

Aplicação da membrana homogênea de fibrina rica em plaquetas e a fotobiomodulação na regeneração óssea guiada: estudo experimental em ratos

Application of platelet-rich fibrin and photobiomodulation in guided bone regeneration: experimental study in rats

Lorena Ferraz Santos SILVA^{a*} , Bruno Botto de Barros da SILVEIRA^b ,
Jorge Moreira PINTO^c , Tânia Tavares RODRIGUEZ^d ,
Luciana Maria Pedreira RAMALHO^e , Paula Mathias de Moraes CANEDO^f 

^aUFBA – Universidade Federal da Bahia, Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Salvador, BA, Brasil

^bUNIME – Faculdade União Metropolitana de Educação e Cultura, Departamento de Cirurgia, Salvador, BA, Brasil

^cUNIME – Faculdade União Metropolitana de Educação e Cultura, Departamento de Periodontia, Salvador, BA, Brasil

^dUFBA – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências da Biorregulação, Salvador, BA, Brasil

^eUFBA – Universidade Federal da Bahia, Propeleutica e Clínica Integrada, Salvador, BA, Brasil

^fUFBA – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil

Como citar: Silva LFS, Silveira BBB, Pinto JM, Rodriguez TT, Ramalho LMP, Canedo PMM. Aplicação da membrana homogênea fibrina rica em plaquetas e a fotobiomodulação na regeneração óssea guiada: estudo experimental em ratos. Rev Odontol UNESP. 2025;54:e20240023. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.02324>

Resumo

Introdução: A perda óssea pode resultar de diversos fatores etiológicos, como traumas, lesões patológicas ou atrofia tecidual após a perda de unidades dentárias. O tratamento eficaz para a regeneração óssea tem sido um foco crescente na área da medicina regenerativa. A membrana de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) e a Laserterapia de Baixa Intensidade (LBI) têm sido exploradas como terapias auxiliares na promoção da neoformação óssea. **Objetivo:** Avaliar a qualidade do tecido ósseo formado em um defeito ósseo crítico criado na calvária de ratos, utilizando membrana de PRF isolada ou em combinação com o uso de laser de diodo em sua versão de baixa potência, o laser de baixa intensidade. **Material e método:** Um total de 67 ratos Wistar foram divididos em quatro grupos: D (defeito ósseo), DL (defeito ósseo + laser), DPRF (defeito ósseo + PRF) e DPRFL (defeito ósseo + PRF + laser). Membranas de PRF foram obtidas por punção intracardíaca de ratos doadores e aplicadas nos animais dos grupos correspondentes. Para se verificar a influência do fator tempo no processo de regeneração óssea, separaram-se 12 animais de cada grupo, sendo que seis animais foram eutanasiados após 30 dias dos procedimentos cirúrgicos e seis animais, após 60 dias, para avaliação histológica, com análise da contagem de células, da presença de angiogênese e da área de reparo ósseo. **Resultado:** Os resultados mostraram que o grupo DPRFL apresentou uma diferença significativa no número total de células em comparação ao grupo D ($p < 0,001$ após 30 dias e $p < 0,01$ após 60 dias), além de maior presença de angiogênese ($p < 0,01$). Embora não tenha sido observada diferença significativa na área de reparo ósseo, o grupo DPRFL mostrou maior espessura óssea após 30 dias. **Conclusão:** A combinação de membrana de PRF com laserterapia de baixa intensidade demonstrou efeitos positivos na regeneração óssea, especialmente na promoção de maior espessura óssea vertical, sugerindo um potencial terapêutico sinérgico para o tratamento de defeitos ósseos críticos.

Descritores: Fibrina rica em plaquetas; terapia com laser de baixa intensidade; regeneração óssea.

Abstract

Introduction: Bone loss can result from several etiological factors, such as trauma, pathological lesions or tissue atrophy after the loss of teeth. Effective treatment for bone regeneration has been a growing focus in the field of regenerative medicine. Platelet-rich fibrin membrane (PRF) and low-level laser therapy have been explored as adjunctive therapies to promote bone neoformation. **Objective:** To evaluate the quality of bone tissue formed in a critical bone defect created in the calvaria of rats, using the PRF membrane, whether or not in combination with the use of a diode laser, in its low-power version, or with a low-intensity laser. **Material and**



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

method: For this purpose, 67 Wistar rats were divided into four groups: D (bone defect), DL (bone defect + laser), DPRF (bone defect + PRF) and DPRFL (bone defect + PRF + laser). PRF membranes were obtained by intracardiac puncture from donor rats and applied to the animals of the corresponding groups. Six animals from each group were euthanized after 30 and 60 days for histological evaluation, with analysis of cell count, presence of angiogenesis and bone repair area. **Result:** The results showed that the DPRFL group presented a significant difference in the total number of cells compared to the D group ($p < 0.001$ after 30 days and $p < 0.01$ after 60 days), in addition to a greater presence of angiogenesis ($p < 0.01$). Although no significant difference was observed in the bone repair area, the DPRFL group showed greater bone thickness after 30 days. **Conclusion:** The combination of PRF membrane with low-intensity laser therapy had a positive effect on bone regeneration, especially in promoting greater vertical bone thickness, suggesting a synergistic therapeutic potential for the treatment of bone defects.

