UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

GABRIEL AMANTINI

Estudo clínico comparativo entre enxertos gengivais livres convencionais (EGL), enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo (EGLC) e enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo invertidos (EGLCI), em boca dividida: estudo em humanos

BAURU
2020

GABRIEL AMANTINI

Estudo clínico comparativo entre enxertos gengivais livres convencionais (EGL), enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo (EGLC) e enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo invertidos (EGLCI), em boca dividida: estudo em humanos

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Reabilitação Oral, linha de pesquisa Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Greggi

Versão Corrigida

BAURU
2020

Amantini, Gabriel

Estudo clínico comparativo entre enxertos gengivais livres convencionais (EGL), enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo (EGLC) e enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo invertidos (EGLCI), em boca dividida: estudo em humanos / Gabriel Amantini. -- Bauru, 2020.

89 p. : il. ; 31 cm.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2020.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghi

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 3.899.844

ERRATA

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

A Deus,

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pois Ele sempre foi o meu sustento e fortaleza em toda a minha caminhada.

“Eu te amarei do coração, ó Senhor, fortaleza minha. O Senhor é o meu rochedo, e o meu lugar forte, e o meu libertador; o meu Deus, a minha fortaleza, em quem confio; o meu escudo, a força da minha salvação e o meu alto refúgio.” (Salmos 18:1-2 - Bíblia Sagrada)

Aos meus pais, Silvestre e Susy,

Dedico especialmente aos meus pais, pois me deram todo apoio e força necessária para prosseguir nesse projeto. Se cheguei a algum lugar em minha vida, foi graças a sua ajuda e amor.

AGRADECIMENTOS

Em especial ao **Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Greghi**, pela oportunidade de ser seu aluno de Mestrado, por cada ensinamento e contribuição para minha formação profissional.

À minha parceira de clínica, tutora e amiga **Andréia**, sem a qual eu jamais teria conseguido realizar esta pesquisa, obrigado por todos os ensinamentos e paciência.

Aos meus colegas de mestrado, **Marco, Ricardo, Samantha e Julien**, pela amizade e parceria.

Aos doutorandos **Gustavo e Vitor** pela ajuda e amizade.

Às demais professoras do departamento de Periodontia, **Profa. Dra. Adriana Campos Passanezi Sant'Ana, Profa. Dra. Mariana Schützer Ragghianti Zangrando, Profa. Dra. Maria Lúcia Rubo de Rezende e Profa. Dra. Carla Andreotti Damante**, por cada ensinamento, por cada palavra de incentivo e apoio. A participação de cada uma de vocês tem sido essencial em minha formação. Muito obrigado!

Às funcionárias da Periodontia **Ivânia, Edilaine e Marcela**, pela paciência e apoio fundamentais para a concretização deste trabalho. Muito obrigado!

Aos demais **funcionários** da FOB-USP que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Aos **pacientes** que confiaram em mim e que aceitaram me ajudar, tornando possível a realização desta pesquisa.

À **Faculdade de Odontologia de Bauru**, da Universidade de São Paulo, através de seu diretor **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos**, por nos oferecer uma excelente infraestrutura para nossa formação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela disponibilidade da bolsa de estudo.

"Jamaís considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer."

Albert Einstein

RESUMO

A mucosa ceratinizada (MC) desempenha um papel importante na homeostasia do periodonto marginal e também na estética tecidual. Uma altura mínima de 2 milímetros é necessária para manutenção da saúde periodontal. O procedimento mais comum quando há quantidades inadequadas de MC é o enxerto gengival livre (EGL). Contudo essa técnica tem desvantagem estética, pois o enxerto herda características do palato que resultam na expressão genotípica do tecido conjuntivo, conferindo à área receptora uma coloração pálida, diferente da mucosa adjacente, podendo comprometer o resultado onde a estética é preponderante. Portanto, considerou-se a possibilidade de posicionar o EGL de forma invertida, com o lado mais próximo da lâmina basal em contato com o periósteo da área receptora, procurando neutralizar o efeito da interação epitélio-conjuntivo sobre a coloração do enxerto, permitindo aos ceratinócitos migrarem das margens do leito receptor, mantendo as características da área receptora. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo clínico comparativo entre EGL, enxerto gengival livre de tecido conjuntivo (EGLC) e enxerto gengival livre de tecido conjuntivo invertido (EGLCI), em boca dividida, analisando seu resultado estético e o grau de contração. Foram avaliados 9 pacientes, que inicialmente apresentaram faixa inadequada de MC na região de pré-molares inferiores, bilateralmente, e receberam EGL (grupo controle 1 – GC1), EGLC (grupo controle 2 – GC2) e EGLCI (grupo experimental – GE). Foram realizadas medições dos enxertos do primeiro ao sexto mês e fotografias no último mês. As fotografias foram analisadas de três maneiras: por três periodontistas experientes usando o Pink Esthetic Score (PES), sob o ponto de vista dos pacientes e de forma objetiva pelo programa ImageJ, comparando coloração e textura dos enxertos com a gengiva adjacente. Para análise estatística de contração foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas, para comparar os scores do PES foi utilizado o teste de Friedman e para comparar a opinião dos pacientes foi utilizado o teste Qui-quadrado. Como resultado, os grupos GC2 e GE não mostraram diferença estatística significativa entre si para contração, mas apresentaram maior grau de contração em relação ao GC1, o qual não apresentou contração estatisticamente significativa ao longo do tempo. Os resultados obtidos considerando o PES indicaram que o GC1 foi estatisticamente diferente dos outros dois grupos, sendo que os escores desses dois grupos (GC2 e GE) mostraram maior semelhança com a MC adjacente tanto em

coloração quanto em textura. Quanto aos resultados da análise pelo ImageJ, os grupos GC2 e GE foram estatisticamente diferentes do GC1, e mais parecidos com a coloração da gengiva adjacente, sem diferença estatisticamente significativa entre GC2 e GE. Na análise dos pacientes o enxerto preferido foi o GC2, em seguida GE, sendo GC1 o mais rejeitado. Assim, podemos concluir que o GC1 apresentou maior diferença estética em todas as formas de análise, enquanto GC2 e GE não apresentaram diferenças entre si. Os grupos GC2 e GE contraíram expressivamente em relação ao GC1. Não foi possível afirmar que a inversão do enxerto conjuntivo livre tenha trazido alguma vantagem estética.

Palavras-chave: Tecido conjuntivo. Gengiva. Estética.

ABSTRACT

Comparative clinical study between conventional free gingival grafts (FGG), connective tissue free gingival grafts (CTFGG) and inverted connective tissue free gingival grafts (ICTFGG) in a split mouth analysis: a study in humans

The keratinized mucosa (KM) plays an important role in the homeostasis of the marginal periodontium and also in tissue aesthetics. A minimum height of 2 millimeters is required to maintain periodontal health. The most common procedure when there are inadequate amounts of KM is the free gingival graft (FGG). However, this technique has an aesthetic disadvantage, since the graft inherits characteristics from the palate, resulting in the genotypic expression of the connective tissue and giving the recipient area a pale coloration, different from the adjacent mucosa, which may compromise the result where the aesthetics are predominant. Therefore, the possibility of placing an inverted de-epithelized FGG was considered, keeping the side close to the basal lamina in contact with the periosteum of the recipient area. This approach was conceived as a way to neutralize the effect of the epithelial-conjunctive interaction on the graft color by allowing the keratinocytes to migrate from the margins of the receiving bed and keeping the characteristics of the receiving area. The aim of this study was to conduct a comparative clinical study between FGG, connective tissue free gingival graft (CTFGG) and inverted connective tissue free gingival graft (ICTFGG) in a split mouth design, analyzing the aesthetic result and the degree of contraction of the grafts. Nine patients with bilateral inadequate KM width in the region of the lower premolars were selected and received FGG (control group 1 - CG1), CTFGG (control group 2 - CG2) and ICTFGG (experimental group - EG). Graft measurements were performed from the baseline up to a follow-up of six months and photographs were taken in the last month. The photographs were analyzed in three ways: by three experienced periodontists using the pink esthetic score, from the point of view of the patients and, objectively, using the ImageJ software to compare the color and texture of the grafts with the adjacent gingiva. For statistical analysis of contraction, the ANOVA test of repeated measures was used, to compare the scores of the pink aesthetic index, the Friedman test was used and to compare the opinion of the patients, the Chi-square test was used. As a result, the CG2 and EG groups did not show a statistically significant difference between themselves for contraction, but showed a greater degree

of contraction compared to CG1, which did not present a statistically significant contraction over time. The results related to the pink esthetic score indicated that CG1 was statistically different from the other two groups, and the scores of these two groups (CG2 and EG) showed greater similarity with the adjacent KM for both color and texture. For the results of the analysis by ImageJ, the groups CG2 and EG were statistically different from CG1, and more similar to the coloring of the adjacent gingiva. No statistically significant difference between CG2 and EG. In the analysis of patients, the preferred graft was CG2, then EG, with CG1 being the most rejected. Thus, we can conclude that CG1 showed the greatest aesthetic difference in all forms of analysis, while CG2 and EG did not present differences between them. Groups CG2 and EG contracted significantly compared to CG1. It was not possible to affirm that the inversion of the free conjunctive graft has brought any aesthetic advantage.

Keywords: Connective tissue. Gingiva. Esthetics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 -	Medida A	41
Figura 2 -	Medida B	41
Figura 3 -	Foto em T6	43

GRÁFICOS

Gráfico 1a -	Pink Esthetic Score (PES) – Porcentagem dos scores atribuídos por cada examinador à cor dos enxertos nos três grupos estudados (GC1, GC2 e GE) em T6	55
Gráfico 1b -	Pink Esthetic Score (PES) – Porcentagem dos scores atribuídos por cada examinador à textura dos enxertos nos três grupos estudados (GC1, GC2 e GE) em T6	55
Gráfico 2 -	ImageJ - Delta E (em pixels) dos enxertos e da gengiva adjacente	56
Gráfico 3 -	Análise segundo o ponto de vista dos pacientes sendo BOM, enxerto com menor diferença da área receptora e RUIM, enxerto com maior diferença da área receptora	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Análise estética baseada nos tópicos 6 e 7 do Índice de Estética Rosa (PES – Pink Esthetic Score)	44
Tabela 2 -	Distribuição da amostra por idade (média ± desvio padrão), gênero e número de sítios avaliados	51
Tabela 3 -	Medidas clínicas, em milímetros, das dimensões dos enxertos nos diferentes períodos de avaliação do estudo em cada um dos grupos (GC1, GC2 e GE)	52
Tabela 4 -	Estatística descritiva para as variáveis qualitativas referentes aos scores do índice de estética rosa referentes à cor e à textura gengivais dos enxertos em T6, realizado pelos três profissionais	54
Tabela 5 –	Estatística descritiva, em pixels, para as variáveis quantitativas referentes às mensurações de cor por meio do programa ImageJ Delta E)	56
Tabela 6 -	Porcentagem para a opinião dos participantes da pesquisa quanto ao resultado dos enxertos em T6.....	57
Tabela 7 –	Grau médio de contração dos enxertos gengivais ao longo do período experimental nos diferentes períodos de avaliação do estudo em cada um dos grupos (GC1, GC2 e GE).....	58

