

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

Camila Sessim Guedes

**AVALIAÇÃO DA PRESERVAÇÃO DE ALVÉOLOS, PÓS- EXODONTIA,
UTILIZANDO CONCENTRADO DE PLAQUETAS E LEUCÓCITOS PRODUZIDOS
COM A TÉCNICA DE L-PRF**

Duque de Caxias

2017

Camila Sessim Guedes

Avaliação da preservação de alvéolos, pós-exodontia, utilizando concentrados de plaquetas e leucócitos produzidos com a técnica de L- PRF

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, como parte dos requisitos parciais para obtenção do grau de mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Periodontia

Orientadora: Denise Gomes da Silva

Duque de Caxias

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE/ BIBLIOTECA – UNIGRANRIO

G924a Guedes, Camila Sessim.

Avaliação da preservação de alvéolos, pós-exodontia, utilizando concentrados de plaquetas e leucócitos produzidos com a técnica de L- PRF / Camila Sessim Guedes. - Duque de Caxias, 2017.

49 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Odontologia/Periodontia) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciências da Saúde, 2017.

“Orientadora: Denise Gomes da Silva”.

Bibliografia: 39-49.

1. Odontologia. 2. Periodontia. 3. Enxerto ósseo. 4. Tratamento dentário. 5. Fibrina. 6. Regeneração óssea. I. Silva, Denise Gomes da. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. IV. Título.

CDD – 617.6

Camila Sessim Guedes

**AVALIAÇÃO DA PRESERVAÇÃO DE ALVÉOLOS, PÓS-EXODONTIA,
UTILIZANDO CONCENTRADO DE PLAQUETAS E LEUCÓCITOS PRODUZIDOS
COM A TÉCNICA DE L-PRF**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy” UNIGRANRIO para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

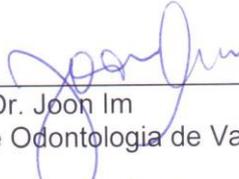
Área de Concentração:
Periodontia

Aprovada em 20 de fevereiro de 2017.

Banca Examinadora



Profa. Dra. Carina Maciel da Silva Boghossian
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Prof. Dr. Joon Im
FOV – Faculdade de Odontologia de Valença



Prof. Dr. Plínio Mendes Senna
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio

Dedico este trabalho à minha mãe, por todo suporte
e incentivo para a realização deste sonho.

Meu padastro, sempre me apoiando e incentivando.

Meu marido, Pablo, por estar ao meu lado em todos os momentos.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus.

À minha mãe, meu padrasto e todos os meus familiares pela dedicação e carinho.

Ao meu amado esposo Pablo pela compreensão, força, companheirismo e amizade.

Aos meus sogros Luiz e Marília pelo carinho e compreensão.

À minha orientadora Professora Doutora Denise Gomes, pela sua dedicação e valorosa ajuda em todas as fases desta dissertação.

Aos professores do mestrado em periodontia da UNIGRANRIO, Prof^o Dr. Marcio Falabela e Prof^a Dra. Carina Maciel da Silva Boghossian pela amizade e transmissão de conhecimento durante o mestrado.

Aos Professores que colaboraram para que este trabalho fosse realizado, Prof^o Dr. Joon Im, Prof^a Dra. Mônica Calazans e Prof^a Dra. Adriana Therezinha.

Aos pacientes que colaboraram com esta pesquisa, sem os quais não existiria este trabalho.

**“Nós somos o que fazemos repetidas vezes.
Portanto, a excelência não é um ato, mas um hábito.”**

Aristóteles

RESUMO

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) foi desenvolvida com objetivo de obtenção de regeneração óssea. A membrana de L- PRF consiste em um tecido 3D de fibrina de alta densidade, resultante de centrifugação do sangue do próprio paciente. OBJETIVO: O objetivo do presente estudo é avaliar a preservação de alvéolos, pós-exodontia, utilizando concentrados de plaquetas e leucócitos produzidos com a técnica de L-PRF. MATERIAL E MÉTODOS: A população do estudo foi constituída de sete indivíduos (3F e 4M), que seriam submetidos à instalação de implantes dentários, com idade entre 49 e 57 anos (média $53,7 \pm 2,7$). Foi empregado o desenho de boca dividida (*split mouth*), no qual foi escolhido aleatoriamente o lado Teste, que utilizou a membrana de L-PRF, preenchendo o alvéolo pós-extração; enquanto o lado Controle teve a cicatrização de forma natural, preenchimento com coágulo. As amostras de tecido foram colhidas dos alvéolos após 4 meses, previamente à instalação dos implantes. A análise histomorfométrica dos tecidos ósseo e mole foi realizada através de análise digital das imagens capturadas dos cortes histológicos. A avaliação radiográfica foi realizada a partir das imagens de radiografias panorâmicas digitalizadas, utilizando o software ImageJ, no qual obteve-se mensurações previamente às extrações e posteriormente à cicatrização dos alvéolos. Os dados foram analisados através do teste Wilcoxon. RESULTADOS: A análise histomorfométrica demonstrou a presença de trabéculas de osso neoformado entremeado com áreas de tecido conjuntivo e ausência de infecção. Na comparação dos grupos, o grupo Teste teve significativamente maior contagem de áreas com tecido mole ($55,58 \pm 9,48$; $p = 0,018$) e menor de osso ($32,41 \pm 9,45$; $p = 0,018$) quando comparado com Controle ($41,63 \pm 4,91$ e $46,37 \pm 4,91$, respectivamente). Os resultados da avaliação radiográfica demonstraram que o grupo Teste manteve a altura do alvéolo quando comparado ao grupo Controle, o qual apresentou medidas finais significativamente menores comparadas às iniciais ($p = 0,018$). Além disto, o grupo Teste ($7,67 \pm 28,51$) teve significativamente menor porcentual de redução de altura de alvéolo comparado ao Controle ($26,87 \pm 17,79$), $p = 0,028$. CONCLUSÃO: A membrana de L-PRF usada no momento da extração dentária é capaz de garantir a estabilidade da altura óssea ao longo de 4 meses.

Palavras-chave: L- PRF, enxerto autógeno, regeneração óssea, histomorfometria e radiografia panorâmica.

ABSTRACT

Platelet and leucocyte rich fibrin (L-PRF) was developed with the objective of obtaining bone regeneration. The L-PRF membrane consists of a high density 3D fibrin tissue resulting from the patient's blood centrifugation. **OBJECTIVE:** The aim of the current study is to evaluate the socket preservation after tooth extraction, using platelet and leukocytes concentrates produced with the L-PRF technique. **MATERIALS AND METHODS:** The study population consisted of seven individuals (3F and 4M), who were indicated to receive dental implants installation, aged between 49 and 57 years (mean 53.7 ± 2.7). A split-mouth design was employed, in which the Test side was randomly selected to receive the L-PRF membrane to fill the socket after extraction; Control side was let to have natural healing with clot filling. Tissue samples were collected from the area after 4 months prior to implant installation. The bone and soft tissue histomorphometric analysis was performed through digital images captured from the histological sections. The radiographic evaluation was performed using scanned panoramic radiographic images using ImageJ software, in which measurements were obtained prior to extractions and after socket healing. Data were analyzed using the Wilcoxon test. **RESULTS:** The histomorphometric analysis demonstrated the presence of trabeculae of neoformed bone interspersed with areas of connective tissue and absence of infection. In the comparison of groups, Test group had a significantly higher number of areas with soft tissue (55.58 ± 9.48 , $p = 0.018$) and fewer with bone (32.41 ± 9.45 , $p = 0.018$) when compared to Control group (41.63 ± 4.91 and 46.37 ± 4.91 , respectively). The results of the radiographic evaluation showed that the Test group maintained the socket height when compared to the Control group, which had significantly lower final measurements compared to the initial ones ($p = 0.018$). In addition, the Test group (7.67 ± 28.51) had a significantly lower percentage of alveolar height reduction compared to Control (26.87 ± 17.79), $p = 0.028$. **CONCLUSION:** The L-PRF membrane used at the moment of tooth extraction is able to guarantee the stability of bone height over 4 months.

Key words: L-PRF, autogenous graft, bone regeneration, histomorphometry, panoramic radiography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Quadro 1. Métodos de preparação de concentrados plaquetários. Pág. 18
- Figura 2. a) Coleta do sangue; b) Centrifugação; c-d) Coágulos de fibrina. Págs. 23 e 24
- Figura 3. Imagem obtenção de membranas L-PRF. Caixa Box para PRF (Maximus Instrumentais Odontológicos®, Contagem, MG, Brasil). Pág. 24
- Figura 4. Fotomicrografia da amostra trefinada do alvéolo dentário preenchido com L-PRF. Observar a presença de trabéculas de osso neoformado e tecido conjuntivo. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Pág. 29
- Figura 5. Fotomicrografia da amostra trefinada de alvéolo dentário preenchido com coágulo sanguíneo. Observar presença de trabéculas ósseas de osso neoformado e tecido conjuntivo, ausência de infecção e de necrose tecidual. Coloração Hematoxilina e Eosina. Pág. 30
- Figura 6. Representa o percentual da formação de Novo osso entre amostras do grupo Teste e grupo Controle. $PRF = \frac{\text{Grupo Teste}}{\text{Clot}} = \text{Grupo controle}$. Pág. 31
- Figura 7. Representa o percentual da formação de Tecido conjuntivo (CT) entre amostras do grupo Teste e grupo Controle. Pág. 31
- Figura 8. Imagem ilustrativa do registro de medidas Inicial (seta branca) e final (seta azul). Fonte: <https://imagej.net> Pág. 33
- Figura 9. Média das mensurações nas radiografias no início e ao final da avaliação de acordo com o grupo. * $p = 0,018$, teste Wilcoxon. Pág. 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Contagem nas lâminas.	Pág. 32
Tabela 2.	Porcentagem de redução de altura na radiografia.	Pág. 34
Tabela 3.	Média das medidas iniciais e finais das radiografias.	Pág. 34

LISTA DE ABREVIATURAS

L-PRF-	Fibrina rica em plaquetas e leucócitos
FC-	Fatores de crescimento
TGF- β 1 –	Fatores de crescimento beta 1
PDGF-AB -	Fatores de crescimento derivados das plaquetas AB
VEGF -	Fatores de crescimento endotelial vascular
TSP-1 -	Fatores de crescimento trombospondina-1
PRP-	Plasma rico em plaquetas
P-PRP-	Puro plasma rico em plaquetas
L-PRP-	Leucócito e plasma rico em plaquetas
P-PRF-	Pura fibrina rica em plaquetas
IGF-	Fator de crescimento semelhante à insulina
CLSI-	Clinical and Laboratory Standards Institute
HE-	Coloração com hematoxilina e eosina
CLOT-	Grupo controle
CT-	Tecido conjuntivo
LABA-	Laboratório de Biotecnologia Aplicada