Descriptors: Platelet-rich fibrin; low-level laser therapy; bone regeneration.

INTRODUÇÃO

O processo de formação de fibrina é complexo e altamente regulado, envolvendo várias outras proteínas e enzimas. Distúrbios nesse processo podem levar a problemas de coagulação excessiva (trombose) ou insuficiente (hemorragia)¹.

Há uma cascata de reações moleculares e celulares que levam ao selamento da lesão vascular com um agregado de plaquetas, que interrompem a hemorragia pela formação de um tampão no tecido lesado, desencadeando os próximos passos da regeneração tecidual². O seu uso é feito de forma isolada ou associada com enxertos ósseos, principalmente em procedimentos que visam à regeneração óssea.

A aplicação desse mediador biológico, que contribui para neoformação óssea, foi relacionada à redução do tempo de reparo ósseo^{3,4}, a um aumento da angiogênese e à diminuição do infiltrado inflamatório⁵. Além dessas propriedades, foi observado que a fibrina autóloga possui altas concentrações de fatores de crescimento⁶ e de células imunes do hospedeiro, que atuam promovendo o reparo local de feridas e combatendo infecções.

A obtenção da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) se destaca por ser um processo simples e de custo reduzido, além de ser um material cujo risco de rejeição mostra-se praticamente eliminado. Devido à facilidade de obtenção e à robustez da sua rede de fibrina, conforme citado pela literatura, este biomaterial tem se mostrado eficiente no tratamento de lesões ósseas⁷.

Pesquisas indicam que o uso da PRF, de forma isolada ou em combinação com enxertos autógenos, xenoenxertos⁸ e β -TCP⁹, promove e intensifica a regeneração óssea. Portanto, o uso deste concentrado plaquetário em terapias focadas no reparo ósseo é de grande interesse na área da Odontologia.

Entretanto, na busca por uma recuperação mais rápida e eficaz dos tecidos danificados, tanto morfológica quanto funcional, pode-se recorrer à combinação de múltiplas terapias. Uma delas é o uso do laser de baixa potência (LLLT) com luz vermelha ou infravermelha, que tem propriedades estimulantes para os tecidos. Essa abordagem tem a capacidade de modular o processo de cicatrização, contribuindo para a redução da dor e o aumento da vascularização nos tecidos¹⁰, e promover um aumento na produção de ATP mitocondrial, entre outros benefícios^{10,11}.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a qualidade do tecido ósseo formado em um defeito ósseo crítico na calvária de ratos, utilizando membrana de PRF, isolada ou associada ao uso de laser de diodo de baixa potência (laser de baixa intensidade).

MATERIAL E MÉTODO

O projeto de pesquisa em questão passou por um processo de avaliação ética e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o número 5541150219, do Instituto de

Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). As cirurgias foram conduzidas no biotério de experimentação do Laboratório de Neuroimunoendocrinologia e Toxinologia do ICS/UFBA, cumprindo rigorosamente as normas éticas para o uso de animais de laboratório. Essas normas estão de acordo com a legislação vigente e as diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Para o cálculo do tamanho da amostra, utilizou-se o Programa Estatístico WinPEP (*Programs for Epidemiologists for Windows*), versão 11.43, de *Department of Epidemiology, University Medical Center Utrecht* (UMCU), com base em estudos que empregaram protocolos semelhantes utilizando membranas de PRF para comparar duas proporções de neoformação óssea. Os parâmetros adotados para o cálculo incluíram um nível de significância de 5%, um poder estatístico de 80% e uma proporção mínima esperada entre os grupos de 0,07. Com base nesses critérios, estabeleceu-se um tamanho mínimo de amostra de seis ratos para cada grupo experimental.

Para a obtenção das membranas de PRF, foram necessários 12 ratos doadores e cada membrana obtida de um rato doador foi dividida em duas para serem utilizadas em dois defeitos ósseos criados. Adicionalmente, foi calculado um acréscimo de 10% no total amostral, resultando em sete ratos adicionais. Este procedimento visou garantir uma margem adicional para eventuais perdas ou imprevistos durante o experimento. Estudos indicam que diferentes animais são utilizados para investigar o processo fisiológico de cicatrização tecidual, sendo os mamíferos os mais semelhantes aos humanos¹². Os ratos, devido ao baixo custo, à facilidade de transporte e à ocupação reduzida de espaço, são frequentemente escolhidos para esses estudos.

No presente experimento, foram utilizados 67 ratos Wistar, com peso variando entre 250 e 350 g, levando em consideração perdas durante o experimento. Os animais foram obtidos no biotério SUPRILAB e foram divididos em quatro grupos, cada um composto por 12 animais; seis animais de cada grupo experimental foram submetidos à eutanásia após 30 dias dos procedimentos cirúrgicos e outros seis animais, após 60 dias. Os grupos experimentais incluíam: D (defeito ósseo), DPRF (defeito ósseo e aplicação de PRF), DL (defeito ósseo e laserterapia), e DPRFL (defeito ósseo + PRF + laserterapia).

Os animais foram alojados em condições padrão para a espécie, no biotério de experimentação do laboratório citado. As caixas utilizadas eram de polipropileno, com dimensões de 41x34x16 cm, com capacidade para 3 a quatro animais, fechadas com tampa de arame de aço carbono, com encaixe para bebedouros. Durante todo o período experimental, os animais foram alimentados com ração comercial para roedores e tiveram acesso irrestrito à água.