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CTFGG	Connective Tissue Free Gingival Grafts
EGL	Enxerto gengival livre
EGLC	Enxerto gengival livre de tecido conjuntivo
EGLCI	Enxerto gengival livre de tecido conjuntivo invertido
ETCS	Enxerto de tecido conjuntivo subepitelial
FGG	Free Gingival Graft
FOB-USP	Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo
GC1	Grupo controle 1
GC2	Grupo controle 2
GE	Grupo experimental
ICTFGG	Inverted Connective Tissue Free Gingival Grafts
KM	Keratinized Mucosa
MC	Mucosa ceratinizada
PE-EGL	Enxerto gengival livre parcialmente epitelizado
PES	Pink Esthetic Score

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1	IMPORTÂNCIA, MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DA GENGIVA CERATINIZADA	25
2.2	CICATRIZAÇÃO GENGIVAL.....	27
2.3	ENXERTO GENGIVAL LIVRE.....	28
3	PROPOSIÇÃO	35
3.1	OBJETIVO PRIMÁRIO	35
3.2	OBJETIVO SECUNDÁRIO	35
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	ASPÉCTOS ÉTICOS.....	39
4.2	DETERMINAÇÃO DO “N”	39
4.3	SELEÇÃO DA AMOSTRA: CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	39
4.4	DIVISÃO DOS SÍTIOS EM GRUPOS.....	40
4.5	REGISTRO DAS MEDIDAS CLÍNICAS.....	40
4.6	REGISTRO FOTOGRÁFICO DA REPARAÇÃO DOS ENXERTOS ..	42
4.6.1	Sob o ponto de vista dos pacientes.....	43
4.6.2	Sob o ponto de vista de profissionais experientes	43
4.6.3	Análise pelo programa ImageJ.....	44
4.7	PREPARO DOS PACIENTES	45
4.8	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	45
4.8.1	Realização dos EGL (GC1).....	45
4.8.2	Realização dos EGLC (GC2) e EGLCI (GE).....	47
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5	RESULTADOS	51
6	DISCUSSÃO	61
6.1	DA METODOLOGIA.....	61
6.1.1	Amostra	61
6.1.2	Parâmetros utilizados nas avaliações	62
6.2	DOS RESULTADOS.....	63
7	CONCLUSÕES	71
	REFERÊNCIAS.....	75
	ANEXOS	83

1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A gengiva ceratinizada desempenha um papel importante na homeostasia do periodonto marginal e essa importância passou a ser evidenciada a partir do final da década de 1940 / início da década de 1950.

Estudo clássico de Lang e Løe em 1972 sugeriu que uma quantidade mínima (2mm) de mucosa ceratinizada (MC) era necessária para a manutenção da saúde marginal; a partir de então muitos trabalhos surgiram endossando esse conceito da necessidade de uma faixa mínima de MC (MAYNARD; OCHSENBEIN, 1975; SCHOO; VAN DER VELDEN, 1985; STETLER; BISSADA, 1987; SANAVI; WEISGOLD; ROSE, 1998; CAMARGO; MELNICK; KENNEY, 2001; CHUNG *et al.*, 2006; LIN; CHAN; WANG, 2013).

Essa importância da MC em relação aos aspectos funcionais tem vínculo com suas características físicas, aspectos bioquímicos e imunológicos. Dentre essas características físicas pode-se ressaltar o epitélio espesso estratificado, revestido por ceratina, que confere impermeabilização à área, minimiza a entrada de produtos tóxicos marginalmente (GANEN-QUINTANAR; FALSON-RIEG; BURI, 1997) e também direciona melhor o fluxo do fluido gengival via sulco (LAGOS *et al.*, 2011).

Além disso o tecido conjuntivo dessa mucosa é altamente colagenizado (BARTOLD; WALSH; NARAYANAN, 2000), com inserção nos tecidos duros subjacentes, conferindo justaposição tecidual na área marginal (SCHROEDER; LISTGARTEN, 1997) e consequentemente proporciona um sulco gengival mais raso e estreito.

Por outro lado, o epitélio gengival não age só como uma barreira física às agressões microbianas, mas tem papel ativo biologicamente, sensibilizando e iniciando respostas do hospedeiro (JIN, 2011).

A presença de células de Langerhans no epitélio da MC, parece ser capaz de apresentar antígenos, estimulando linfócitos T (BRAATEHEN *et al.*, 1980; STINGL, 1980).

Também peptídeos antibacterianos presentes no epitélio contribuem para a proteção dos tecidos do hospedeiro em relação à placa bacteriana, atuando diretamente nas bactérias, ou sinalizando para células dendríticas imaturas e macrófagos, ou através de quimiocinas/citocinas sinalizando para polimorfonucleares

etc. (DALE, 2002; GREER; ZENOBIA; DARVEAU, 2013; JI *et al.*, 2007). DESCRIVER RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA

Por outro lado, essa mucosa também tem ligação importante quanto à condição estética, considerando-se o contorno gengival, a textura tecidual, a coloração, dentre outras, pois esses aspectos conferem uma aparência agradável. A coloração do tecido marginal dada pela MC é rosa pálido advinda da opacificação conferida pela ceratina que reveste a área, diferentemente da mucosa alveolar que é translúcida e, portanto, avermelhada. Assim essas características e funções da MC são muito desejáveis seja margeando dentes ou implantes (AGUDIO *et al.*, 2008; SCHROTT *et al.*, 2009; LIN; CHAN; WANG, 2013).

Desta forma quando da perda da faixa adequada de MC, sua recomposição é necessária e vários procedimentos podem ser utilizados para tal, mais comumente o enxerto gengival livre (EGL), enxertos gengivais pediculados e enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETCS).

O EGL normalmente é o procedimento cirúrgico mais utilizado na recomposição da MC em função das necessidades locais. Embora seja um procedimento de fácil execução e de ótimo prognóstico, apresenta o inconveniente e a morbidade da intervenção em duas áreas cirúrgicas (local doador e local receptor). Mas outra grande desvantagem adicional desse procedimento está relacionada à característica estética final, quanto à coloração tecidual, visto que a área doadora via de regra é do lado palatino. Como a MC do lado palatino tem características histológicas um pouco diferentes do lado vestibular, uma característica final do enxerto gengival com maior palidez é evidente e esse aspecto pode comprometer o resultado, em locais onde a necessidade estética é preponderante.

Essa característica de indução de epitélio com ceratinização igual ao lado palatino na área do EGL é dado pela expressão genotípica do tecido conjuntivo transportado do lado palatino para o lado vestibular no ato da enxertia (KARRING; OSTERGAARD; LÖE, 1971; KARRING; LANG; LÖE, 1975). Assim, após a realização do EGL, como praticamente todo o epitélio que o recobre é perdido (MACEDO, 1989), as células epiteliais adjacentes ao enxerto migram para recobrir a ferida e são induzidas a se diferenciarem igualmente ao epitélio da região palatina, justificando a aparência mais pálida do enxerto dada a expressão característica de um epitélio com espessura e ceratinização semelhante ao palatino. Funcionalmente, o efeito desse

tecido enxertado é extremamente eficiente, como dito anteriormente. (AGUDIO *et al.*, 2008; AGUDIO *et al.*, 2009; AGUDIO *et al.*, 2016).

O tecido conjuntivo da lâmina própria é responsável pela estrutura e diferenciação epitelial (BERNIMOULIN; HE, 1980) sendo que essa interação epitélio-mesênquima não está presente em regiões mais profundas do tecido conjuntivo (MACKENZIE, 1984). Estes aspectos levaram Cardoso (2016) a supor que poderia haver uma polarização para a indução da ceratinização, ou seja, o potencial de ceratinização seria induzido pelo conjuntivo voltado para a lâmina basal epitelial. Por isso, a autora considerou a possibilidade de se posicionar o enxerto gengival de forma invertida, ou seja, com o lado da lâmina própria em contato com a superfície radicular, procurando neutralizar o efeito da interação epitélio-conjuntivo sobre a coloração do enxerto e permitindo que ceratinócitos, que migrariam das margens da ferida mantivessem as características da área receptora.

Uma série de casos foi realizada pela equipe de pesquisadores da disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP) mostrando resultados promissores com o uso dos enxertos gengivais livres apenas de tecido conjuntivo, mas invertidos (dados não publicados).

Desta forma, a realização de uma pesquisa controlada nesse assunto pode evidenciar de forma científica essa suposição que, se confirmada, pode abrir uma nova perspectiva dentro das cirurgias plásticas periodontais, especificamente nos EGL com indicação em áreas estéticas.

Assim a investigação comparativa entre ELG convencionais (epitélio-conjuntivo), enxerto gengival livre de tecido conjuntivo (EGLC) e enxerto gengival livre de tecido conjuntivo invertido (EGLCI), parece-nos imprescindível para as exigências cada vez mais estéticas das cirurgias plásticas periodontais.

2

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA, MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DA GENGIVA CERATINIZADA

A largura da gengiva ceratinizada varia na boca sendo mais larga nos incisivos centrais e laterais superiores, diminuindo em direção aos pré-molares e depois voltando a aumentar em direção aos molares; esse padrão se repete na mandíbula. Este padrão não costuma variar entre os indivíduos, sendo independente de raça, idade ou sexo. Contudo, a gengiva ceratinizada apresenta variação de largura entre indivíduos, que podem apresentar áreas com faixa de MC mais larga, e áreas onde esta é quase inexistente. Não varia muito com a idade e não apresenta diferença significativa entre os sexos. Áreas sem MC apresentam-se muito móveis e geralmente inflamadas. Vários fatores podem influenciar a largura da MC como: dentes mal posicionados (vestíbulo ou lingualmente), inserções altas de freios e bridas, resultando em recessões nas áreas com pouca ou nenhuma MC, sendo mais comuns nas regiões de pré-molares (BOWERS, 1963).

A gengiva ceratinizada inclui a gengiva livre e a inserida, e se estende da margem gengival até a junção mucogengival. A faixa de MC pode variar entre 1mm e 9mm. Acredita-se que uma faixa adequada de MC seja importante para manter a saúde gengival, pois foram constatadas áreas com menos de 2mm de gengiva ceratinizada que, mesmo livres de placa, permaneciam inflamadas (LANG; LÖE, 1972).

