



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O EFEITO DO A-PRF NA PREVENÇÃO DA INFLAMAÇÃO:
ESTUDO PILOTO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Trabalho submetido por
Francisco Calhau Estêvão Clemente
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2022



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O EFEITO DO A-PRF NA PREVENÇÃO DA INFLAMAÇÃO:
ESTUDO PILOTO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Trabalho submetido por
Francisco Calhau Estêvão Clemente
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor José João Mendes

e coorientado por
Prof.^a Doutora Maria João Hilário

Setembro de 2022

Dedicatória

Aos meus avós e bisavó, Vicência, Francisco e Maria do Céu.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor José João Mendes, por me ter concedido a oportunidade de participar num projeto de investigação científica. Levo de si todos os ensinamentos de profissionalismo, determinação, rigor e excelência que me transmitiu ao longo do meu percurso académico.

À minha coorientadora, Prof.^a Doutora Maria João Hilário, pelo enorme apoio e disponibilidade fornecidos durante o projeto, tanto na execução e avaliação das amostras hematológicas como na elaboração desta tese. O meu eterno agradecimento, pelo conhecimento que me transmitiu na área das Ciências Biomédicas Laboratoriais.

Ao Prof. Doutor João Botelho um agradecimento especial. A forma como me ensinou a lidar com os desafios que foram surgindo, é algo que levarei comigo para sempre. Cresci muito a nível pessoal através dos seus conselhos, os quais foram imprescindíveis para a continuidade deste projeto. O meu obrigado pelo apoio demonstrado.

À Prof.^a Doutora Vanessa Machado, que me incutiu a curiosidade pela área da investigação, o meu obrigado por toda ajuda e disponibilidade na elaboração desta tese.

Ao Dr. Nuno Silva e ao Prof. Doutor Sérgio Valério, o meu agradecimento pela execução dos procedimentos cirúrgicos e hematológicos e pela aprendizagem que me transmitiram.

Aos meus amigos, especialmente à Nina, Gabriela, Daniel e Tomás, com quem partilhei grandes aventuras, o meu sincero obrigado pela vossa amizade e companheirismo.

À Egas Moniz, por se ter tornado a minha segunda casa, tenho o maior respeito e carinho.

Aos meus pais, Maria e Pedro, por terem sido a minha fonte de inspiração e os meus dois pilares. Vejo-vos como o exemplo a seguir, ensinaram-me a lutar pelos meus sonhos e a ser melhor. Obrigado por me terem sempre apoiado e demonstrado o vosso amor, sem o qual nada disto teria sido possível. À minha irmã, Maria, um obrigado pela tua amizade. Aos meus avós, Saúl e Isabel, e restante família, obrigado pelo vosso apoio incondicional.

Por último, quero agradecer à minha namorada, Rita. Nestes cinco anos vivenciaste comigo os meus melhores e piores momentos e foi precisamente nestes últimos que encontrei alguém que necessito de ter sempre a meu lado. A tua paciência, compreensão e carinho foram determinantes para o sucesso do meu percurso académico, sem eles não teria chegado longe. Obrigado, acima de tudo, por me fazeres acreditar em mim.

Resumo

Contexto: A extração de terceiros molares está fortemente associada a sequelas pós-operatórias que, para além de dor, podem incluir uma exacerbada resposta inflamatória que acarreta consigo consequências sistémicas. Os concentrados plaquetários possuem várias propriedades anti-inflamatórias e imunológicas que visam auxiliar o processo de cicatrização.

Objetivo: Avaliar se a utilização da fibrina rica em leucócitos e plaquetas reduz a resposta inflamatória aguda após a remoção de terceiros molares, através da colocação de membranas de PRF no interior do alvéolo dentário.

Materiais e Métodos: Participantes a requererem a remoção unilateral de terceiros molares inclusos foram incluídos num ensaio clínico randomizado. Os participantes foram alocados em dois grupos: controlo (sem colocação de membranas) e experimental (com a colocação de membranas). A resposta inflamatória foi analisada através de análise sanguínea para a determinação da contagem de glóbulos brancos (WBC) e velocidade de sedimentação eritrocitária (VSE). Foi também avaliada a dor, edema, trismus e cicatrização dos tecidos moles.

Resultados: Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, para a contagem da WBC, VSE e para os parâmetros da dor, edema, trismus e cicatrização dos tecidos moles.

Conclusões: O PRF parece não ter efeito na diminuição da resposta inflamatória aguda, após a extração superior e inferior unilateral de terceiros molares inclusos.

Palavras-chave: Terceiros Molares, PRF, Inflamação Sistémica, Marcadores Inflamatórios.

Abstract

Background: Third molar extraction is strongly associated with postoperative sequelae that, besides pain, may include an exacerbated inflammatory response that brings with it systemic consequences. Platelet concentrates have several anti-inflammatory and immunological properties that aim to support the healing process.

Aim: To assess whether the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin reduces the acute inflammatory response seen after third molar removal by placing PRF membranes inside the extraction socket.

Material and Methods: Participants requiring unilateral removal of impacted third molars were included in a randomized clinical trial. The participants were allocated into two groups: control (no membranes placement) and experimental (with membranes placement). The inflammatory response was assessed by blood analysis for white blood cell count (WBC) and erythrocyte sedimentation rate (VSE). Pain, edema, trismus and soft tissue healing were also evaluated.

Results: There were no statistically significant differences between the groups for WBC, VSE, and for the parameters of pain, oedema, trismus and soft tissue healing.

Conclusions: PRF seems to have no effect on decreasing the acute inflammatory response seen after unilateral maxillary and mandibular extraction of impacted wisdom teeth.

Keywords: Wisdom Tooth, PRF, Systemic Inflammation, Inflammatory Markers.

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO.....	13
1. INFLAMAÇÃO SISTÊMICA AGUDA APÓS CIRURGIA DE TERCEIROS MOLARES	13
2. MECANISMOS DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA.....	14
3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA	16
3.1. Contagem de Glóbulos Brancos	16
3.2. Velocidade de Sedimentação Eritrocitária.....	17
4. CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS.....	18
4.1. 1ª Geração.....	19
4.2. 2ª Geração.....	20
5. L-PRF NA EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES	26
6. OBJETIVO DO ESTUDO	27
II. MATERIAIS E MÉTODOS	29
1. SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES.....	30
2. SEQUÊNCIA DO ENSAIO CLÍNICO	30
3. PROCEDIMENTOS INTERVENTIVOS	31
3.1. Preparação do L-PRF.....	31
3.2. Procedimento Cirúrgico.....	36
3.3. Avaliação de Dor	38
3.4. Avaliação de Edema	38
3.5. Avaliação de Trismus	40
3.6. Avaliação da Cicatrização dos Tecidos Moles	41
3.7. Colheita de Amostras de Sangue e Procedimentos Laboratoriais	41
3.8. Análise Estatística.....	44

III. RESULTADOS	45
1. MARCADORES INFLAMATÓRIOS.....	45
2. EDEMA.....	47
3. TRISMUS.....	50
4. DOR.....	50
5. CICATRIZAÇÃO DOS TECIDOS MOLES	51
IV. DISCUSSÃO	53
1. FORÇAS E LIMITAÇÕES	56
V. CONCLUSÃO	59
VI. PERSPETIVAS FUTURAS	61
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
VIII. ANEXOS	

Índice de Figuras

Figura 1 Estrutura da rede de fibrina dos concentrados plaquetários.....	22
Figura 2 Colheita de sangue para membrana de L-PRF	32
Figura 3 Transferência da colheita de sangue venoso para tubos Intraspin	33
Figura 4 Centrifugação dos tubos Intraspin	33
Figura 5 Formação do coágulo de L-PRF após centrifugação.	34
Figura 6 Separação do coágulo de L-PRF das células da série vermelha.	34
Figura 7 Compressão dos coágulos de L-PRF com <i>Xpression Box</i>	35
Figura 8 Membranas de L-PRF com 1mm de espessura.	35
Figura 9 Extração de terceiro molar e aplicação de coágulos de L-PRF.	37
Figura 10 Escala visual analógica	38
Figura 11 Medições faciais.	39
Figura 12 Medição da abertura máxima da boca	40
Figura 13 Colheita de sangue total para tubo de hemograma EDTA K3E/2.7 ml	42
Figura 14 Análise da amostra com LH Alifax para determinação da VSE	43
Figura 15 Análise da amostra para determinação da WBC com LH <i>Coulter DxH900</i>	43

Índice de Tabelas

Tabela 1 Constituintes da membrana de L-PRF	24
Tabela 2 Índice de cicatrização	41
Tabela 3 Níveis de marcadores inflamatórios no dia da consulta <i>baseline</i>	46
Tabela 4 Variação dos níveis de marcadores inflamatórios ao 1º dia	46
Tabela 5 Variação dos níveis de marcadores inflamatórios ao 30º dia	47
Tabela 6 Avaliação do edema no dia da consulta <i>baseline</i>	48
Tabela 7 Variação dos níveis de edema ao 1º dia	48
Tabela 8 Variação dos níveis de edema ao 7º dia	49
Tabela 9 Variação dos níveis de edema ao 30º dia	49
Tabela 10 Avaliação de trimus (abertura máxima da boca)	50
Tabela 11 Avaliação da dor pós-operatória durante a 1ª semana de <i>follow-up</i>	51
Tabela 12 Avaliação da cicatrização dos tecidos moles ao 1º, 7º e 30º dia	51

Índice de Abreviaturas

3D | Tridimensional

BMPs | Proteínas morfogénicas ósseas

CBCT | Tomografia Computorizada de Feixe Cónico

CRP | Proteína C Reativa

EDTA | Ácido Etilenodiaminotetracético

EVA | Escala Visual Analógica

ICAM-1 | Molécula de Adesão Intercelular-1

IGF-1 | Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-1

IL-1 | Interleucina-1

IL-10 | Interleucina-10

IL-12 | Interleucina-12

IL-4 | Interleucina-4

IL-6 | Interleucina-6

IL-8 | Interleucina-8

INF- γ | Interferão- γ

L-PRF | Fibrina Rica em Leucócitos e Plaquetas

L-PRP | Plasma Rico em Leucócitos e Plaquetas

LPS | Lipopolissacarídeo

NK | Células *Natural Killer*

ON | Óxido Nitroso

P-PRP | Plasma Puro Rico em Plaquetas

PDGF | Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas

PRP | Plasma Rico em Plaquetas

ROS | Espécies Reativas de Oxigênio

Rpm | Rotações por minuto

TGF- β | Fator de Crescimento Transformante- β

TNF- α | Fator de Necrose Tumoral- α

VCAM-1 | Molécula de Adesão Vascular-1

VEGF | Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VSE | Velocidade de Sedimentação Eritrocitária

WBC | Contagem de Glóbulos Brancos

I. INTRODUÇÃO

1. INFLAMAÇÃO SISTÊMICA AGUDA APÓS CIRURGIA DE TERCEIROS MOLARES

Os terceiros molares são dentes comumente presentes na maioria dos adultos, sendo o seu período de erupção estimado, em média, entre os 18 e os 24 anos (Dodson & Susarla, 2014). A inclusão dos terceiros molares pode ocorrer devido à falta de espaço, obstrução, ou posição anormal dos mesmos (Dodson & Susarla, 2014). Quando estes se encontram inclusos, a sua remoção cirúrgica é mais traumática, estando associada a maior hemorragia, dor e edema (Nourwali, 2021).

A presença de terceiros molares pode estar associada a um aumento de inflamação sistêmica e, conseqüentemente, com uma alteração do bem-estar geral do paciente (Graziani et al., 2017). Biologicamente, a presença de terceiros molares resulta num aumento de níveis de proteína C-reativa (CRP) e de interleucina-6 (IL-6), quando comparando com pacientes com ausência de terceiros molares (Offenbacher et al., 2012).

A remoção de terceiros molares é um procedimento cirúrgico bastante comum na medicina dentária (Rodrigues et al., 2018), podendo ser acompanhado de significativas sequelas pós-operatórias de natureza principalmente inflamatória (Mercier & Precious, 1992). A inflamação sistêmica de origem oral tem estado implicada na patogênese de diversas doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares e diabetes, sendo elevada a quantidade de evidência que associa pequenas mudanças nos biomarcadores inflamatórios, a um aumento do risco de doença vascular e morbidade futura (Kaptoge, 2010). Inclusivamente, procedimentos médicos considerados mais simples estão associados a um maior risco de acidentes vasculares agudos, sendo que a alteração dos níveis inflamatórios sistêmicos é considerada uma das possíveis causas (Mamode et al., 1995).