As caixas foram organizadas em estantes de aço dentro de uma sala climatizada, mantendo uma temperatura constante de 22 °C +/- 2 °C, com exaustão para controle adequado do ambiente. As condições de umidade foram mantidas em torno de 65%, seguindo um ciclo de luz de 12 horas de iluminação e 12 horas de escuridão. As gaiolas foram higienizadas regularmente, sendo lavadas com água e sabão neutro a cada dois dias, juntamente com a troca da maravalha. Os ratos foram aleatoriamente agrupados em caixas, com três animais por caixa, e separados de acordo com os grupos experimentais.

Preparo da Membrana de PRF

A coleta sanguínea foi realizada por meio de punção intracardíaca, utilizando um *scalp* a vácuo, diretamente no ventrículo esquerdo do animal. Coletaram-se de 5 a 8 mL de sangue de cada rato doador, com peso corporal aproximado de 350 g. Após a coleta, o tubo foi posicionado em uma centrífuga de bancada (Modelo Montserrat 80-2B15 mL®), equilibrada por peso com um tubo contendo o mesmo volume de água. As amostras de sangue foram coletadas em tubos plásticos de tampa branca, sem tratamento de sílica e sem anticoagulantes, sendo imediatamente centrifugadas a 2.400 rpm por 10 minutos. A escolha do tubo de plástico sem

jateamento foi recomendada para evitar a cascata de coagulação precoce e impedir a rápida coagulação do sangue antes da centrifugação.

Compreendendo que o tempo de coagulação para o sangue de rato é de aproximadamente 2 a 5 minutos, mais rápido do que o tempo de coagulação humano de 5 a 10 minutos, a amostra de sangue coletada para a produção de PRF foi centrifugada, resultando no coágulo de PRF acima dos eritrócitos, localizado na porção média do tubo. Posteriormente, o coágulo foi cuidadosamente removido, pressionado entre duas compressas estéreis para obter uma membrana de fibrina autóloga. Cada membrana, proveniente de um rato doador, foi dividida ao meio e cada metade obtida foi dobrada ao meio para ser utilizada em um defeito ósseo criado.

Procedimento Cirúrgico

Os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas antes de serem anestesiados com ketamina a 10% (100 mg/kg) + xilazina a 2% (14 mg/kg), via intraperitoneal. Em seguida, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre um campo cirúrgico para realizar a tricotomia na região da calvária e proceder à antisepsia da área cirúrgica com álcool iodado.

Realizou-se uma incisão semilunar entre as orelhas, com o objetivo de dificultar o acesso posterior à ferida cirúrgica por parte dos animais. A incisão cutânea e muscular teve aproximadamente 3 cm de extensão, permitindo a exposição do tecido ósseo. Utilizou-se um cabo de bisturi nº 3 com lâmina nº 15C para realizar a incisão. Os tecidos subcutâneos e musculares foram então divulsionados. Posteriormente, o periósteo foi incisado e afastado, mantendo a visualização do campo operatório por meio de três pinças hemostáticas.

Enquanto as amostras de sangue estavam sendo centrifugadas, um defeito ósseo foi criado na porção mediana da calota craniana de cada rato, localizado entre os ossos parietais e com aproximadamente 7 mm de diâmetro. Utilizou-se uma broca trefina de 6 mm de diâmetro interno (Neodent, Curitiba, PR, Brasil) montada em um contra-ângulo com redução 1:20, acionada por um motor para implantes (DrillerBLM 600 plus, São Paulo, Brasil) a 1.500 rpm. Durante o procedimento, realizou-se irrigação externa peristáltica com solução fisiológica salina 0,9%, garantindo a integridade da dura-máter. Com relação aos defeitos, estes foram tratados conforme a categorização de cada grupo e os tecidos foram readaptados à posição inicial com sutura simples (pontos interrompidos), utilizando-se fio de náilon 5-0 (Procure®, São Paulo, Brasil).

Parâmetros da Fotobiomodulação Mediada com Laser de Baixa Potência

O emissor laser utilizado foi o TFPremier (MM Optics Equipamentos, São Paulo, Brasil). Trata-se de um laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs (arseneto de gálio e alumínio), com comprimento de onda de 830 nm (MM Optics Equipamentos, São Paulo, Brasil). Para os grupos experimentais irradiados (DL e DPRFL), a primeira sessão de laser ocorreu imediatamente após o procedimento cirúrgico e foi repetida a cada 48 horas durante 15 dias. Utilizou-se uma energia de 1,05 joule, com densidade de energia de 37,5 J/cm², considerando uma área de spot de 0,028 cm². A aplicação foi realizada de forma pontual, com potência de 70 mW, no modo de emissão contínua, durante 15 segundos.

Eutanásia dos Animais

Todos os grupos foram submetidos a dois momentos de eutanásia: metade dos animais aos 30 dias e a outra metade, aos 60 dias após os procedimentos. Os ratos foram eutanasiados

por meio de uma sobredosagem de anestésico (Tiopental por via endovenosa, três vezes a dose recomendada para a anestesia geral – 30mg/kg). Seis animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia no períodos de 30 e seis animais, no período de 60 dias após os procedimentos cirúrgicos. Para a obtenção das amostras, os cortes macroscópicos foram executados pelo mesmo pesquisador nas regiões anterior aos olhos (focinho) e lateralmente às orelhas. Além desses cortes, foi efetuado um corte frontal, preservando apenas a região superior do cérebro e o crânio.

