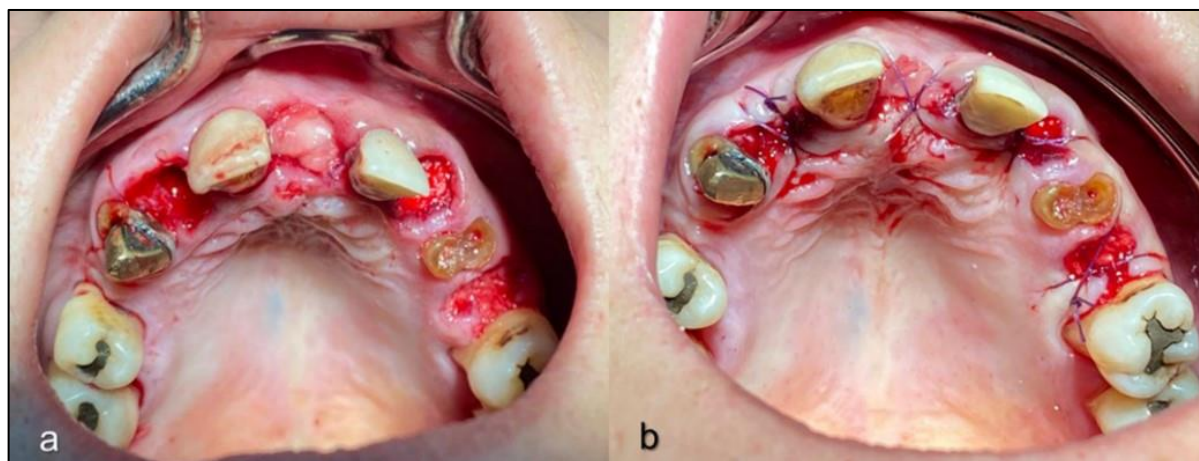
a) retalho defletido; b) remoção do enxerto; c) osso particulado mantido em uma cuba estéril com solução fisiológica até o preenchimento da cavidade alveolar. Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

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



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

Figura 5: Cavidades alveolares enxertadas e suturadas



a) cavidades alveolares enxertadas (4 subgrupos); b) sutura em "X". Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

Os participantes receberam orientações quanto às medicações, à higiene e à dieta pós-operatória, e para o controle de infecções, o uso de clorexidina 0,12%.

Durante o acompanhamento (1ª, 2ª e 6ª semanas), os locais de extrações/enxertias mostraram cicatrizações sem evidências de inflamação residual e sem eventos adversos.

2.2 SEGUNDA ETAPA: BIÓPSIAS E INSTALAÇÃO DE IMPLANTES

Transcorridas oito semanas de incorporação dos enxertos, antes dos procedimentos de biópsias e instalação dos implantes, foram realizadas radiografias periapicais. Dos dez participantes iniciais, quatro do G1 (maxila) não retornaram para o segundo momento cirúrgico

ao *recall* e foram excluídos, ficando a amostra composta por seis participantes (16 alvéolos no G1; 8 no G2) para análise final. Nesses, a cicatrização ocorreu sem eventos adversos em todos os alvéolos (controles e experimentais). Os sítios enxertados apresentavam bom padrão de cicatrização, com formação de tecido gengival saudável e ceratinizado.

Após anestesia local foi realizada a incisão do tecido gengival, defletindo os retalhos vestibular e lingual/palatino, para acesso cirúrgico à crista alveolar. Na reflexão do retalho cirúrgico, a crista alveolar subjacente manteve sua morfologia, sem sinais de reabsorção óssea ou de cavidade residual. A profundidade de perfuração da trefina no momento da coleta do núcleo ósseo manteve a medida do preenchimento do alvéolo original, garantindo que o núcleo ósseo estivesse restrito à área enxertada (Figura 6). A profundidade de perfuração da trefina no alvéolo preenchido com coágulo (CRT) foi mantida pela profundidade do alvéolo original. Em seguida, a osteotomia foi ampliada para colocação dos implantes seguindo o protocolo descrito no manual cirúrgico do Sistema Conexão (Conexão Sistema de Prótese, Arujá-SP, Brasil).