De forma pioneira, o grupo de Graziani et al. (2017) desenvolveu um ensaio clínico de cirurgia de terceiros molares e analisaram o nível de inflamação sistêmica, stress oxidativo e triglicéridos. Os resultados deste estudo demonstraram níveis de inflamação sistêmica, stress oxidativo e triglicéridos séricos significativamente superiores aos do grupo controlo, que não possuía terceiros molares, ou que não apresentava patologias

associadas a terceiros molares. Desta forma, este ensaio preliminar demonstrou uma resposta inflamatória modesta nos 7 dias posteriores ao procedimento cirúrgico (Graziani et al., 2017).

2. MECANISMOS DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

O processo inflamatório corresponde à adaptação do corpo perante um determinado estímulo, como um trauma, procedimentos cirúrgicos, queimaduras, isquemia, infecção, ou necrose tecidual, tendo como objetivo erradicar o agente indutor e potenciar a reparação dos tecidos (Varela et al., 2018).

Perante um estímulo que inicie a resposta inflamatória, o sistema imunológico inato é ativado e estes estímulos são reconhecidos por recetores macrofágicos, que têm a capacidade de reconhecer estruturas moleculares típicas dos microrganismos. Esta resposta desencadeia a ativação destas células e a libertação de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, interleucina-8 (IL-8), interleucina-12 (IL-12), entre outras (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004; Varela et al., 2018).

Por sua vez, o TNF- α e a IL-1 estimulam os macrófagos a libertarem óxido nítrico (ON), que atua nas células musculares lisas promovendo o seu relaxamento e consequente vasodilatação capilar (Vallance & Chan, 2001). As células endoteliais possuem recetores que reconhecem lipopolissacarídeos (LPS) e outros produtos microbianos, em adição a isto, possuem também recetores para TNF- α e IL-1 e são estimuladas pelo sistema complemento (Dartiguelongue, 2020). Estas interações levam à ativação do endotélio, que se transmite num aumento da permeabilidade vascular e na expressão de moléculas de adesão, como as selectinas, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1), entre outras, responsáveis por regularem a passagem de leucócitos do lúmen vascular para o espaço intersticial, com o objetivo de combater o agente patogénico (Dartiguelongue, 2020).

A migração dos leucócitos para os locais de inflamação é facilitada pela ação de agentes quimiotáticos, como a eotaxina e IL-8, este último tem uma elevada ação sobre os neutrófilos (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004).

As primeiras células do sistema imunitário recrutadas para os tecidos são os neutrófilos, que libertam enzimas para combater o agente nocivo (Varela et al., 2018) e proteínas quimiotáticas, que promovem a migração de monócitos para o local, onde estes se diferenciam em macrófagos. Estas células combatem o agente nocivo através de fagocitose, são capazes de mobilizar outras células do sistema imunitário e de promover a reparação tecidual através da libertação de fatores de crescimento, como fator de crescimento transformante- β (TGF- β), após a erradicação da infeção (Griffiths et al., 2017).

A IL-12 tem como principal função estimular a produção da citocina interferão- γ (INF- γ) por parte das células T e *natural killer* (NK), sendo importante no desenvolvimento da imunidade adquirida. INF- γ , proveniente das células NK, tem como papel potenciar as propriedades inflamatórias dos macrófagos, como a estimulação da secreção de citocinas (incluindo IL-12) e aumento da atividade fagocitária. A produção de IL-12 e INF- γ estabelece um *loop de feedback* positivo que potencia a resposta inflamatória (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004; Varma et al., 2002).

Ao mesmo tempo, o plasma move-se para os tecidos circundantes causando edema, as plaquetas circulantes são ativadas e agregam-se, e a produção de proteínas anticoagulantes é diminuída. Estes eventos podem levar a trombozes intravasculares, que, em excesso, podem contribuir para a disfunção dos órgãos (Gando, 2010).

A duração da resposta inflamatória é regulada por mediadores anti-inflamatórios, como interleucina-10 (IL-10) e TGF- β . IL-10 inibe os macrófagos e células dendríticas ativas, ao suprimir a produção de IL-12, o que resulta na supressão de INF- γ pelas células T e NK e consequente disrupção do *loop* IL-12/ INF- γ , diminuindo a amplificação da resposta inflamatória. IL-10 possui também a capacidade de induzir a apoptose de neutrófilos durante a resolução da inflamação (Oberholzer et al., 2002; Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004). TGF- β promove a produção de citocinas anti-inflamatórias, inibe as funções das células T, B e NK, assim como as dos macrófagos, atuando também na inibição da adesão leucocitária ao endotélio (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004; Weigand et al., 2004).

Por vezes, os mediadores inflamatórios libertam-se do tecido lesado ao entrarem na corrente sanguínea, espalhando-se pelo corpo e atingindo diferentes órgãos. Estas

citocinas, por sua vez, ativam recetores nos órgãos, desencadeando uma reação sistémica (Varela et al., 2018).

A generalização da resposta inflamatória local resulta de um desequilíbrio na regulação de citocinas pró-inflamatórias, registando-se uma libertação massiva destas proteínas. Algumas destas citocinas têm a capacidade de inibir a apoptose de macrófagos e neutrófilos, estendendo o seu tempo de atuação e aumentando a resposta inflamatória. Em situações extremas de inflamação sistémica, desenvolve-se um estado de sépsis, que é caracterizado por febre, hipotensão e ativação da cascata da coagulação, podendo haver dano tecidual, falha de múltiplos órgãos e morte (Dartiguelongue, 2020; Hotchkiss et al., 1999; Kawasaki, 2017).

3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA

A determinação da presença de atividade inflamatória pode ser realizada com base em resultados obtidos através de análises comumente pedidas, como a velocidade de sedimentação eritrocitária (VSE), a contagem de glóbulos brancos (WBC), entre outros (Rotstein et al., 2001).

A resposta inflamatória baseada numa infeção de causa oral, especificamente a periodontite, resulta num aumento dos valores de WBC e VSE (Botelho et al., 2021).

3.1. Contagem de Glóbulos Brancos

Números aumentados de WBC foram encontrados como sendo um fator de risco para a doença coronária, acidente vascular isquémico e doença cardiovascular mortal (Lee et al., 2001). Valores acrescidos de WBC, associados a inflamação crónica, podem contribuir para o estabelecimento de aterosclerose, dado que os macrófagos e outras células fagocitárias contribuem para a lesão vascular e progressão aterosclerótica (Ernst et al., 1987; Fuster, 1994).

Tong et al. (2004), realizaram um estudo onde avaliaram a associação entre a WBC e o dano macro e microvascular em pacientes que padecem de diabetes tipo 2, sendo que a conclusão a que os autores chegaram é a de uma associação com significado estatístico entre a contagem elevada da WBC e lesões macro e microvasculares na diabetes tipo 2.

Um estado inflamatório, que se traduz num aumento da WBC, pode ter um papel fundamental no desenvolvimento de complicações vasculares na diabetes (Tong et al., 2004). Em apoio a este conceito, os mecanismos da resposta inflamatória são reconhecidos como estando envolvidos no desenvolvimento da aterosclerose (Ruparelia & Choudhury, 2020). A oxidação de lipoproteínas depositadas na camada íntima leva à ativação do endotélio, e conseqüente recrutamento de leucócitos mononucleares que absorvem lipoproteínas oxidadas de baixa densidade (LDL), o que resulta na acumulação de lípidos e a formação de *foam cells*, originando o ateroma ou placa (Ruparelia & Choudhury, 2020). A ativação dos neutrófilos conduz a alterações na elasticidade e aderência ao endotélio, as quais conduzem à obstrução capilar e isquemia dos tecidos (Ernst et al., 1987). As citocinas libertadas pelos leucócitos, como TNF- α , várias interleucinas e certos fatores de crescimento, podem causar disfunção endotelial (Ernst et al., 1987; Hingorani et al., 2000).

Os métodos mais atuais, que avaliam a WBC, analisam o número de neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e de basófilos, presentes em 500 μ l de sangue total. Estes instrumentos providenciam contagens precisas, fidedignas e *low-cost* em curtos períodos de tempo (Chabot-Richards & George, 2015).

A maioria dos analisadores hematológicos modernos utiliza a tecnologia *Coulter* para a contagem das células brancas. Esta tecnologia baseia-se no princípio da impedância elétrica, onde, através de uma abertura posicionada entre dois elétrodos, se faz passar uma corrente elétrica de baixa voltagem na amostra, após esta ter sido diluída numa solução eletrolítica condutora. Dado que as células não são condutoras elétricas, à medida que a amostra passa na abertura criam-se mudanças na resistência elétrica, que são medidas como um impulso de voltagem, o número de impulsos corresponde ao número de células (Chabot-Richards & George, 2015).

3.2. Velocidade de Sedimentação Eritrocitária

A VSE é outro exame hematológico laboratorial que poderá revelar e monitorizar a resposta inflamatória. Este método baseia-se no princípio de que a velocidade de deposição dos eritrócitos no plasma fornece uma medição do nível de proteínas da resposta inflamatória, sendo o seu valor medido em mm/h (Kratz et al., 2017).

Na presença de um processo inflamatório, os eritrócitos depositam-se a uma maior velocidade, isto deve-se ao aumento do número de proteínas no sangue (Hashemi et al., 2015). Este aumento leva a que os eritrócitos se agrupem, formando uma pilha denominada *rouleau*, que se deposita com maior facilidade do que um único eritrócito (Hashemi et al., 2015; Tishkowski & Gupta, 2021). A formação do *rouleau* deve-se à forma discoidal dos eritrócitos, a sua face plana permite que haja um contacto entre si e ainda, devido à carga positiva de certas proteínas plasmáticas, que pode neutralizar a carga negativa da superfície dos eritrócitos (Tishkowski & Gupta, 2021).

A medição da VSE pode ser efetuada em equipamentos automáticos, estes não medem a velocidade de sedimentação em si, mas calculam uma taxa baseada na agregação dos eritrócitos na fase inicial da formação do *rouleau*. Este processo denomina-se fotometria cinética (Tishkowski & Gupta, 2021).

Apesar da identificação de um estado inflamatório, este exame não é específico para nenhuma doença, não sendo possível determinar a causa da inflamação. Por esta razão, este exame é aplicado em conjunto com outros testes, numa tentativa de tornar essa identificação mais precisa (Tishkowski & Gupta, 2021).

4. CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

Com o objetivo de evitar um processo inflamatório exacerbado após uma extração dentária, é de extrema importância que haja uma correta cicatrização alveolar. Esta cicatrização depende de uma sequência bem coordenada de respostas biológicas, fisiológicas, celulares e moleculares (Ritto et al., 2019), sobre as quais os concentrados plaquetários têm uma influência bastante positiva (Ehrenfest et al., 2009).

Os concentrados plaquetários são produtos que resultam da centrifugação de uma amostra de sangue e que concentram plaquetas, fibrina e leucócitos com enorme potencial clínico (Dohan et al., 2006b).

Durante uma reparação tecidual normal, as plaquetas libertam fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), TGF- β , o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento semelhantes à insulina-1 (IGF-1), que são capazes de estimular a proliferação celular, promover a angiogénese e de remodelar a matriz celular (Dohan et al., 2006c; Ehrenfest et al., 2009).

Nas últimas décadas, os concentrados plaquetários autólogos têm sido utilizados principalmente na área da Medicina Dentária para acelerar a revascularização dos tecidos danificados, e auxiliar a regeneração óssea antes da colocação de um implante. Outras aplicações orais podem ser incluídas nas áreas da periodontologia e cirurgia maxilofacial, auxiliando no tratamento de recessões gengivais, defeitos ósseos, preenchimento alveolar pós-extração e elevação do seio maxilar (Gupta et al., 2014).

Hoje em dia, estes concentrados plaquetários não são utilizados apenas na medicina dentária, mas também em situações de necrose da pele, úlceras, cirurgia plástica e reconstrutiva e até no tratamento de lesões musculoesqueléticas (Pinto et al., 2018). O sucesso dos concentrados plaquetários depende da quantidade de plaquetas, do número e tipo de leucócitos integrados na membrana de fibrina e também da liberação de moléculas bioativas nos locais de lesão, que vão estimular o processo regenerativo (Anitua et al., 2009).

Existem vários protocolos para a produção de concentrados plaquetários, estes variam consoante o tipo de tratamento onde vão ser aplicados, mas, de uma forma rigorosa, os concentrados plaquetários foram originalmente utilizados na medicina transfusional para o tratamento de hemorragias derivadas de severa trombocitopenia. O concentrado plaquetário padrão para transfusão foi nomeado plasma rico em plaquetas (PRP) (Ehrenfest et al., 2009).