As peças anatômicas das calvárias foram cuidadosamente extraídas e acondicionadas em formol a 10% por um período de sete dias para fixação. As peças cirúrgicas foram acondicionadas em frascos com tampa, contendo formol a 10%, em quantidade superior ao tamanho da peça, e enviadas ao Laboratório de Anatomia Patológica na Faculdade de Odontologia da UFBA.

Processamento Histológico

Após esse período, as amostras foram submetidas a um banho em ácido fórmico a 10% por 24 horas. Posteriormente à descalcificação inicial, cada espécime foi dividido longitudinalmente em dois blocos, exatamente sobre o centro do defeito cirúrgico original. Os espécimes foram processados e incluídos em parafina, passando pelos estágios de desidratação, clarificação e impregnação por parafina.

Em seguida, uma série de secções, na direção longitudinal do espécime, foi feita com 3 µm de espessura, a partir do centro do defeito cirúrgico original. Essas secções foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) para análise microscópica.

Análise de Dados

Realizaram-se avaliações descritivas e estatísticas dos dados obtidos, empregando testes estatísticos para uma probabilidade de erro de 5% ($p < 0,05$).

Os dados foram submetidos a uma análise estatística, utilizando-se o programa Minitab®, com um nível de significância de 5%, tanto para comparação intra quanto intergrupos. Para a análise histomorfométrica quantitativa, o software GraphPad Prism (versão 8.0, GraphPad Program Inc., San Diego, CA, EUA) foi empregado para descrever os resultados em gráficos. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, os testes de comparações múltiplas de Tukey e de comparações múltiplas de Dunn (para dados não paramétricos) foram utilizados como post-hoc. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas nos valores de p : * $< 0,05$; ** $< 0,01$; *** $< 0,001$; < 0,0001.

Para a mensuração do reparo formado no defeito ósseo criado, o programa Image J foi calibrado de acordo com a objetiva do microscópio em que as fotos foram tiradas. Em um aumento ocular de 4×, a distância em milímetros foi ajustada para a distância conhecida da câmara de Neubauer, que foi de 0,05 mm, e a distância em pixels foi calculada no Image J (224.056). Em seguida, a área obtida de cada reparo por animal do grupo foi calculada e o software GraphPad foi utilizado para a descrição dos resultados em gráficos, seguindo as etapas descritas anteriormente.

RESULTADO

A avaliação incluiu a análise histológica e histomorfométrica de todos os grupos após os dois períodos (30 e 60 dias) para o número total de células, a angiogênese e a área de reparo ósseo.

Avaliação do Número Total de Células Entre Grupos

Na análise comparativa entre os grupos (Figura 1), identificou-se uma diferença estatisticamente significativa no número total de células entre o grupo D e o grupo DPRFL. Este último demonstrou uma quantidade celular superior após 30 dias ($p < 0,001$) e 60 dias ($p < 0,01$). Ao examinar a comparação entre ambos os grupos, notou-se uma prevalência significativa em favor do último grupo nos dois períodos avaliados, com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) após 60 dias.

Na comparação entre os grupos D e DL, evidenciou-se um número superior de células no grupo DL após 30 e 60 dias. Apesar de uma predominância mais acentuada após 30 dias, não houve diferença estatisticamente significativa entre os intervalos de tempo.

Estes resultados sugerem uma variação notável no comportamento celular entre os grupos, destacando-se a importância de considerar essas discrepâncias ao interpretar os dados coletados.

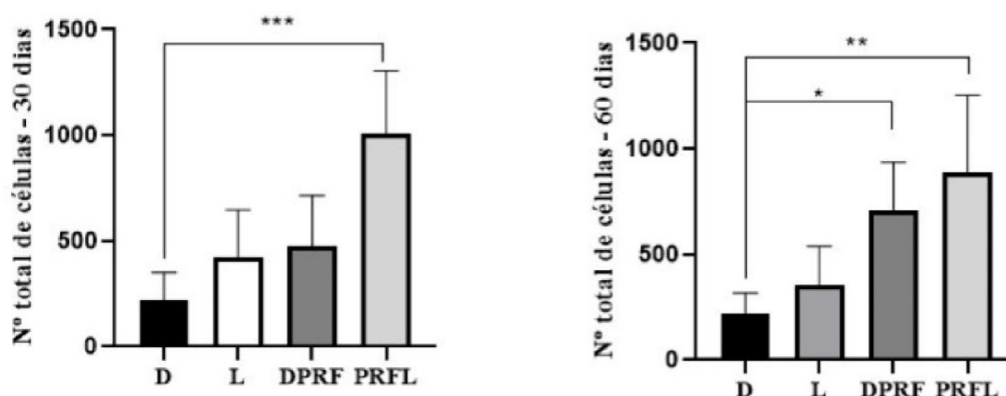


Figura 1. Gráfico com comparação quantitativa do número total de células após 30 e 60 dias entre grupos. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas nos valores de p : * $< 0,05$; ** $< 0,01$; *** $< 0,001$; **** $< 0,0001$.