Em direção a coroa, a gengiva termina na margem gengival livre e em contorno parabólico, tendo cor rósea. Em direção a apical, a gengiva termina na mucosa alveolar, que é frouxa e de um vermelho mais escuro e a divisão entre elas é chamada de junção muco gengival. A gengiva inserida pode apresentar um pontilhado delicado dando aspecto de "casca de laranja" em 40% dos adultos. Microscopicamente o epitélio oral é pavimentoso, estratificado, ceratinizado, subdividido em camada basal, espinhosa, granulosa e ceratinizada. Apresenta também melanócitos, células de Langerhans que reagem com os antígenos invasores da mucosa impedindo que se aprofundem, e células inespecíficas, que não exibem as mesmas características ultra estruturais dos outros tipos de células. A camada basal é composta por células cilíndricas ou cuboides e estão em contato com a mesma membrana basal. Estas células tem a capacidade de sofrer mitose e são responsáveis

pela renovação do epitélio. Por isto, essa camada pode ser denominada também como estrato germinativo. Quando células filhas são formadas por divisão celular, uma célula basal adjacente "mais velha" é impelida para a camada espinhosa e a atravessa como ceratinócito, podendo demorar um mês para alcançar a camada mais externa, sendo descamada pela camada córnea. Após deixar a membrana basal, o ceratinócito perde a capacidade de reprodução, mas continua a produzir proteínas (grânulos de ceratina e tonofilamentos). Na camada espinhosa, o ceratinócito perde os sistemas de produção de energia e proteína, sendo transformado numa célula preenchida por ceratina que, na camada córnea, é descamada para a superfície do tecido (LINDHE; KARRING; LANG, 2010).

Um fator determinante para as distâncias biológicas pode ser observado na gengiva ceratinizada, conforme demonstrado por Mendonça (2001), pois o volume do tecido mole acima do osso alveolar é fundamental para preservar a crista óssea; isso pode ser visto em áreas que apresentam gengiva fina e de distância reduzida até a crista óssea, que por si só é fina nessas regiões, e não suporta agressões de qualquer natureza, permitindo o aparecimento de recessões gengivais.

A gengiva ceratinizada desempenha um papel importante na defesa imunológica do sulco gengival por concentrar e direcionar a saída do fluido gengival pelo sulco. Em áreas com faixa maior ou igual a 2mm de gengiva ceratinizada, o fluxo do fluido gengival é aumentado fisiologicamente durante a mastigação, sendo direcionado, em sua maior quantidade, para o sulco gengival, promovendo uma "lavagem mecânica", levando células de defesa e imunoglobulinas. Porém, em áreas com menos de 2mm, este aumento de fluxo difunde-se também na mucosa alveolar, o que pode diminuir a defesa do sulco gengival (LAGOS *et al.*, 2011).

Em um estudo longitudinal de 10 a 27 anos, em 73 sítios de 55 pacientes com ótima higiene oral, Agudio e colaboradores (2009) demonstraram que, a cirurgia de EGL, melhorou a condição gengival dos sítios previamente com recessão ou com menos de 2mm de gengiva, aumentando o tecido queratinizado, diminuindo recessões e, em muitos casos, com recobrimento radicular completo através do "*creeping attachment*". Os sítios com menos de 2mm de gengiva ceratinizada, que não foram tratados, apresentaram recessão gengival.

2.2 CICATRIZAÇÃO GENGIVAL

Numa injúria tecidual que causa o rompimento do epitélio, a cicatrização acontece de forma rápida com a migração de ceratinócitos para o local 24h após o dano (WOODLEY *et al.*, 1986). Ao migrar para a superfície do epitélio, os ceratinócitos terminam sua diferenciação e depositam ceratina (ALONSO; FUCHS, 2003).

Sabe-se que o tecido conjuntivo oral determina a diferenciação do epitélio suprajacente. Um mês após EGL ceratinizados e não ceratinizados terem sido realizados em macacos, somente os ceratinizados mantiveram a camada de ceratina (KARRING; LANG; LÖE, 1975). A influência do tecido conjuntivo na ceratinização do epitélio também já foi comprovada (LAUER *et al.*, 2001).

À medida que os ceratinócitos começam se diferenciar, ocorre uma perda de adesividade celular, permitindo que as células migrem da camada basal para a superfície do tecido (ADAMS; WALT, 1990). Durante esse trajeto, os ceratinócitos vão sofrendo uma série de mudanças fisiológicas e morfológicas se tornando células achatadas, mortas, anucleadas, descamando e sendo repostas por outros ceratinócitos diferenciados (ECKERT; CRISH, 1997). Os ceratinócitos liberam interleucina-1, o que dá início a reações inflamatórias, a partir das quais, levam a alterações da expressão gênica para reepitelização.

Em pequenas feridas gengivais (de 2mm a 3mm), os ceratinócitos caminham sobre o coágulo formado na ferida e podem não interagir com o tecido conjuntivo (LARJAVA *et al.*, 1993). Quando as células migrantes se encontram e começam a produzir fibronectina, tenascinina e vitronectina, ocorre a formação de uma nova membrana basal (FLEISCHMAJER *et al.*, 1998).

No enxerto de mucosa oral, o tecido transplantado, mantém as mesmas características da área doadora, mas somente se o epitélio for levado junto com o tecido enxertado (EDEL; FACCINI, 1977; OUHAYOUN *et al.*, 1988). Na técnica do enxerto conjuntivo subepitelial descrita por Langer e Langer (1985) para o recobrimento de recessões gengivais, têm sido relatadas vantagens na cicatrização tanto da área doadora quanto da receptora. Áreas tratadas com esse tipo de enxerto não apresentam o efeito hiperqueratinizado visto nos EGL que prejudica a estética (GUIHA *et al.*, 2001). Mas o sucesso estético do enxerto pode ser perdido caso ocorra deiscência de sutura do retalho que o recobre, sendo rapidamente recoberto por

epitélio ceratinizado da cor do palato doador, como demonstrado por Zuchelli *et al.* (2010).

2.3 ENXERTO GENGIVAL LIVRE

A cirurgia de EGL é um tipo de cirurgia plástica periodontal (cirurgia muco-gengival) e tem como principal objetivo o aumento da gengiva ceratinizada através de um enxerto removido de outro sítio. É indicada para diminuir tensões de inserções musculares na gengiva marginal, criar gengiva ceratinizada, em altura e largura, podendo também recobrir raízes dentárias desnudas, restabelecendo distâncias biológicas, formando um sulco gengival raso e imóvel. Contudo, este enxerto apresenta desvantagens estéticas como diferença de cor, de textura, por apresentar características genéticas do palato e pode apresentar excesso de volume; todas essas características geram uma evidenciação do enxerto no sítio receptor que fica exuberante. Também apresenta desconforto pós-operatório por deixar uma área cruenta no palato, cicatrizando por segunda intenção (JANSON *et al.*, 1974).

A cirurgia de enxerto gengival foi inicialmente descrita por Bjorn em 1963, para tratamento de problemas como falta de MC e recessão gengival e desde então vem sendo amplamente utilizada. Com essa técnica, conforme preconizado por Sullivan e Atkins em 1968, pode-se aumentar a faixa de MC, com contração secundária moderada, se o enxerto tiver de 0,75mm a 1,25mm de espessura, com base nos seus estudos clínicos (SULLIVAN; ATKINS, 1968; THOMA *et al.*, 2014). Contudo algumas complicações clínicas foram descritas como hemorragia excessiva do sítio doador, falhas na união do enxerto, atraso na cicatrização e problemas estéticos (BRASHER; REES; BOYCE, 1975).

No EGL podemos observar uma migração da margem gengival para coronal, fenômeno chamado “*creeping attachment*”, inicialmente descrito por Goldman e Cohen em 1964, em uma raiz antes desnuda, fenômeno também observado por Pennel, em 1969, que analisou por fotografias e clinicamente 93 enxertos, mostrando a ocorrência tanto de contração quanto de “*creeping attachment*”. Contudo foi observado que esse fenômeno pode levar ao recobrimento de recessões, mesmo não sendo o objetivo principal da cirurgia de enxerto (POLLACK, 1984). Agudio *et al.* demonstraram em 2016 que esse fenômeno pode continuar por muitos anos após a cirurgia.

Em casos de recessão gengival ocasionada por mau posicionamento dental, o tratamento ortodôntico deve ser realizado com ou sem a cirurgia de enxerto, contudo essa cirurgia leva a melhora das relações mucogengivais, permitindo melhor controle de placa (ANAND; GULATI; RASTOGI; DIXIT, 2012).

O EGL pode apresentar diferentes graus de contração cicatricial, mas isto depende muito da técnica empregada e da indicação correta. Fatores como a espessura e a rigidez do enxerto, assim como um leito receptor com pouca vascularização também podem afetar o grau de contração cicatricial, mostrando que quanto mais o tecido do enxerto for manipulado, maior pode ser essa contração (THOMA *et al.*, 2014; MORMANN, 1981; BASEGMEZ, 2012).

Em um estudo de Silva *et al.*, em 2010, foram acompanhados 20 pacientes não fumantes após se submeterem a cirurgia de EGL, por 90 dias de pós-operatório. Os enxertos apresentaram uma redução de 31% de sua largura e de 44% da sua área original ao final dos 90 dias pós-operatórios.

Em cirurgias de vestibuloplastia em áreas de mandíbula atrofica, após 90 dias, o EGL pode perder até 28,35% da sua largura original, podendo aumentar para 40,65% em até 5 anos conforme demonstrado por Schmitt *et al.* (2016) em um estudo com 48 pacientes reabilitados com implantes.

Resende *et al.* (2019), em um acompanhamento de 6 meses de 25 pacientes de EGL, notaram um grau de contração médio de 12,41% e Cevallos *et al.* (2019), num acompanhamento de 15 anos dos mesmos pacientes, notaram um “*creeping attachment*” de 17,6%.

Contudo, o biotipo gengival parece não afetar a estabilidade dimensional do EGL até o sexto mês de acompanhamento, conforme demonstrado por Karakiş; Güler e Hatipoğlu em um estudo clínico comparativo em 2019.

Esse tipo de enxerto apresenta-se competente para criação de MC não só ao redor de dentes, mas também de implantes, garantindo um tecido capaz de resistir às forças mastigatórias e prevenir a inflamação frequente ao redor das próteses, diminuindo o risco de peri-implantite (CHUNG, 2006; LIN, 2013; SCHROTT, 2009).

Outro tipo de EGL, é o enxerto de tecido conjuntivo, inicialmente descrito por Edel, em 1974, com o mesmo objetivo, criar faixa de MC adequada. Mais tarde, em 1976, Broome e Taggart descreveram dois casos clínicos de EGLC para criação de MC, relatando como vantagem a cicatrização por primeira intenção do sítio doador e como desvantagem, a dificuldade para retirada do tecido conjuntivo doador. Outra

pesquisa, em 1989, realizada por Macedo, onde foram realizadas 64 cirurgias de enxerto livre, 32 de epitelizado e 32 de conjuntivo em cães e produzindo amostras pós operatórias com 0, 1, 2, 4, 7, 14, 30 e 60 dias, mostrou não haver diferença entre estas duas modalidades de enxerto exceto pelo fato de o enxerto livre epitelizado sofrer reepitelização mais rápida a qual ocorria, em todos os casos, a partir do tecido circunjacente do leito receptor.

Outro estudo com enxerto de tecido conjuntivo livre, realizado por Orsini *et al.* (2004), em 16 pacientes proteticamente tratados, mostrou uma contração média de 37,2% nos 6 meses pós-operatórios, além de ter demonstrado um “excelente resultado estético” na avaliação da cor do enxerto em relação a gengiva circundante com 87,5% de concordância entre 3 examinadores.