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.	OBJETIVO.....	20
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
	4.1 População do Estudo.....	21
	4.2 Desenho.....	21
	4.3 Procedimento Cirúrgico.....	22
	4.3.1 1ª Fase.....	22
	4.3.2 Preparação L-PRF.....	22
	4.3.3 2ª Fase- Coleta das Amostras.....	25
	4.4 Preparo das Amostras.....	25
	4.5 Análise Histológica.....	26
	4.6 Histomorfometria.....	26
	4.7 Análise Radiográfica	27
	4.8 Análise Estatística.....	27
5.	RESULTADOS.....	29
	5.1 Análise Histológica Descritiva.....	29
	5.2 Análise Radiográfica.....	32
6.	DISCUSSÃO.....	35
7.	CONCLUSÃO.....	38
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais bioativos que regulam a inflamação e melhoram o processo de cicatrização é um dos maiores desafios da pesquisa clínica. A procura por substitutos ou substâncias que auxiliem a nova formação de tecidos, com as mesmas propriedades que os tecidos perdidos, deram origem a uma ampla faixa de estudos, que envolvem a sinalização de proteínas e a influência de fatores de crescimento, que estimulam respostas mitogênicas no periósteo durante o reparo tecidual (DOHAN, 2009; GAETANO MARENZI, 2015). Este novo campo de estudo, está inserido na área de Engenharia de Tecidos e abrange a biologia molecular e celular, química de polímeros, fisiologia dos tecidos e os avanços na cirurgia bucomaxilo facial e implantar (TOEROEK et al. 2013; URIST 2002).

Em 1974, Ross *et al.*, introduziram o conceito de potencialidade regenerativa dos tecidos, descrevendo fatores de crescimento contidos nas plaquetas, a partir da separação destas por centrifugação. As pesquisas de Choukroun e Dohan *et al.* (2001, 2006a), seguindo os conceitos de Ross et al.(1974) resultaram em uma segunda geração de concentrados de plaqueta, em forma de coágulo de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF). Este concentrado contém a maioria das plaquetas e proporção aumentada de linfócitos da colheita sanguínea inicial, com todos os constituintes favoráveis à cicatrização e regeneração (DOHAN, 2010).

O L-PRF obtido por centrifugação forma-se na porção média do tubo de coleta, sem qualquer aditivo, podendo ser usado diretamente, comprimido em forma de membrana ou ainda como cilindro (*plug*), dependendo da área de utilização (DOHAN et al 2006).

O concentrado de fibrina rico em plaquetas e leucócitos é considerado um biomaterial autólogo bioativo, denso e resistente, de fácil manipulação e baixo custo, que agrupa elementos capazes de liberar lentamente proteínas-chave específicas, que estão envolvidas no processo de cicatrização e regulação da inflamação. Entre as proteínas-chave denominadas fatores de crescimento (FC) são encontradas principalmente fatores de crescimento transformador beta1(TGF- β 1), derivado das plaquetas AB (PDGF- AB), endotelial vascular (VEGF), Thrombospondina-1 (TSP-1), Fibronectina e Vitronectina dentro de uma matriz tridimensional (ANITUA et al. 2013;

BOSWELL et al. 2012; DEL CORSO 2009; CHOUKRON *et al.* 2006; DOHAN *et al.* 2012).

Algumas aplicações clínicas deste biomaterial autólogo foram descritas em várias áreas da medicina, como na cirurgia plástica, otorrinolaringologia, ortopedia e na medicina do esporte, tendo a vantagem de reduzir a morbidade dos procedimentos cirúrgicos (BIELECKI 2012; EVERTS, 2012; YUAN, 2012).

As descobertas de Choukroun e os seus colaboradores proporcionaram a plausibilidade do uso do L-PRF na odontologia, para promover inicialmente a regeneração óssea de alvéolos e foi posteriormente estendida, como adjuvante, para outras áreas como: implantodontia, cirurgias periodontais estéticas, endodontia regenerativa, entre outras (JANG, 2010; JACOVIK, 2012; CHANG 2011; KESWANI 2013; PADMA 2013).

Na odontologia, a técnica de L-PRF tem sido utilizada sozinha ou em combinação com materiais de enxerto ósseo que favorecem o aumento ou a manutenção do volume durante a cicatrização de tecidos moles e duros, enquanto protege locais cirúrgicos e materiais enxertados de agressões externas (TOEROEK 2013; MOURÃO & MOURÃO, 2015).

A cicatrização do osso alveolar durante o reparo pós-exodontia está associado a uma remodelação tecidual que resulta em grande perda de volume ósseo, tanto no sentido vertical quanto horizontal (JAHANGIRI, 1998). Esta reabsorção e a perda do processo alveolar fisiológica, após a remoção do dente é um fenômeno natural, não desejável, que pode prejudicar a colocação de próteses e de implantes (LINDHE & ARAÚJO, 2015; INCHINGOLO, 2015). Para esta situação fisiológica, porém adversa, vários estudos têm sugerido métodos, como a técnica de L-PRF, que atuem na formação e manutenção óssea em alvéolos de dentes pós-extraídos, minimizando dessa forma a perda de altura e espessura do processo alveolar (DEL CORSO, 2010). Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo é avaliar a preservação de alvéolos, pós-exodontia, utilizando concentrados de plaqueta produzidos com a técnica de L- PRF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A perda do osso alveolar pode ocorrer antes da extração dentária devido à doença periodontal, patologias periapicais ou trauma nos dentes e osso (FROUM et al. 2002; TARNOW et al. 1992). Porém, pós-extração também ocorrem mudanças do processo alveolar significativas, principalmente no primeiro ano. O rebordo alveolar sofre alterações horizontais e verticais de até aproximadamente 50% da largura e altura do alvéolo. Tal reabsorção ocorre principalmente dentro dos três primeiros meses e leva a uma deformação do rebordo que causa dificuldades estéticas e funcionais (PARK et al. 2016).

A reabsorção do tecido ósseo, pós extração, tanto na maxila como na mandíbula é um dos principais desafios para a reabilitação oral que por vezes necessita de estrutura óssea para a instalação de implantes ou para suporte de próteses removíveis. Para prevenir esta redução ou compensar a perda da dimensão do osso, várias técnicas e materiais foram descritos para resolver situações clínicas críticas (JUNG et al 2013; POLI 2014).

Uma das alternativas utilizadas atualmente são os concentrados de plaqueta, conseguidos a partir da coleta de sangue do próprio paciente, utilizados durante procedimentos cirúrgicos, que aceleram a cicatrização de feridas e a maturação de tecidos moles e duros (DOHAN & CHOUKRON, 2007). Estes concentrados combinam três elementos-chave: Plaquetas (ricas em fatores de crescimento), o fibrinogênio (posteriormente ativado dentro da matriz de fibrina) e em alguns casos populações de leucócito (SUNITHA et al 2008)

Sammartino et al. (2014) relataram que em muitos aspectos, o domínio de concentrados de plaqueta é um verdadeiro pesadelo para os pesquisadores e clínicos, que precisam compreender a complexidade dos extratos sanguíneos, entender a hematologia, imunologia, biologia celular e endocrinologia, além da dificuldade do emprego da terminologia nos artigos científicos que tendem a denominar todos os concentrados como Plasma Rico em Plaquetas (PRP).

Para melhorar o entendimento da terminologia, os concentrados foram agrupados em 4 famílias, baseados no conteúdo de células e arquitetura da fibrina, são eles: Puro Plasma rico em Plaquetas (P-PRP), Leucócito e Plasma rico em

Plaquetas (L-PRP), Pura Fibrina rica em Plaquetas (P-PRF) e Fibrina rica em Plaqueta e Leucócito (L-PRF) (Platelet & Advanced Cell Therapies Forum 2014).

Atualmente, dois grandes grupos são mais referenciados: PRP e PRF. PRP – Plasma Rico em Plaquetas – consiste numa modificação de cola de fibrina, (produzida nos anos 70 por Matras) resultante da centrifugação do sangue do próprio paciente, em duas etapas, que contém os FC que influenciam na cicatrização, tendo um papel importante nos mecanismos de reparação tecidual e regulação celular que inclui quimiotaxia, diferenciação e metabolismo. Geralmente, o PRP é usado sob a forma de gel conseguido pela mistura de PRP (resultante de dupla centrifugação de sangue, integralmente, autólogo) com trombina e cloreto de cálcio. A obtenção do PRP se divide em mais dois protocolos: P-PRP e PRP-L (EVERTS et al. 2008; ALBANESE et al 2013).

Sanchez et al. (2012) investigaram os potenciais riscos associados ao uso do PRP e sugeriram que a trombina utilizada (geralmente de origem bovina) poderia estar associada ao desenvolvimento de anticorpos, tanto de antitrombina como dos antifatores V e XI, resultando em risco de alterações na coagulação.

Choukroun et al. (2001) desenvolveram o PRF – Fibrina rica plaqueta, pertencente à segunda geração de concentrados plaquetários, com centrifugação única e sem manipulação bioquímica de sangue.

O protocolo de Choukroun permite obter membranas resistentes de fibrina enriquecidas com quase todas as plaquetas e fatores de crescimento da coleta inicial do sangue. Esta arquitetura favorece a liberação lenta dos FC (de 7 a 10 dias), além de servir como substrato para uma migração celular mais eficiente e a proliferação otimizada com conseqüente cicatrização mais rápida (DOHAN, 2010). A técnica de Choukroun et al, apresenta dois protocolos distintos : PRF e L-PRF

Segundo Wu et al. (2012) o processo de centrifugação ativa plaquetas do PRF, favorece a liberação de FC capazes de estimular a migração e a proliferação celular, como TGF β -1 – regulador inflamatório que induz a fibrose; PDGF - reguladores da migração, proliferação e sobrevivência das linhagens celulares mesenquimatosas e IGFs (fator de crescimento semelhante a insulina) – tanto o I como o II, que são reguladores da proliferação e diferenciação da maioria das células.

A ativação do fibrinogênio produz a fibrina que é o principal elemento da arquitetura tridimensional da membrana, uma molécula que está presente no plasma como grânulos alfa das plaquetas e tem papel determinante durante a hemostase. A rede de fibrina é capaz de consolidar e aprisionar as plaquetas, constituindo uma espécie de barreira no processo da coagulação (SANCHEZ, 2003).

A obtenção dos concentrados plaquetários obedece a diferentes protocolos, que resultam em diferentes composições celulares.

Quadro 1. Métodos de preparação de concentrados plaquetários.