Figura 6: Coleta de biopsias e instalação dos implantes

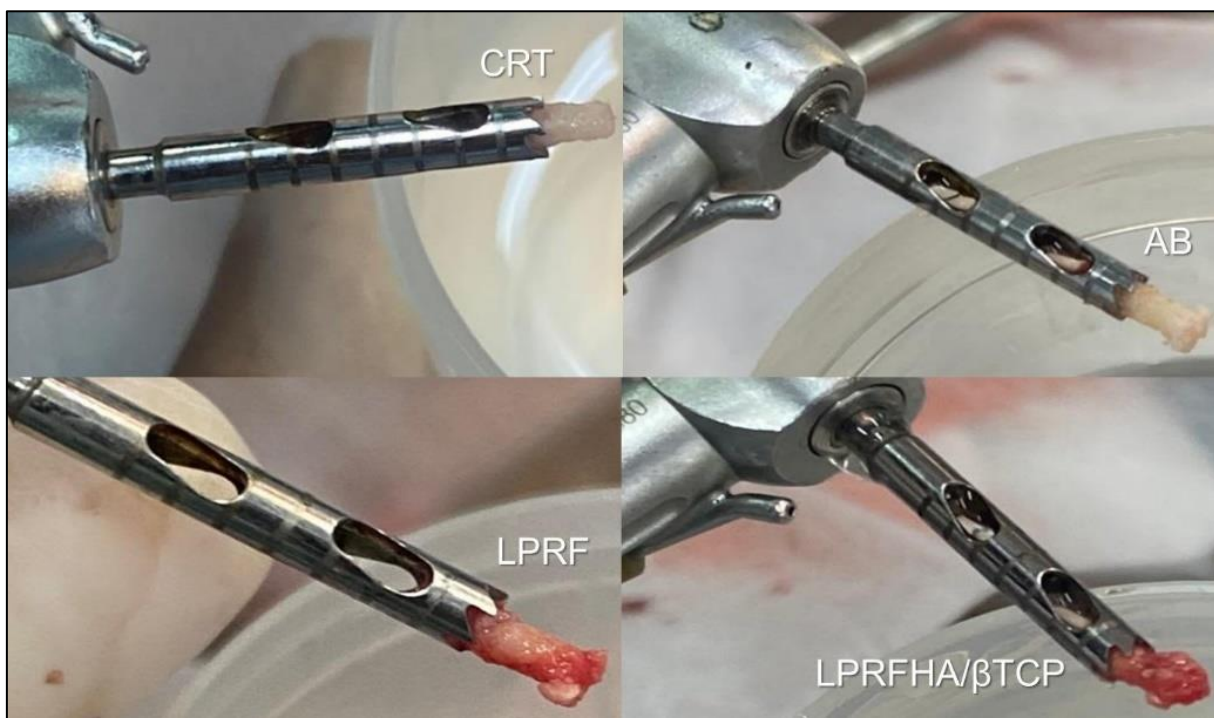


a) guia cirúrgico direcionando a trefina para remoção do material para análise histomorfométrica; b) momento da coleta do núcleo ósseo. Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

Os fragmentos ósseos retirados da trefina (Figura 7) foram armazenados em um recipiente com formol 10% tamponado devidamente identificados e especificados conforme o subgrupo pertencente. Na sequência precedeu-se a instrumentação das cavidades em que foram

inseridos os implantes nas regiões dos alvéolos controle e experimentais. O procedimento foi finalizado com suturas em “X” utilizando fio absorvível poliglactina 910 5.0.

Figura 7: Coleta de biopsias dos alvéolos controles e enxertados



Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

2.2.1 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

O preparo das peças para microscopia ótica foi realizado no Laboratório de Patologia e Citologia Bedran Ltda., Petrópolis-RJ. Após desmineralização com ácido etilenodiamino tetraacético (ETDA) 10%, 0,25 M e pH = 7,0 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), secções transversais de 3 µm de espessura foram obtidas no sentido longitudinal por toda a extensão dos fragmentos ósseos. As secções foram levadas ao cristalizador (Roberts Haw), onde foram distendidas e montadas. Em cada lâmina foram colocados em média três cortes histológicos. Os cortes histológicos foram montados em série e corados em hematoxilina e eosina (H&E). A montagem das lâminas foi feita com laminulas de vidro em *Entellan* (Merck®), para o exame microscópico de rotina.



2.2.2 MICROSCOPIA DE LUZ E HISTOMORFOMETRIA

Esta análise foi realizada no Núcleo de pesquisa em Ciências Experimentais Aplicadas à Biofísica e Fisiopatologia Experimental do Laboratório de Imunopatologia e Patologia Experimental no Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da UFJF, por um único avaliador calibrado e cego ao tratamento realizado.

A análise histomorfométrica do tecido ósseo foi realizada por meio de microscopia óptica, utilizando uma ocular de 10X em conjunto com uma objetiva de 40X, proporcionando no total uma ampliação de 400X (AxioStar Zeiss AxioCam CHF5, Hallbergmoos, Germany) acoplada a uma câmera (AxioCam Vision), obtendo-se 240 fotomicrografias (10 de cada lâmina/subgrupos). O processamento das imagens foi realizado pelos *softwares* Zen 2.3 Blue Edition (Zeiss, Alemanha, 2012) e ImageJ (domínio público).