Avaliação da Angiogênese Entre Grupos

Na análise comparativa da angiogênese formada nos dois períodos entre os grupos (Figura 2), foi evidenciada uma diferença significativamente maior ($p < 0,01$) entre o grupo D e o grupo DPRFL após 30 dias, com a expressividade sendo mais marcante no último. Ao comparar os grupos após 60 dias, notou-se um aumento da angiogênese de forma geral, sendo mais elevada no grupo PRF, porém sem diferença significativa entre eles.

É importante destacar que todos os grupos que receberam tratamento apresentaram uma angiogênese significativamente maior do que o grupo D após 30 dias. Contudo, essa tendência não foi observada após 60 dias, quando o grupo DL demonstrou uma menor angiogênese em comparação com o grupo D.

Esses resultados apontam para variações temporais na resposta angiogênica aos diferentes tratamentos, sugerindo a necessidade de considerar a evolução temporal ao interpretar os dados relacionados à angiogênese nos grupos estudados.

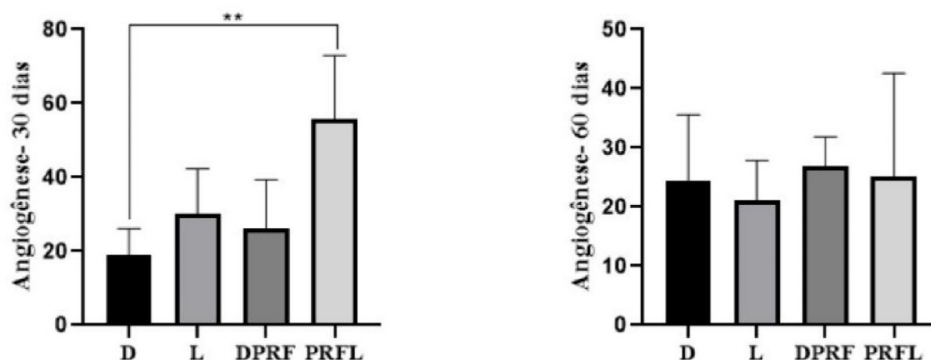


Figura 2. Gráfico com comparação quantitativa de angiogênese após 30 e 60 dias entre grupos. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas nos valores de p: * < 0,05; ** < 0,01; *** < 0,001; < 0,0001.

Avaliação Histológica e Quantitativa por Grupo

Ao examinar os gráficos e as imagens dos cortes corados com H&E no grupo D após 30 e 60 dias (Figura 3), não foi observada diferença significativa no número total de células nos dois períodos. Contudo, houve uma maior angiogênese após 60 dias. No grupo DL, houve uma predominância celular e de angiogênese após os primeiros 30 dias. No grupo que utilizou a membrana de PRF, não foi observada diferença significativa na presença de angiogênese após os dois períodos, mas houve uma maior presença de células após 60 dias. Entretanto, ao associar a membrana de PRF com a laserterapia, observou-se uma menor quantidade celular após 60 dias e uma maior área de angiogênese após 30 dias.

Ao analisar o reparo formado no defeito ósseo criado, notou-se que o grupo PRFL demonstrou uma área maior de reparo do que os demais após 30 dias, o que persistiu após 60 dias, mesmo sem diferença estatística. Vale ressaltar que o grupo que utilizou apenas a membrana de PRF obteve uma maior área de reparo apenas quando comparado ao grupo DL após 60 dias.

Esses resultados destacam nuances temporais e de resposta específica aos tratamentos aplicados, fornecendo *insights* valiosos para a compreensão do processo de reparo ósseo nos diferentes grupos estudados.

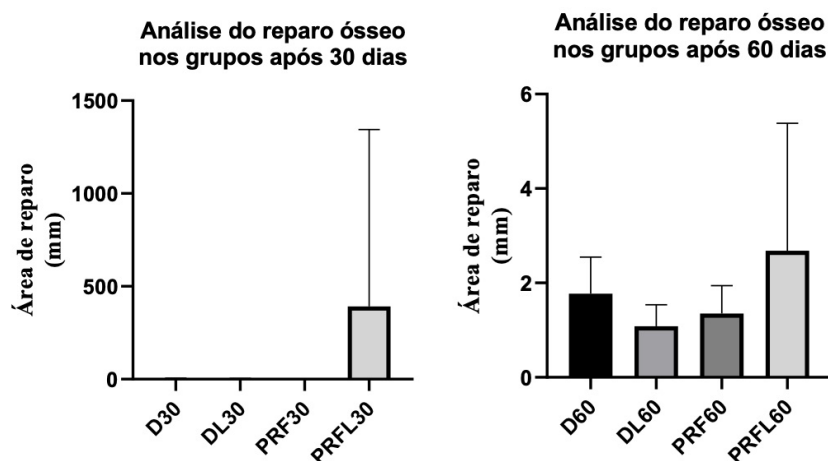


Figura 3. Gráfico com comparação da área de reparo após 30 e 60 dias entre grupos.