Autores	Tipo de concentrado	Volume de sangue, ml	Anticoagulante	Centrifugação velocidade/tempo	Ativador
Alissa et al.	PRP	27	Citrato dextrose	3200 rpm /12 min	Trombina
Farina et al.	PRP PRGF	20	Citrato Trisodium	580 g/ 8 min	Cloreto de Cálcio
Choukron et al.	PRF	10	Não	2700/10 min	Não
Hauser et al.	PRF	8	Não	1 x 2700 rpm 12 min	Não

Embora existam diferenças entre os protocolos descritos na literatura, os estudos apresentam uma ampla utilização na odontologia, na solução de defeitos ósseos em periodontia, cirurgia oral e maxilofacial e em implantodontia, principalmente na manutenção de alvéolos pós-extração. (AGRAWAL et al., 2014; Khiste e Tari (2013); TUNALI et al., (2013); SIMONPIERI et al., (2009).

Del Corso et al. (2010) recomendaram a utilização de membranas de L-PRF nos locais de avulsão ou extração para que se mantenha o volume de osso adequado, otimizando a formação de um coágulo estável. Sendo importante em sítios com infecção e em pacientes com condições médicas que possam comprometer todo o processo de cicatrização: diabéticos e pacientes medicados com imunossupressores ou anticoagulantes.

Anitua et al (2015) concluíram que o uso de L-PRF em alvéolos pós-extração é o melhor biomaterial de escolha, por ser 100% autólogo, fácil de se obter e de baixo custo. Em casos de perdas severas da parede vestibular pode ser usado em conjunto com biomateriais alográficos.

Segundo Hauser et al. (2013) que investigaram se o uso de membranas de L-PRF para o preenchimento de alvéolos poderia melhorar a microarquitetura e a qualidade do tecido ósseo no alvéolo pós-extração, concluíram que a técnica preserva as estruturas quando utilizada em extrações atraumáticas.

Anwandter et al. (2016) avaliaram clínica e radiograficamente em 18 pacientes com indicação de uma extração, as mudanças dimensionais do rebordo alveolar, após 4 meses de extração, de alvéolos preenchidos com L-PRF e demonstraram que houve uma perda vertical média, na parede vestibular de $0.44 \pm 3.5\text{mm}$ ($p=0.3$) e a lâmina cortical oral tinha um ganho médio de $0.09\text{mm} \pm 1.57\text{mm}$ ($p=0.9$). As maiores perdas foram na maxila.

Temmerman et al. (2016) avaliaram radiograficamente, 22 pacientes que tinham necessidade de extrações simétricas de dentes unirradiculares, na maxila e mandíbula. Aleatoriamente, foram divididos em grupo teste e controle. Concluíram que existiu diferença estatisticamente significativa no percentual de preenchimento do alvéolo entre os grupos: teste ($94,7\% \pm 26,9$) e controle ($63,3\% \pm 31,9$), concluindo que o uso de L-PRF como material preenchedor preserva as dimensões horizontais e verticais do alvéolo após três meses.

3 OBJETIVO

O objetivo do estudo é avaliar a preservação dimensional de alvéolos, pós-exodontia, utilizando concentrados de plaquetas e leucócitos produzidos com a técnica de L-PRF.

3.1 Hipótese Nula

Não existe diferença dimensional significativa com relação ao tratamento de alvéolos pós-extração utilizando concentrado de fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

3.2 Hipótese Verdadeira

Existe diferença dimensional significativa com relação ao tratamento de alvéolos pós- extração utilizando concentrado de fibrina rica em plaquetas e leucócitos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 População do estudo

A população incluída no estudo foi composto por 7 indivíduos, 4 do sexo masculino e 3 feminino, adultos com idade média de $53,7 \pm 2,7$, saudáveis, selecionados na Clínica Odontológica do Mestrado de Periodontia da UNIGRANRIO que apresentavam indicação de exodontia bilateral e necessidade de reabilitação com implantes endósseos. Foram excluídos indivíduos com doenças sistêmicas não controladas, fumantes pesados, que apresentem doenças que interferem na cicatrização tais como diabetes, além de hepatopatias, cardiopatias, desordens imunes ou doenças da mucosa oral. Também foram excluídos pacientes que se encontravam em terapia com uso de bifosfonatos ou radioterapia e grávidas.

4.2 Desenho

O estudo foi concebido como desenho de boca dividida (*split mouth*), em indivíduos com indicação de exodontias bilaterais em dentes unirradiculares e posterior instalação de implantes osseointegrados. Um lado foi escolhido aleatoriamente (uso de uma moeda) e designado lado Teste, que recebeu o preenchimento do alvéolo pós-extração com membrana de L-PRF (particulada), seguindo o protocolo estabelecido por Choukroun et al. (2006). O lado denominado Controle, contralateral, foi permitido a cicatrização natural.

Os indivíduos foram informados sobre todo o procedimento e sobre a retirada de uma pequena amostra do tecido, por ocasião da reabertura do sítio para instalação do implante. A participação no estudo foi concretizada mediante consentimento do paciente, através de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação em Pesquisa, conforme orientação do Comitê de Ética em Pesquisacom Seres Humanos da UNIGRANRIO, que aprovou o estudo sob o número 1.500.933

O exame anamnésico foi coletado através de questionário com perguntas diretas e o exame clínico periodontal foi realizado pelo próprio pesquisador. O

exame radiográfico panorâmico foi realizado em serviço especializado sob orientação do pesquisador. Após análise inicial para os pacientes que apresentaram necessidade de tratamento periodontal, foi elaborado um plano de tratamento individual de acordo com o diagnóstico obtido. O procedimento periodontal e cirúrgico foi realizado pelo pesquisador.

4.3 Procedimento Cirúrgico

4.3.1 - 1ª FASE

A indicação de exodontia incluiu casos de fratura de raiz ou coroas, dentes com caries extensas não recuperáveis, granulomas periapicais e indicação de protocolo de Branemark. Os pacientes receberam bloqueio com anestesia regional ou local, dependendo da região do arco, usando Mepivacaína 2% (DFL ®, Brasil). Foi usado Mepivacaína, que não contém epinefrina, por não restringir o suprimento sanguíneo da área bloqueada.

Os dentes foram extraídos de maneira atraumática, sem elevação de retalho e preservando as paredes do alvéolo, possibilitando a colocação e preenchimento com concentrado de L-PRF (DOHAN,2009). Após o procedimento, todos os alvéolos foram suturados com fio 3-0 de seda (Ethicon/Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil). No lado contra lateral, controle, foi realizado o procedimento de exodontia e sutura, da mesma maneira, porém foi permitida a cicatrização natural.

4.3.2 Preparação do L-PRF

O L-PRF foi preparado utilizando uma única centrifuga (Modelo: NI 1811-A, Nova instruments, Piracicaba, SP, Brasil) de bancada para tubos de sangue.

A centrífuga utilizada foi ajustada de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e Recomendações da Sociedade Brasileira de

Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (ANDRIOLO et al., 2010), seguindo a fórmula:

$$\text{RCF ou Força G} = 1,12 \times R \times (\text{RPM}/1000)^2$$

RCF corresponde à força centrífuga relativa e, também, à denominada força g, e refere-se à regulação de aceleração da centrífuga, expressa em RPM. Para a transformação do g em RPM, ou vice-versa, deve-se conhecer o raio da centrífuga, conforme a seguinte equação: Em que “R”, expressa-se em cm, que corresponde à distância radial do centro do rotor da centrífuga (raio) preconizada pelo protocolo de Choukron et al. (2006).

O sangue foi colhido em 08 tubos de vidro sem anticoagulante, de 9 mL, 30 minutos antes da cirurgia (Figura 2 a), e imediatamente centrifugado por 12 minutos a 2200 rpm (Figura 2 b). Após a centrifugação o coágulo de L-PRF que se forma na parte média do tubo, foi separado da porção de células vermelhas (trombo), obtendo assim um coágulo de fibrina rico em plaquetas e leucócitos (DOHAN et al. 2009) (Figura 2. 1c,1d).

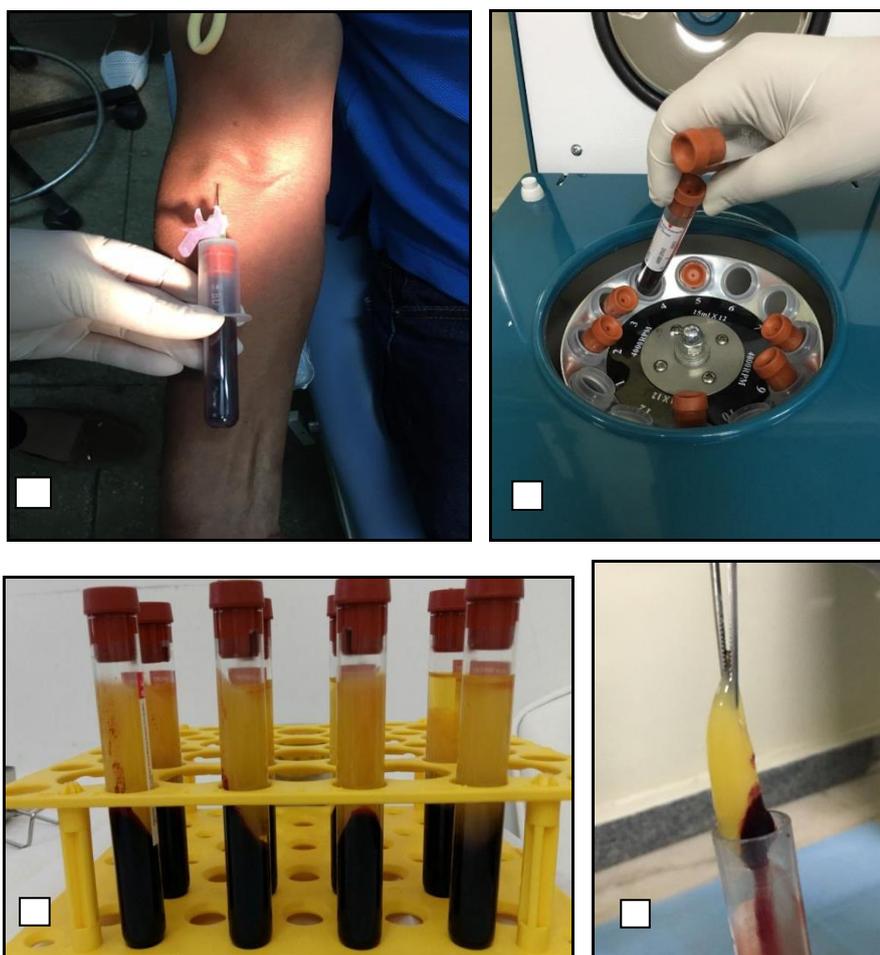


Figura 2. a) Coleta do sangue; b)Centrifugação; c-d)Coágulos de fibrina

O L-PRF foi condensado e modelado em kit próprio estéril (Caixa Box PRF, Maximus Instrumentais Odontológicos, Contagem, MG, Brasil) para a formação de uma membrana (Figura 3).