No ImageJ, antes de realizar a mensuração da AON, foi realizada a calibração do software para estabelecer a correta relação entre *pixels* e micrometros (padronizada em 100 μm) na imagem capturada. A área total de osso neoformado foi calculada a partir da área total do campo microscópico. As áreas foram medidas (μm^2) a partir de dez fotomicrografias/subgrupos³⁵. As mensurações para cada AON foram transcritas para o programa Excel® para análise estatística.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

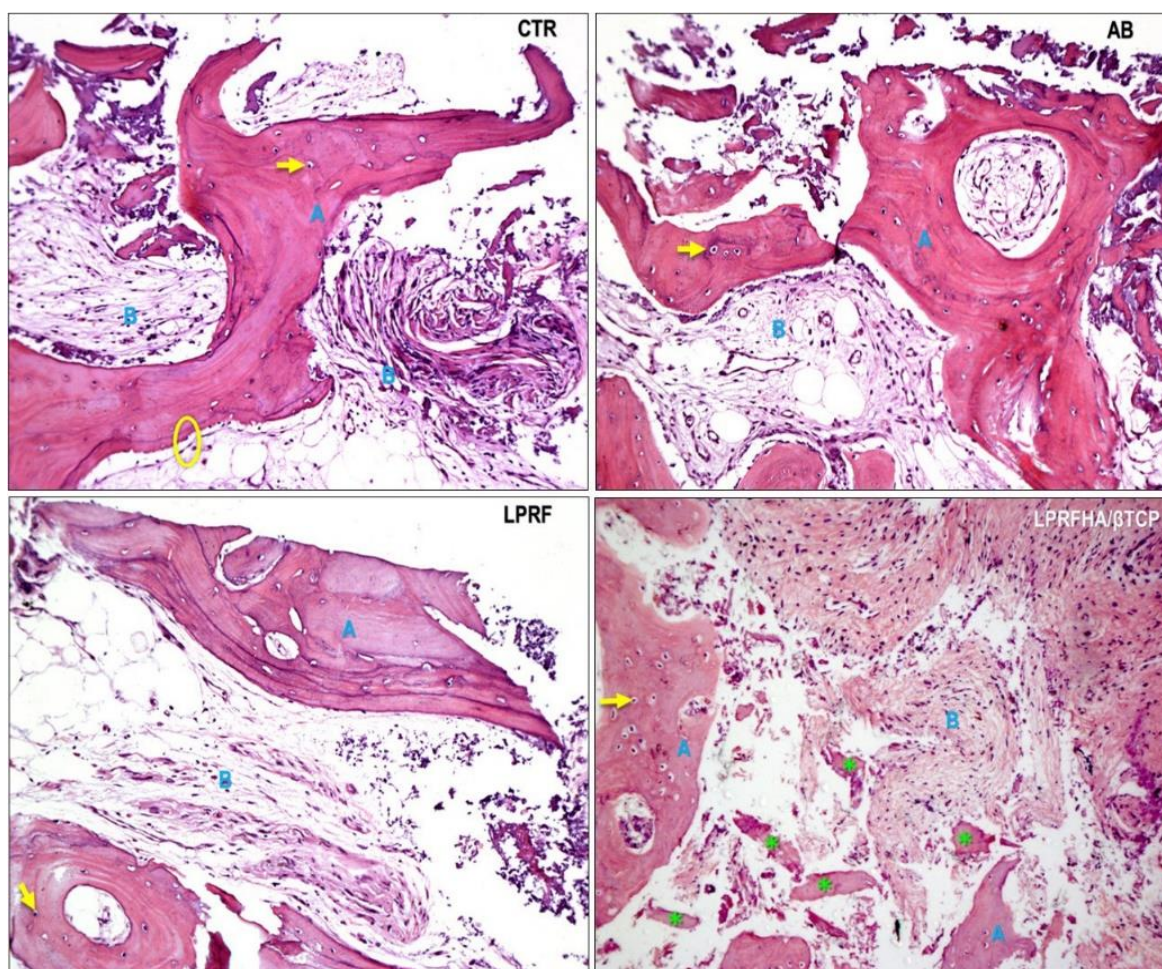
Adotou-se como estatística descritiva a média, mediana e valores máximo e mínimo. Para dados métricos (idade) foram utilizadas médias (\pm), mínimo e máximo; dados categóricos (sexo) foram descritos como frequência e percentuais. Nos ensaios de histomorfometria, os dados de área de tecido ósseo foram apresentados em área total (μm^2). O teste não-paramétrico de *Kolmogorov-Smirnov* foi realizado para verificar a igualdade de distribuições de probabilidade contínua e unidimensional para comparar um grupo com uma distribuição de probabilidade de referência ou dois grupos um com o outro. Para comparar se as médias de dois grupos são significativamente diferentes ou não, utilizou-se ANOVA *one-way*. O teste de *Bartlett's* foi usado para testar a homocedasticidade e se os grupos apresentam variâncias iguais. O teste de *Tukey* de comparação múltipla foi executado para comparações aos pares. O nível de significância adotado foi de 5%.

3. RESULTADOS

Dentre os seis participantes, a idade variou entre 49 e 68 anos (média de $60,83 \pm 2,23$ anos) com prevalência de 66,7% de mulheres (n = 4).