Com o conhecimento das propriedades biológicas destes concentrados, ocorreu uma evolução desde a primeira geração, como o PRP, para uma segunda geração, como a fibrina rica em leucócitos e plaquetas (L-PRF) (Ehrenfest et al., 2009).

4.1. 1ª Geração

As principais características da primeira geração de concentrados plaquetários, como o plasma puro rico em plaquetas (P-PRP) e o plasma rico em leucócitos e plaquetas (L-PRP), consistiam na colheita de sangue, pré ou peri-cirurgicamente, para um tubo de recolha contendo anticoagulante, sendo o sangue posteriormente centrifugado (Ehrenfest et al., 2009). O concentrado plaquetário obtido é aplicado no local da cirurgia com uma seringa, concomitantemente com trombina e/ou cloreto de cálcio (ou fatores semelhantes que proporcionem uma consistência similar a um gel) (Ehrenfest et al., 2009).

A utilização da associação de trombina bovina e de cloreto de cálcio permite desencadear as últimas etapas do processo de coagulação e da polimerização da fibrina (Mosesson et al., 2006). A aplicação destes aditivos dita a velocidade da reação e a sua função hemostática depende de quantidades significativas de trombina (Mosesson et al., 2006). Assim, este modo de polimerização influencia consideravelmente as propriedades mecânicas e biológicas da matriz de fibrina final (Mosesson et al., 2006).

A matriz de fibrina final do PRP tem uma rede rígida, não sendo muito favorável à integração de citocinas e à migração celular (Dohan et al., 2006a).

4.2. 2ª Geração

Mais tarde, surgiram os concentrados plaquetários de segunda geração que se baseiam no princípio de não existir a manipulação de sangue com aditivos, tendo os anticoagulantes sido removidos do protocolo de centrifugação (Dohan et al., 2006c).

O L-PRF é o exemplo mais estudado dos concentrados de 2ª geração, sendo rico em leucócitos e plaquetas (Choukroun et al., 2001). A recolha da amostra de sangue é efetuada sem anticoagulante e é imediatamente centrifugada. Ocorre um processo de coagulação natural posteriormente, permitindo a fácil colheita de um coágulo de L-PRF, sem a necessidade de qualquer modificação biológica do sangue, isto é, sem trombina ou cloreto de cálcio (Ehrenfest et al., 2009).

A ausência de anticoagulante leva à ativação, em poucos minutos, da maioria das plaquetas da amostra de sangue, que está em contacto com as paredes do tubo, dando início à cascata de coagulação. A trombina circulante transforma o fibrinogénio em fibrina, sendo obtido um coágulo de fibrina no meio do tubo, entre as células da série vermelha no fundo e o soro no topo (Dohan et al., 2006a).

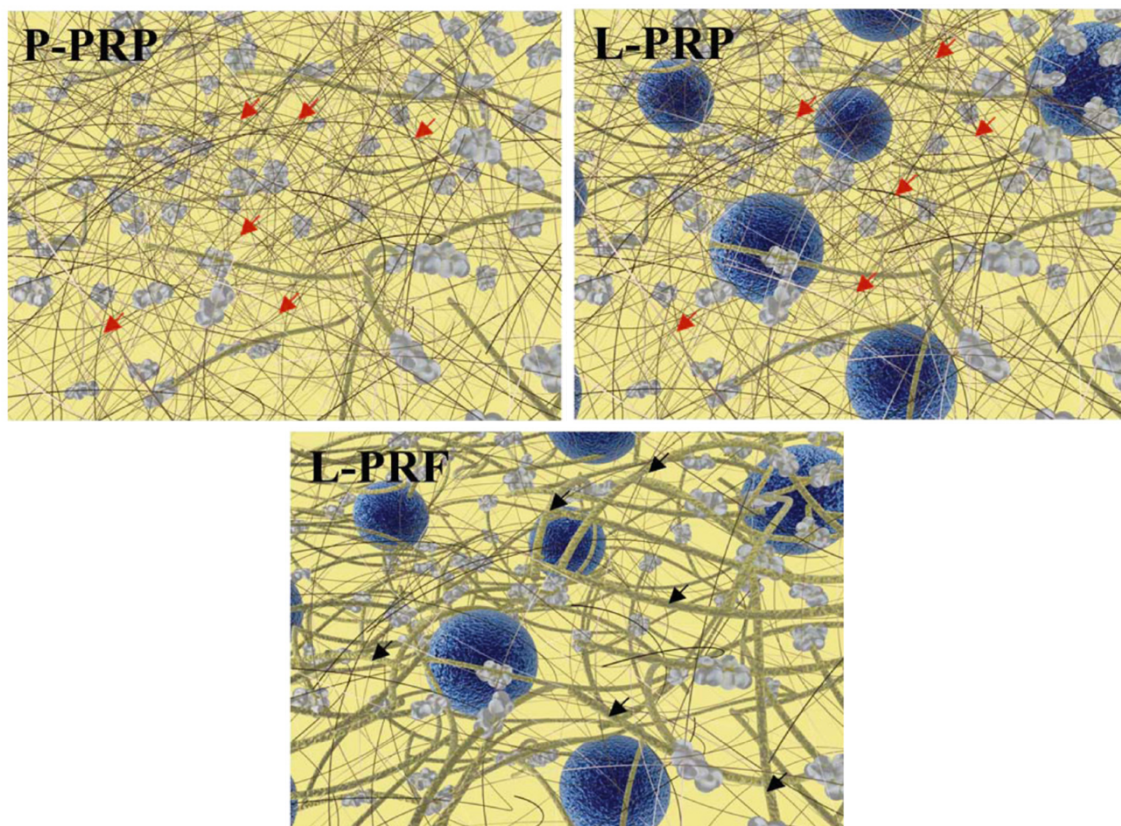
A polimerização da membrana de PRF ocorre naturalmente e devagar durante a centrifugação. Visto que não existe a manipulação do sangue com aditivos, as concentrações de trombina que atuam na amostra recolhida de sangue são muito semelhantes às concentrações fisiológicas, sendo este um fator crucial para determinar uma organização tridimensional (3D) da rede de fibrina, muito semelhante à rede natural. Esta organização 3D é responsável por uma membrana de L-PRF forte, elástica e flexível,

que permite uma melhor e mais eficiente migração e proliferação celular, incorporação de citocinas e, por isso, uma melhor cicatrização (Dohan et al., 2006a, 2006c).

A comparação entre a estrutura da rede de fibrina, dos concentrados plaquetários de 1^a geração (P-PRP e L-PRP) e 2^a geração (L-PRF), pode ser observada na figura 1.

Figura 1

Estrutura da Rede de Fibrina dos Concentrados Plaquetários



Nota. Ilustração esquemática da matriz e arquitetura celular das diferentes gerações de concentrados plaquetários. Conteúdo leucocitário representado a círculos azuis; densidade da fibrina representada a fibras amarelas/castanhas-claras; agregados plaquetários representados a cinza-claro envolvidos nas fibras de fibrina. Para o P-PRP e L-PRP, a rede de fibrina é imatura e consiste principalmente em fibrilhas de reduzido diâmetro (setas vermelhas) que se dissolvem rapidamente. No L-PRF, as fibras de fibrina são espessas (setas pretas), constituindo uma matriz resistente. Adaptado de: Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: From pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>.

O sucesso da preparação do L-PRF, depende do tempo demorado a executar a colheita de sangue e posterior operacionalização da centrifugação, dado que, sem anticoagulante, as amostras de sangue começam a coagular quase imediatamente após contacto com as paredes do tubo. Se o operador que está a manipular o L-PRF demorar demasiado tempo a iniciar a centrifugação após a colheita, a fibrina irá polimerizar de forma difusa no tubo, e apenas se irá obter um pequeno coágulo sanguíneo de consistência irregular (Dohan et al., 2006a; Mhaske et al., 2018).

Este protocolo permite a recolha, com grande eficiência, de plaquetas e leucócitos numa rede de fibrina. As plaquetas têm um papel significativo no processo de cicatrização, mas os leucócitos também libertam citocinas específicas e fatores de crescimento (Dohan et al., 2006c), que podem interagir sinergicamente com aqueles libertados pelas plaquetas (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, et al., 2009). Estas citocinas e fatores de crescimento são também recolhidos na rede de fibrina, dado que, durante a centrifugação, plaquetas e leucócitos são ativados, levando à sua desgranulação (Dohan et al., 2006c).

A matriz de fibrina do L-PRF consegue armazenar, no mínimo, 50% dos leucócitos da amostra da colheita inicial, sendo os linfócitos os leucócitos mais presentes. Tendo em conta as suas propriedades imunológicas e antibacterianas, em conjunto com as suas qualidades de cicatrização, a presença dos leucócitos é de grande importância para a biologia e eficiência destes produtos (Bielecki et al., 2012; Dohan Ehrenfest et al., 2009; Dohan Ehrenfest et al., 2010).

Em 2006, Dohan e colaboradores conduziram um estudo onde, entre outros objetivos, compararam a concentração de citocinas entre os exsudados dos coágulos de L-PRF com as concentrações médias plasmática e serológicas. Eles descobriram que as amostras dos exsudados dos coágulos de L-PRF continham uma maior concentração de IL-1 β , IL-6, interleucina-4 (IL-4) e TNF- α , do que as amostras plasmáticas e serológicas. De acordo com os autores, a origem das citocinas apenas poderia ser leucocitária, o que significa que a polimerização lenta do L-PRF pode aumentar a desgranulação leucocitária (Dohan et al., 2006c). Num outro estudo desenvolvido por Ehrenfest et. al. (2009), os autores chegaram à conclusão de que os leucócitos aprisionados na membrana de L-PRF podem produzir grandes quantidades de VEGF e libertar lentamente quantidades consideráveis de citocinas e fatores de crescimento, durante um período mínimo de sete dias.

Na tabela 1 estão representadas as diversas ações de algumas citocinas e fatores de crescimento constituintes do L-PRF.

Tabela 1

Constituintes da membrana de L-PRF

Fator	Ação
TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por monócitos/macrófagos, neutrófilos e linfócitos T; • Ativação dos monócitos/macrófagos; • Estimulação da capacidade remodeladora dos fibroblastos; • Aumento da fagocitose dos neutrófilos; • Modulação da expressão de mediadores inflamatórios.
IL-1 β	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por macrófagos ativados, neutrófilos, células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos e células de Langerhans; • Mediador e controlador da resposta inflamatória; • Estimulação dos linfócitos T helper.
IL-6	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por monócitos estimulados, fibroblastos, células endoteliais, macrófagos, células T e B, granulócitos, mastócitos e osteoblastos; • Ativação dos linfócitos T; • Fator de diferenciação para linfócitos B; • Estimulação da liberação de anticorpos; • Suporta as cadeias de reação que resultam na inflamação, destruição e remodelação dos tecidos.
IL-4	<ul style="list-style-type: none"> • Produzido maioritariamente por células T ativadas; • Auxiliar a cicatrização ao diminuir a resposta inflamatória.
TGF- β 1	<ul style="list-style-type: none"> • Produzido por plaquetas e células T; • Estimulação da produção de citocinas anti-inflamatórias; • Agente imunossupressor de células T, B, NK e macrófagos; • Indução da produção de colagénio tipo I e fibronectina; • Secreção de uma matriz de colagénio cicatricial.
VEGF	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por plaquetas e leucócitos; • Regulação da angiogénese; • Controla a proliferação, migração, e sobrevivência das células endoteliais;

	<ul style="list-style-type: none"> • Principal promotor do crescimento vascular.
PDGF	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por plaquetas; • Participa na cicatrização, proliferação celular, quimiotaxia e angiogénese; • Regulação da migração, proliferação e sobrevivência da linhagem celular mesenquimal (inibe ou estimula o desenvolvimento destas células).
IGF-1	<ul style="list-style-type: none"> • Libertado por plaquetas; • Regulação da proliferação e diferenciação celular; • Regulação do processo apoptótico.
BMPs	<ul style="list-style-type: none"> • Diferenciação e proliferação celular; • Osteoindução; • Formação óssea ectópica.