Pesquisa de Raoofi, Asadinejad e Khorshidi em 2019, avaliou a cor e a espessura de tecido enxertado por 2 técnicas para aumento de MC: EGL e enxerto de tecido conjuntivo recoberto por retalho fino. Os resultados foram avaliados após 6 meses. Os resultados mostraram que enxerto de tecido conjuntivo levou a melhor estética e adaptação de cor. Ambas as técnicas aumentaram gengiva ceratinizada e inserida, mas o EGL parece ser mais previsível quando o vestíbulo não é profundo. Da mesma forma, o EGL é viável em pacientes com linha de sorriso baixo sem preocupações estéticas. Entretanto, o uso de tecido conjuntivo em mucosa fina é preferível para aumento gengival se houver vestíbulo profundo e necessidade estética.

Tratamentos mucogengivais visam não somente atender às necessidades biológicas, mas também às necessidades estéticas (CAMARGO *et al.*, 2001; CORTELLINI, TONETTI, PRATO, 2012). Recobrimentos radiculares com EGL não foram esteticamente bem-sucedidos (CAMARGO *et al.*, 2001; SHAH; THOMAS; MEHTA, 2015; CORTELLINI; TONETTI; PRATO, 2012; LOPES *et al.*, 2013; DONN, 1978).

Publicação de Shah, Thomas e Mehta (2017) analisou modificações de EGL (enxerto gengival “unit”, EGL parcialmente epitelizado, enxerto de tecido conjuntivo epitelizado) para recobrimento radicular. Os resultados mostraram recobrimento satisfatório e melhor cor comparado com o EGL.

O EGL apresenta várias limitações tal como incompatibilidade estética e aparência volumosa (Cohen, 1966). Yuce *et al.*, (2015) avaliaram a estética com o índice “Root Esthetic Score” no recobrimento radicular, utilizando como técnica o EGL

modificado (PE-EGL - enxerto gengival livre parcialmente epitelizado). Os resultados mostraram superioridade do PE-EGL, com excelente cor.

3

Objetivo/
Proposição

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

O objetivo primário desse estudo foi analisar o resultado estético de enxertos gengivais livres de tecido conjuntivo invertidos (EGLCI) comparando com enxertos gengivais livres convencionais (EGL) contendo epitélio-conjuntivo e enxerto gengival livre de tecido conjuntivo (EGLC), em boca dividida, considerando sobretudo o aspecto da coloração e textura tecidual final.

Para tanto, essa análise foi realizada de três formas:

- Por três periodontistas experientes, considerando critérios específicos detalhados na metodologia;
- Pela opinião leiga dos pacientes considerando a condição que lhes pareça mais agradável esteticamente;
- Pela análise objetiva utilizando o programa ImageJ, comparando com a MC vestibular adjacente.

3.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO

Secundariamente foram analisados aspectos dimensionais, considerando a contração cicatricial dos enxertos, em altura (corono-apical) e em espessura.

4

Material e
Métodos

4 MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOB-USP sob o parecer número 2.683.161 (ANEXO E).

4.2 DETERMINAÇÃO DO “n”

Com base na literatura pré-existente (BASSETTI *et al.*, 2016; PANDIT *et al.*, 2016; HEIDARI *et al.*, 2017; PEROTTO *et al.*, 2017) ficou estabelecido um “n” de 10 a 15 pacientes.

4.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA: CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo 12 pacientes entre 18 e 60 anos, que apresentaram boas condições de saúde geral, com bom padrão de higiene bucal, ausência de doença periodontal nos dentes de interesse da pesquisa, e que necessitavam de aumento da faixa de MC bilateralmente na região de pelo menos 3 pré-molares inferiores.

Por outro lado foram excluídos na seleção, os pacientes que apresentaram alterações sistêmicas (como Diabetes Mellitus, problemas de coagulação etc.), que faziam ou fizeram uso de medicamentos controlados e antibióticos nos últimos 6 meses precedentes à pesquisa, pacientes submetidos à terapia com anticoagulantes, imunoestimulatórios ou imunodepressivos, pacientes irradiados, pacientes que apresentavam doença periodontal nas áreas de interesse da pesquisa, gestantes, pacientes com dificuldade cognitiva, usuários de drogas ilícitas ou álcool e pacientes fumantes. Quanto aos ex-usuários de drogas ilícitas, ex-fumantes e ex-etilistas só poderiam ser incluídos no estudo se tivessem deixado plenamente o vício pelo menos 6 meses antes do início da pesquisa.

Não houve restrição étnica ou de gênero na seleção da amostra, para essa pesquisa.

4.4 DIVISÃO DOS SÍTIOS EM GRUPOS

Cada paciente selecionado apresentou, portanto, pré-molares inferiores bilaterais com a necessidade cirúrgica de aumento da faixa de MC. Os lados direito ou esquerdo foram escolhidos randomicamente pelo Excel, para receber ou **EGL** (grupo controle 1 – **GC1**) ou **EGLC** (grupo controle 2 – **GC2**) ou **EGLCI** (grupo experimental – **GE**). Portanto, foi realizado o **EGL** e/ou **EGLC** e/ou **EGLCI**, em duas sessões diferentes, resultando em duas cirurgias por paciente.

Cada grupo do estudo foi, portanto, assim composto:

Grupos controle	–	GC1 - 9 EGL
		GC2 - 9 EGLC
Grupo experimental	–	GE - 9 EGLCI

4.5 REGISTRO DAS MEDIDAS CLÍNICAS

A dimensão dos enxertos foi padronizada. Todos os enxertos tinham uma dimensão corono-apical de 6 mm, largura mesio-distal de 8 mm e espessura podendo ser de 1,5mm (EGLC e EGLCI) ou de 2 mm (EGL).

Essas dimensões padronizadas, com mapas cirúrgicos confeccionados previamente à cirurgia e devidamente esterilizados, facilitaram a intervenção e são as dimensões aproximadas que se utilizam para realizar um EGL para a região de um pré-molar inferior, considerando a contração cicatricial pós-operatória.

Após a sutura dos enxertos (“*baseline*”), foram registradas medidas a partir de um “*stent* oclusal” (medidas **A** e **B**), com auxílio de uma sonda periodontal e um “stop” endodôntico. Este “stent” foi previamente confeccionado a partir da moldagem do arco inferior dos pacientes, e foram confeccionadas canaletas no sentido vertical, na região correspondente ao centro da face vestibular dos dentes de interesse, a fim de padronizar o local de mensuração das dimensões dos enxertos nos tempos futuros.

Figura 1 – Medida A.

Fonte: Elaborado pelo autor. Medida A: da borda do *stent* à margem coronal do enxerto.

Figura 2 – Medida B.

Fonte: Elaborado pelo autor. Medida B: da borda do *stent* à margem apical do enxerto.

Tais medidas foram repetidas após 1, 2, 3, 4 e 6 meses. Na área central dos enxertos foi feito um registro da espessura utilizando uma agulha anestésica e um “stop” endodôntico imediatamente após a sutura dos enxertos (“*baseline*”). Novo registro da espessura da área foi realizado apenas no final do estudo, após 6 meses das cirurgias, com auxílio do mesmo dispositivo com anestésico tópico.

As medidas foram convertidas em números com auxílio de um paquímetro digital (Starret® Industria e Comércio Ltda, Itu - SP, Brasil).

Há um modelo de ficha para arquivamento de dados presente em anexo (ANEXO A).

4.6 REGISTRO CLÍNICO FOTOGRÁFICO DA EVOLUÇÃO DA REPARAÇÃO DOS ENXERTOS

Todas as áreas cirúrgicas, tanto dos GC1 e GC2 quanto do GE, foram fotografadas utilizando a mesma câmera digital (Canon, EOS, Rebel T5, China) após 1, 2, 3, 4 e 6 meses, para o acompanhamento do processo de reparação.

As fotografias foram padronizadas da seguinte maneira: todos os parâmetros da câmera foram mantidos constantes para obtenção das imagens fotográficas, bem como as condições de iluminação e posição do paciente na cadeira; os pacientes permaneceram sentados e a câmera foi posicionada com o longo-eixo perpendicular às áreas a serem fotografadas; as imagens foram obtidas de cada sítio de tratamento em posição frontal, enquadrando todo o enxerto e áreas adjacentes, alinhadas à superfície oclusal dos dentes.

As fotos finais (após 6 meses) foram utilizadas para uma comparação estética entre os grupos controle (GC1 e GC2) e GE.

Figura 3 – Foto em T6.

Fonte: Elaborado pelo autor. Registro fotográfico após 6 meses da cirurgia de enxerto.

Essa análise foi realizada de 3 formas, conforme descrito a seguir.

4.6.1 Sob o ponto de vista dos pacientes

Foram oferecidas fotos dos 3 grupos dos enxertos realizados, sem nenhuma identificação (análise cega) e o paciente escolheu qual lhe pareceu mais agradável esteticamente. Não foi oferecido nenhum parâmetro aos pacientes, mas foi registrado de cada paciente o que ele considerou para emitir sua opinião.

Modelo de ficha para arquivamento de dados disponível em anexo (ANEXO B).

4.6.2 Sob o ponto de vista de profissionais experientes

Foram escolhidos três periodontistas experientes, previamente calibrados ($Kappa = 0,81$; $p < 0,05$), que emitiram seus pareceres quanto à estética final dos enxertos, através de fotos padronizadas. Também essa análise foi cega, ou seja, a nenhum profissional foi informado que tipo de enxerto foi realizado.

A calibração foi realizada por meio da projeção de imagens fotográficas de 40 pacientes diferentes, não identificados, obtidas de enxertos gengivais, em dois

diferentes períodos de avaliação, com intervalo entre os mesmos de 7 dias. O ensaio de calibração dos examinadores e a análise estética das fotografias finais dos enxertos deste estudo foram baseados nos tópicos 6 e 7 do **Índice de Estética Rosa** (PES - Pink Esthetic Score - FURHAUSER *et al.*, 2005).

Tabela 1 – Análise estética baseada nos tópicos 6 e 7 do **Índice de Estética Rosa** (PES – Pink Esthetic Score)

Variáveis	Escores		
	0	1	2
1 – Papila mesial	Ausente	Incompleta	Presente
2 – Papila distal	Ausente	Incompleta	Presente
3 – Nível da margem gengival	Grande discrepância >2mm	Pequena discrepância 1-2 mm	Nenhuma discrepância < 1mm
4 – Contorno da margem gengival	Não natural	Razoavelmente Natural	Natural
5 – Processo alveolar	Nítida Deficiência	Leve Deficiência	Nenhuma deficiência
6 – Coloração do tecido mole	Nítida Diferença	Moderada Diferença	Sem diferença
7 – Textura do tecido mole	Nítida Diferença	Moderada diferença	Sem diferença

Fonte: FURHAUSER *et al.*, 2005

O modelo de ficha para arquivamento de dados da análise estética sob o ponto de vista dos profissionais após 6 meses de reparação dos enxertos gengivais considerando itens 6 e 7 do índice de estética rosa está disponível em anexo (ANEXO C).