Análises qualitativas demonstraram neoformação óssea com diferentes graus de maturidade e qualidade (Figura 8). As amostras revelaram tecido ainda não totalmente reparado e com presença de áreas ainda não totalmente organizadas da matriz extracelular, especialmente nos bordos das lesões teciduais.

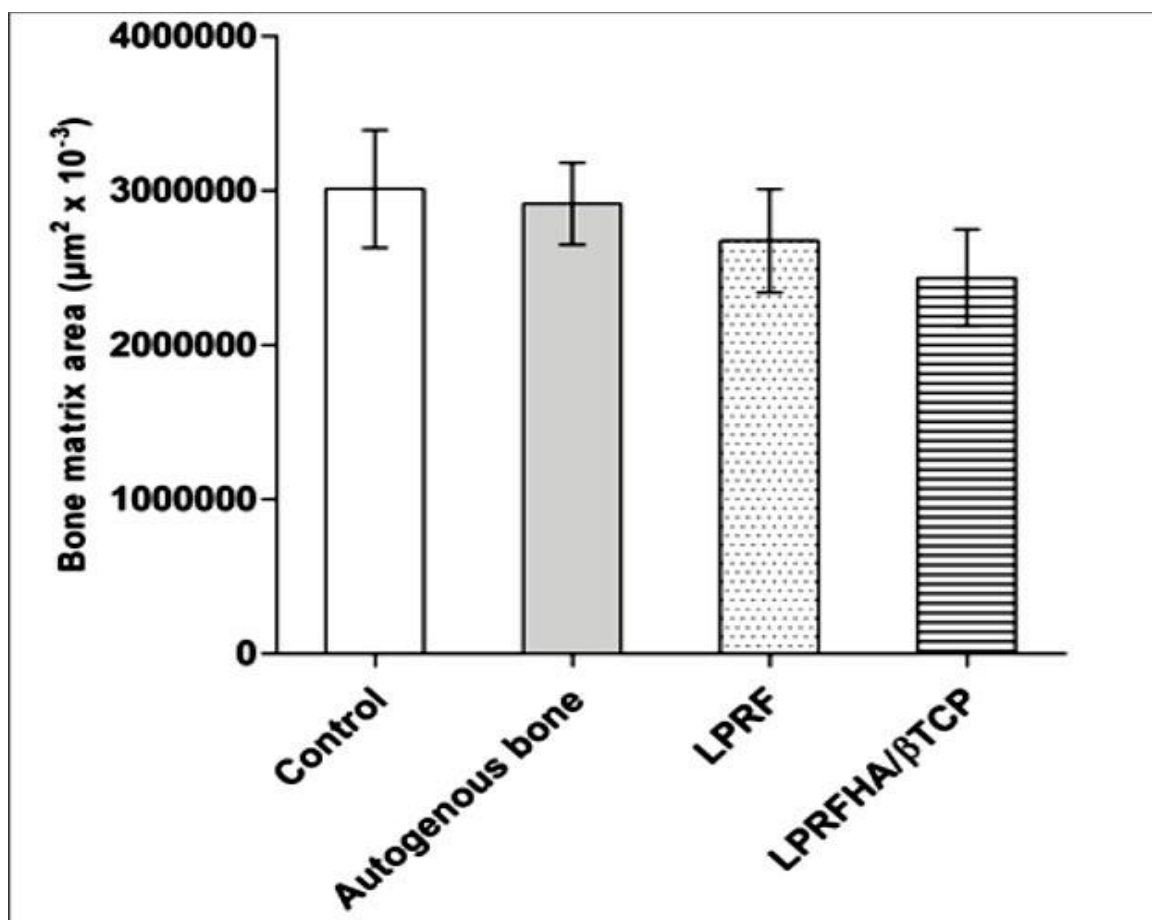
Figura 8: Fotomicrografias com análises qualitativas dos subgrupos analisados



A (área de osso neoformado); B (tecido conjuntivo); seta (osteócito); círculo (osteoblastos); asterisco (remanescente de enxerto ósseo) (coloração H&E, aumento de 10X). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

As análises quantitativas revelaram uma distribuição proporcional de neoformação óssea entre os subgrupos experimentais (AB, LPRF, LPRFHA/βTCP) quando comparados ao subgrupo controle (CTR) (Figura 9).

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



μm² (micrômetro quadrado); CRT (controle); AB (*Autogenous bone*); LPRF (membrana de L-PRF); LPRFHA/βTCP (L-PRF associada ao enxerto sintético). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

O teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos ($p > 0,10$) (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação dos subgrupos quanto à neoformação óssea

Subgrupos	Área da matriz óssea ($\mu\text{m}^2 \times 10^{-3}$)	
	KS	p-valor
CTR	0,1804	> 0,10
AB	0,2257	> 0,10
LPRF	0,1357	> 0,10
LPRFHA/ β TCP	0,2076	> 0,10

μm^2 (micrômetro quadrado); KS (*Kolmogorov-Smirnov*); CRT (controle); AB (*Autogenous bone*); LPRF (membrana de L-PRF); LPRFHA/ β TCP (L-PRF associada ao enxerto sintético); > (maior). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

ANOVA *one-way* demonstrou não haver diferença significativa ($p = 0,6071$), quando se comparou as médias de neoformação óssea dos subgrupos ($R^2 = 0,08573$). O teste de *Bartlett's* demonstrou subgrupos com variâncias iguais, portanto, sem diferença significativa ($p = 0,8964$).