Nota. Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(2), e45–e50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e51–e55. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.010>

Dohan Ehrenfest, D. M., Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Corso, M. D., Kang, B.-S., Nally, M., Lanata, N., Wang, H.-L., & Quirynen, M. (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*, 29(2), 171–184. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1293812>

Martínez, C. E., Smith, P. C., & Palma Alvarado, V. A. (2015). The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: A concise update. *Frontiers in Physiology*, 6, 290. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00290>

O L-PRF apresenta algumas desvantagens, uma das principais, já referida anteriormente, remete para a velocidade do manuseamento desde a recolha da amostra de sangue até à centrifugação da mesma. O armazenamento das membranas de L-PRF até à sua utilização pode também ser considerado uma desvantagem, dado que as membranas devem ser utilizadas imediatamente após a sua preparação. Quanto maior for o tempo de espera, maior será a sua desidratação, acabando as membranas por encolher, o que poderá alterar a sua estrutura e, conseqüentemente, levar à diminuição da quantidade de fatores de

crescimento, colocando em causa a viabilidade dos leucócitos. As membranas não podem ser armazenadas no frigorífico dado que existe o risco de contaminação bacteriana. Uma outra desvantagem é a pequena quantidade de membranas de L-PRF que se consegue produzir com cada colheita de sangue, por cada tubo de 10 ml de sangue obtém-se uma membrana (Mhaske et al., 2018; Mijiritsky et al., 2021; Su et al., 2009).

5. L-PRF NA EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES

Na literatura, foram descritos alguns estudos que reportaram a utilização do L-PRF após a extração de terceiros molares, sendo que as conclusões a que estes chegam diferem entre si.

Em 2018, Daugela et al. realizaram um estudo clínico randomizado do tipo *split mouth*, onde trinta pacientes foram submetidos à extração bilateral mandibular de terceiros molares inclusos, sendo que, após a extração, um dos alvéolos recebeu duas membranas de L-PRF (grupo experimental) e outro alvéolo serviu como controlo através da normal cicatrização por formação de um coágulo sanguíneo. Foram realizadas consultas de controlo pós-operatório ao 1º, 3º, 7º e 14º dias, tendo sido avaliada a cicatrização dos tecidos, a dor, o edema facial e a incidência de alveolite. De acordo com os resultados obtidos pelos autores, os alvéolos que receberam as membranas de L-PRF apresentaram uma melhor cicatrização e um encerramento da ferida mais rápido, quando comparado com o grupo de controlo, sendo a diferença estatisticamente significativa em todo o período pós-operatório. Relativamente à dor, o grupo experimental apresentou ter menos dor pós-operatória durante a primeira semana, quando comparado com o controlo e esta diferença foi estatisticamente significativa. O edema facial foi significativamente menor no grupo experimental no 1º e 3º dias, cessando para uma diferença não significativa a partir do 7º dia, quando comparado com o grupo de controlo. O grupo experimental que recebeu as membranas não apresentou casos de alveolite, porém, no grupo de controlo foram reportados quatro casos, sendo esta diferença estatisticamente significativa. A conclusão obtida neste estudo, dentro das suas limitações, é que o L-PRF mostrou potencial para melhorar a cicatrização dos tecidos moles, reduzir a dor, edema facial pós-operatório e incidência de alveolite, após a extração de terceiros molares mandibulares (Daugela et al., 2018).

Em 2021, Bao e colaboradores realizaram uma revisão sistemática e meta-análise onde avaliaram a aplicação de derivados de concentrados plaquetários, (como o L-PRF) nas sequelas pós-operatórias relacionadas com a extração de terceiros molares mandibulares, tendo incluído um total de 10 estudos. Foram avaliadas a dor pós-operatória, a cicatrização dos tecidos moles, a incidência de alveolite e mudanças periodontais. De acordo com os autores, o L-PRF promoveu a cicatrização dos tecidos moles, ao sétimo dia, com uma diferença estatisticamente significativa, porém, um impacto significativo nas restantes sequelas pós-operatórias não foi confirmado (Bao et al., 2021).

Estes estudos pretendem avaliar os efeitos do L-PRF nas sequelas físicas e inflamatórias locais de uma extração dentária, porém, tanto quanto sabemos, não foi descrito nenhum estudo que avaliasse os efeitos do L-PRF, através de marcadores inflamatórios, para combater o nível de inflamação sistêmica que se pode desencadear pelo organismo, após a extração de terceiros molares.

6. OBJETIVO DO ESTUDO

Dadas as suas propriedades anti-inflamatórias e cicatriciais, o presente estudo pretendeu explorar o efeito do L-PRF na redução da inflamação aguda pós-operatória, evidenciada num modelo humano validado de inflamação sistêmica aguda por Graziani et al. (2017).

Assim, o objetivo deste ensaio clínico randomizado controlado visou investigar se as membranas de L-PRF reduzem a resposta inflamatória após a extração superior e inferior unilateral de terceiros molares inclusos.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo piloto clínico randomizado teve lugar na Clínica Dentária Egas Moniz. Os participantes recrutados assinaram, por escrito, um consentimento informado livre e esclarecido, previamente à sua inclusão no estudo. Os objetivos, métodos, benefícios antecipados e potenciais riscos associados foram detalhadamente explicados.

Devido a uma questão de logística e de material, utilizou-se o L-PRF e não o A-PRF como protocolo para a confecção das membranas, alterando-se o tempo e velocidade de centrifugação.

Participantes com a necessidade de remoção de dois terceiros molares inclusos, um mandibular e outro maxilar, do mesmo lado da face, que consentiram a sua participação neste estudo, foram submetidos a uma primeira consulta para uma avaliação cuidada da sua cavidade oral e saúde sistémica, de modo a determinar a sua elegibilidade para participação no estudo.

Para avaliação da resposta inflamatória, foram recolhidas amostras de sangue para análise de marcadores inflamatórios, na primeira consulta (*baseline*) e num período de *follow-up* ao 1º, 7º e 30º dias após a intervenção cirúrgica, para avaliação da WBC e VSE.

Foram também avaliados outros parâmetros que refletem o efeito da resposta inflamatória, nomeadamente, a dor, edema, trismus e cicatrização dos tecidos moles.

A ortopantomografia e tomografia computadorizada de feixe cónico (CBCT) quando necessária, foram realizadas para planejar as extrações. Após a randomização, no grupo experimental (n=3) foi efetuada a remoção dos terceiros molares, procedendo-se de seguida à aplicação de duas membranas de L-PRF no interior de cada alvéolo. No grupo de controlo (n=5), após a remoção de terceiros molares, não foram colocadas membranas de L-PRF, sendo que a cicatrização ocorreu de forma natural através da formação de um coágulo.

1. SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

Os participantes foram recrutados entre dezembro de 2021 e junho de 2022, tendo sido aplicados os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão:

- 1) Terceiros molares inclusos, um mandibular e outro maxilar, do mesmo lado da face, que possuíssem o mesmo grau de dificuldade de remoção cirúrgica;
- 2) Paciente saudável, sem doenças médicas significativas ou historial de problemas hemorrágicos;
- 3) Controlo adequado de placa bacteriana (índice de Placa [IP] <15);
- 4) Não fumador;
- 5) Capaz de compreender e dar consentimento por escrito.

Critérios de exclusão:

- 1) Idade inferior a 18 anos, ou superior a 65 anos;
- 2) Mulheres que estiveram grávidas ou lactantes;
- 3) Mulheres medicadas com métodos contraceptivos;
- 4) Pacientes que reportaram alguma doença sistémica;
- 5) Uso crónico de medicação (30 dias antes da inclusão neste estudo);
- 6) Pacientes diagnosticados com periodontite;
- 7) Pacientes com sinais de pericoronarite;
- 8) Pacientes com lesões periapicais e periradiculares radiotransparentes detetadas no raio-X;
- 9) Pacientes incapazes de fornecer o seu consentimento informado.

2. SEQUÊNCIA DO ENSAIO CLÍNICO

Para se efetuar a avaliação e *follow-up* dos participantes, o presente ensaio clínico foi dividido em cinco consultas:

Baseline (1ª visita, 30 minutos)

- Ortopantomografia;
- História médica e estado de saúde oral;
- Assinatura do consentimento informado;
- Avaliação de edema e trismus;
- Recolha de sangue para análise de marcadores inflamatórios.

Procedimento cirúrgico (2ª visita, 120 minutos)

- Randomização;
- Medição da pressão arterial;
- Extração de terceiros molares inclusos: + aplicação de L-PRF (grupo experimental) ou cicatrização sem L-PRF (grupo de controlo).

Follow-up ao 1º, 7º e 30º dias (3ª, 4ª e 5ª visitas, 30 minutos cada)

- Avaliação de edema, trismus, cicatrização dos tecidos moles e dor;
- Recolha de sangue para análise de marcadores inflamatórios.

3. PROCEDIMENTOS INTERVENTIVOS

3.1. Preparação do L-PRF

Antes da cirurgia, realizou-se a colheita de sangue para a preparação das membranas de L-PRF. Em cada alvéolo foram introduzidas duas membranas, sendo necessário um total de 4 membranas por paciente. A preparação das membranas foi realizada segundo o protocolo de Pinto et al. (2017). As colheitas foram realizadas através de uma punção venosa padrão (veia basílica mediana, veia cubital mediana, veia cefálica mediana), tendo sido utilizado material de colheita da marca SARSTEDT e seringas de 20 ml, como demonstrado na figura 2. Foram colhidos 40 ml de sangue venoso, em duas seringas de 20 ml, que depois foram transferidos para os respetivos tubos IntraSpin de plástico revestido com vidro, sem anticoagulante, (Intra-Lock International Inc., Boca Raton, FL, USA), como demonstrado na figura 3.

Os tubos foram imediatamente colocados na centrífuga (Intra-Lock International Inc., Boca Raton, FL, USA), tendo sido centrifugados durante 12 minutos a 2700 rotações por minuto (rpm) (Pinto et al. 2017), conforme exemplificado na figura 4. Na figura 5 é possível identificar os vários componentes que se formam após a centrifugação, nomeadamente, o coágulo de L-PRF, que se situa entre as células da série vermelha na base e o soro no topo. Após a centrifugação, o coágulo de L-PRF é removido do tubo, sendo separado, com o auxílio de uma pinça e tesoura estéreis, das células da série vermelha, como exemplificado na figura 6. Através da *Xpression Box* (Intra-Lock International Inc., Boca Raton, FL, USA), os coágulos de L-PRF foram comprimidos entre uma placa e caixa de metal estéreis pela força da gravidade, durante 5 minutos, de modo a formar membranas de L-PRF com uma consistência e espessura de 1 mm, como demonstrado nas figuras 7 e 8, sendo que o exsudato resultante da compressão deve ser utilizado para irrigação das membranas, evitando a sua desidratação. Posteriormente a este processo, procedeu-se à sua colocação no interior do alvéolo dentário após a extração.