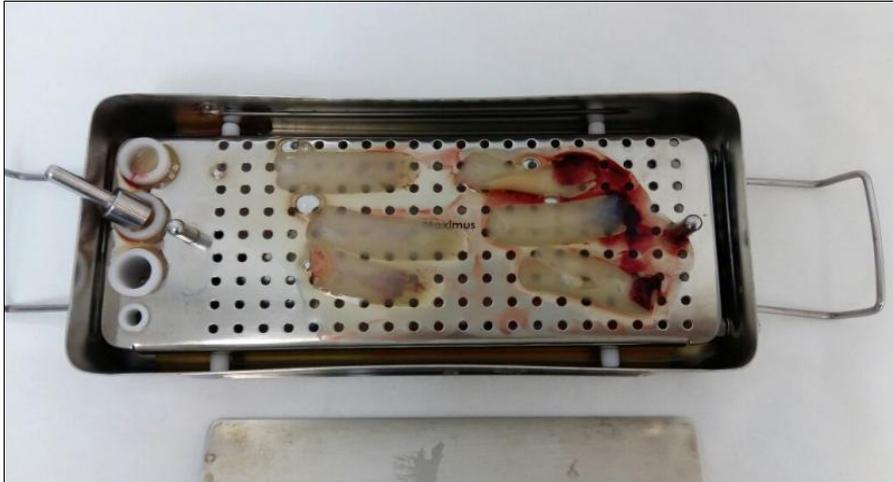


Figura 3. Imagem obtenção de membranas L-PRF. Caixa Box para PRF (Maximus Instrumentais Odontológicos®, Contagem, MG, Brasil)

Antes da aplicação no alvéolo as membranas foram fragmentadas utilizando tesoura Goldman Fox (Millennium-Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil). O L-PRF foi usado antes de 60 minutos pós-preparação, precisamente posicionado e estabilizado por suturas não reabsorvíveis (Ethicon/ Seda 4.0. Johnson&Johnson®). No lado Controle a mesma sutura foi utilizada.

Todos os pacientes foram aconselhados a fazer repouso relativo e uma dieta líquida ou pastosa e fria nas próximas 48 horas e controle químico da placa bacteriana com bochecho de clorexidina a 0,12% durante um minuto. Em todos os casos a sutura foi removida após uma semana. O paciente foi acompanhado nas 3 semanas subsequentes.

4.3.3 2ª Fase – Coleta das Amostras

Após o período de 4 meses foi realizado o procedimento cirúrgico para a coleta das amostras e instalação dos implantes. Previamente ao procedimento cirúrgico, foi prescrito em regime profilático, 4 cápsulas de amoxicilina 500mg, em administração única, 1 hora antes da cirurgia e durante 7 dias depois, em um regime de uma cápsula de 8 em 8 horas por 7 dias. Também foi ministrado analgésico (Dipirona monoidratada: 20 a 40 gotas em administração única ou até o máximo de 40 gotas 3 vezes ao dia) e anti-inflamatório, que foi estendida a administração por 3 dias (Nimesulida 200mg: 24/24h) pós-cirurgia (SEABRA et al, 2004). Foi entregue ao paciente 18 ml de solução de clorexidina a 0,12% para bochecho, antes do procedimento, visando a redução da microbiota oral.

A partir da preparação do alvéolo para instalação do implante, foi coletada amostras de material formado no centro do alvéolo (até aproximadamente 6mm de profundidade) com broca trefina de 3.3 mm (Neodent®, JJGC IND.E COM. DE MAT. DENTÁRIOS S.A, Curitiba, PR, Brasil). O material foi depositado em recipiente contendo formol a 10% para posterior análise histológica.

4.4 Preparo das Amostras

As amostras retiradas da parte central do alvéolo foram então coletadas, fixadas em formol tamponado a 10 % por tempo mínimo de 24hs e posteriormente colocada em solução descalcificadora óssea (Allkimia®, Campinas, SP, Brasil) até desmineralização completa, em seguida processadas para a histologia de acordo com o protocolo a seguir:

- Desidratação: os tecidos foram mergulhados em uma série crescente de álcool (70%, 80%, 90%, absoluto I, absoluto II, absoluto III), com um tempo de 30 minutos em cada banho;

- Diafanização: os tecidos foram mergulhados em três banhos de xilol, durante 30 minutos em cada banho;

- Infiltração: foram realizados três banhos em parafina a 58°C, durante 90 minutos em cada banho. Após o último banho, as peças foram incluídas em blocos de parafina.

Os blocos de parafina foram cortados no sentido longitudinal ântero-posterior, com 5µm de espessura com auxílio de um micrótomo (Leica RM2125 RT). Os cortes foram coletados em lâminas de vidro e deixados secar.

4.5 Análise Histológica

Cada amostra obtida foi analisada macro e microscopicamente para registrar a extensão de cada reação tecidual observada. A resposta tecidual foi avaliada na área compreendida nas regiões circunjacentes à área do centro do alvéolo dentário.

As lâminas obtidas dos blocos em parafina e coradas com hematoxilina e eosina (HE) foram observadas em Microscópio de Luz de Campo Claro (Nikon Eclipse E400, Tóquio, Japão). Essas imagens foram capturadas por uma câmera digital de alta resolução (Sony® HD DSC HX9V 16.2 Mega Pixels), utilizando lentes objetivas Acroplan de 10x e 20x no Laboratório de Biotecnologia Aplicada (LABA) da Universidade Federal Fluminense para análise histomorfométrica.

A análise descritiva da resposta tecidual aos biomateriais foi avaliada em função presença de tecido conjuntivo, osso neoformado e presença de inflamação.

4.6 Histomorfometria

A histomorfometria foi realizada através de análise digital das imagens capturadas das lâminas coradas com HE através de um microscópio de luz de campo claro (Nikon Eclipse E400, Tóquio, Japão) em aumento de 20x. Essas imagens foram capturadas por uma câmera digital de alta resolução (Sony® HD DSC HX9V 16.2 Mega Pixels). Antes da colocação da lâmina na platina do microscópio, sua limpeza foi feita com lenço de papel para remoção de impurezas. A iluminação do microscópio foi mantida constante durante todas as sessões de captura de imagem, mantendo o potenciômetro da lâmpada de tungstênio na posição de 12h. A objetiva escolhida para a captura foi a de 20x por propiciar um bom campo de observação e ainda permitir o detalhamento morfológico do tecido. Em cada corte histológico foram fotografados de 6 a 8 campos corridos por varredura correspondentes à região do centro do alvéolo dentário (área trefinada), não havendo sobreposição das mesmas. Foram coletadas imagens de todos os

grupos experimentais totalizando 115 imagens digitais. As imagens foram recortadas em tamanho padrão no programa Picasa® 3 na dimensão de 20x25 e a interface de captura foi disponibilizada pelo software Image Pró Plus® v. 4.5.0.29. A grade para a contagem sobreposta às imagens continha 200 pontos permitindo assim uma análise de densidade de volume de osso neoformado, tecido conjuntivo e outros totalizando nesse estudo 22400 pontos. Os resultados foram automaticamente transferidos para uma planilha do software Microsoft Excel® para posterior análise estatística.

4.7 Análise Radiográfica

As radiografias panorâmicas utilizadas foram apresentadas pelos pacientes em filme radiográfico. Todas foram digitalizadas e analisadas utilizando régua eletrônica do software (ImageJ® v. 4) que traçou linhas verticais e paralelas. (Figura 8)

As linhas tinham como referência estruturas anatômicas adjacentes ao sítio a ser avaliado (ex. forame mentoniano, borda infraorbitária) (reta amarela) ou perpendicular à cortical da mandíbula ou maxila, no caso de pacientes edêntulos. A outra linha foi posicionada no centro do sítio a ser avaliado (reta verde). Um plano horizontal e perpendicular a esta delimitou a base da medida (reta vermelha).

A régua eletrônica do software forneceu medidas quantitativas em pixels que foram analisadas estatisticamente.

4.8 Análise Estatística

Os registros das informações quantitativas da análise histológica foram armazenadas em um banco de dados elaborado em planilha do software Microsoft Excel®. O software GraphPad Prism 5 foi utilizado para a realização dos valores médios e desvio padrão.

Na análise histomorfométrica por indivíduo, estes foram comparados por Kruskal-Wallis seguido de pós-teste Dunn's ($p < 0,05\%$) utilizando o programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, USA) (Figuras 3 e 4).

Foi realizado o teste de Wilcoxon com o software IBM-SPSS Versão 2.0 para amostras pareadas nas comparações do tecido ósseo e do tecido mole na análise histológica por grupo. Além disso, os dados obtidos das radiografias, mensurações antes e após o experimento e a média do percentual de redução também foram examinados pelo mesmo. O nível de significância considerado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Análise Histológica Descritiva

O cronograma do tratamento de cada paciente seguiu o planejamento estabelecido no protocolo da pesquisa. Sete participantes foram incluídos no estudo, 4 do sexo masculino e 3 feminino, adultos saudáveis com idade média de $53,7 \pm 2,7$ anos. Todos os pacientes completaram o estudo. Nenhum caso de infecção, alveolite ou complicação cirúrgica foi observado. O tempo de cicatrização transcorreu sem intercorrências e nenhum participante foi perdido no período de acompanhamento. Todas as 14 biópsias do grupo Teste (7) e Controle (7), dos sete participantes foram colhidas satisfatoriamente, com broca trefina, o mais próximo possível dos 120 dias após a extração dentária.

As imagens analisadas das amostras trefinadas dos alvéolos dentários preenchidos com L-PRF mostraram, através da coloração e forma, a presença de componentes da cicatrização do osso alveolar, com formação de trabéculas de osso neoformado. A Figura 4 mostra áreas de novo osso formado, em cor rosa (seta preta), entremeado com áreas de tecido conjuntivo em cor rosa pálido (seta verde) e ausência de infecção e/ou necrose tecidual (Figura 5).