4.6.3 Análise pelo programa ImageJ

As fotografias foram analisadas usando o software de análise de imagens ImageJ (NIH, USA), comparando a cor dos enxertos com a gengiva ceratinizada vestibular adjacente. As fotografias de T6 foram importadas para o programa e foi tomado o cuidado de selecionar áreas que apresentavam menor reflexo da luz branca do flash da câmera para mensurações da cor, tanto dos enxertos quanto da gengiva circundante do leito receptor.

A área a ser analisada foi determinada a partir da padronização de dois quadrados de 100x100 pixels, um no enxerto e outro na gengiva circundante. Em seguida, através do histograma, foi obtido o delta E (cálculo da diferença de cor) de ambos, enxerto e gengiva circundante das respectivas áreas.

O modelo de ficha para arquivamento de dados da análise comparativa de cor tecidual realizada pelo programa ImageJ, das áreas enxertadas, com MC vestibular adjacente não enxertada está disponível em anexo (ANEXO D).

4.7 PREPARO DOS PACIENTES

Todos os pacientes passaram pelo preparo inicial, com sessões de raspagem e alisamento radicular e controle rigoroso de placa bacteriana. Os procedimentos cirúrgicos só foram iniciados quando os locais de interesse da pesquisa apresentaram-se clinicamente saudáveis. Os locais de interesse foram moldados para confecção dos “*stents*” que serviram para o registro dimensional dos enxertos.

4.8 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

4.8.1 Realização dos EGL (GC1)

Os procedimentos cirúrgicos de EGL seguiram os princípios técnico-biológicos estabelecidos por Sullivan e Atkins (1968).

Após anestesia infiltrativa no fundo do vestibulo e na região papilar, com anestésico à base de Cloridrato de Articaina, com vasoconstritor (epinefrina 1:100.000), o leito receptor do enxerto foi preparado, a partir da margem gengival, na mucosa alveolar com uma lâmina de bisturi descartável 15C na região vestibular dos locais de interesse; esse leito apresentou-se cruento com tecido conjuntivo muito fino junto ao periosteio (retalho dividido), de tal sorte que essa área cruenta que recebeu o enxerto gengival mostrou-se sem mobilidade quando estimulada. A extensão apical desse leito foi de alguns milímetros maior que a dimensão corono-apical do enxerto; a extensão lateral do enxerto foi delimitada por 2 incisões relaxantes, exatamente na dimensão mesio-distal do enxerto, indo da junção mucogengival em direção apical. Após certificado que o leito receptor estava

adequado, uma gaze umedecida em solução fisiológica ficou protegendo o local até que se obteve o enxerto.

Então, uma matriz esterilizada em papel cartão já padronizada em 6x8 mm, foi utilizada na obtenção dos enxertos da região palatina normalmente adjacente aos pré-molares superiores, do mesmo lado em que seria realizado o enxerto na região inferior.

Após anestesia infiltrativa, criando uma suave isquemia, essa matriz foi posicionada na mucosa palatina, o mais anterior possível após a última rugosidade palatina, e o mais cervical possível deixando-se uma margem de tecido mole de aproximadamente 3mm. Com a lâmina 15C foram delimitadas na mucosa palatina as incisões acompanhando os quatro lados da matriz em uma profundidade máxima de 2 mm; com a mesma lâmina e com auxílio de um gengivótomo de Kirkland o tecido delimitado foi dissecado com essa mesma espessura.

Uma vez removido o enxerto ele foi lavado em solução fisiológica e o lado do tecido conjuntivo foi avaliado quanto à presença de tecido adiposo e, se constatada a sua presença, esse foi eliminado com a lâmina 15C, alicate para tecido mole ou tesoura de Goldman Fox.

Então o enxerto foi levado ao leito receptor, posicionado de forma que sua margem coronal ficou ao nível da margem gengival prévia ao procedimento e imobilizado através de suturas (quantas foram necessárias) com fio de Vicryl 5.0 da marca ETHICON®.

Após uma correta imobilização do enxerto, com uma gaze umedecida em solução fisiológica, foi realizada uma compressão do enxerto sobre o leito, por aproximadamente 3 minutos, uma fenestração do periósteo foi feita apicalmente ao enxerto com a lâmina 15C.

Cessado o sangramento, a ferida cirúrgica então foi protegida com cimento cirúrgico Coe-Pack de forma bem cuidadosa. No pós-operatório imediato foi receitado ao paciente anti-inflamatório Nimesulida 100mg de 12 em 12 h por 4 dias, e enxague bucal com Gluconato de Clorexidina a 0,12% sem álcool, 2 vezes ao dia, por 7 dias. Foi recomendado ao paciente aplicação de frio no local nas primeiras 24hs, e na 1ª e 2ª semanas evitar mastigação do lado operado.

A proteção cirúrgica foi removida após 7 dias quando também da remoção das suturas, e recolocada proteção com cimento cirúrgico por mais 7 dias, e após, não havendo grande área cruenta, o local foi liberado sem proteção. Durante o 1º mês o

paciente foi orientado a uma escovação muito cautelosa, embora no preparo inicial, nas orientações de higiene os pacientes foram instruídos sobre a forma adequada de manter a higiene.

Então, os locais operados foram controlados após 1, 2, 3, 4 e 6 meses.

Na região palatina doadora, após cessado o sangramento, sobre a ferida cirúrgica foi aplicada uma esponja de colágeno hidrolisada liofilizada (Hemospon®) com uma sutura protetora, para minimizar risco hemorrágico tardio. Foi confeccionada uma placa de Hawley para a proteção do leito doador.

4.8.2 Realização dos EGLC (GC2) e EGLCI (GE)

A realização desses enxertos foi de forma similar aos EGL. A confecção do leito receptor foi realizada igualmente, assim como a imobilização do enxerto e cuidados pós-operatórios. A diferença está na forma de obtenção do enxerto e forma de posicionamento do enxerto.

Foram obtidos enxertos de tecido conjuntivo de áreas similares aos enxertos gengivais livres, através de incisão única marginal, próxima à região cervical palatina dos pré-molares superiores; ou através de incisões paralelas utilizando um bisturi de lâmina dupla de 1,5mm para facilitar a remoção. A espessura desse enxerto foi padronizada então em 1,5mm. Também nesse caso qualquer tecido adiposo foi devidamente eliminado do enxerto.

Então esse enxerto de tecido conjuntivo (EGLC-**GC2**) foi suturado da mesma forma que o enxerto livre convencional, enquanto que no grupo invertido (EGLCI-**GE**) foi tomado o cuidado de se colocar a face do tecido conjuntivo originalmente voltada para o tecido ósseo, agora voltado para fora.

Também após a imobilização do enxerto com o mesmo tipo de fio de sutura utilizado no EGL, a área foi protegida com cimento cirúrgico e ao paciente foi prescrita a mesma medicação. Similarmente aos GC1 e GC2, foram realizados os controles pós-operatórios, assim como os cuidados com a área doadora.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados obtidos foram tabulados no programa Excel 2013 (Microsoft® Corporation, Redmont, WA, EUA), para serem analisados por meio do

programa Statistica 7.0 for Windows (StatSoft. Inc.; Tulsa, OK, EUA). Em todos os testes estatísticos foi adotado nível de significância de 5% (valores de $p < 0,05$ foram considerados como indicativo de significância).

Foram analisadas as diferenças intergrupos, assim como as alterações entre os períodos experimentais (intragrupos).

As variáveis quantitativas avaliadas foram registradas através de médias e desvios padrão e, em seguida, a normalidade dos dados foi verificada através do método Kolmogorov-Smirnov. Para as variáveis medidas em escore foram empregadas a média, a mediana, o 1º quartil e o 3º quartil.

Para análise estatística de contração dos enxertos foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas, para comparar os scores do índice de estética rosa foi utilizado o teste de Friedman e para comparar a opinião dos pacientes, foi utilizado o teste Qui-quadrado.

5 Resultados

5 RESULTADOS

De acordo com os critérios de inclusão para a obtenção da amostra, e com a perda de três indivíduos ao longo do estudo, todos os pacientes (9 indivíduos) foram submetidos aos três procedimentos propostos na metodologia, sendo dois procedimentos classificados como controles constituindo os grupos GC1 (enxerto gengival livre epitélio-conjuntivo) e GC2 (enxerto gengival livre apenas de tecido conjuntivo), mais o grupo experimental GE (enxerto de tecido conjuntivo invertido).

A tabela 2 mostra que a média de idade dos pacientes foi de $50,56 \pm 8,96$ anos, dentro dos limites etários estabelecidos na metodologia e considerando o gênero, o grupo de 9 pacientes foi constituído por 3 homens e 6 mulheres.

Tabela 2 – Distribuição da amostra por idade (média $\pm$ desvio padrão), gênero e número de sítios avaliados.

Grupos	Idade (anos)	Gênero (n)		Número de sítios avaliados
		Masculino (%)	Feminino (%)	
GC1	-	3 (33,33%)	6 (66,67%)	9 (33,33%)
GC2	-	3 (33,33%)	6 (66,67%)	9 (33,33%)
GE	-	3 (33,33%)	6 (66,67%)	9 (33,33%)
Geral (sítios)	-	9 (33,33%)	18 (66,67%)	27 (100%)
Geral (indivíduos)	$50,56 \pm 8,96$	3 (33,33%)	6 (66,67%)	9 (100%)

A tabela 3 exibe as variações dimensionais dos três tipos de enxerto no “baseline” (T0), ou seja, no dia dos procedimentos cirúrgicos, após 1 mês (T1), após 2 meses (T2), após 3 meses (T3), após 4 meses (T4) e após 6 meses (T6).

Tabela 3 – Medidas clínicas, em milímetros, das dimensões dos enxertos nos diferentes períodos de avaliação do estudo em cada um dos grupos (GC1, GC2 e GE), referentes às medidas do *stent* oclusal até a porção mais coronal dos enxertos (Medida A), medidas do *stent* oclusal até a porção mais apical dos enxertos (Medida B), dimensão corono-apical dos enxertos (Altura) e espessura dos enxertos (Espessura). Análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) / Letras minúsculas diferentes = $p < 0,05$ para tempo / Letras maiúsculas diferentes = $p < 0,05$ para grupos.