Figura 2

Colheita de Sangue para Membrana de L-PRF



Figura 3

Transferência Da Colheita De Sangue Venoso Para Tubos Intraspin



Figura 4

Centrifugação Dos Tubos Intraspin



Figura 5

Formação do Coágulo de L-PRF após Centrifugação

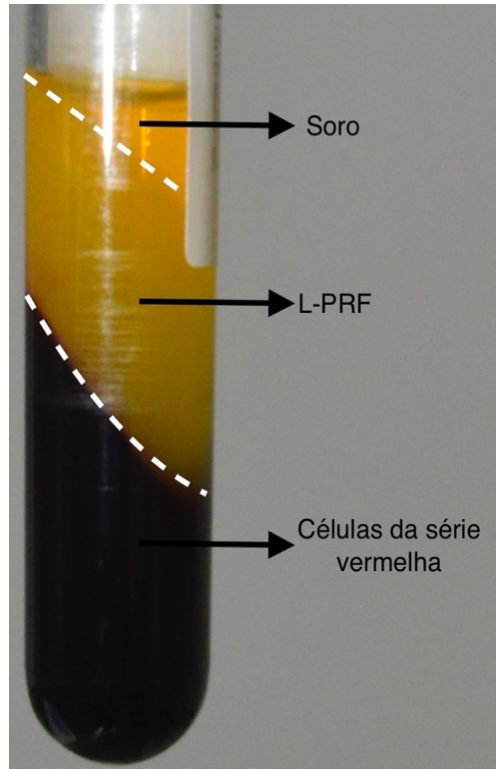


Figura 6

Separação do Coágulo de L-PRF das Células da Série Vermelha

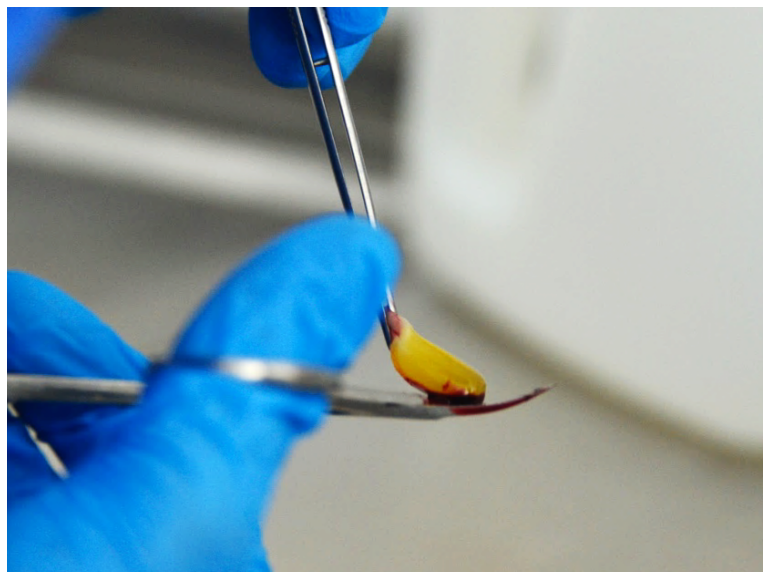


Figura 7

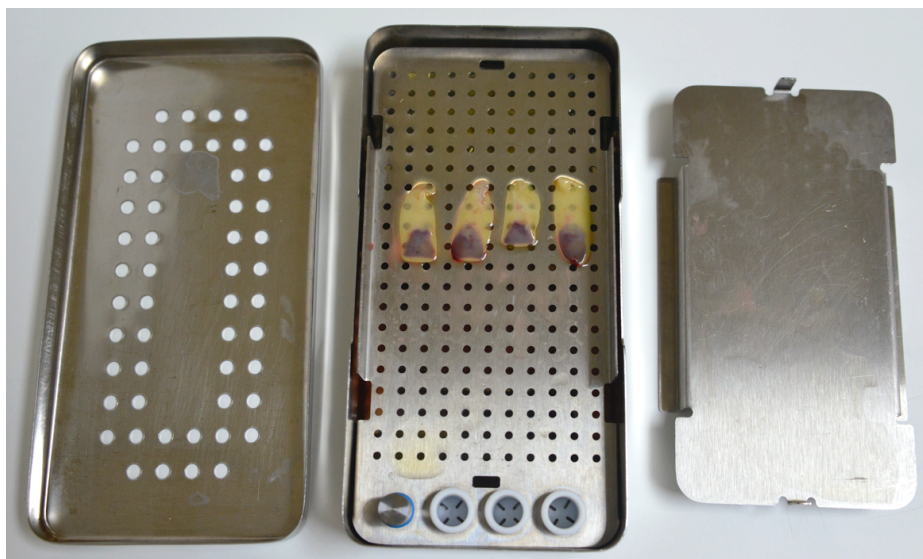
Compressão dos Coágulos de L-PRF com Xpression Box



Nota. A placa da extremidade direita é colocada sobre os coágulos de L-PRF na caixa central, comprimindo-os pela força da gravidade. A tampa do lado esquerdo é colocada no final.

Figura 8

Membranas de L-PRF com 1 mm de Espessura



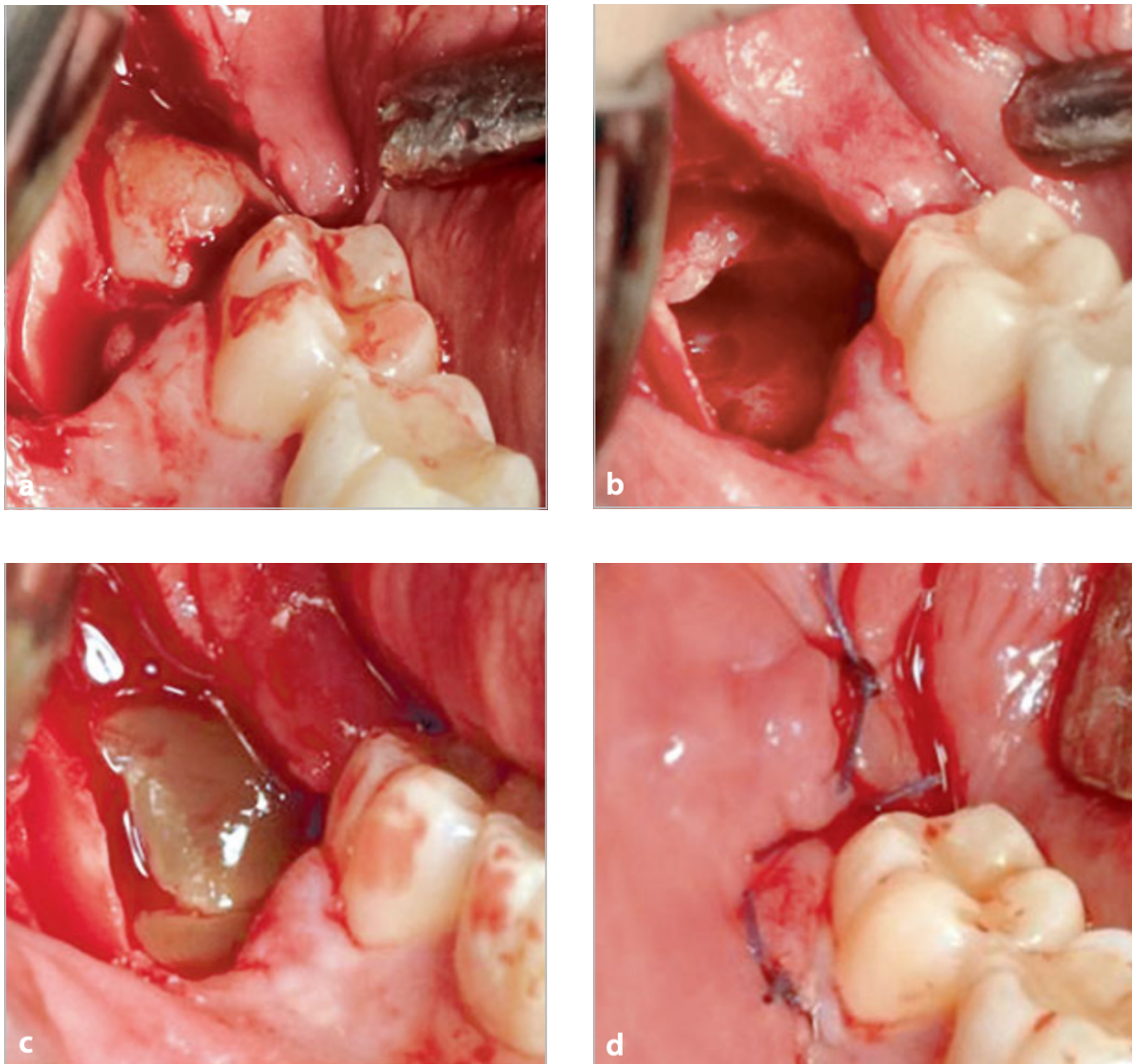
3.2. Procedimento Cirúrgico

A cirurgia foi efetuada por um cirurgião oral com experiência, pertencente ao Departamento de Cirurgia. Os pacientes foram avisados para não tomarem anti-inflamatórios no período pré-operatório. Após a administração de anestesia, um retalho de espessura total com uma incisão de descarga na face mesio-vestibular do segundo molar foi efetuado. Seguidamente foi realizada osteotomia e odontosecção, consoante a necessidade. Após a remoção de todos os remanescentes dentários, tecido de granulação, remanescentes foliculares e espículas ósseas, o alvéolo foi irrigado com uma solução isotónica salina. No grupo do L-PRF, cada alvéolo foi preenchido com duas membranas de L-PRF e foi suturado com pontos simples e contínuos. Os pontos foram removidos 7 dias após a intervenção cirúrgica. Todos os pacientes receberam instruções sobre os cuidados pós-operatórias após a intervenção cirúrgica. Para controlar a dor, foi prescrito paracetamol, 1000 mg duas vezes ao dia durante 3-5 dias. Como antibiótico, foi prescrito amoxicilina + ácido clavulâmico (875mg+125mg).

Na figura 9 é possível visualizar a colocação de coágulos de L-PRF após a extração de um terceiro molar.

Figura 9

Extração de Terceiro Molar e Aplicação de Coágulos de L-PRF



Nota. a) retalho de espessura total na área do terceiro molar direito inferior impactado; b) alvéolo após extração e curetagem; c) colocação de 2 coágulos de L-PRF no interior do alvéolo; d) encerramento da ferida com sutura. Adaptado de: Daugela, P., Grimuta, V., Sakavicius, D., Jonaitis, J., & Juodzbaly, G. (2018). Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on the outcomes of impacted mandibular third molar removal surgery: A split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence International*, 49(5), 377–388. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a40113>

3.3. Avaliação de Dor

De maneira a avaliar a dor, procedeu-se à aplicação de uma Escala Visual Analógica (EVA), de 10 cm, durante 1 semana. Foi pedido aos pacientes para marcarem o seu nível de dor na EVA com um traço vertical, representando um número entre 0 (sem dor), e 10 (dor severa), conforme exemplificado na figura 10. As distâncias entre o nível 0 e o traço colocado pelos pacientes foram medidas. Os valores médios de dor foram comparados entre os grupos.

Figura 10

Escala Visual Analógica



3.4. Avaliação de Edema

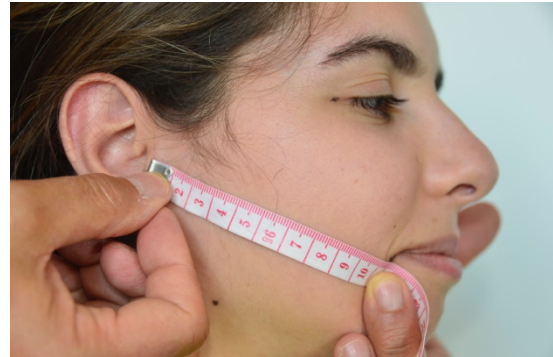
Para avaliar o edema pós-operatório, foram realizadas medições, em milímetros, do lado da cara correspondente à remoção dos terceiros molares, com uma régua flexível para se adaptar aos contornos faciais, utilizando uma caneta para marcação dos pontos de referência, como demonstrado na figura 11. As medidas horizontais foram do tragus ao pógonion cutâneo, do tragus à comissura labial, do gonion cutâneo à comissura labial e do gonion cutâneo ao pógonion cutâneo. As medidas verticais foram do tragus ao gonion cutâneo e do gonion cutâneo ao ângulo lateral do olho. Estas medições foram efetuadas pré-operatoriamente (consulta *baseline*) e ao 1º, 7º e 30º dias após a intervenção cirúrgica. As diferenças entre os valores pré e pós-operatórios foram calculadas.

Figura 11

Medições Faciais



a)



b)



c)



d)



e)



f)

Nota. a) tragus-pógonion cutâneo; b) tragus-comissura labial; c) gonion cutâneo-comissura labial; d) gonion cutâneo-pógonion cutâneo; e) tragus-gonion cutâneo; f) gonion cutâneo-ângulo lateral do olho.

3.5. Avaliação de Trismus

A abertura máxima da boca foi definida como sendo a distância medida, em milímetros, entre o incisivo central superior e o incisivo central inferior, correspondentes ao lado da extração (figura 12). Esta medição foi efetuada pré-operatoriamente e repetida pós-operatoriamente ao 1º, 7º e 30º dias, após o procedimento cirúrgico. O trismus pós-operatório foi determinado ao calcular as diferenças entre as medidas pós-operatórias e pré-operatórias.

Figura 12

Medição da Abertura Máxima da Boca



3.6. Avaliação da Cicatrização dos Tecidos Moles

Esta avaliação foi efetuada através de um índice de cicatrização modificado, conforme exemplificado na tabela 2. Os valores médios foram comparados entre os grupos.

Tabela 2

Índice de Cicatrização

Índice	Cor do tecido	Margem de incisão	Reação à palpação	Tecido de granulação
1 -Muito fraco	> 50% da gengiva vermelha	Não epitelizado, com perda de epitélio além da margem de incisão	Sim	Sim
2 - Fraco	> 50% da gengiva vermelha	Não epitelizado, com tecido conjuntivo exposto	Sim	Sim
3 - Bom	> 25% e 50% da gengiva vermelha	Nenhum tecido conjuntivo exposto	Não	Não
4 - Muito bom	> 25% da gengiva vermelha	Nenhum tecido conjuntivo exposto	Não	Não
5 - Excelente	Todo o tecido rosa	Nenhum tecido conjuntivo exposto	Não	Não

Nota. Adaptado de: Landry, R.G. Effectiveness of Benzylamine HCl in the Treatment of Periodontal Post-Surgical Patients. Ph.D. Thesis, Faculty of Dentistry, University of Toronto, Toronto, ON, Canada, 1985.