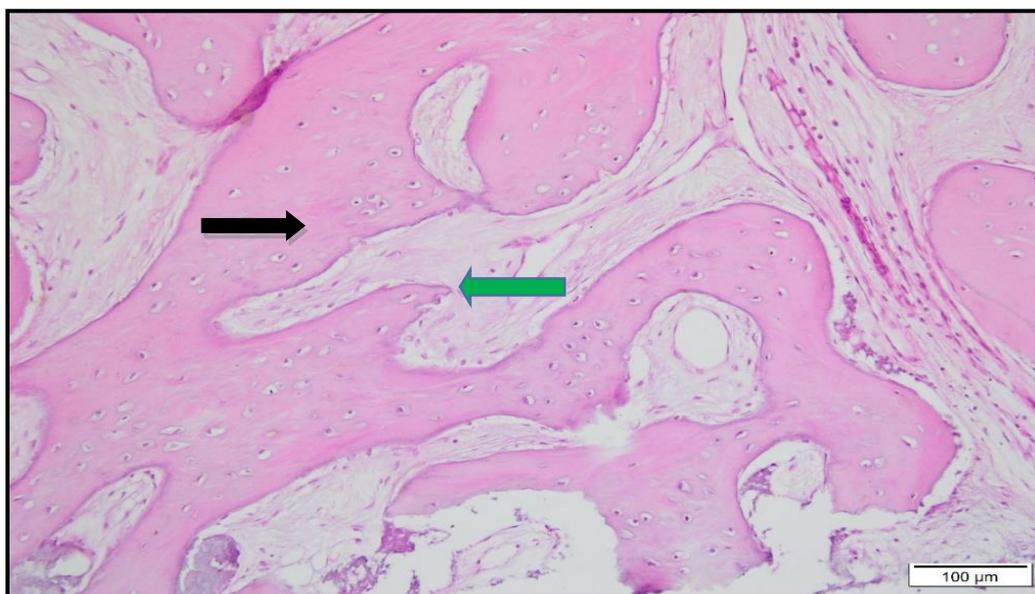


Figura 4. Fotomicrografia da amostra trefinada do alvéolo dentário preenchido com L-PRF. Observar a presença de trabéculas de osso neoformado e tecido conjuntivo. Coloração: Hematoxilina e Eosina.

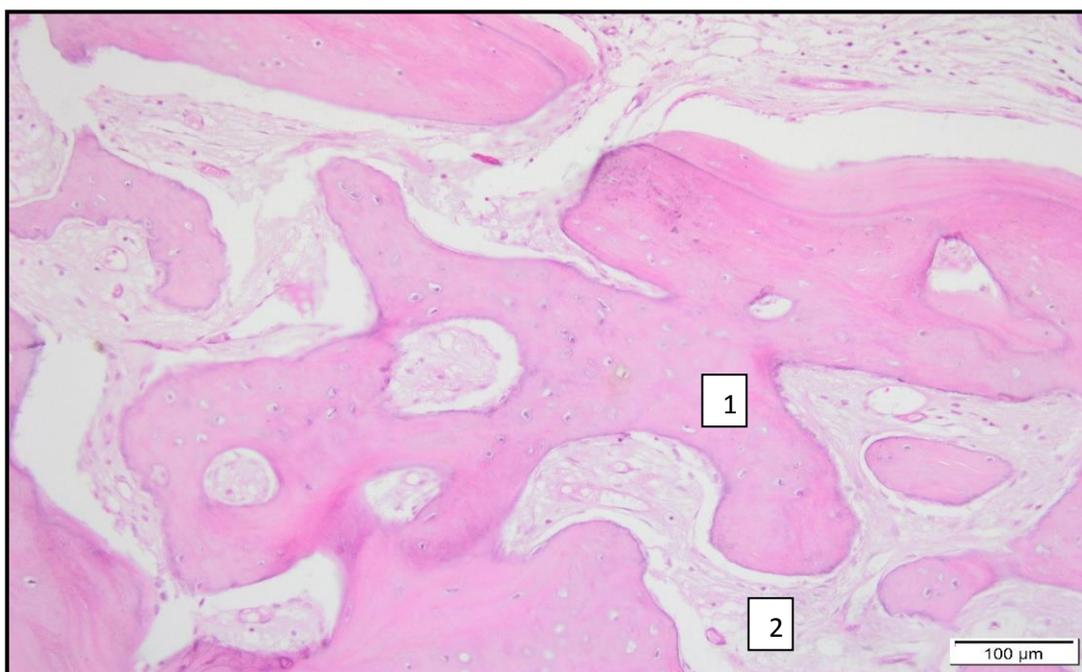


Figura 5. Fotomicrografia da amostra trefinada de alvéolo dentário preenchido com coágulo sanguíneo. Observar presença de trabéculas ósseas de osso neoformado (1) e tecido conjuntivo (2), ausência de infecção e de necrose tecidual. Coloração Hematoxilina e Eosina.

O novo osso foi observado em ilhas povoadas de inúmeras lacunas. Pequenas áreas difusas com coloração escura bordaram as áreas de novo osso sendo sugestiva de osteócito. Entre as ilhas de novo osso mineralizado as imagens mostraram um tecido rosa pálido correspondente ao tecido conjuntivo.

A avaliação também encontrou, em algumas amostras, próximo às bordas das amostras a presença de áreas de osso maduro, provavelmente resultante da penetração da broca trefina na área de osso original maduro mineralizado. Estas áreas foram excluídas da avaliação histomorfométrica não contribuindo para o cálculo de porcentagem de osso e tecido conjuntivo neoformado.

A análise das porcentagens da quantidade de área de osso neoformado e de tecido conjuntivo das amostras avaliadas está resumida na tabela 2.

Foi possível observar que o percentual foi maior da área de osso neoformado em três dos sete pacientes do grupo Teste (amostras 1,2 e7), nos sítios que utilizaram o L-PRF, quando comparado à formação de tecido conjuntivo. Nos sítios Controle destas mesmas amostras a situação se mostra equivalente, havendo

também maior formação de novo osso do que tecido conjuntivo.

As amostras 3,4,5 e 6 do grupo Teste apresentaram maior percentual de formação de tecido conjuntivo quando comparado a formação de novo osso.

O grupo Controle destas amostras obteve maior formação de novo osso quando comparado à formação de tecido conjuntivo (Anexo A).

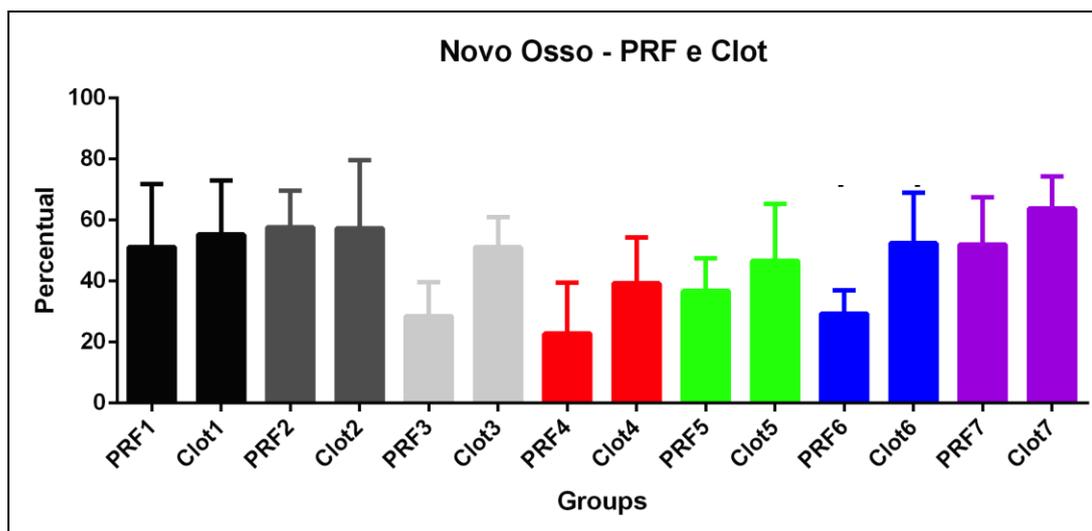


Figura 6. Representa o percentual da formação de Novo osso entre amostras do grupo Teste e grupo Controle. PRF =Grupo Teste/ Clot= Grupo controle.

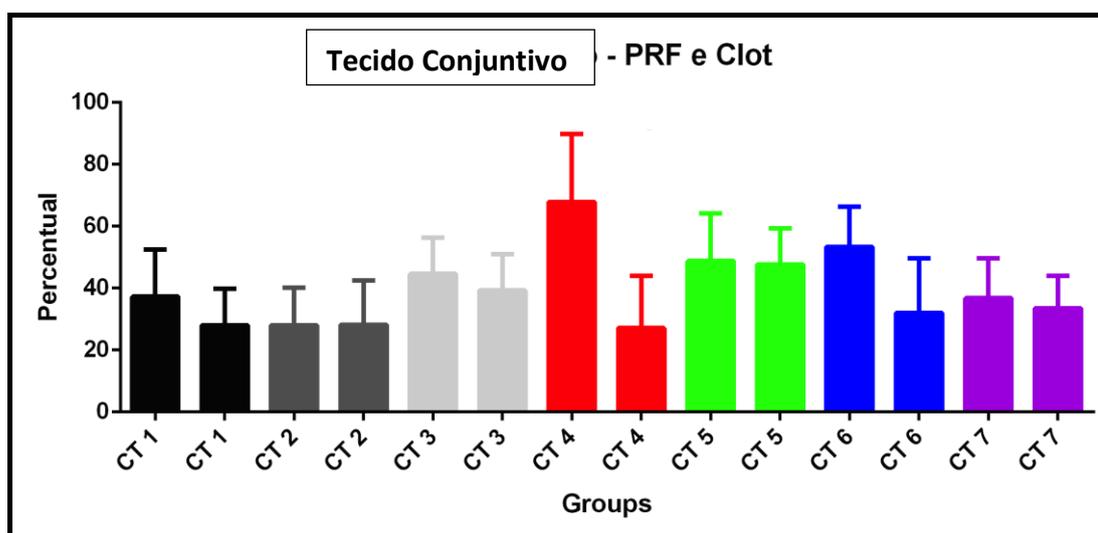


Figura 7. Representa o percentual da formação de Tecido conjuntivo (CT) entre amostras do grupo Teste e grupo Controle.

Para análise comparativa dos grupos as imagens foram recortadas em tamanho padrão no programa Fotosizer® v3.1.0.550 e disponibilizada no software

ImageJ. O programa gera uma grade para a contagem sobreposta às imagens que contem 88 pontos, permitindo assim uma análise de volume de osso neoformado e tecido conjuntivo. Os resultados foram automaticamente transferidos para uma planilha do software Microsoft Excel® para análise estatística utilizando teste Wilcoxon

Tabela 1. Descrição paramétrica das lâminas do grupo Teste e grupo Controle quanto à formação de osso e tecido conjuntivo. *teste Wilcoxon.