Na comparação dos subgrupos aos pares, o teste de *Tukey* revelou que na diferença média, nenhum par apresentou diferença significativa em relação à neoformação óssea (Tabela 2).

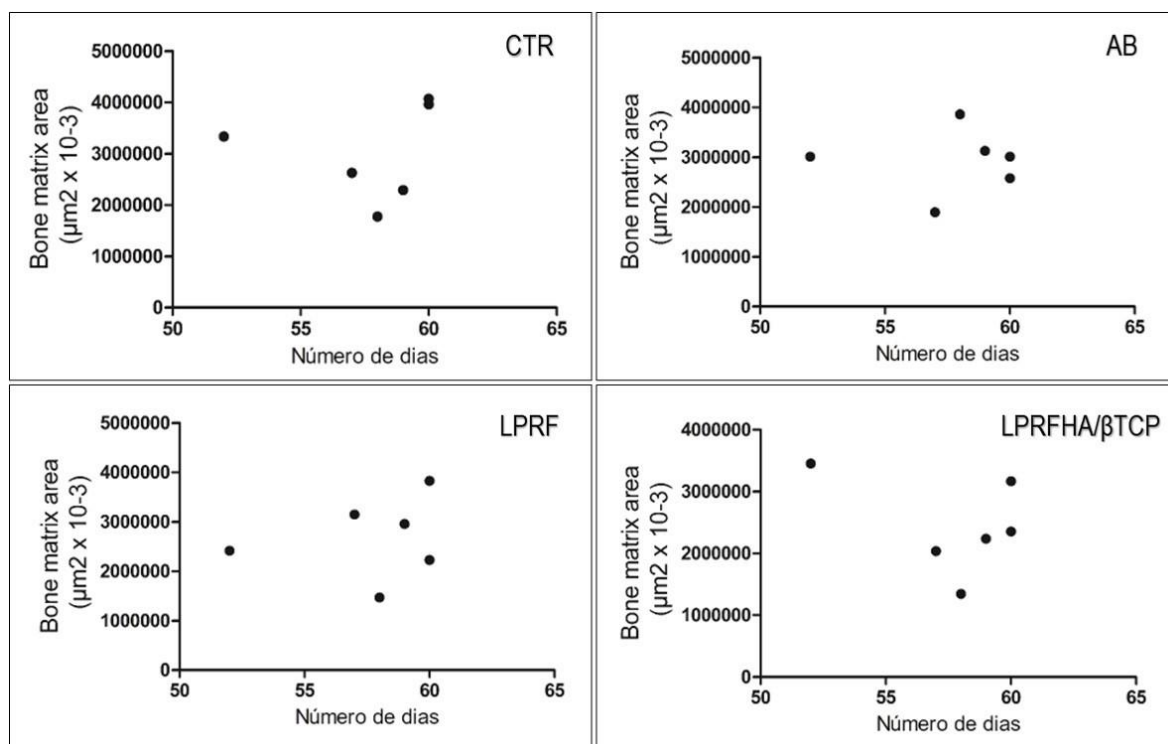
Tabela 2: Comparação aos pares/subgrupos quanto à neoformação óssea

Pares Subgrupos	Área da matriz óssea ($\mu\text{m}^2 \times 10^{-3}$)		
	Diferença Média	q	IC 95% diferença
CTR \times AB	958801	0,294	-1194000 a 1386000
CTR \times LPRF	335900	1,030	-954400 a 1626000
CTR \times LPRFHA/ β TCP	575100	1,764	-715200 a 1865000
AB \times LPRF	240000	0,736	-1050000 a 1530000
AB \times LPRFHA/ β TCP	479200	1,470	-811100 a 1770000
LPRF \times LPRFHA/ β TCP	239200	0,733	-1051000 a 1530000

μm^2 (micrômetro quadrado); CRT (controle); AB (*Autogenous bone*); LPRF (membrana de L-PRF); LPRFHA/ β TCP (L-PRF associada ao enxerto sintético); - (menos). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

Ao correlacionar a AON ($\mu\text{m}^2 \times 10^{-3}$) e o tempo (8 semanas), observou-se que as amostras coletadas nos subgrupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa (Figura 10).

Figura 10: Gráficos da correlação entre neoformação óssea e tempo (dias)



µm² (micrômetro quadrado); CRT (controle); AB (Autogenous); LPRF (membrana de L-PRF); LPRFHA/βTCP (L-PRF associada ao enxerto sintético). Fonte: Autora Pricila Gusmão (2023).