3.7. Colheita de Amostras de Sangue e Procedimentos Laboratoriais

Um técnico superior de diagnóstico e terapêutica, da área das análises clínicas e de saúde pública da Escola Superior de Saúde Egas Moniz, fez a recolha de 2.7 ml de sangue através de uma punção venosa na fossa antecubital para um tubo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante (figura 13). A avaliação da VSE e WBC foi realizada através dessa amostra de sangue, sendo que, após a sua colheita, a

amostra foi imediatamente processada para avaliação nas instalações pertencentes ao curso de Ciências Biomédicas Laboratoriais, na Escola Superior de Saúde Egas Moniz. A avaliação da VSE foi efetuada através de fotometria cinética, por um analisador automático (figura 14). A contagem de WBC foi realizada em conjunto com a contagem absoluta de cada tipo de leucócito circulante, através de um hemograma, por um analisador que recorre à tecnologia *Coulter* (figura 15). Foram realizadas colheitas na consulta *baseline*, ao 1º, 7º e 30º dias após a cirurgia.

Figura 13

Colheita de Sangue Total para Tubo de Hemograma EDTA K3E/2.7 ml



Figura 14

Análise da Amostra com LH Alifax para Determinação da VSE



Figura 15

Análise da Amostra para Determinação da WBC com LH Coulter DxH900



3.8. Análise Estatística

A análise de dados foi efectuada no software IBM SPSS Statistics version 24.0 for Windows (Armonk, NY: IBM Corp.). A análise descritiva e inferencial foram os resultados obtidos. Após confirmação de ausência de normalidade através do teste de Levene, aplicámos testes não paramétricos para comparar os resultados entre o grupo de controlo e o grupo de teste. Para isso, usámos o teste de Mann-Whitney para comparar variáveis contínuas. Os valores são apresentados no formato de média e desvio padrão (DP).

III.RESULTADOS

Um total de 8 participantes foram incluídos no estudo, (3 alocados no grupo experimental e 5 no grupo controlo).

Um paciente do grupo experimental testou positivo para a COVID-19 depois da colheita realizada no 1º dia após a cirurgia, sendo que os resultados referentes aos dados recolhidos nas consultas *baseline* e 1º dia de *follow-up*, poderão ter sofrido alterações.

1. MARCADORES INFLAMATÓRIOS

Não foi possível recolher dados dos marcadores inflamatórios de 3 participantes do grupo de controlo, referentes ao 7º dia, após a intervenção cirúrgica, devido a indisponibilidade pessoal ou testagem positiva para a COVID-19, por essa razão, a avaliação relativa ao 7º dia foi excluída.

Para a análise dos marcadores inflamatórios, realizaram-se 3 colheitas de sangue (2.7ml/cada), em todos os pacientes, com o objetivo de registar a variação destes marcadores ao 1º e 30º dias após a cirurgia.

A análise da VSE foi realizada em apenas 7 pacientes, dada a ausência de dados do paciente número 1 para este parâmetro.

Os resultados da medição da VSE, WBC e valor absoluto de cada leucócito circulante, foram convertidos numa única tabela, para cada um dos períodos avaliados.

Não foram detetadas diferenças significativas, relativamente ao nível de inflamação pré-operatória, entre os grupos (tabela 3).

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, após o 1º dia do procedimento cirúrgico, para a variação da WBC, VSE e valor absoluto de leucócitos circulantes (tabela 4).

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, após o 30º dia do procedimento cirúrgico, para a variação da WBC, VSE e valor absoluto de leucócitos circulantes (tabela 5).

Tabela 3*Níveis de Marcadores Inflamatórios no Dia da Consulta Baseline*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
WBC (10 ⁹ /L)	6.32 (2.08)	5.60 (1.83)	0.6547
NE (10 ⁹ /L)	3.64 (1.28)	3.20 (1.48)	0.7642
LI (10 ⁹ /L)	2.08 (1.03)	1.80 (0.52)	0.8786
MO (10 ⁹ /L)	0.48 (0.16)	0.43 (0.06)	0.2789
EO (10 ⁹ /L)	0.08 (0.08)	0.07 (0.06)	0.8703
BA (10 ⁹ /L)	0.02 (0.04)	0.03 (0.06)	0.6933
VSE (mm/hr)	10.75 (3.30)	9,67 (4.62)	0.6933

Nota. DP, desvio padrão; NE, neutrófilos; LI, linfócitos; MO, monócitos; EO, eosinófilos; BA, basófilos; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Tabela 4*Variação dos Níveis de Marcadores Inflamatórios ao 1º Dia*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
WBC (10 ⁹ /L)	3,28 (2.53)	0.67 (1.59)	0.1797
NE (10 ⁹ /L)	3.08 (1.65)	0.80 (1.30)	0.6508
LI (10 ⁹ /L)	-0.26 (0.71)	-0.03 (0.06)	0.0719
MO (10 ⁹ /L)	0.44 (0.34)	-0.03 (0.21)	1.0000
EO (10 ⁹ /L)	0.02 (0.11)	0.00 (0.00)	0.1124
BA (10 ⁹ /L)	0.06 (0.05)	0.00 (0.00)	0.0603
VSE (mm/hr)	5.00 (7.07)	2.50 (1.00)	0.8815

Nota. DP, desvio padrão; NE, neutrófilos; LI, linfócitos; MO, monócitos; EO, eosinófilos; BA, basófilos; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Tabela 5*Variação dos Níveis de Marcadores Inflamatórios ao 30º Dia*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE#
WBC (10 ⁹ /L)	-0.86 (2.18)	0.97 (0.49)	0.2967
NE (10 ⁹ /L)	-0.66 (0.94)	0.97 (0.12)	0.1771
LI (10 ⁹ /L)	-0.18 (3.85)	0.07 (0.40)	0.4450
MO (10 ⁹ /L)	-0.14 (0.15)	-0.03 (0.06)	0.6508
EO (10 ⁹ /L)	0.10 (0.19)	0.03 (0.12)	1.0000
BA (10 ⁹ /L)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.0603
VSE (mm/h)	-5.50 (6.95)	-4.67 (4.04)	0.4561

Nota. DP, desvio padrão; NE, neutrófilos; LI, linfócitos; MO, monócitos; EO, eosinófilos; BA, basófilos; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

2. EDEMA

Relativamente ao edema, a sua evolução foi calculada através da diferença entre os valores obtidos para cada um dos dias do período pós-operatório e a consulta *baseline*.

Os resultados das medições faciais foram convertidos numa única tabela, para cada um dos períodos avaliados.

Não foram detetadas diferenças significativas pré-operatoriamente entre os grupos (tabela 6).

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, após o 1º dia do procedimento cirúrgico, para a variação do edema (tabela 7).

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, após o 7º dia do procedimento cirúrgico, para a variação do edema (tabela 8).

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, após o 30º dia do procedimento cirúrgico, para a variação do edema (tabela 9).

Tabela 6

Avaliação do Edema no Dia da Consulta Baseline

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE#
T-CL (mm)	114,5 (3,1)	122 (14,8)	0,292
T-PC (mm)	146,3 (4,7)	160,3 (12,9)	0,7075
GC-CL (mm)	93,5 (2,4)	103,3 (8,5)	0,7095
GC-PC (mm)	107,5 (5)	123,3 (5,8)	0,1255
T-GC (mm)	59 (9,1)	79,3 (15,9)	0,1164
GC-AL (mm)	103 (5,7)	107 (2,6)	0,6972

Nota. DP, desvio padrão; T, tragus; CL, comissura labial; PC, pógonion cutâneo; GC, gonion cutâneo; AL, ângulo lateral do olho; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Tabela 7

Variação dos Níveis de Edema ao 1º Dia

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE#
T-CL (mm)	4,2 (4,6)	5,3 (9,9)	0,512
T-PC (mm)	-1,2 (17,4)	1,3 (2,3)	0,1001
GC-CL (mm)	6 (4,7)	11 (12,2)	0,8594
GC-PC (mm)	6 (4)	-1,7 (4,2)	0,22
T-GC (mm)	13,2 (12,8)	-3,7 (16,9)	0,9105
GC-AL (mm)	6,8 (16)	0 (3)	0,2999

Nota. DP, desvio padrão; T, tragus; CL, comissura labial; PC, pógonion cutâneo; GC, gonion cutâneo; AL, ângulo lateral do olho; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Tabela 8*Variação dos Níveis de Edema ao 7º Dia*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
T-CL (mm)	2 (4)	2,3 (7,8)	0,26
T-PC (mm)	1,6 (5,9)	0,7 (2,9)	0,6654
GC-CL (mm)	-1,2 (4,8)	3,3 (2,9)	0,9605
GC-PC (mm)	1,8 (5,9)	-1 (4)	0,8706
T-GC (mm)	9 (12,2)	-7,7 (8,6)	0,486
GC-AL (mm)	4,4 (13,1)	1 (8,5)	0,3264

Nota. DP, desvio padrão; T, tragus; CL, comissura labial; PC, pógonion cutâneo; GC, gonion cutâneo; AL, ângulo lateral do olho; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Tabela 9*Variação dos Níveis de Edema ao 30º Dia*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
T-CL (mm)	2,8 (3,9)	2,7 (5,5)	0,2897
T-PC (mm)	-0,6 (1,3)	-1 (4,6)	0,1703
GC-CL (mm)	1,4 (6)	0,7 (5,7)	0,4222
GC-PC (mm)	2,8 (11,9)	-6 (1)	0,528
T-GC (mm)	2,2 (12,4)	-13 (13,1)	0,6075
GC-AL (mm)	-2 (8,5)	-2,3 (6,7)	0,166

Nota. DP, desvio padrão; T, tragus; CL, comissura labial; PC, pógonion cutâneo; GC, gonion cutâneo; AL, ângulo lateral do olho; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

3. TRISMUS

Relativamente a eventos de trismus pós-operatório, os resultados são detalhados na tabela 10, não se tendo registado diferenças significativas.

Tabela 10

Avaliação de Trismus (Abertura Máxima da Boca)

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
BASELINE (mm)	48.3 (8.9)	53.0 (4.6)	0.8972
Δ1 (mm)	-17.6 (8.3)	-13.7 (7.5)	0.2571
Δ7 (mm)	-12.4 (6.6)	-11.3 (10.6)	0.5401
Δ30 (mm)	0.2 (6.4)	1.3 (3.2)	0.8608

Nota. DP, desvio padrão; Δ1, variação ao 1º dia; Δ7, variação ao 7º dia; Δ30, variação ao 30º dia; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

4. DOR

Relativamente à perceção de dor pós-operatória, registada durante os primeiros 7 dias do período pós-operatório, os resultados são detalhados na tabela 11, não se tendo registado diferenças estatisticamente significativas.

Verificou-se uma marcada diferença quanto à perceção de dor no grupo L-PRF pela presença de um participante que testou positivo para a COVID-19. Os valores revelaram-se diferentes quando os dados do paciente em causa não foram considerados no grupo L-PRF. Devido a esta discrepância, optámos por não realizar teste estatístico no grupo ajustado para não induzir os leitores em interpretações inadequadas.

Tabela 11*Avaliação da Dor Pós-Operatória Durante a 1ª Semana de Follow-up*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]	L-PRF (SEM PACIENTE COVID)
1	6.00 (2.69)	3.40 (2.65)	0.2967	1.90 (0.71)
2	5.13 (3.20)	2.77 (2.54)	0.1771	1.30 (0.00)
3	4.85 (3.32)	0.07 (0.40)	0.4450	0.60 (0.14)
4	3.95 (3.41)	2.40 (3-65)	0.6508	0.30 (0.42)
5	3.45 (3.16)	3.67 (3.86)	1.0000	1.65 (2.33)
6	1.65 (1.10)	2.47 (3.76)	0.4463	0.30 (0.42)
7	1.18 (0.83)	2.80 (4.34)	0.5461	0.30 (0.42)

Nota. Os resultados são expressos em centímetros; DP, desvio padrão; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

5. CICATRIZAÇÃO DOS TECIDOS MOLES

Relativamente à cicatrização dos tecidos moles, os resultados são detalhados na tabela 12. Verificou-se uma semelhança no índice de cicatrização, entre os grupos, para o *follow-up* ao 1º, 7º e 30º dias.

Tabela 12*Avaliação da cicatrização dos tecidos moles ao 1º, 7º e 30º Dias*

MÉDIA (DP)	CONTROLO	L-PRF	P-VALUE [#]
1º	2.75 (0.50)	3.67 (0.58)	0.2967
7º	3.50 (0.58)	4.67 (0.58)	0.4867
30º	4.25 (0.96)	5.00 (0.00)	0.4450

Nota. DP, desvio padrão; #, teste de Mann-Whitney, $p < 0.05$.