Grupo	Osso	Tecido Conjuntivo
PRF	32,41 ± 9,45	55,58 ± 9,48
Coágulo	46,37 ± 4,91	41,63 ± 4,91
	<i>P*</i> = 0,018	<i>P*</i> = 0,018

5.1 Análise Radiográfica

Atenção especial foi dada para a seleção dos exames radiográficos. Somente foram selecionados exames com correto posicionamento para tomada radiográfica. Procurou-se, desta maneira, evitar ao máximo as distorções que poderiam interferir com o resultado das mensurações. As radiografias panorâmicas iniciais e finais foram obtidas preferencialmente no mesmo serviço radiológico. No exame inicial da radiografia foi observada a real necessidade de extração do elemento dentário, que sugeria áreas de radiolucidez por fraturas ou cáries extensas, que impossibilitavam a reconstrução do dente.

A observação do exame radiográfico final dos 7 pacientes, nos sítios que receberam o L-PRF, após 4 meses, revelou imagem sugestiva da presença de novo osso formado e preservação do alvéolo (Figura 9). As radiografias panorâmicas iniciais e finais foram digitalizadas para avaliação das distâncias.

Nas radiografias panorâmicas digitalizadas foram traçadas linhas utilizando a régua eletrônica do software. (ImageJ® v. 4).

A figura 8 mostra a disposição das linhas verticais (amarelo e verde) traçadas paralelas ou perpendiculares a estruturas anatômicas (ex. forame mentoniano, borda infraorbitária, cortical da mandíbula ou maxila), adjacentes e no centro do sítio a ser avaliado. Um plano horizontal e perpendicular a estas linhas delimitou a base da medida (vermelho). Um plano horizontal e perpendicular a estas linhas delimitou a base da medida (vermelho).

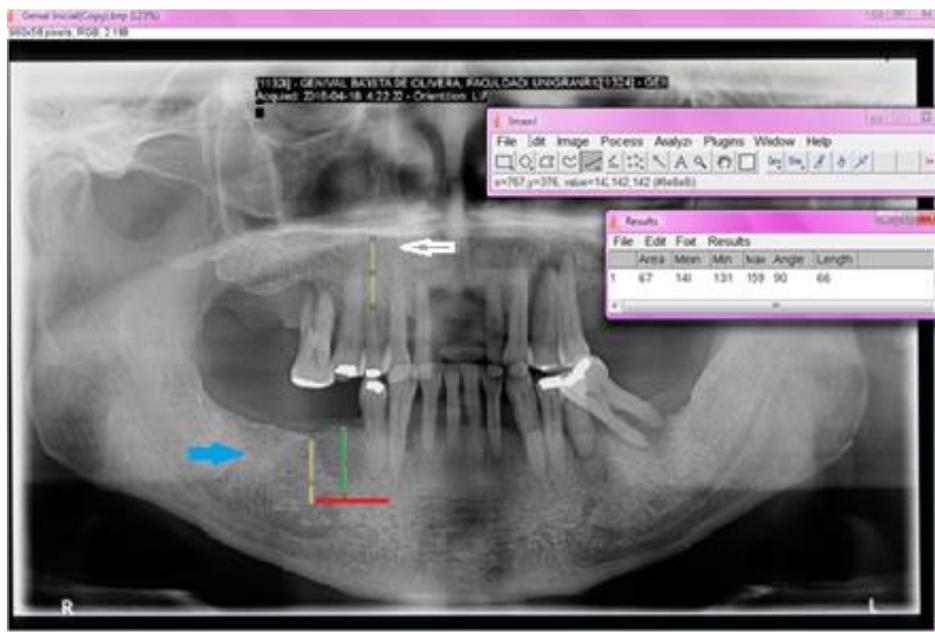


Figura 8. Imagem ilustrativa das linhas traçadas para registro de medidas. Fonte: <https://imagej.net>

As medidas das radiografias panorâmicas foram compensadas de acordo com o fator de magnificação do aparelho de radiografia panorâmica (25%) fornecida pelo fabricante. Com este procedimento foram obtidas medidas absolutas que facilitaram a comparação entre os sítios.

As medidas dos pares de imagens do mesmo sítio (inicial versus final) foram automaticamente transferidas para uma planilha do software Microsoft Excel® para posterior análise estatística.

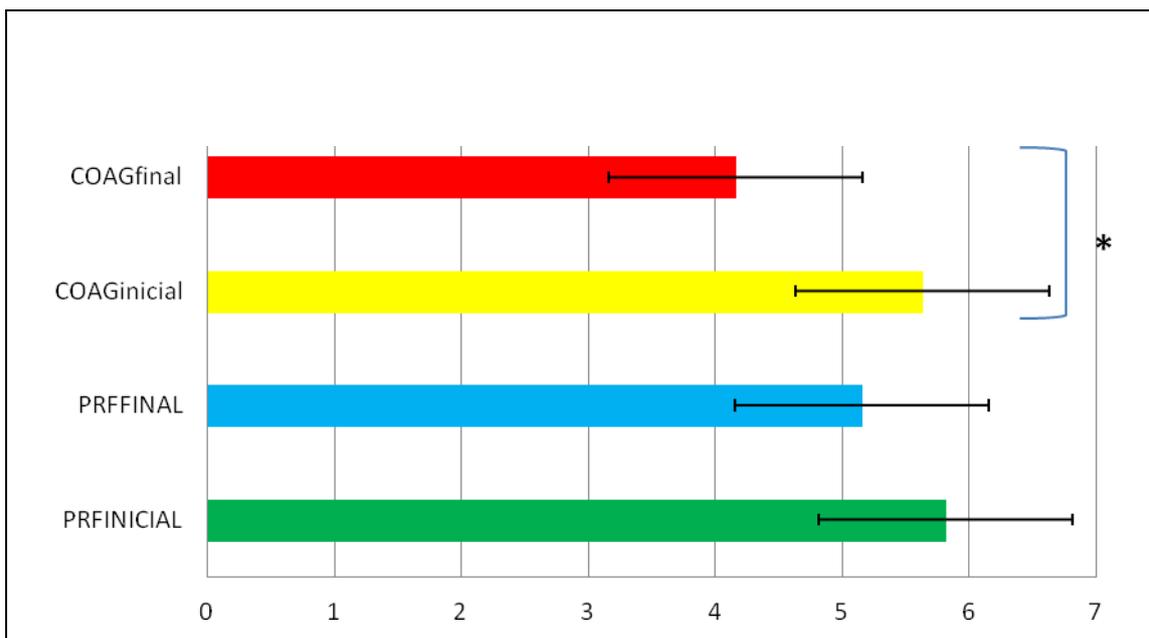


Figura 9. Média das mensurações nas radiografias no início e ao final da avaliação de acordo com o grupo. * $p = 0,018$, teste Wilcoxon.

Tabela 2. Porcentual de redução de altura na radiografia. *teste Wilcoxon.

Grupo	Porcentual de redução (\pm desvio-padrão)	Valor de P^*
PRF	7,67 \pm 28,51	0,028
Coágulo	26,87 \pm 17,79	

Tabela 3. Média das medidas iniciais e finais das radiografias.*teste Wilcoxon. Coágulo reduziu significativamente

Grupo	Inicial	Final	Valor de P^*
PRF	58,09 \pm 16,45	51,51 \pm 12,16	0,310
Coágulo	56,27 \pm 17,44	41,58 \pm 16,09	0,018

6 DISCUSSÃO

A possibilidade de substitutos que auxiliem a nova formação de tecidos, com as mesmas propriedades que os tecidos perdidos, deram origem a uma ampla faixa de estudos (CHOUKRON, 2001; DOHAN, 2006; 2009; ANITUA, 2013) e nos motivou na elaboração desta pesquisa. Este estudo foi proposto pra avaliar o uso do concentrado de plaquetas e leucócitos em membrana de fibrina (L-PRF) como um material autógeno de enxerto, na preservação dimensional de alvéolos pós-exodontia.

A avaliação histológica de todas as amostras do grupo Teste mostrou ilhas de novo ossos semelhantes em qualidade ao osso formado nos sítios que cicatrizaram naturalmente. Entretanto a quantidade de novo osso no grupo Teste não foi superior ao grupo Controle no que diz respeito à quantidade. A correlação destes resultados com a literatura disponível pode ser frágil, pois o pequeno número de dados de estudos histológicos em humanos, com foco em alvéolos pós-extração, disponíveis na literatura, são baseados em análises de formação óssea em torno de implantes imediatos ou com a associação de materiais sintéticos ou de origem animal. Além disso, a maioria dos estudos analisam quantitativamente a parte mineral, osso cortical ou medular (CARDAROPOLI et al. 2005) e principalmente a influência dos fatores de crescimento na indução de novo osso (KOBAYASHI 2015; DOHAN, 2006, 2009), que no nosso estudo não foi possível ser demonstrado.

Neste estudo a avaliação histomorfométrica demonstrou que é possível a preservação dimensional no grupo Teste, que pode ser justificado pela localização dos sítios estudados, segundo Lindhe et al (2013), que examinaram a composição histológica de rebordos completamente cicatrizados, em diferentes áreas da maxila e mandíbula, demonstraram quantitativamente que a cicatrização pode diferir em relação a maxila e mandíbula e dentro delas. No presente estudo utilizamos sítios contralaterais, porém nem sempre na mesma arcada.

Embora o presente estudo tenha examinado um número igual de amostras histológicas utilizadas em estudos como os de Du Toit et al. (2016) e Nevins et al. (2006), os resultados diferem quanto à composição de novo osso formado.

6.1 Avaliação Radiográfica

Estudos como o de Dula et al (2001) demonstraram que a radiografia panorâmica é acurada nas medições verticais quando o fator de magnificação das imagens é conhecido. Lam et al. (1995) demonstraram que a discrepância entre as mensurações entre as radiografias panorâmicas são maiores onde o rebordo se encontra mais reabsorvido na comparação com a tomografia computadorizada. Uma das dificuldades encontradas no estudo, durante a realização das medidas e que pode ter contribuído para alguma discrepância entre os exames foi a difícil delimitação dos acidentes anatômicos.

Segundo Tal & Moses (1991) as radiografias panorâmicas são suficientemente precisas em casos clínicos de rotina e salientaram, porém, que a tomografia apresenta uma importante vantagem que é a visualização da espessura óssea.

Nesta pesquisa, os resultados das medidas finais dos sítios enxertados foram similares aos estudos de Hauser et al. (2013) que demonstraram preservação do alvéolo, além da modificação da sua microarquitetura e a qualidade intrínseca do novo osso formado.

Del Corso et al. (2012) demonstraram que o uso do L-PRF, utilizado como material preenchedor de alvéolos pós-extração, em está associado a melhor preservação quando comparado a cicatrização fisiológica.