4. DISCUSSÃO

A hipótese deste estudo piloto de que haveria influência da L-PRF em potencializar o processo de neoformação óssea em alvéolos humanos, após um período de oito semanas das extrações dentárias, foi aceita tendo em vista que as análises histomorfométricas apresentaram resultados satisfatórios quando a membrana foi usada de forma isolada ou associada ao enxerto HA/β-TCP (Osteosynt™), não demonstrando diferença significativa frente ao enxerto ósseo autógeno (padrão-ouro).

Iniciando essa discussão, vale ressaltar que os ECCR em humanos estão no topo da pirâmide da investigação, pois são os mais complexos e caros, mas fornecem a resposta mais fiável. Para poder ser testado em humanos, o material deve ter sido testado ao longo de vários anos em modelos animais, o que significa que as tecnologias recém-descobertas já podem ser testadas neste grupo⁵. Os estudos^{11,15,17,19,22-28,31,36-39} até então analisados para discussão deste artigo foram realizados em modelos animais. Assim, torna-se relevante destacar que



este estudo é o primeiro ECCR histomorfométrico em humanos para verificar o efeito da L-PRF, no processo de neoformação óssea, em curto prazo.

Neste estudo, previamente aos procedimentos de extrações dentárias, foi confeccionado um guia cirúrgico com demarcações e perfurações na região palatina ou lingual do guia para delimitar a região central do alvéolo para coleta do núcleo ósseo sem obter áreas dos bordos do alvéolos^{26,32}, garantindo que o núcleo ósseo estivesse restrito à área enxertada. Um estudo em modelo animal⁴⁰, em alvéolos de extração sem enxertias obteve resultados positivos, observando o processo de regeneração óssea iniciado já no primeiro dia, cicatrização e formação de novo osso concluída no final de oito semanas, quando foi coletado material no centro do alvéolo, conforme realizado neste estudo e orientado pelo estudo de Kollati et al.³².

De outra forma, vale lembrar que a L-PRF, desenvolvida por Choukroun e seus colaboradores¹² é um biomaterial de segunda geração obtido com centrifugação do sangue, Esse biomaterial é um coágulo de sangue natural otimizado que forma uma rede complexa obtida durante o processo de polimerização natural da fibrina e permite a liberação lenta dos fatores de crescimento durante o processo de reparo da ferida², podendo ser usado com ou sem material de enxerto ósseo^{2,4,5,11,15,17,19,22-28,31,32,36-39}. Quando associada a substitutos ósseos, a L-PRF age como um conector biológico atraindo células-tronco^{12,16,21,27}, favorecendo a migração de células osteoprogenitoras para o centro do enxerto e estimulando a neoangiogênese²¹.

A HA e o β -TCP são materiais sintéticos usados para enxertias e comumente usados de forma associada^{17,23}. As partículas de HA/ β -TCP, tal como o osso autógeno, podem conservar a sua bioatividade e ser condutoras de extensa substituição óssea precoce²³. O β -TCP possui a capacidade de permitir a angiogênese através de sua estrutura, microporosidade, capacidade de dissolução aumentada pela presença do fosfato tricálcico, sendo ainda utilizado como carreador de outros fatores de crescimento ósseo como as proteínas ósseas morfogenéticas².

Em comparação com outros materiais de enxerto, o osso autógeno é considerado o padrão-ouro. Entretanto, a quantidade limitada de osso disponível, a necessidade de procedimento cirúrgico adicional e a morbidade pós-operatória na área doadora têm restringido o uso de técnicas de enxerto ósseo autógeno. Portanto, os profissionais geralmente são forçados a utilizar outros biomateriais para regeneração óssea²³. Motivo pelo qual este estudo piloto centrou-se em pesquisar os biomateriais em questão.

Neste estudo, em oito semanas, a confirmação de osso novo formado para a L-PRF isolada ou associada com o enxerto sintético HA/ β -TCP foi consoante com outros pesquisadores,



quando utilizaram os mesmos biomateriais^{2,17,32} ou associados a diferentes enxertos ósseos^{23,32,38}. A regeneração óssea é mais observada nas primeiras semanas de cicatrização da ferida³², que também foi observado nos estudos de Choukroun et al.^{6,7}.

Corroborando com alguns estudos^{17,22,27}, as análises qualitativas deste estudo evidenciaram uma distribuição proporcional de neoformação óssea quando a L-PRF foi utilizada de forma isolada e quando associada ao HA/β-TCP. Da mesma forma, quanto aos dados quantitativos, não houve diferença significativa quanto à neoformação óssea dos alvéolos tratados com a L-PRF de forma isolada ou associada ao enxerto sintético HA/β-TCP, sendo consoante aos resultados de alguns pesquisadores^{22,27}.

O HA/β-TCP apresentou resultados promissores na produção de osso novo proporcional ao enxerto ósseo autógeno. Isto se deve principalmente à combinação macroporosa disponível e à estrutura rígida de manutenção de espaço que o HA/β-TCP fornece²³.