IV. DISCUSSÃO

A extração dos terceiros molares representa um processo de inflamação aguda, existindo uma regulação fisiológica que resulta num aumento da resposta da imunidade inata e numa diminuição da resposta da imunidade adquirida (Zahorec, 2021), sendo expectável que nas primeiras 24h seja detetado um aumento do número de neutrófilos no sangue, acompanhado por uma diminuição do número de linfócitos, algo que foi verificado em ambos os grupos (tabela 4). A diminuição dos linfócitos ocorre devido a um processo de marginação e redistribuição dos mesmos, acumulando-se no tecido linfático e interstício e, à medida que a resposta inflamatória cessa, também a sua produção tende a diminuir (Zahorec, 2021).

Relativamente à variação média do número absoluto de linfócitos ao 1º dia (tabela 4), que é calculada através da diferença média entre o número de linfócitos registados no 1º dia após a cirurgia e o número de linfócitos registados na consulta *baseline*, o grupo experimental apresentou uma menor diminuição do número de linfócitos (-0.03 ± 0.06), quando comparado com o grupo de controlo (-0.26 ± 0.71), sendo que esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p\text{-value}=0.0719$), porém, este valor é bastante próximo do intervalo definido ($p\text{-value}<0.05$). Poder-se-ia sugerir que, caso a amostragem fosse de maior dimensão, a diferença entre os grupos pudesse ser estatisticamente significativa, até porque os linfócitos são os leucócitos presentes em maior concentração na membrana de L-PRF (Bielecki et al., 2012; Dohan Ehrenfest et al., 2010).

Como referido anteriormente, um estado inflamatório pode-se traduzir num acréscimo do número de WBC em circulação e aumento da VSE. Sendo que não se registaram diferenças com significado estatístico ao 1º e 30º dias, entre o grupo experimental e grupo de controlo, para os níveis destes marcadores inflamatórios, o L-PRF parece não ter efeito na diminuição da resposta inflamatória aguda e consequentemente, na prevenção de um estado de inflamação sistémica.

O edema atinge o seu máximo 2 a 3 dias após o procedimento cirúrgico e nos dias seguintes tende a diminuir gradualmente. Esta reação faz parte do processo inflamatório, sendo comum observá-la, após a extração de terceiros molares, na periferia das bochechas, boca e olhos, junto ao local da extração (Deliverska & Petkova, 2016).

Os nossos resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Nourwali (2021) e Asutay et al. (2016), não se tendo verificado uma diferença com significado estatístico. No primeiro estudo, o autor não descreve detalhadamente como foi realizada a avaliação do edema, relatando que o mesmo foi averiguado durante os primeiros 4 dias do período pós-operatório. No estudo de Asutay et al. (2016), os autores recorreram a um *software* 3D, com várias câmaras, capazes de registar uma imagem 3D da face do paciente. Estas imagens foram captadas pré-operatoriamente e pós-operatoriamente ao 2º e 7º dias. A avaliação do edema foi realizada após a sobreposição das imagens, sendo que a sua evolução foi calculada através da diferença do volume obtida entre a imagem de cada um dos dias de *follow-up* e a imagem captada pré-operatoriamente.

No estudo desenvolvido por Daugela et al. (2018), os autores realizaram a avaliação do edema através de medições faciais, tendo considerado como medida vertical, a distância desde o canto lateral do olho até ao pógonio cutâneo como medida horizontal, a distância compreendida entre o tragus e a comissura labial. Segundo os autores, o grupo no qual foi aplicado o L-PRF, apresentou menor edema pós-operatório, quando comparado com o grupo controlo, sendo a diferença estatisticamente significativa.

Certos procedimentos de cirurgia oral e maxilofacial podem causar o espasmo de determinados músculos, nomeadamente o masséter (trismus) (Asutay et al., 2016). Após o procedimento cirúrgico, no 1º e 7º dias, registou-se uma diminuição da abertura máxima da boca, em ambos os grupos, enquanto que ao 30º dia, os valores da abertura máxima da boca aparentam ter retornado a níveis semelhantes aos da consulta *baseline*, para ambos os grupos (tabela 10). Apesar do grupo do L-PRF ter apresentado uma menor diminuição da abertura máxima da boca ao 1º e 7º dias, esta diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 10). Os nossos resultados assemelham-se aos de Asutay et al. (2016), que também não verificaram uma diferença significativa entre os grupos.

Relativamente à dor pós-operatória, esta apresentou ser inferior no grupo do L-PRF entre o 1º e o 4º dia, quando comparando com o grupo de controlo, porém, entre o 5º e 7º dia, o grupo do L-PRF apresentou valores superiores, (tabela 11). Apesar disso, não se registaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos dias, indicando que o L-PRF parece não ter efeito na diminuição da dor pós-operatória aguda. Os nossos resultados corroboram os obtidos por Asutay et al. (2016), Ozgul et al. (2015) e Nourwali (2021). Neste último estudo, o autor optou por utilizar uma EVA de apenas 5 níveis de dor. Daugela et al. (2018) utilizaram um método semelhante ao nosso, porém, obtiveram

resultados diferentes, sendo que os autores relataram uma diferença entre os grupos estatisticamente significativa a favor do L-PRF. Jeyaraj & Chakranarayan (2018) avaliaram a dor apenas no 3º dia após a cirurgia, segundo os autores, a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa, tendo o L-PRF um efeito positivo na diminuição da dor.

Os resultados contraditórios encontrados na literatura, podem resultar da variação do limiar de dor entre os pacientes, porém, outras variáveis, como o tipo de técnica cirúrgica aplicada, a quantidade de membranas/coágulos de L-PRF inserida no alvéolo e a medicação prescrita, podem ter influência nos resultados que se verificaram.

O grupo do LPRF (sem paciente COVID-19), apresentou resultados inferiores ao grupo controle em todos os dias do período pós-operatório.

Seria expectável que, nos alvéolos onde o L-PRF foi implantado, se desencadeasse uma cicatrização mais rápida e mais eficaz. As citocinas, fatores de crescimento e outras células constituintes do L-PRF, auxiliam o recrutamento de células do tecido circundante, estimulando o seu desenvolvimento e morfogénese (Sharma, 2018). As membranas atuam como uma ligadura de fibrina para os coágulos que se depositam no alvéolo após a extração, servindo como uma matriz para acelerar a cicatrização dos bordos da ferida (Nourwali, 2021). A neovascularização inicia-se devido à presença da membrana de L-PRF, seguindo-se o desenvolvimento de epitélio sobre a zona afetada (Sharma, 2018), que cicatriza por primeira intenção (Barrientos et al., 2008).

A avaliação da cicatrização dos tecidos moles foi efetuada consoante o índice de cicatrização da tabela 2, onde para cada paciente foi atribuído um *score*, consoante o seu estado de cicatrização. Na tabela 12 encontra-se a comparação da média do *score* entre os grupos. O grupo do L-PRF apresentou um *score* superior ao do grupo de controlo em todos os dias do período de *follow-up*. Apesar disso, não foram encontradas diferenças com significado estatístico entre os grupos para a cicatrização dos tecidos moles. Os nossos resultados espelham os de Al-Hamed et al. (2016), onde os autores utilizaram o mesmo índice de cicatrização, não encontrando diferenças significativas entre os grupos para o período de *follow-up* avaliado. No estudo desenvolvido por Nourwali (2021), o autor utilizou o mesmo índice de cicatrização, sendo que a avaliação da cicatrização foi realizada no 1º, 2º, 3º e 7º dias após a cirurgia, relatando uma diferença estatisticamente significativa entre ambos os grupos, concluindo que o grupo experimental onde o L-PRF

foi colocado apresentou uma melhor cicatrização. Daugela et al. (2018) utilizaram um índice de cicatrização diferente e consideraram o período de *follow-up* ao 1º, 3º 7º e 14º dias após o procedimento cirúrgico. Segundo os autores, o grupo L-PRF apresentou uma melhor cicatrização, comparando com o controlo, em todos os dias avaliados, tendo a diferença sido estatisticamente significativa.

1. FORÇAS E LIMITAÇÕES

O presente estudo apresentou algumas limitações que devem ser mencionadas e discutidas. A reduzida dimensão da amostra é a principal limitação, assim, os resultados devem ser interpretados com cuidado, dado que este fator limita a sua validade, sendo necessária confirmação futura com estudos de maior amostragem. O período no qual este estudo foi desenvolvido coincidiu com o período referente à pandemia causada pela COVID-19, sendo que por essa razão houve uma redução da disponibilidade para a marcação de consultas e análise das amostras de sangue.

Os resultados do paciente que testou positivo para a COVID-19 poderão ter sofrido alterações, dada a resposta inflamatória inerente à doença, visto que existe uma secreção excessiva de células pró-inflamatórias, como macrófagos e granulócitos, assim como de citocinas inflamatórias, nomeadamente IL-1 β , IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , entre outras, (Huang et al., 2020). A reação inflamatória detetada neste paciente poderá não ter origem única no procedimento cirúrgico.

Apesar destas limitações, é de destacar o facto de este ser um estudo randomizado, a distribuição dos participantes foi completamente aleatória, sendo que os mesmos estavam cegos perante a sua seleção para o grupo de controlo ou experimental.

Outro aspeto positivo a salvaguardar, é o facto de que cada avaliação, cirurgia e recolha de amostras sanguíneas, foi efetuada sempre pelo mesmo investigador, médico-dentista e técnico de análise clínicas, respetivamente.

Os critérios de inclusão e exclusão selecionados permitiram definir uma amostra, onde o número de fatores que pudessem alterar os níveis de marcadores inflamatórios fosse bastante reduzido, evitando assim variações que pudessem “mascarar” a resposta inflamatória resultante das extrações dentárias. Os resultados da recolha pertencente à consulta de *baseline* (tabela 3) demonstraram a ausência de dispersão de marcadores

inflamatórios entre ambos os grupos, algo que se traduz numa amostra homogénea, diminuindo a probabilidade de enviesamentos no decorrer do estudo.

Nenhum dos participantes relatou qualquer tipo de efeito adverso.

Até ao momento, tanto quanto é do nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo que se propôs a avaliar o efeito do L-PRF na diminuição da inflamação aguda após a extração de terceiros molares, através da monitorização de marcadores inflamatórios.

V. CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, a aplicação de membranas de L-PRF parece não surtir efeito na resposta inflamatória aguda, após a extração superior e inferior unilateral de terceiros molares inclusos. Através da análise estatística realizada, os pacientes parecem não beneficiar com a aplicação do L-PRF, relativamente à diminuição da dor, edema e trismus pós-operatório. As membranas de L-PRF parecem também não demonstrar uma diferença significativa na rapidez da cicatrização dos tecidos moles.

São necessários mais estudos que avaliem o impacto do L-PRF nos marcadores da resposta inflamatória num modelo *in vivo* de inflamação sistêmica, de modo a estabelecer uma comparação e determinar a homogeneidade dos resultados obtidos nesta investigação.

VI. PERSPETIVAS FUTURAS

No futuro, estudos de maior amostragem serão necessários a fim de validar as descobertas realizadas.

Devido aos analisadores disponíveis para análise de amostras sanguíneas, este estudo considerou como marcadores inflamatórios a WBC e VSE. Porém, estudos futuros devem abranger um painel de marcadores inflamatórios maior e mais específico, procedendo à análise de determinados mediadores que intervêm de forma direta nas reações que desencadeiam a resposta inflamatória, nomeadamente, citocinas como a TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, INF- γ e moléculas, como ICAM-1 e VCAM-1, entre outras. Determinadas proteínas, como a CRP e proteína amilóide A sérica, cuja produção pelo fígado é aumentada em resposta a determinadas citocinas, como TNF- α e IL-6 (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004; Weigand et al., 2004), também devem ser analisadas. Recentemente, um estudo *in vitro* demonstrou que o PRF é capaz de reduzir significativamente a produção de IL-1 β e ROS, derivada de macrófagos provenientes de sangue de ratos, após exposição ao LPS (Sordi et al., 2022).