Dimensões	Grupos	T0	T1	T2	T3	T4	T6
Medida A	GC1	9,08 ± 2,20 ^{Aa}	10,27 ± 1,78 ^{Aa}	10,14 ± 1,36 ^{Aa}	9,98 ± 1,34 ^{Aa}	9,72 ± 1,48 ^{Aa}	9,49 ± 1,60 ^{Aa}
	GC2	8,31 ± 1,51 ^{Aa}	9,94 ± 1,62 ^{Aa}	9,27 ± 1,33 ^{Aab}	9,23 ± 1,19 ^{Aab}	9,42 ± 1,84 ^{Aab}	9,61 ± 2,19 ^{Aa}
	GE	9,04 ± 2,10 ^{Aa}	10,78 ± 1,77 ^{Aa}	10,17 ± 2,07 ^{Aab}	10,41 ± 2,06 ^{Aab}	10,37 ± 1,90 ^{Aab}	10,18 ± 2,03 ^{Aab}
Medida B	GC1	14,77 ± 2,27 ^{Aa}	14,79 ± 1,85 ^{Aa}	14,38 ± 1,65 ^{Aa}	14,78 ± 1,78 ^{Aa}	14,65 ± 1,39 ^{Aa}	14,45 ± 1,54 ^{Aa}
	GC2	14,11 ± 1,69 ^{Aa}	12,53 ± 1,39 ^{Bb}	11,73 ± 1,63 ^{Bb}	11,51 ± 1,55 ^{Bb}	11,89 ± 2,13 ^{Bb}	11,50 ± 2,41 ^{Bb}
	GE	15,03 ± 2,45 ^{Aa}	13,17 ± 1,31 ^{Aab}	12,80 ± 1,76 ^{Aab}	12,62 ± 2,07 ^{Aab}	12,16 ± 2,34 ^{Bb}	11,78 ± 2,80 ^{Bb}
Altura	GC1	5,68 ± 0,82 ^{Aa}	4,52 ± 1,19 ^{Aab}	4,23 ± 1,03 ^{Aab}	4,80 ± 0,93 ^{Aab}	4,93 ± 0,76 ^{Aab}	4,96 ± 0,88 ^{Aab}
	GC2	5,80 ± 0,80 ^{Aa}	2,59 ± 1,28 ^{Bb}	2,45 ± 1,30 ^{Ab}	2,28 ± 1,06 ^{Bb}	2,46 ± 1,04 ^{Bb}	1,88 ± 1,21 ^{Bb}
	GE	5,98 ± 0,68 ^{Aa}	2,38 ± 0,84 ^{Bb}	2,62 ± 1,02 ^{Ab}	2,20 ± 1,29 ^{Bb}	1,79 ± 1,81 ^{Bb}	1,60 ± 2,29 ^{Bb}
Espessura	GC1	1,83 ± 0,25 ^{Aa}	-	-	-	-	2,22 ± 0,75 ^{Aa}
	GC2	1,55 ± 0,16 ^{Aa}	-	-	-	-	1,77 ± 1,04 ^{Aa}
	GE	1,50 ± 0,00 ^{Aa}	-	-	-	-	1,53 ± 0,41 ^{Aa}

As medidas “A” dessa tabela representam as mudanças dimensionais que ocorreram na margem coronal dos enxertos, aferidas a partir da oclusal do “*stent*” até

a borda cervical dos enxertos, e fica evidente que, em cada grupo, não houve mudança dimensional estatisticamente significativa considerando os tempos de avaliação (do “*baseline*”-T0 até o 6º mês-T6); o que se constata quase como regra para todos os grupos é uma tendência de pequena contração marginal inicial (em direção apical) de T0 para T1 e depois uma tendência de pequena migração tecidual em direção coronal, entretanto essas variações em todos os tempos da análise não foram estatisticamente significantes. Da mesma forma, comparando-se entre os grupos (GC1, GC2 e GE), as variações também não foram estatisticamente significantes em nenhum dos tempos (de T0 à T6).

As medidas “B” representam as mudanças dimensionais que ocorreram na borda apical dos enxertos, aferidas a partir da oclusal desse “*stent*” até a margem apical dos enxertos, e nessa nova situação, verifica-se que no GC1 não houve variação estatisticamente significativa em nenhum dos tempos; embora tenha havido uma pequena tendência de contração ao longo do tempo (em direção coronal), essas diferenças não foram estatisticamente significantes. No GC2, também não houve diferenças estatisticamente significantes ao longo do período de observação, também com tendência à contração (em direção coronal). Entretanto no GE, embora não tenha ocorrido diferenças estatisticamente significantes entre T0 e T4, com pequena tendência à contração, mas com diferenças não significantes, houve diferença estatística em T6 (após 6 meses) em relação aos demais tempos de análise anteriores, com contração (em direção coronal) desse enxerto.

Quando se fez a comparação das medidas “B” entre os grupos, não houve diferença estatística dos registros entre eles no T0, mas em T1 (após 1 mês), T2 (após 2 meses) e T3 (após 3 meses) o GC2 exibiu valores que foram estatisticamente diferentes (maior contração) em relação ao GC1 e GE. Em T4 (após 4 meses) e em T6 (após 6 meses) o GC2 e GE (ambos de tecido conjuntivo) mostraram-se estatisticamente diferentes (maior contração) em relação ao GC1, sem diferenças significantes entre si.

Assim, baseado nessas medidas “A” e “B”, a tabela 2 exibe ainda as medidas denominadas de “Altura”, que representa a largura da faixa de mucosa ceratinizada obtida nos grupos ao longo do tempo, considerando as variações dimensionais nas duas bordas dos enxertos (cervical e apical). Assim analisando essas alterações cervicais e apicais do enxerto foi possível aferir essa dimensão em todos os tempos previstos na metodologia. Assim é possível verificar, que para os três

tipos de procedimentos realizados, as análises realizadas em T1, T2, T3, T4 e T6, mostraram dimensões mais reduzidas, estatisticamente significantes, em relação ao “baseline” (T0) só no GC2 e GE, mostrando portanto uma contração dos enxertos; entretanto nesses grupos, de T1 a T6 não houve diferenças significantes. Já no GC1 as diferenças encontradas em todos os tempos de análise, não foram estatisticamente significantes

Quando se comparou essas dimensões de “Altura” entre os grupos, verificou-se que, embora em T0 os enxertos tenham apresentado dimensões iniciais semelhantes, sem diferenças estatisticamente significantes, a partir de T1 praticamente, em todos os períodos avaliados, houve semelhança estatística entre GC2 e GE (os grupos com enxerto de tecido conjuntivo) mas diferentes estatisticamente significantes do GC1 (enxerto epitélio-conjuntivo), mostrando maior contração nos grupos que incluíam enxertos apenas de tecido conjuntivo. Apenas em T2 o GC1 foi semelhante estatisticamente em relação ao GC2 e GE.

Quanto à análise da espessura nos três tipos de enxertos empregados, verifica-se ainda nessa tabela 2, semelhança estatística em cada procedimento, nos dois tempos de avaliação: T0 e T6. Também a análise comparativa entre os grupos mostrou não haver diferenças estatisticamente significantes tanto em T0 quanto em T6.

Tabela 4 – Estatística descritiva para as variáveis qualitativas referentes aos scores do índice de estética rosa referentes à cor e à textura gengivais dos enxertos em T6, realizado pelos três profissionais. Análise comparativa intergrupos dos scores do índice de estética rosa - Teste de Friedman. Letras maiúsculas diferentes = $p < 0,05$ para grupos

		Média	Mediana	1º quartil	3º quartil
Cor	GC1	1 ^A	1	1	1
	GC2	1,67 ^B	2	2	2
	GE	2 ^B	2	2	2
Textura	GC1	0,44 ^A	0	0	1
	GC2	1,56 ^B	2	1	2
	GE	1,67 ^B	2	2	2

Gráfico 1a – Pink Esthetic Score (PES) – Porcentagem dos scores atribuídos por examinador à cor dos enxertos nos três grupos estudados (GC1, GC2 e GE) em T6. Cor_0 (nítida diferença), cor_1 (moderada diferença) e cor_2 (sem diferença)

Gráfico 1b – Pink Esthetic Score (PES) – Porcentagem dos scores atribuídos por cada examinador à textura dos enxertos nos três grupos estudados (GC1, GC2 e GE) em T6. Text_0 (nítida diferença), Text_1 (moderada diferença) e Text_2 (sem diferença),

A tabela 4 mostra a avaliação clínica subjetiva, em relação aos resultados obtidos pelas 3 técnicas utilizadas (em T6), realizada por três profissionais experientes (periodontistas), considerando o índice de estética rosa, nos quesitos coloração e textura. Os resultados indicam que o GC1 foi considerado estatisticamente diferente dos outros dois grupos (GC2 e GE – ambos enxerto de tecido conjuntivo), sendo que

os escores desses dois grupos mostram maior semelhança com a mucosa ceratinizada natural adjacente tanto em coloração quanto em textura, do que o GC1 que se mostrou com diferenças claras em relação ao tecido ceratinizado adjacente. Entre o GC2 e GE parece que houve uma tendência de o GE ser mais parecido tanto em cor quanto em textura com a mucosa ceratinizada adjacente, mas as diferenças entre esses grupos não se mostraram estatisticamente significantes.

Tabela 5 – Estatística descritiva, em pixels, para as variáveis quantitativas referentes às mensurações de cor por meio do programa ImageJ (Delta E). Análise comparativa intergrupos – ANOVA de medidas repetidas.

Parâmetro	Grupos	Cor
Delta E	GC1	156,51 ± 8,48 ^A
	GC2	138,58 ± 15,93 ^B
	GE	141,68 ± 17,52 ^{AB}
	Gengiva adjacente	129,26 ± 17,00 ^B

Gráfico 2 – ImageJ – Delta E (em pixels) dos enxertos e da gengiva adjacente.

Na tabela 5, a análise comparativa da coloração entre enxertos, em T6, foi realizada comparando o Delta E obtido por meio do programa ImageJ, sendo esta uma análise objetiva. Eliminando-se portanto a subjetividade, e também nessa nova forma de análise, o GC2 e GE foram estatisticamente diferentes do GC1, e mais

parecidos com a coloração da gengiva adjacente; não houve diferença estatisticamente significativa entre GC2 e GE.

Tabela 6 – Opinião percentual dos participantes da pesquisa quanto ao resultado dos enxertos em T6. Análise segundo o ponto de vista dos pacientes, os quais levaram em conta diferença de cor entre o enxerto e a gengiva circundante (quanto menor essa diferença, melhor), uniformidade do enxerto, discríção, maior “proteção” da raiz do dente e tamanho do enxerto em T6.

Análise do paciente	GC1	GC2	GE
BOM	11,11%	44,44%	33,33%
RUIM	88,88%	55,55%	66,66%

Gráfico 3 – Análise segundo o ponto de vista dos pacientes sendo BOM, enxerto com menor diferença da área receptora e RUIM, enxerto com maior diferença da área receptora.

Na tabela 6 os pacientes opinaram sobre suas preferências em relação ao resultado obtido pelos enxertos, e o procedimento preferido por eles foi o EGLC (GC2) (44,44%), seguido por EGLCI (GE) (33,33%) e depois EGL (GC1) (11,11%). As diferenças percentuais de preferências dos pacientes mostraram-se bem expressivas sobretudo em relação ao grupo GC1, considerado ruim por 88,88% das avaliações.

Tabela 7 - Grau médio de contração dos enxertos gengivais ao longo do período experimental nos diferentes períodos de avaliação do estudo em cada um dos grupos (GC1, GC2 e GE)

	T0	T1	T2	T3	T4	T6
GC1	5,33%	24,6%	29,5%	20%	17,83%	17,33%
GC2	3,33%	56,83%	59,16%	62%	59%	68,66%
GE	0,33%	60,33%	56,33%	63,33%	70,16%	73,33%

6

Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

6.1.1 Amostra

Como explicitado no capítulo “Métodos”, a determinação do “n” da amostra foi baseado nos trabalhos da literatura. O fato de os pacientes serem controles de si mesmos reduz a amostra e, então, estabelecemos que a amostra necessária seria de 10 a 15 pacientes. Considerando os critérios de inclusão/exclusão adotados para que pudéssemos ter uma amostra sem fatores críticos que pudessem interferir nos resultados, foram incluídos inicialmente no estudo 12 pacientes.