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o impacto da utilização da membrana de PRF isoladamente e em combinação com LBI em defeitos ósseos críticos na calvária de ratos. A escolha dessa região para a criação dos defeitos ósseos foi motivada pela sua anatomia favorável para manipulação durante a cirurgia e controle pós-operatório, o que reduz as chances de infecção do local cirúrgico¹². A região também é caracterizada pela ausência de estresse mecânico significativo e pela relativa estabilidade das estruturas circundantes ao defeito, devido à cobertura proporcionada pelo perióstio do crânio e pelos músculos temporais e frontais. Portanto, esse modelo oferece uma plataforma clínica relevante para avaliar terapias de regeneração óssea, contribuindo para intervenções clínicas mais eficazes¹³⁻¹⁵.

Da mesma forma, outro estudo mostrou que o uso exclusivo de PRF para elevação do assoalho do seio maxilar, combinado com a instalação do implante, resultou em um aumento significativo na altura óssea de $4,28 \pm 1,00$ mm antes da cirurgia para $11,8 \pm 1,67$ mm após a cirurgia¹⁶. Em concordância, pesquisadores encontraram ganho ósseo alveolar utilizando apenas PRF, demonstrando que a fibrina tem efeito significativo na diferenciação osteogênica⁸.

Ao introduzir a laserterapia, houve uma predominância celular e de angiogênese logo após os primeiros 30 dias, com diferença significativamente maior ($p < 0,01$) entre o grupo D e o grupo DPRFL após 30 dias, com a expressividade de reparo sendo mais marcante no grupo em que foi utilizada a membrana de PRF e laserterapia, após 30 dias, o que persistiu após 60 dias. Pesquisadores observaram 48 aumentos da atividade osteoblástica quando se utilizaram coágulos de A-PRF nos alvéolos após exodontias em cães¹⁷. Além disso, imunoexpressões mais elevadas de marcadores da atividade dos osteoblastos, dos osteoclastos e da função vascular, como a osteocalcina e a osteopontina, foram encontradas no osso recém-formado no grupo A-PRF, em comparação ao grupo controle.

Ao avaliar a presença de angiogênese, os dois grupos que receberam tratamento com a membrana de PRF mostraram-se superiores em relação aos demais. No entanto, ao utilizar a LBI, a predominância de angiogênese foi maior após 30 dias, o que contrasta com o grupo PRF, que apresentou maior presença de angiogênese após 60 dias, sem diferença significativa entre os grupos. Diante de tais achados, estudos^{18,19} concordam que a fotobiomodulação aliada à fibrina potencializa a melhora dos resultados, colaborando na proliferação celular e vascular.

Nos últimos anos, tem havido um aumento na busca de métodos não invasivos, como a terapia de fotobiomodulação a laser, para aprimorar o processo de reparo ósseo²⁰. Neste estudo, foi empregado o laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs, operando a um comprimento de onda de 808 nm, com densidade de energia de 25 J/cm^2 e potência de 70 mW. Ao examinar os espécimes tratados com a laserterapia, observou-se que o grupo submetido à LBI apresentou um ganho ósseo superior apenas em comparação com o grupo controle, mas inferior aos grupos que utilizaram a membrana de PRF após 30 e 60 dias. Esses achados estão alinhados com os de outro estudo²¹ que identificou um aumento na densidade óssea após a elevação do seio maxilar e instalação simultânea de implantes dentários utilizando a LBI, em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$).

A utilização de terapias combinadas que envolvem o uso de fibrina associado à fotobiomodulação tem se mostrado uma estratégia promissora para favorecer a regeneração dos tecidos lesionados com melhor qualidade e em menor tempo. Quando aplicada no local da lesão, a fibrina forma uma matriz bioativa no microambiente que exerce efeito hemostático, além de favorecer interações entre células e biomoléculas. Esses efeitos, somados aos da laserterapia, constituem uma terapia coadjuvante que atua estimulando a atividade celular, a angiogênese e a síntese de colágeno e biomoléculas, afirmando o que foi encontrado no atual estudo, em que foram observadas maior quantidade celular e presença de angiogênese ao utilizar a LBI.

Contrariamente aos resultados encontrados neste estudo, pesquisadores não observaram um aumento significativo na densidade óssea em defeitos críticos na calvária de ratos tratados com concentrado plaquetário isoladamente ou em combinação com LBI²². Essa disparidade nos resultados pode ocorrer devido ao tipo de concentrado plaquetário utilizado, visto que, no presente estudo, foi a PRF²².

No atual estudo, a área de reparo formada foi maior no grupo PRFL, após os dois períodos avaliados. Em análise clínica, três estudos²³⁻²⁵, que utilizaram PRF combinada com fotobiomodulação para o tratamento da osteonecrose dos maxilares, obtiveram bons e promissores resultados para tratamento desse tipo de condição óssea.

A utilização da membrana de PRF tem sido correlacionada com uma aceleração do processo de reparo ósseo e uma diminuição da reabsorção do osso alveolar²⁶. Além disso, foi observado previamente o efeito biomodulador da LBI na regeneração óssea em várias circunstâncias experimentais^{27,28}. Dessa forma, pode-se perceber que poucos estudos utilizaram a associação fibrina com LBI, mas, devido aos bons resultados, a técnica mostra-se promissora, com potencial para colaborar na reparação tecidual. A dificuldade em comparar os diferentes tipos de fotobiomodulação pode ser considerada uma limitação devido aos diferentes protocolos relatados nos experimentos.