Com o objetivo de aprofundar os conhecimentos relativos à capacidade do L-PRF em modular a resposta inflamatória, diferentes procedimentos cirúrgicos de natureza inflamatória onde o L-PRF é aplicado, como a cirurgia periodontal, cirurgia de colocação de implantes, elevação do seio maxilar e cirurgia maxilo-facial, devem ser avaliados, através da análise de marcadores inflamatórios.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Hamed, F. S., Tawfik, M. A.-M., Abdelfadil, E., & Al-Saleh, M. A. Q. (2017). Efficacy of Platelet-Rich Fibrin After Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 75(6), 1124–1135. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2017.01.022>
- Anitua, E., Sánchez, M., Zalduendo, M. M., De La Fuente, M., Prado, R., Orive, G., & Andía, I. (2009). Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Proliferation*, 42(2), 162–170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2009.00583.x>
- Asutay, F., Yolcu, Geçör, O., Acar, A., Öztürk, S., & Malkoç, S. (2016). An evaluation of effects of platelet-rich-fibrin on postoperative morbidities after lower third molar surgery. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.4103/1119-3077.181400>
- Bao, M., Du, G., Zhang, Y., Ma, P., Cao, Y., & Li, C. (2021). Application of Platelet-Rich Fibrin Derivatives for Mandibular Third Molar Extraction Related Post-Operative Sequelae: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 79(12), 2421–2432. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2021.07.006>
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). PERSPECTIVE ARTICLE: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585–601. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x>
- Bielecki, T., M. Dohan Ehrenfest, D., A. Everts, P., & Wiczowski, A. (2012). The Role of Leukocytes from L-PRP/L-PRF in Wound Healing and Immune Defense: New Perspectives. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1153–1162. <https://doi.org/10.2174/138920112800624373>

- Botelho, J., Machado, V., Hussain, S. B., Zehra, S. A., Proença, L., Orlandi, M., Mendes, J. J., & D'Aiuto, F. (2021). Periodontitis and circulating blood cell profiles: A systematic review and meta-analysis. *Experimental Hematology*, 93, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2020.10.001>
- Chabot-Richards, D. S., & George, T. I. (2015). White Blood Cell Counts. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(1), 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.10.007>
- Choukroun, J., Adda, F., Schoeffler, C., & Vervelle, A. (2001). The opportunity in perio-implantology: The PRF. *Undefined*. <https://www.semanticscholar.org/paper/The-opportunity-in-perio-implantology%3A-The-PRF-Choukroun-Adda/8fd90d9bb974bbc98b5ddb4d6c5a6622ea36293f>
- Dartiguelongue, J. (2020). Systemic inflammation and sepsis. Part I: Storm formation. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 118. <https://doi.org/10.5546/aap.2020.eng.e527>
- Daugela, P., Grimuta, V., Sakavicius, D., Jonaitis, J., & Juodzbaly, G. (2018). Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on the outcomes of impacted mandibular third molar removal surgery: A split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence International*, 49(5), 377–388. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a40113>
- Deliverska, E. G., & Petkova, M. (2016). COMPLICATIONS AFTER EXTRACTION OF IMPACTED THIRD MOLARS - LITERATURE REVIEW. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 22(3), 1202–1211. <https://doi.org/10.5272/jimab.2016223.1202>
- Dodson, T. B., & Susarla, S. M. (2014). Impacted wisdom teeth. *BMJ Clinical Evidence*, 2014, 1302.

- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *101*(1), e37–e44. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *101*(3), e45–e50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006c). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *101*(3), e45–e50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006d). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *101*(3), e51–e55. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.010>
- Dohan Ehrenfest, D. M., de Peppo, G. M., Doglioli, P., & Sammartino, G. (2009). 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*, *27*(1), 63–69. <https://doi.org/10.1080/08977190802636713>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J.-B. (2010). Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *Journal of Periodontology*, *81*(4), 546–555. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090531>

- Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: From pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Rodrigues, L., Miranda, E. F. P., Souza, T. O., de Paiva, H. N., Falci, S. G. M., & Galvão, E. L. (2018). Third molar removal and its impact on quality of life: Systematic review and meta-analysis. *Quality of Life Research*, 27(10), 2477–2489. <https://doi.org/10.1007/s11136-018-1889-1>
- Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: From pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Ernst, E., Hammerschmidt, D. E., Bagge, U., Matrai, A., & Dormandy, J. A. (1987). Leukocytes and the risk of ischemic diseases. *JAMA*, 257(17), 2318–2324.
- Fuster, V. (1994). Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: Insights from studies of vascular biology. *Circulation*, 90(4), 2126–2146. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.4.2126>
- Gando, S. (2010). Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome: *Critical Care Medicine*, 38, S35–S42. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181c9e31d>
- Graziani, F., D’Aiuto, F., Gennai, S., Petrini, M., Nisi, M., Cirigliano, N., Landini, L., Bruno, R. M., Taddei, S., & Ghiadoni, L. (2017). Systemic Inflammation after Third Molar Removal: A Case-Control Study. *Journal of Dental Research*, 96(13), 1505–1512. <https://doi.org/10.1177/0022034517722775>

- Griffiths, H. R., Gao, D., & Pararasa, C. (2017). Redox regulation in metabolic programming and inflammation. *Redox Biology*, *12*, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.023>
- Gupta, S. J., Jhingran, R., Gupta, V., Bains, V. K., Madan, R., & Rizvi, I. (2014). *Efficacy of Platelet-rich Fibrin vs. Enamel Matrix Derivative in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects: A Clinical and Cone Beam Computed Tomography Study*. 11.
- Hashemi, R., Majidi, A., Motamed, H., Amini, A., Najari, F., & Tabatabaey, A. (2015). Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement Using as a Rapid Alternative to the Westergren Method. *Emergency*, *3*(2), 50–53.
- Hingorani, A. D., Cross, J., Kharbanda, R. K., Mullen, M. J., Bhagat, K., Taylor, M., Donald, A. E., Palacios, M., Griffin, G. E., Deanfield, J. E., MacAllister, R. J., & Vallance, P. (2000). Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation*, *102*(9), 994–999. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.9.994>
- Hotchkiss, R. S., Swanson, P. E., Freeman, B. D., Tinsley, K. W., Cobb, J. P., Matuschak, G. M., Buchman, T. G., & Karl, I. E. (1999). Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Critical Care Medicine*, *27*(7), 1230–1251. <https://doi.org/10.1097/00003246-199907000-00002>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, *395*(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Kaptoge, S. (2010). C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: An individual participant meta-analysis. *The Lancet*, *375*(9709), 132–140. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61717-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61717-7)

- Kawasaki, T. (2017). Update on pediatric sepsis: A review. *Journal of Intensive Care*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40560-017-0240-1>
- Kratz, A., Plebani, M., Peng, M., Lee, Y. k., McCafferty, R., Machin, S. j., & Haematology (ICSH), the I. C. for S. in. (2017). ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. *International Journal of Laboratory Hematology*, 39(5), 448–457. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12693>
- Lee, C. D., Folsom, A. R., Nieto, F. J., Chambless, L. E., Shahar, E., & Wolfe, D. A. (2001). White Blood Cell Count and Incidence of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke and Mortality from Cardiovascular Disease in African-American and White Men and Women: Atherosclerosis Risk in Communities Study. *American Journal of Epidemiology*, 154(8), 758–764. <https://doi.org/10.1093/aje/154.8.758>
- Mamode, N., Cobbe, S., & Pollock, J. G. (1995). Infarcts after surgery. *BMJ: British Medical Journal*, 310(6989), 1215–1216.
- Mercier, P., & Precious, D. (1992). Risks and benefits of removal of impacted third molars. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 21(1), 17–27. [https://doi.org/10.1016/S0901-5027\(05\)80447-3](https://doi.org/10.1016/S0901-5027(05)80447-3)
- Mhaske, N., Fernandes, C., Rajhans, N., & Fernandes, G. (2018). *The role of leucocyte- and platelet rich fibrin (L-PRF) in periodontal regeneration: A review article*. 5.
- Mijiritsky, E., Assaf, H. D., Peleg, O., Shacham, M., Cerroni, L., & Mangani, L. (2021). Use of PRP, PRF and CGF in Periodontal Regeneration and Facial Rejuvenation—A Narrative Review. *Biology*, 10(4), 317. <https://doi.org/10.3390/biology10040317>
- Mosesson, M. W., Siebenlist, K. R., & Meh, D. A. (2006). The Structure and Biological Features of Fibrinogen and Fibrin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936(1), 11–30. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03491.x>

- Nourwali, I. (2021). The effects of platelet-rich fibrin on post-surgical complications following removal of impacted wisdom teeth: A pilot study. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 16(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2021.02.004>
- Oberholzer, A., Oberholzer, C., Bahjat, K. S., Ungaro, R., Tannahill, C. L., Murday, M., Bahjat, F. R., Abouhamze, Z., Tsai, V., LaFace, D., Hutchins, B., Moldawer, L. L., & Clare-Salzler, M. J. (2002). Increased Survival in Sepsis by In Vivo Adenovirus-Induced Expression of IL-10 in Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*, 168(7), 3412–3418. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.7.3412>
- Offenbacher, S., Beck, J. D., Moss, K. L., Barros, S., Mendoza, L., & White, R. P. (2012). What Are the Local and Systemic Implications of Third Molar Retention? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 70(9), S58–S65. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.04.036>
- Pinto, N., Temmerman, A., Castro, A., Cortellini, S., Teughels, W., & Quirynen, M. (2017). *Guidelines for the use of L-PRF Flow Charts: Step by Step Approach Leucocytes and Platelet Rich Fibrin in Different Intra-oral Applications Applying the IntraSpin™ Concept*.
- Pinto, N., Ubilla, M., Zamora, Y., Del Rio, V., Dohan Ehrenfest, D. M., & Quirynen, M. (2018). Leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a regenerative medicine strategy for the treatment of refractory leg ulcers: A prospective cohort study. *Platelets*, 29(5), 468–475. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327654>
- Ritto, F. G., Pimentel, T., Canellas, J. V. S., Junger, B., Cruz, M., & Medeiros, P. J. (2019). Randomized double-blind clinical trial evaluation of bone healing after third molar surgery with the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(8), 1088–1093. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2019.01.020>

- Rotstein, R., Fusman, R., Zeltser, D., Shapira, I., Shabtai, E., Avitzour, D., Sadees, N., Levartovsky, D., Arber, N., Eldor, A., & Berliner, S. (2001). The Picture of Inflammation: A New Concept That Combines the White Blood Cell Count and Erythrocyte Sedimentation Rate into a New Hematologic Diagnostic Modality. *Acta Haematologica*, *106*(3), 106–114. <https://doi.org/10.1159/000046598>
- Ruparelia, N., & Choudhury, R. (2020). Inflammation and atherosclerosis: What is on the horizon? *Heart*, *106*(1), 80–85. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2018-314230>
- Sharma, N. K. (2018). Platelet-rich fibrin: Emerging biomaterial in regeneration. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, *9*(1), 1. https://doi.org/10.4103/njms.NJMS_40_18
- Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T. (2004). Mechanisms of the inflammatory response. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, *18*(3), 385–405. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2003.12.002>
- Sordi, M. B., Panahipour, L., Kargarpour, Z., & Gruber, R. (2022). Platelet-Rich Fibrin Reduces IL-1 β Release from Macrophages Undergoing Pyroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(15), 8306. <https://doi.org/10.3390/ijms23158306>
- Su, C. Y., Kuo, Y. P., Tseng, Y. H., Su, C.-H., & Burnouf, T. (2009). In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): A proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *108*(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.02.004>
- Tishkowski, K., & Gupta, V. (2021). Erythrocyte Sedimentation Rate. Em *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557485/>

- Tong, P. C., Lee, K.-F., So, W.-Y., Ng, M. H., Chan, W.-B., Lo, M. K., Chan, N. N., & Chan, J. C. (2004). White Blood Cell Count Is Associated With Macro- and Microvascular Complications in Chinese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 27(1), 216–222. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.1.216>
- Vallance, P., & Chan, N. (2001). Endothelial function and nitric oxide: Clinical relevance. *Heart*, 85(3), 342–350. <https://doi.org/10.1136/heart.85.3.342>
- Varela, M. L., Mogildea, M., Moreno, I., & Lopes, A. (2018). Acute Inflammation and Metabolism. *Inflammation*, 41(4), 1115–1127. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0739-1>
- Varma, T. K., Lin, C. Y., Toliver-Kinsky, T. E., & Sherwood, E. R. (2002). Endotoxin-Induced Gamma Interferon Production: Contributing Cell Types and Key Regulatory Factors. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(3), 530–543. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.3.530-543.2002>
- Weigand, M. A., Hörner, C., Bardenheuer, H. J., & Bouchon, A. (2004). The systemic inflammatory response syndrome. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 18(3), 455–475. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2003.12.005>
- Zahorec, R. (2021). Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratislava Medical Journal*, 122(07), 474–488. https://doi.org/10.4149/BLL_2021_078

VIII. ANEXOS

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 903

Ex.ma Senhora
Mestre Vanessa de Almeida Machado


Monte de Caparica, 26 de novembro de 2020.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“O efeito do A-PRF na prevenção da inflamação: estudo piloto clínico randomizado”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz


Prof.ª Doutora Maria Fernanda de Mesquita