A L-PRF foi capaz de aumentar a qualidade do osso novo e aumentar a taxa de formação óssea²⁴. O uso da L-PRF na preservação do rebordo alveolar não aumenta significativamente a nova formação óssea após a extração dentária, em comparação com a cicatrização normal de feridas²⁶. O uso de L-PRF para preenchimento do alvéolo após a exodontia levou à melhora da consolidação óssea com melhor preservação da largura da crista alveolar²⁸. Em termos de formação de osso novo, o autoenxerto em associação ao PRF produziu resultados superiores³⁸. O uso de L-PRF deve ser preferido devido à sua origem autógena, baixo custo e facilidade de uso³⁹. As plaquetas e citocinas encontradas na L-PRF são aprisionadas dentro da rede de fibrina e liberadas lentamente durante a remodelação óssea^{8,9,24}.

A observação de um estudo histológico²³ demonstrou que o HA/β-TCP levou à angiogênese e osteogênese na profundidade da área enxertada. Na comparação do padrão de cicatrização do HA/β-TCP e do osso autógeno, não foi encontrada diferença significativa em relação à formação óssea. Isto mostra a capacidade do HA/β-TCP para formação de osso novo²³. Neste estudo histomorfométrico, o HA/β-TCP não foi usado de forma isolada, mas associado à L-PRF, tendo em vista que o foco foi direcionado à membrana isoladamente e associada ao enxerto sintético HA/β-TCP, e nesse caso, os resultados foram concordantes com o estudo histológico²³, ou seja, sem diferença estatística à L-PRF de forma isolada e ao osso autógeno.



5. CONCLUSÃO

As análises qualitativas demonstraram uma distribuição proporcional de neoformação óssea quando se utilizou a L-PRF isoladamente ou quando associada ao enxerto sintético de HA/ β -TCP nos alvéolos humanos pós-extração, demonstrando diferentes graus de maturidade e qualidade no período de oito semanas.

Nos resultados quantitativos não houve diferença significativa quanto à neoformação óssea dos alvéolos tratados com a L-PRF de forma isolada ou associada ao enxerto sintético HA/ β -TCP.

A L-PRF associada ou não ao enxerto sintético HA/ β -TCP demonstrou ser é um biomaterial previsível para alvéolos humanos pós-extração, havendo uma tendência de a L-PRF associada à biocerâmica reduzir a neoformação óssea para o período de oito semanas.

REFERÊNCIAS

1. Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Nolte LP, Buser D. Ridge alterations post-extraction in the esthetic zone: a 3D analysis with CBCT. *J Dent Res*. 2013;92(12 Suppl):195-201.
2. Yuan S, Li Q, Chen K, Mu Z, Chen T, Wang H, et al. Ridge preservation applying a novel hydrogel for early angiogenesis and osteogenesis evaluation: an experimental study in canine. *J Biol Eng*. 2021;15(1):1-11.
3. Bramanti E, Norcia A, Cicciù M, Matakacena G, Cervino G, Troiano G, et al. Postextraction dental implant in the aesthetic zone, socket shield technique versus conventional protocol. *J Craniofac Surg*. 2018;29(4):1037-41.
4. Canellas JVDS, da Costa RC, Breves RC, de Oliveira GP, Figueredo CMDs, Fischer RG, et al. Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin: a randomized, single-blind, controlled clinical trial. *J Craniomaxillofac Surg*. 2020;48(1):24-32.
5. Ferraz MP. Bone grafts in dental medicine: an overview of autografts, allografts and synthetic materials. *Materials*. 2023;16(11):1-22.
6. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006a;101(3):299-303.
7. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006b;101(3):56-60.
8. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006a;101(3):37-44.
9. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006b;101(3):45-50.



10. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006c;101(3):51-5.
11. Zhao JH, Tsai CH, Chang YC. Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in maxillary sinus augmentation. *J Formos Med Assoc.* 2015;114(8):779-80.
12. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en paro-implantologie: Le PRF. *Implantodontie.* 2001;42(1):55-62.
13. De Angelis P, De Angelis S, Passarelli PC, Liguori MG, Manicone PF, D'Addona A. Hard and soft tissue evaluation of different socket preservation procedures using leukocyte and 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 as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. *J Dent Sci.* 2011;6(3):181-8.
15. Somani A, Rai R. Comparison of efficacy of autologous platelet-rich fibrin versus saline dressing in chronic venous leg ulcers: a randomised controlled trial. *J Cutan Aesthet Surg.* 2017;10(1):8-12.
16. Miron RJ, Choukroun J. Fibrina rica em plaquetas na Odontologia e Medicina regenerativa e estética: bases biológicas e aplicações clínicas. São Paulo: Quintessence; 2018. 278p.
17. Acar AH, Yolcu Ü, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Altundag Kahraman S. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Arch Oral Biol.* 2015;60(4):606-14.
18. Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Bellincampi LD. Potential of an ultraporous beta-tricalcium phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. *Eur Spine J.* 2001;10(Suppl 2):141-6.
19. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al. Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2018;89(4):379-87.
20. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig.* 2017;21(6):1913-27.
21. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Ehrenfest DD. Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. *J Implant Clin Adv Dent.* 2009;2(6):21-32.
22. Nacopoulos C, Dontas I, Lelovas P, Galanos A, Vesalas AM, Raptou P, et al. Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft. *J Craniofac Surg.* 2014;25(6):2164-8.
23. Yazdi FK, Mostaghni E, Moghadam SA, Faghihi S, Monabati A, Amid R. A comparison of the healing capabilities of various grafting materials in critical-size defects in guinea pig calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013;28(5):1370-6.
24. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40(4):321-8.
25. Oliveira MR, Silva AC, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR Jr, Mariano RC. Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44(5):649-55.
26. Areewong K, Chantaramungkorn M, Khongkhunthian P. Platelet-rich fibrin to preserve alveolar bone sockets following tooth extraction: a randomized controlled trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019;21(6):1156-63.