Preocupações acerca da coleta de amostras sanguíneas de animais foram levantadas, destacando o tempo entre a coleta e a centrifugação como um fator crucial no protocolo da PRF. Esses autores investigaram o uso de tubos de vidro e plástico com jateamento interno, concluindo que estes não parecem afetar a arquitetura da membrana de fibrina. No entanto, no presente estudo, o método empregado diferiu em relação à natureza desses tubos, na medida em que foram utilizados tubos plásticos sem jateamento interno de sílica, com o objetivo de evitar a formação precoce do coágulo de fibrina e impedir a rápida coagulação do sangue antes da centrifugação. Portanto, para garantir a coleta sanguínea dentro do tempo estabelecido pelo protocolo, as amostras foram obtidas por punção intracardíaca.

Quanto à natureza da membrana de fibrina, não foi encontrada diferença significativa entre o grupo de ratos que utilizou membrana de PRF homóloga e o grupo que utilizou PRF em combinação com laser.

Limitações deste estudo incluem o tamanho da amostra, a perda de dois animais do grupo experimental PRFL e a falta de padronização dos protocolos terapêuticos utilizados. Até o momento, não existe um protocolo definido para a aplicação da LBI em defeitos ósseos críticos e nem para o método de obtenção da membrana de PRF em ratos. Embora este estudo tenha demonstrado que o uso de tubos plásticos sem jateamento interno de sílica aparentemente não afetou a arquitetura da membrana de PRF, pode haver impacto nos fatores de crescimento. Diferentes técnicas de obtenção têm sido descritas na literatura para aumentar a quantidade de fatores de crescimento na rede de fibrina, tanto em estudos com humanos quanto em animais.

CONCLUSÃO

A combinação de PRF com laserterapia de baixa intensidade teve um efeito positivo na regeneração óssea, destacando-se especialmente na promoção de maior formação óssea e sugerindo um potencial terapêutico sinérgico para o tratamento de defeitos ósseos.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Lorena Ferraz Santos Silva: Coleta de dados, Análise/interpretação de dados, Investigação, Redação do artigo. Bruno Botto de Barros da Silveira: Análise/interpretação de dados, Investigação. Jorge Moreira Pinto: Análise/interpretação de dados, Estatística, Redação do artigo.

Tânia Tavares Rodriguez: Conceito/Design, Aprovação do artigo. Luciana Maria Pedreira Ramalho: Conceito/Design, Aprovação do artigo. Paula Mathias de Moraes Canedo: Metodologia, Redação – revisão e edição.

AGRADECIMENTOS

Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

1. Jahani Sherafat S, Mokmeli S, Rostami-Nejad M, Razaghi Z, Rezaei Tavirani M, Razzaghi M. The effectiveness of photobiomodulation therapy (PBMt) in COVID-19 infection. *J Lasers Med Sci*. 2020;11(Suppl 1):S23-9. <http://doi.org/10.34172/jlms.2020.S4>. PMID:33995965.
2. Vilar R, Fish RJ, Casini A, Neerman-Arbez M. Fibrin(ogen) in human disease: both friend and foe. *Haematologica*. 2020 Jan;105(2):284-96. <http://doi.org/10.3324/haematol.2019.236901>. PMID:31949010.
3. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2017 Jan;44(1):67-82. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12643>. PMID:27783851.
4. Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, et al. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part B: sinus floor elevation, alveolar ridge preservation and implant therapy. A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2017 Feb;44(2):225-34. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12658>. PMID:27891638.
5. Ali S, Bakry SA, Abd-Elhakam H. Platelet-rich fibrin in maxillary sinus augmentation: a systematic review. *J Oral Implantol*. 2015 Dec;41(6):746-53. <http://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-14-00167>. PMID:25536095.
6. Ehrenfest DMD. How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Sep;110(3):275-8. <http://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.05.048>. PMID:20727495.
7. Galav S, Chandrashekar KT, Mishra R, Tripathi V, Agarwal R, Galav A. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and autogenous bone graft for the treatment of infrabony defects in chronic periodontitis: clinical, radiological, and surgical reentry. *Indian J Dent Res*. 2016 Sep-Oct;27(5):502-7. <http://doi.org/10.4103/0970-9290.195634>. PMID:27966508.
8. Oliveira MRC, Silva A, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR Jr, Mariano RC. Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015 May;44(5):649-55. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2014.12.005>. PMID:25553712.
9. Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I. Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *J Oral Rehabil*. 2006 Aug;33(8):619-924. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2006.01601.x>. PMID:16856960.
10. Anders JJ, Lanzafame RJ, Arany PR. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomed Laser Surg*. 2015 Apr;33(4):183-4. <http://doi.org/10.1089/pho.2015.9848>. PMID:25844681.
11. Hamblin MR. Photobiomodulation or low-level laser therapy. *J Biophotonics*. 2016 Dec;9(11-12):1122-4. <http://doi.org/10.1002/jbio.201670113>. PMID:27973730.