Estudos como de Schropp et al. (2003) observaram que as maiores mudanças ocorrem durante as fases iniciais da cicatrização (3-6 meses), mas que em meses posteriores o encolhimento do rebordo pode ser observado (IASSELLA et al. 2003; SCHOROPP et al. 2003). Esta reabsorção é mais proeminente na parede vestibular (ARAÚJO et al. 2005) o que pode parcialmente ser explicado pelo fato desta parede ser geralmente mais fina (ARAÚJO et al. 2015, 2005).

Embora não tenha sido registrado, este estudo observou que o relato dos pacientes no pós-operatório do lado Teste (L-PRF) mencionava menor desconforto e dor que o pós-operatório do lado Controle (coágulo). Estes relatos foram também observados nos estudos de Marenzi et al. (2015) que concluíram que o uso de L-PRF em alvéolos pós-extração é eficiente no controle da dor e melhora o processo de cicatrização. Estes efeitos podem estar relacionados aos aspectos bioquímicos e

estruturais da matriz de fibrina, das membranas de L- PRF, que retém quase 60% dos leucócitos e plaquetas do sangue coletado. A arquitetura tridimensional da membrana de fibina abriga plaquetas e permite a migração de leucócitos que estimulam a diferenciação celular e permite a lenta liberação de fatores de crescimento por mais de 7 dias. Esta constatação foi ratificada por Dohan et al. (2014) quando relatou a presença de TGF β 1 (Transforming Growth Factor β 1), PDGF-AB (Platelet-Derived Growth Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), TSP-1 (Thrombospondin-1) e Fibronectina que estão envolvidas na aceleração e controle da cicatrização na regeneração por mais de 7 dias..

Apesar de nossos resultados apontarem na direção de que o uso de membranas pode trazer pequenos benefícios positivos, como a manutenção da altura do alvéolo e na preservação dimensional, estes devem ser vistos com ponderação, considerando-se que o pequeno número de amostras no nosso estudo é um fator limitante para esta conclusão.

7 CONCLUSÃO

Este estudo empregou um método simples, viável e inovador para avaliar a preservação de alvéolos utilizando a técnica de L-PRF.

Dentro da limitação do estudo, a hipótese verdadeira pode ser confirmada. O uso da técnica de L-PRF como material preenchedor, demonstrou que possibilita a preservação dimensional dos alvéolos pós -extração.

8 Referências bibliográficas

1. AGRAWAL, M.; AGRAWAL, V. Platelet rich fibrin and its applications in dentistry: a review article. *National Journal of Medical and Dental Research*, India: v. 2, n. 3, p. 51-58, 2014.
2. ALBANESE A.; LICATA M.E.; POLIZZI B., CAMPISI G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing*, vol.10, n.23,2013.
3. ANITUA E.; MURIAS-FREIJO A.; ALKHRAISAT M.H.; ORIVE G. Clinical, radiographical, and histological outcomes of plasma rich in growth factors in extraction socket: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*, vol.19, n.3, p.589-600, Apr 2015.
4. ANITUA E.; TEJERO R.; ZALDUENDO M.M.; ORIVE G. Plasma rich in growth factors promotes bone tissue regeneration by stimulating proliferation, migration, and autocrine secretion in primary human osteoblasts. *J Periodontol*, vol.84, n.8, p.1180-90, Aug.2013.
5. ANWANDTER A.; BOHMANN S.; NALLY M.; CASTRO A.B.; QUIRYNEN M.; PINTO N. Dimensional changes of the post extraction alveolar ridge, preserved with Leukocyte- and Platelet Rich Fibrin: A clinical pilot study. *J Dent.*, vol.52, n.23-9, Sep 2016.
6. ARAÚJO M. G.; SILVA C.O.; MISAWA M.; SUKEKAVA F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology 2000*, vol. 68, p.122–134, 2015.
7. ARAÚJO M.G.; LINDHE J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, vol.32, n.2, p.212-8, Feb 2005.
8. ARAÚJO M.G.; SUKEKAVA F.; WENNSTRÖM J.L.; LINDHE J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, vol. 32, p. 645-652, 2005.
9. BIELECKI T.; DOHAN E.D.M. Leukocyte- and platelet-rich Plasma (L-PRP)/fibrin (L-PRF) in medicine - past, present, future. *Curr Pharm Biotechnol*, vol.13, n.7, 2012.

10. BOSWELL S.G.; COLE B.J.; SUNDMAN E.A.; KARAS V.; FORTIER L.A. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthroscopy*, vol.28, n.3, p.429-39, Mar 2012.
11. CARDAROPOLI G.; ARAÚJO M.; HAYACIBARA R.; SUKEKAVA F.; LINDHE J. Healing of extraction sockets and surgically produced - augmented and non-augmented - defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, vol.32, n.5, p.435-40, May 2005.
12. CHANG Y.; WU K.; ZHAO J. Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. *Journal of Dental Sciences*, vol. 6, p.181-188, 2011.
13. CHOUKROUN J.; ADDA F.; SCHOEFFLER C.; VERVELLE A. Une opportunité em reparo-implantologie: Le PRF. *Implantodontie*, vol.42, p.55-62, 2001.
14. CHOUKROUN J.; DISS A.; SIMONPIERI A. 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*, vol.101, p.299-303, 2006.
15. DEL CORSO M.; TOFFLER M.; EHRENFEST D.M.D. Use of Autologous Leukocyte and PlateletRich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry*, vol.1, n. 9, p. 27-35, 2010.
16. DEL CORSO M.; SAMMARTINO G.; DOHAN E.D.M. Choukroun's platelet-rich fibrin membranes in periodontal surgery: Understanding the biomaterial or believing in the magic of growth factors? (letter to the editor). *J Periodontol*, vol.80, p.1694-1697, 2009.
17. DEL CORSO M.; ZIV MAZOR.; JAMES L.; RUTKOWSKI.; DAVID M.; DOHAN E. The Use of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin During Immediate Postextractive Implantation and Loading for the Esthetic Replacement of a Fractured Maxillary Central Incisor. *Journal of Oral Implantology*, vol.38, n.2, p.181-7, 2012.
18. DOHAN D.M.. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC . How to find your way in the jungle of platelet concentrates?. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol.103, p.305-306, 2007.

19. DOHAN E. D. M.; DE PEPPO G. M.; DOGLIOLI P.; SAMMARTINO G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, vol.27; n.1, p.63–69, 2009.
20. DOHAN E.D.M.; CHOUKROUN J.; DISS A.; DOHAN S.L.; Dohan A.J.J.; MOUHAYI J.; GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic feature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol. 101, n.3, p.45-50, 2006.
21. DOHAN E.D.M.; BIELECKI T.; JIMBO R.; BARBE G.; DEL CORSO M.; INCHINGOLO F.; SAMMARTINO G. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? Na evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol*, vol.13, n.7, p.1145-52, 2012.
22. DOHAN E.D.M.; DEL CORSO M.; DISS A.; MOUHAYI J.; CHARRIER J.B. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol*, vol.81, n.4, p. 546-55, 2010.
23. DU TOIT J.; SIEBOLD A.; DREYER A.; GLUCKMAN H. Choukroun Platelet-Rich Fibrin as an Autogenous Graft Biomaterial in Preimplant Surgery: Results of a Preliminary Randomized, Human Histomorphometric, Split-Mouth Study. *Quintessence publishing co*, vol.36,p. 75-79,2016.
24. DULA K.; MINI R.; VAN DER STELT P.F.; BUSER D. The radiographic assessment of implant patients: decision-making criteria, vol.16, n.1, p.80-9 Jan-Feb 2001.
25. EVERTS P.A.; VAN ZUNDERT A.; SCHONBERGER J.P.; DEVILEE R.J., KANPEK J.T. What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel?. *J Biomed Mater Res A*, vol.85, p.1135–1136, 2008.
26. EVERTS P.A.M.; HOOGBERGEN M.M.; WEBER A.T.; DEVILEE R.J.J.; MONFTORT G.V.; HINGH I.H.J.T.de. Is the use of autologous platelet-rich plasma gels in gynecologic, cardiac, and general, reconstructive surgery beneficial? *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol.13,n.7, p.1163–1172, 2012.

27. FROUM S.; CHO S.C.; ROSENBERG E.; ROHRER M.; TARNOW D.
Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *J Periodontol*, vol.73, p.94-102, 2002.
28. HAUSER F.; GAYDAROV N.; BADOUD I.; VASQUEZ L.; BERNARD J.P.; AMMANN P. Clinical and histo-logical evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dent*, vol.22, p.295–303, 2013.
29. IASELLA J.M.; GREENWELL H.; MILLER R.L.; HILL M.; DRISKO C.; BOHRA A.A.; SCHEETZ J.P. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol*, vol.74, n.7, p.990-9, Jul 2003.
30. INCHINGOLO F.; BALLINI A.; MURA S.A.; FARRONATO D.; CIRULLI N.; PETTINI F.; GHENO E.; VERMESAN D.; PEDERZOLI P.; RESTA G.; CAPRIO M.; MUOLLO F.; MARINELLI G.; INCHINGOLO A.D.; MALCANGI G.; CANTORE S.; DEL CORSO M.; DE BENEDITTIS M.; INCHINGOLO A.M.; SERAFINI M.; DITEODORO S.; SCHINCO F.; CAGIANO R.; DE VITO D.; CORTELAZZI R.; DIPALMA G. Use of platelet rich fibrin and Bio-OSS/SINT-Oss for implant-prosthetic rehabilitation in maxillary atrophy with sinus pathology: A 48-month follow-up. *European Journal of Inflammation*, Vol. 13, n.1, p. 58–65, 2015.
31. JAHANGIRI L.; DEVLIN H.; TING K.; NISHIMURA I. Current perspectives in residual ridge remodeling and its clinical implications: A review. *J Prosthet Dent*, vol.80, p.224-37, 1998.
32. JANG E.S.; PARK J.W.; KWEON H.; LEE K.G.; KANG S.W.; BAEK D.H.; CHOI J.Y.; KIM S.G. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, VOL.109, n.6, p.831-6, Jun 2010.
33. JANKOVIC S.; ALEKSICI Z.; KLOKKEVOLD P.; LEKOVIC V.; DIMITRIJEVIC B.; KENNEY E.B.; CAMARGO P. Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized

- clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*, vol.32, n.2, p.41-50, Apr 2012.
34. JUNG R.E.; PHILIPP A.; ANNEN B.M.; SIGNORELLI L.; THOMA D.S.; HÄMMERLE C.H.; et al. Radiographic evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*, vol.40, p.90–98, 2013.
 35. KESWANI D.; PANDEY R.K. Revascularization of the immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *International Endodontic Journal*, vol.46, p.1096- 1104, 2013.
 36. KHISTE, S. V.; TARI, R. N. Platelet-rich fibrin as a biofuel for tissue regeneration. Hindawi Publishing Corporation, New Pargaon, Kolhapur, Maharashtra, p. 1-6, Abri./2013.
 37. KOBAYASHI E.; FLÜCKINGER L.; FUJIOKA-KOBAYASHI M.; SAWADA K.; SCULEAN A.; SCHALLER B.; MIRON R.J. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Invest*, DOI 10.1007/s00784-016-1719-1, January 2016.
 38. LAM E.W.; RUPRECHT A.; YANG J. Comparison of two-dimensional orthoradially reformatted computed tomography and panoramic radiography for dental implant treatment planning. *J Prosthet Dent*, vol.74, n.1, p.42-6, 1995.
 39. LINDHE J.; ARAÚJO M.G. The alveolar process following single- tooth extraction: a study of maxillary incisor and premolar sites in man. *Clinical Oral Implants Research*, vol.00, p.1–6, 2015.
 40. LINDHE J.; BRESSAN E.; CECCHINATO D.; CORRÁ E.; TOIA M.; LILJENBERG B. Bone tissue in different parts of the edentulous maxilla and mandible. *Clin Oral Implants Res*, vol.24, n.4, p. 372-7, Apr 2013.
 41. MARENZI G.; RICCITIELLO F.; TIA M.; DI LAURO A.; SAMMARTINO G. Influence of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of Simple Post extraction Sockets: A Split-Mouth Study. *Biomed Res Int*, 2015. Plublicado on-line. Disponível em :<https://www.ncbi.nih.gov>
 42. MARENZI G.; RICCITIELLO F.; TIA M.; DI LAURO A.; SAMMARTINO G. Influence of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of

- Simple Postextraction Sockets: A Split-Mouth Study. *Biomed Res Int*, 2015. doi: 10.1155/2015/369273. Epub 2015.
43. MATRAS H. Die Wirkungen verschiedener Fibrinpräparate auf Kontinuitätsstörungen der Rattenhaut. *Osterr Z Stomatol*. vol.67,n.9, p.338-59, 1970.
 44. MOURÃO C.F.A.B.; MOURÃO N.B.M.F. Platelet-rich fibrin membrane in immediate dental implant loading *Dental Press Implantol*, vol.9,n.1, p.104-9, Jan- Mar 2015.
 45. NEVINS M.; CAMELO M.; DE PAOLI S. et AL. A study of the fate of the buccal wall of extraction sockets of teeth with prominent roots. *Int Periodontics Restorative Dent*, vol.26, p.19-29, 2006.
 46. PADMA R.; SHILPA A.; KUMAR P.; NAGARSI M.; KUMAR C.; ANNAJI S. A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *Journal of Indian Society of Periodontology*, vol. 17, n.5, p. 631-636, 2013.
 47. PARK J.C.; KOO K.T.; LIM H.C. The hidden X suture: a technical note on a novel suture technique for alveolar ridge preservation. *JPeriodontal Implant Sci*, vol.46, n.6, p.415-425, Dec 2016.
 48. POLI P.P.; BERETTA M.; CICCÌÙ M.; MAIORANA C. Alveolar Ridge Augmentation with Titanium Mesh. A Retrospective Clinical Study. *The Open Dentistry Journal*, vol. 8, p.148-158, 2014.
 49. ROSS R.; GLOMSETT J.; KARIYA B.; HARKERT L. A Platelet-Dependent, Serum Factor That Stimulates the Proliferation of Arterial Smooth Muscle Cells In Vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci, USA*, vol. 71, n. 4, p. 1207-1210, April. 1974.
 50. SAMMARTINO et al. The PACT (Platelet & Advanced Cell Therapies) Forum: fostering translational research, transdisciplinarity and international collaboration in tissue engineering and regenerative medicine *Special Review: Editorial of the POSEIDO PACT 2014*. *POSEIDO*, vol.2, n.2, 2014.
 51. SAMMARTINO G.; DEL CORSO M.; WISNIEWSKA L. M.; BIELECKI T.Z.; ANDIA I.; PINTO N. R.; ZHANG C-Q.; ZOU D-R.; DOHAN E. D. M. The PACT (Platelet & Advanced Cell Therapies) Forum: fostering translational

- research, transdisciplinarity and international collaboration in tissue engineering and regenerative medicine. POSEIDO, vol.2, n.2, 2014.
52. SÁNCHEZ A.R.; SHERIDAN P.J.; KUPP L.I. Is Platelet-rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A current review. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, vol. 18, p. 93-103, 2003.
 53. SCHROPP L.; WENZEL A.; KOSTOPOULOS L, KARRING T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, vol.23, n.4, p.313-23, Aug 2003.
 54. SEABRA F.R.G.; MELO SEABRA B.G.; GOMES SEABRA E. Antibioticoterapia profilática em cirurgias periodontais. *Odontologia Clín.- Científ*, vol. 3, n.1, p. 11–16, Recife 2004.
 55. SIMONPIERI, A.; DEL CORSO M.; SAMMARTINO G.; DOHAN, E. D. M. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant Dent*, v. 18, p. 102-11, 2009.
 56. SUNITHA R.V.; MUNIRATHNAM N.E. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian Journal of Dental Research*, vol.19, n.1, p. 42-46, 2008.
 57. TAL H.; MOSES O. A comparison of panoramic radiography with computed tomography in the planning of implant surgery. *Dentomaxillofac Radiol*, vol.20, n.1, p.40-2, 1991.
 58. TARNOW D.P.; MAGNER A.W.; FLETCHER P. The Effect of the Distance From the Contact Point to the Crest of Bone on the Presence or Absence of the Interproximal Dental Papilla *Journal of Periodontology*, vol.63,n.12,p.995-996, 1992.
 59. TEMMERMAN A.; VANDESSEL J.; CASTRO A.; JACOBS R.; TEUGHELS W.; PINTO N.; QUIRYNEN M. J. The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. *Clin Periodontol*, vol.43, n.11, p.990-999, Nov 2016.
 60. TOEROEK R.; MAZOR Z.; DEL CORSO M.; DOHAN E.D.M. The concept of Screw-Guided Bone Regeneration (S-GBR). Part 1: from sinus-lift to general

- applications in the resorbed maxilla and mandible. Poseido, vol.1, n.2, p.69-84,2013.
61. URIST M.R. Bone: formation by autoinduction. 1965. Clin Orthop Relat Res, vol.395, p.4-10, 2002.
62. WU C.L.; LEE S.S.; TSAI C.H.; LU K.H.; ZHAO J.H., CHANG Y.C. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. Australian Dental Journal, vol. 57, p. 207-212, 2012.
63. YUAN T.; GUO S.C.; HAN P.; ZHANG; ZENG B.F. Applications of leukocyte- and platelet-rich plasma (L-PRP) in trauma surgery. Current Pharmaceutical Biotechnology, vol.13, n.7, p. 1173–1184, 2012.

ANEXO A

Controle			Teste		
Pac 1				Pac 1	
Osso novo	55,29	%		Osso novo	51,20 %
Conjuntivo	28,00	%		Conjuntivo	37,30 %
Pac 2				Pac 2	
Osso novo	57,40	%		Osso novo	57,71 %
Conjuntivo	28,20	%		Conjuntivo	28,00 %
Pac 3				Pac 3	
Osso novo	51,13	%		Osso novo	28,50 %
Conjuntivo	39,25	%		Conjuntivo	44,63 %
Pac 4				Pac 4	
Osso novo	39,33	%		Osso novo	22,80 %
Conjuntivo	27,17	%		Conjuntivo	67,90 %
Pac 5				Pac 5	
Osso novo	46,71	%		Osso novo	36,78 %
Conjuntivo	47,71	%		Conjuntivo	48,78 %
Pac 6				Pac 6	
Osso novo	52,43	%		Osso novo	29,40 %
Conjuntivo	32,00	%		Conjuntivo	53,40 %
Pac 7				Pac 7	
Osso novo	63,75	%		Osso novo	52,00 %
Conjuntivo	33,50	%		Conjuntivo	36,75 %

Tabela 5. Representação numérica das porcentagens da quantidade de área de osso neoformado e de tecido conjuntivo nos grupos Teste e Controle

ANEXO B

	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
1	14	INICIAL	66	61
		FINAL	49.577	33.052
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
2	15	INICIAL	40.560	57.513
		FINAL	61.039	46.331
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
3	35	INICIAL	54.718	72.714
		FINAL	45.672	52.450
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
4	45	INICIAL	60.644	40.920
		FINAL	52.056	34.458
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
5	43	INICIAL	46.027	45.303
		FINAL	49.118	43.437
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
6	21	INICIAL	48.879	34.081
		FINAL	32.146	15.342
	PRF	MEDIDA	CONTROLE	MEDIDA
7	46	INICIAL	89.818	82.414
		FINAL	70.958	66.037

Tabela 6. Correlação entre as radiografias panorâmicas inicial e final na avaliação das medidas ósseas. Alturas ósseas medidas na avaliação de radiografia panorâmica .

ANEXO C



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com as normas da Resolução nº 466, do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Avaliação da cicatrização de alvéolos pós-extração utilizando a técnica de L-PRF**”. Você foi selecionado por ser paciente em atendimento na clínica de Periodontia da UNIGRANRIO com recomendação de cirurgia para exodontia e instalação de implantes osseointegrados. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

O objetivo deste estudo é avaliar a cicatrização de alvéolos pós-extração que utilizam a técnica de L-PRF. Sua participação nesta pesquisa consistirá em permitir, a coleta de sangue 30 minutos antes da cirurgia de exodontia para produção do L – PRF, e permitir a coleta de tecido formado no alvéolo após 4 meses, por ocasião da instalação do implante dentário. Os riscos relacionados com sua participação são inexistentes. Os benefícios relacionados com a sua participação são a necessidade de desenvolver técnicas que podem aumentar o conhecimento da cicatrização dos tecidos da área de pós-extração. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os resultados serão confidenciais, ou seja, somente o pesquisador terá acesso a suas informações e serão utilizados somente para o objetivo do presente estudo.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor (a), podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com a pesquisadora responsável Camila Sessim Guedes no e-mail camila.sessim@terra.com.br ou no telefone 97954-8457.

Pesquisador Responsável: Camila Sessim Guedes

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 TELEFONE (21).2672-7733 – ENDEREÇO ELETRÔNICO: cep@unigranrio.com.br

Rio de Janeiro, ____ de ____ de 20__.

Sujeito da pesquisa

Pai / Mãe ou Responsável Legal (Caso o sujeito seja menor de idade)