27. Baghele O, Thorat M, Malpani P. Clinical and radiographic evaluation of platelet-rich fibrin and bone graft material (β -tricalcium phosphate + hydroxyapatite) in the treatment of intrabony defects of periodontitis patients: a randomized controlled trial. *Quintessence Int.* 2023;54(6):472-83.
28. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dent.* 2013;22(3):295-303.
29. International Team for Implantology (ITI). Proceedings of the 4th International Team for Implantology (ITI) Consensus Conference, August 2008, Stuttgart, Germany. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(suppl):7-278.
30. Caplanis N, Lozada JL, Kan JY. Extraction defect assessment, classification, and management. *J Calif Dent Assoc.* 2005;33(11):853-63.
31. Maia PW, Teixeira ML, Macedo LGS, Aloise AC, Passos Junior CA, Aragoneses JM, et al. Use of platelet-rich fibrin associated with xenograft in critical bone defects: histomorphometric study in rabbits. *Symmetry.* 2019;110(10):1-9.
32. Kollati P, Koneru S, Dwarakanath CD, Gottumukkala SNVS. Effectiveness of naturally derived bovine hydroxyapatite (Cerabone™) combined with platelet-rich fibrin matrix in socket preservation: a randomized controlled clinical trial. *J Indian Soc Periodontol.* 2019;23(2):145-51.
33. Suaid F, Grisi MF, Souza SL, Palioto DB, Taba M Jr, Novaes AB Jr. Buccal bone remodeling after tooth extraction using the flapless approach with and without synthetic bone grafting. A histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(4):407-13.
34. Mazzonetto R, Chaves Netto HDM, Nascimento FF. *Enxertos ósseos em implantodontia.* São Paulo: Napoleão; 2012. 574p.
35. Nagato AC, Bezerra FS, Talvani A, Aarestrup BJ, Aarestrup FM. Hyperoxia promotes polarization of the immune response in ovalbumin-induced airway inflammation, leading to a TH17 cell phenotype. *Immun Inflamm Dis.* 2015;3(3):321-37.
36. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013;41(8):191-200.
37. Abdullah WA. Evaluation of bone regenerative capacity in rats claverial bone defect using platelet rich fibrin with and without beta tri calcium phosphate bone graft material. *Saudi Dent J.* 2016;28(3):109-17.
38. Karayürek F, Kadiroğlu ET, Nergiz Y, Coşkun Akçay N, Tunik S, Ersöz Kanay B, et al. Combining platelet rich fibrin with different bone graft materials: an experimental study on the histopathological and immunohistochemical aspects of bone healing. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019;47(5):815-25.
39. Ondur E, Bolukbasi Balcioglu N, Soluk Tekkesin M, Guzel O, Ersanli S. Effects of platelet-rich fibrin on hard tissue healing: a histomorphometric crossover trial in sheep. *Materials.* 2020;13(7):1-13.
40. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2003;30(9):809-18.



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.

¹ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Odontologia (PPgO) – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Mestre em Clínica Odontológica – (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Professora efetiva do Curso de Cirurgia Avançada em Implante da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Regional Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil. ORCID: 0000-0002-2389-6570.

² Doutorando do programa de Pós-graduação em Odontologia (PPgO) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Professor do curso de Cirurgias Avançadas em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Regional Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil; Cirurgião Bucomaxilo da Hospital Santa Casa de Misericórdia de Guaratinguetá-SP, Brasil. ORCID: 0000-0002-1503-6757.

³ Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (FO-UFJF), Juiz de Fora-MG, Brasil; Doutora em Fisiopatologia Experimental pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil; Pós-doutorado pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil. ORCID: 0000-0002-8396-0722.

⁴ 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 Stricto Sensu em Odontologia (PPgO) (Mestrado e Doutorado) da UFJF, Coordenador do curso de Cirurgias Avançadas em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) – Regional Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil. ORCID: 0000-0002-9133-2347.