12. Padilha WSM, Soares AB, Navarro-Junior H, Joly JC, Peruzzo DC, Napimoga MH, et al. Histologic evaluation of leucocyte- and platelet-rich fibrin in the inflammatory process and repair of noncritical bone defects in the calvaria of rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018 Nov/Dec;33(6):1206-12. <http://doi.org/10.11607/jomi.6604>. PMID:30427950.
13. Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg*. 1982 Jul;196(1):100-9. <http://doi.org/10.1097/0000658-198207000-00020>. PMID:7092346.
14. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986 Apr;205:299-308. <http://doi.org/10.1097/00003086-198604000-00036>. PMID:3084153.
15. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nat Protoc*. 2012 Oct;7(10):1918-29. <http://doi.org/10.1038/nprot.2012.113>. PMID:23018195.
16. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jan-Feb;28(1):77-83. <http://doi.org/10.11607/jomi.2613>. PMID:23377050.
17. To M, Su CY, Hidaka K, Okudera T, Matsuo M. Effect of advanced platelet-rich fibrin on accelerating alveolar bone formation in dogs: a histological and immunofluorescence evaluation. *Anat Sci Int*. 2019 Jun;94(3):238-44. <http://doi.org/10.1007/s12565-019-00479-1>. PMID:30747352.
18. Bikmulina PY, Kosheleva NV, Shpichka AI, Efremov YM, Yusupov VI, Timashev PS, et al. Beyond 2D: effects of photobiomodulation in 3D tissue-like systems. *J Biomed Opt*. 2020 Apr;25(4):1-16. <http://doi.org/10.1117/1.JBO.25.4.048001>. PMID:32351077.
19. Priglinger E, Maier J, Chaudary S, Lindner C, Wurzer C, Rieger S, et al. Photobiomodulation of freshly isolated human adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells by pulsed light-emitting diodes for direct clinical application. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018 Jun;12(6):1352-62. <http://doi.org/10.1002/term.2665>. PMID:29603903.
20. Pomini KT, Buchaim DV, Andreo JC, Rosso MPO, Della Coletta BB, German ÍJS, et al. Fibrin sealant derived from human plasma as a scaffold for bone grafts associated with photobiomodulation therapy. *Int J Mol Sci*. 2019 Apr;20(7):1761. <http://doi.org/10.3390/ijms20071761>. PMID:30974743.
21. Mehdiyev I, Gülsen U, Sentürk MF, Sayan NB. Radiographic evaluation of low-level laser therapy-enhanced maxillary sinus augmentation with simultaneous dental implant placement. *Ann Maxillofac Surg*. 2019 Jan-Jun;9(1):48-52. http://doi.org/10.4103/ams.ams_241_18. PMID:31293929.
22. Jonasson TH, Zancan R, Azevedo LO, Fonseca AC, Silva MCD, Giovanini AF, et al. Effects of low-level laser therapy and platelet concentrate on bone repair: histological, histomorphometric, immunohistochemical, and radiographic study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2017 Nov;45(11):1846-53. <http://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.08.008>. PMID:28935484.
23. Şahin O, Tatar B, Ekmekcioğlu C, Aliyev T, Odabaşı O. Prevention of medication related osteonecrosis of the jaw after dentoalveolar surgery: an institution's experience. *J Clin Exp Dent*. 2020 Aug;12(8):e771-6. <http://doi.org/10.4317/jced.56837>. PMID:32913575.
24. Şahin O, Akan E, Tatar B, Ekmekcioğlu C, Ünal N, Odabaşı O. Combined approach to treatment of advanced stages of medication-related osteonecrosis of the jaw patients. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2022 Jul-Aug;88(4):613-20. <http://doi.org/10.1016/j.bjorl.2021.04.004>. PMID:34023243.
25. Temmerman A, Vandessel J, Castro A, Jacobs R, Teughels W, Pinto N, et al. The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2016 Nov;43(11):990-9. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12612>. PMID:27509214.
26. Sleem SSMEB, Zayet MK, El-Ghareeb TI, Saleh HAK. Evaluation of the bio-stimulatory effect of platelet rich fibrin augmented by diode laser compared to platelet rich fibrin alone on dental implant replacing

posterior mandibular teeth. randomised clinical trial: split mouth study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Mar;7(5):869-75. <http://doi.org/10.3889/oamjms.2019.183>. PMID:30962853.

27. Padilha WSM, Soares AB, Navarro-Junior H, Joly JC, Peruzzo DC, Napimoga MH, et al. Histologic evaluation of leucocyte- and platelet-rich fibrin in the inflammatory process and repair of noncritical bone defects in the calvaria of rats. Int J Oral Maxillofac Implants. 2018 Nov/Dec;33(6):1206-12. <http://doi.org/10.11607/jomi.6604>. PMID:30427950.
28. Arakeeb MAA, Zaky AA, Harhash TA, Salem WS, El-Mofty M. Effect of combined application of growth factors and diode laser bio-stimulation on the osseo integration of dental implants. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Aug;7(15):2520-7. <http://doi.org/10.3889/oamjms.2019.672>. PMID:31666858.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

DISPONIBILIDADE DE DADOS

Os conteúdos estarão disponíveis no momento da publicação do artigo.

*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Lorena Ferraz Santos Silva, UFBA – Universidade Federal da Bahia, Av. Adhemar de Barros, s/n, Ondina, 40170-110 Salvador - BA, Brasil, e-mail: lorenaferraz87@gmail.com

Recebido: Setembro 2, 2024

Aprovado: Maio 15, 2025

Editado por

Editor: Valdir Gouveia Garcia