Entretanto devido aos procedimentos cirúrgicos, que certamente tem alguma morbidade e geram certo desconforto por um período de tempo, e também pelo fato da necessidade de múltiplos retornos (exame inicial/anamnese, sessão de preparo inicial e moldagem para confecção do “*stent*”, “*baseline*” - dias das cirurgias - normalmente em duas etapas, controle de 7 e 14 dias pós-operatórios para as duas etapas cirúrgicas e mais cinco controles - T1, T2, T3, T4 e T6, para cada etapa cirúrgica, totalizando aproximadamente 16 sessões), três pacientes não mais compareceram aos controles, e portanto foram desligados do estudo e o “n” final do estudo ficou constituído de 9 indivíduos.

Quanto às áreas intra-bucais selecionadas para os procedimentos cirúrgicos, foram padronizadas as áreas vestibulares de pré-molares inferiores, por serem áreas onde a deficiência de MC é muito frequente, requerendo naturalmente intervenção para a recomposição de uma faixa adequada de MC. Além disso, não se trata de uma área com grande exigência estética e, portanto, a indicação de um EGL é comum nesse local, mesmo sabendo que esse tipo de procedimento não gera um aspecto tão estético sobretudo quanto à coloração final do tecido enxertado, que é o objeto de estudo dessa pesquisa.

Sabendo-se dessa característica “pouco estética” do EGL convencional epitélio-conjuntivo, pertencente no estudo ao GC1, esse procedimento foi realizado como sendo um controle negativo, considerando que sobretudo a coloração final pós cicatrização é considerada diferente do padrão natural da MC vestibular, devido ao

fato de guardar as características genotípicas/fenotípicas do lado palatino (KARRING; OSTERGAARD; LÖE, 1971; KARRING; LANG; LÖE, 1975), sendo bem mais pálido.

Complementando a metodologia, outros dois procedimentos cirúrgicos foram realizados, sendo um deles o EGLC (enxerto gengival livre de tecido conjuntivo), pertencente ao GC2, e o EGLCI (enxerto gengival livre de tecido conjuntivo invertido), pertencente ao GE. O GC2 foi incluído no estudo também como um grupo controle, por ser constituído apenas de conjuntivo tal como o grupo GE, e assim podermos avaliar quais variáveis seriam importantes nas possíveis diferenças: presença de epitélio no enxerto, enxerto constituído apenas de tecido conjuntivo ou enxerto só de tecido conjuntivo, mas invertido.

Ressalte-se que a utilização do EGLCI é uma inovação dessa pesquisa, baseado nas premissas biológicas de que o tecido conjuntivo da lâmina própria é responsável pela estrutura e diferenciação epitelial (BERNIMOULIN; HE, 1980) e que essa interação epitélio-mesênquima não estaria presente em regiões mais profundas do tecido conjuntivo (MACKENZIE, 1984). Uma série de casos realizada pela equipe de pesquisadores da Disciplina de Periodontia da FOB-USP mostrou resultados promissores com o uso de EGLCI (dados não publicados).

Outros pesquisadores têm tentado variações do EGL para melhorar a aparência estética dos enxertos gengivais, como o enxerto de tecido conjuntivo epitelizado e o enxerto gengival livre parcialmente epitelizado, no recobrimento radicular (SHAH; THOMAS; METHA, 2017; YUCE *et al.*, 2015).

A escolha do lado a ser realizado o EGL convencional, o enxerto apenas de tecido conjuntivo (EGLC) e o enxerto de tecido conjuntivo invertido (EGLCI) foi feita randomicamente pelo “Excel”, para que isso não pudesse interferir em resultados, considerando a possibilidade da atuação profissional ser melhor de um lado que em outro.

6.1.2 Parâmetros utilizados nas avaliações

Para avaliação e comparação dos três procedimentos, foram realizadas análises do comportamento dimensional dos enxertos ao longo do processo cicatricial (T1 à T6), tanto em espessura quanto na altura (largura ápico-coronal da faixa de MC). Sendo assim, para obtenção da altura dos enxertos, medidas foram realizadas a partir

de um “*stent*” oclusal, quando aferimos individualmente o comportamento das bordas cervical e apical dos enxertos.

Além dessas avaliações dimensionais, o propósito maior da pesquisa talvez tenha sido avaliar os resultados estéticos finais dos procedimentos de enxertia, visto que muitos outros trabalhos também fizeram avaliações dimensionais de enxertos (MORMANN, 1981; BASEGMEZ, 2012; THOMA *et al.*, 2014; RESENDE *et al.*, 2019).

Para tanto foram estabelecidas três formas de análise: uma delas foi realizada por três profissionais experientes da área, baseado nos tópicos 6 e 7 do “Pink Esthetic Score” (FURHAUSER *et al.*, 2005), índice esse reconhecido na literatura periodontal, resultando em uma avaliação subjetiva do ponto de vista profissional; outra análise foi obtida pela opinião leiga dos pacientes, sem portanto uma análise técnica, mas podendo expressar o ponto de vista de preferência dos pacientes, e por último, uma análise objetiva realizada pelo “*ImageJ*” (por meio do Delta E), excluindo portanto o viés de subjetividade embutido, e que poderia mostrar mais fielmente as diferenças de coloração dos tecidos após a cicatrização, comparando com a MC natural adjacente do lado vestibular. Para essa última análise, as fotos finais dos enxertos, obtidas em T6, foram digitalizadas, e locais foram selecionados nos enxertos e na mucosa ceratinizada natural adjacente (com dimensões padronizadas de 100 x 100 pixels) para que o programa capturasse a imagem e emitisse valores, considerando a tonalidade tecidual. Cuidados foram tomados na obtenção das fotos, a fim de padronizá-las, assim como no ato da seleção do local da imagem para a captura no “*ImageJ*”, excluindo áreas de brilho para assim minimizar fatores de interferência.

6.2 DOS RESULTADOS

Tendo em vista a necessidade funcional e estética do periodonto marginal, a utilização de procedimentos periodontais que contemplem ambas as condições, é fundamental.

Sabidamente o EGL é um procedimento cirúrgico amplamente utilizado, sobretudo para a recomposição de uma faixa adequada de MC, para que se restabeleça a homeostasia na área marginal do periodonto, mas apresenta deficiências quanto ao resultado estético. Cohen (1966) comentou que o EGL

apresenta várias limitações, dentre elas a incompatibilidade estética (cor) e aparência volumosa.

A utilização do EGL em recobrimento radicular não foi esteticamente bem-sucedida (CAMARGO *et al.*, 2001; CORTELLINI; TONETTI; PRATO, 2012; LOPES *et al.*, 2013; SHAH; THOMAS; METHA, 2015). Assim as cirurgias muco-gengivais devem visar não somente as necessidades biológicas, mas também as necessidades estéticas (CAMARGO *et al.*, 2001; CORTELLINI; TONETTI; PRATO, 2012).

Em nossa pesquisa o objetivo principal foi avaliar comparativamente três formas de EGL, quanto ao fator estético, mas certamente avaliar o comportamento dimensional desses enxertos também foi importante, pois há a necessidade de uma quantidade mínima de MC para o processo homeostático periodontal (LANG; LÖE, 1972).

Quando se avaliou o comportamento da margem coronal dos enxertos (medida “A”), verificou-se que para todas as três formas de enxertia houve uma contração (para apical) sobretudo de T0 para T1 (1,19mm no GC1; 1,63mm no GC2 e 1,74mm no GE).

A partir de T1 até o T6, no GC1 houve tendência de migração gradual dessa margem em direção coronal. A medida “A” em T6 mostrou uma diferença em relação ao T0 de apenas 0,41mm (de T0 para T1 a diferença era de 1,19mm), entretanto essas diferenças não foram estatisticamente significantes.

Para o GC2 e GE também esse processo ocorreu, mas de forma irregular, e em T6 a medida “A” mostrou diferença em relação ao T0, de 1,3mm para o GC2 (de T0 para T1 a diferença era de 1,63mm) e 1,14mm para o GE (de T0 para T1 a diferença era de 1,74mm), mostrando também uma tendência de migração para coronal. Entretanto todas essas diferenças também não foram estatisticamente significantes a partir de T1.

Embora a literatura mostre que em casos de EGL, ocorra uma migração em direção coronal da margem cervical com o tempo, denominado de “creeping attachment” (AGUDIO *et al.*, 2008; AGUDIO *et al.*, 2009; AGUDIO *et al.*, 2016; CEVALLOS *et al.*, 2019) não podemos afirmar concretamente tratar-se de um “creeping attachment” nesse período avaliado. Talvez com uma análise longitudinal mais longa possamos constatar medidas com diferenças estatisticamente significantes e aí sim podermos afirmar que houve migração coronal (“creeping attachment”).

Na análise intergrupos desse comportamento da borda coronal dos enxertos, não houve diferença estatística significativa em nenhum dos tempos avaliados, ou seja, o comportamento marginal foi semelhante não importando o tipo de enxerto.

O comportamento da margem apical dos enxertos (medida “B”), no grupo GC1 (enxerto gengival livre epitélio-conjuntivo) mostrou que houve pequena tendência de contração (em direção coronal), mas não se verificou variação estatisticamente significativa de T0 a T6. Esse dado parece não ser concordante com a literatura que mostra que a maior contração ocorre na borda apical dos enxertos (RESENDE *et al.*, 2019).

Um fato que pode ter colaborado para a pouca variação da borda apical nesses enxertos, embora não explique por completo, é que nenhum dos pacientes selecionados apresentou vestibulo raso nas áreas com necessidade dos enxertos, o que levaria à condição de um aprofundamento vestibular para realizar o leito receptor do enxerto e certamente essa condição poderia acarretar uma contração da borda apical dos enxertos de forma expressiva, e assim ser um viés importante (SCHMITT *et al.*, 2016).

Já para os GC2 e GE houve contração dos enxertos de T0 para T1 (migração da borda apical para coronal), mas de T1 à T6, embora verifica-se uma tendência à contração, as diferenças apuradas não se mostraram estatisticamente significantes.

A análise intergrupos do comportamento da borda apical dos enxertos, mostra que GC1 foi diferente estatisticamente do grupo GC2 de T1 a T6, e do grupo GE de T4 à T6; entre os grupos GC2 e GE houve semelhança estatística de T1 a T6.

Considerando as variações das medidas “A” e “B” para todos os grupos, de T0 à T6, pudemos avaliar a faixa de tecido “criada” pelos enxertos, denominada na pesquisa de “Altura”. No GC1 embora de T1 à T6 as dimensões tenham sido menores que no *baseline* (T0), as diferenças numéricas não foram significantes estatisticamente em nenhum dos tempos; esses resultados são discordantes da literatura que mostram diminuição da faixa enxertada em graus distintos (MORMANN, 1981; SILVA *et al.*, 2010; BASEGMEZ, 2012; THOMA *et al.*, 2014; RESENDE *et al.*, 2019).

Entretanto para o GC2 e GE foram diferentes, havendo uma faixa de tecido bem menor em T1, estatisticamente significativa, mostrando uma expressiva contração nesses grupos, e assim manteve-se até T6.

Na análise intergrupos, quanto à “Altura”, de T1 a T6, o GC2 e o GE (apenas de tecido conjuntivo) foram diferentes do GC1, “criando” menor faixa de tecido, exceto no tempo T2 em que todos os grupos foram semelhantes.

No aspecto “Espessura” não houve diferenças tanto intra quanto intergrupos, tanto no T0 quanto em T6. Isso demonstrou que a espessura dos enxertos obtidos no “*baseline*” (T0) foi semelhante, e que ao final de 6 meses mantiveram-se no mesmo padrão, independentemente do grupo (GC1, GC2 ou GE).

A forma de obtenção da medida de espessura dos enxertos foi a tradicional, utilizando uma agulha e “stop” endodôntico, no centro do enxerto, e a medida capturada por um paquímetro. Outros trabalhos utilizaram para tal um mini-sonar (MENDONÇA, 2001; RESENDE et al., 2019), entretanto esse dispositivo não é mais encontrado e também pelo fato de a obtenção da espessura pela forma tradicional ser relativamente segura.

O objetivo principal desse estudo foi avaliar o resultado estético após 6 meses (T6) obtido a partir de três formas de enxerto e, para tanto, as três formas de análise propostas puderam oferecer de certa forma elementos importantes para nosso julgamento.

A análise realizada por profissionais experientes na área de Periodontia, utilizou dois tópicos do índice de estética rosa, que avaliam cor e textura. Esse índice está sedimentado na literatura e assim cada avaliador pode opinar dentro desses quesitos. Embora tenha sido uma análise “cega”, ou seja, não foi dada a informação sobre a qual grupo pertencia cada enxerto, certamente pela experiência dos profissionais, a identificação dos enxertos do GC1 foi clara, mas não entre o GC2 e GE. Independente disso, os profissionais se pautaram nas informações do índice, embora com alguma subjetividade na análise, inerente a esse tipo de avaliação. Por essa análise os profissionais encontraram melhor estética, tanto em cor quanto em textura, para os grupos apenas de tecido conjuntivo (GC2 e GE), estatisticamente diferentes do GC1. Entre o GC2 e GE parece que houve ligeira preferência ao grupo GE, mas não houve diferença estatisticamente significativa.

Para tentar avaliar essa condição estética, sem a subjetividade, utilizamos o “*ImageJ*” para fazer uma comparação da cor dos enxertos, através de fotos

digitalizadas, onde campos determinados dos enxertos e da MC natural adjacente foram capturados pelo programa e traduzidos em números. Como citado anteriormente cuidados foram tomados tanto na padronização durante a aquisição das fotos quanto no processo de avaliação das imagens, minimizando assim vieses. Os resultados dessa análise mostraram que os grupos só de tecido conjuntivo (GC2 e GE) foram diferentes do GC1, e mais parecidos com a MC adjacente; entretanto nessa análise o GC2 foi o mais próximo esteticamente da gengiva natural, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre GC2 e GE.

Embora os profissionais tenham mostrado leve preferência pelo grupo GE, e por meio do “*ImageJ*” tenha sido o GC2 o mais semelhante à gengiva adjacente natural, em ambas as análises não houve diferenças estatísticas significantes. Mas há que se ressaltar que a análise feita pelo programa pode capturar elementos que extrapolam a capacidade da visão humana, ou seja, acima de um limiar, certas diferenças não são mais visualizadas. Pode-se admitir, portanto, que os resultados entre essas duas análises foram compatíveis.

A terceira forma de análise, não menos importante, foi realizada com a opinião dos próprios pacientes, forma essa de análise que talvez pudesse expressar suas expectativas. Para isso, não foi feita nenhuma análise técnica baseada em índices, mesmo porque os pacientes sendo leigos no assunto não teriam condições para tal. Então com as fotos de 6 meses (T6), foi perguntado a cada paciente qual dos procedimentos tinha sua preferência. Nenhuma informação adicional foi dada aos pacientes; eles é que determinaram quais critérios foram mais importantes sob seu ponto de vista. Alguns disseram que escolheram pela quantidade de tecido formado, outros pela cor, outros pela melhora da sensibilidade local e outros não souberam expressar com clareza o motivo de sua escolha. O procedimento escolhido pelo paciente foi classificado como “BOM” e os não escolhidos como “RUIM”.

Assim o grupo mais escolhido foi o GC2 (44,44%), seguido pelo GE (33,33%) e por último o GC1 (11,11%). Com esses resultados verifica-se também claramente que o pior dos grupos foi o constituído de enxertos de epitélio-conjuntivo (EGL convencional). Pode-se supor que o fator “estética” tenha sido preponderante na escolha, haja visto que 88,88% dos pacientes classificaram como ruim o grupo GC1, onde a característica mais pálida dos enxertos é nítida.

Então, considerando as três formas de análise da estética dos grupos da pesquisa, verificou-se que os grupos compostos só de enxerto de tecido conjuntivo

foram melhores, de forma contundente, em relação ao grupo GC1, mas sem grandes diferenças entre si.

Todos esses achados estão de acordo com a opinião de muitos pesquisadores sobre a estética de enxertos livres convencionais (CAMARGO *et al.*, 2001; CORTELLINI; TONETTI; PRATO, 2012; LOPES *et al.*, 2013; SHAH; THOMAS; METHA, 2015; RESENDE *et al.*, 2019).

Considerando as limitações do estudo, não foi possível dizer que o enxerto de tecido conjuntivo invertido é melhor esteticamente que apenas enxerto de tecido conjuntivo, mas baseado nos conceitos de Bernimoulin (1980), Mackenzie (1984) e Cardoso (2016) de que existe uma possível polarização para indução da ceratinização pelo tecido conjuntivo voltado para a lâmina basal do epitélio, e que sua inversão poderia minimizar essa expressão de ceratinização, outros estudos devem ser realizados.

7

Conclusões

7 CONCLUSÕES

Baseados nos resultados obtidos nesse experimento e respeitando as limitações metodológicas, pudemos concluir:

1 - Em relação à condição estética obtida com as três formas de enxertos, o EGL convencional (epitélio-conjuntivo) foi o que apresentou a pior condição, considerando as três formas de análise, ou seja, tanto pelos profissionais, pelos pacientes e pelo ImageJ;

1a - Considerando só a análise dos profissionais, para o GC2 e GE, as diferenças não se mostraram estatisticamente significantes e, portanto, foram semelhantes;

1b - Considerando a análise dos pacientes, a escolha estética preferencial foi o GC2, depois o GE; esses dois grupos foram muito superiores em percentuais de escolha, em relação ao GC1;

1c - A análise pelo ImageJ mostrou que GC2 e GE foram os que tiveram mais semelhanças com a MC adjacente natural, sem diferenças estatísticas entre eles;

2 - Considerando a análise dimensional dos enxertos, os enxertos de tecido conjuntivo (GC2 e GE) contraíram de forma muito expressiva (significante estatisticamente) e bem diferente do GC1 que não mostrou contração significativa estatisticamente;

2a - Esse processo de contração ocorreu basicamente a partir da margem apical do enxerto; não houve variação estatisticamente significativa na borda coronal dos enxertos.

2b - Não houve variação de espessura significativa estatisticamente intragrupos ou intergrupos entre T0 e T6.

3 - Não foi possível afirmar que a inversão do enxerto de conjuntivo tenha trazido alguma vantagem estética.

Referências

REFERÊNCIAS

- ADAMS, J. C.; WATT, F. M. Changes in keratinocyte adhesion during terminal differentiation: Reduction in fibronectin binding precedes $\alpha 5 \beta 1$ integrin loss from the cell surface. **Cell**, v. 63, n. 2, p. 425–435, out. 1990.
- AGUDIO, G. et al. Free Gingival Grafts to Increase Keratinized Tissue: A Retrospective Long-Term Evaluation (10 to 25 years) of Outcomes. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 4, p. 587–594, abr. 2008.
- AGUDIO, G. et al. Periodontal Conditions of Sites Treated With Gingival-Augmentation Surgery Compared to Untreated Contralateral Homologous Sites: A 10- to 27-Year Long-Term Study. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 9, p. 1399–1405, set. 2009.
- AGUDIO, G. et al. Periodontal Conditions of Sites Treated With Gingival Augmentation Surgery Compared With Untreated Contralateral Homologous Sites: An 18- to 35-Year Long-Term Study. **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 12, p. 1371–1378, dez. 2016.
- ALONSO, L.; FUCHS, E. Stem cells of the skin epithelium. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. Supplement 1, p. 11830–11835, 30 set. 2003.
- ANAND, V. et al. Free gingival autograft for augmentation of keratinized tissue in apical to gingival recession – A case report. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 2, n. 2, p. 135–137, maio 2012.
- BARTOLD, P. M.; WALSH, L. J.; NARAYANAN, A. S. Molecular and cell biology of the gingiva. **Periodontology 2000**, v. 24, n. 1, p. 28–55, 12 out. 2000.
- BASEGMEZ, C. et al. The comparison of two techniques to increase the amount of peri-implant attached mucosa: free gingival grafts versus vestibuloplasty. One-year results from a randomised controlled trial. **European journal of oral implantology**, v. 5, n. 2, p. 139–45, 30 set. 2012.
- BASSETTI, R. G. et al. Soft tissue augmentation around osseointegrated and uncovered dental implants: a systematic review. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 1, p. 53–70, 21 jan. 2017.
- BERNIMOULIN, J.-P.; SCHROEDER, H. E. Changes in the Differentiation Pattern of Oral Mucosal Epithelium Following Heterotopic Connective Tissue Transplantation in Man. **Pathology - Research and Practice**, v. 166, n. 2–3, p. 290–312, 30 abr. 1980.
- BRASHER, W. J.; REES, T. D.; BOYCE, W. A. Complications of Free Grafts of Masticatory Mucosa. **Journal of Periodontology**, v. 46, n. 3, p. 133–138, 30 mar. 1975.

TORITSUKA, Y. et al. Dual tunnel medial patellofemoral ligament reconstruction for patients with patellar dislocation using a semitendinosus tendon autograft. **The Knee**, v. 18, n. 4, p. 214–219, 1 ago. 2011.

BOWERS, G. A study of the width of attached gingiva. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.34, n.3, p.201-209, 1963.

CAMARGO, P.M.; MELNICK, P.R.; KENNEY, E.B. The use of free gingival grafts for aesthetic purposes. **Periodontology 2000**, v.27, n. 1, p. 72-96, 2001.

CARDOSO, F. Enxerto gengival livre invertido: relato de caso clínico. 2016. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Periodontia). Orientação: Profa. Dra. Maria Lúcia Rubo de Rezende, 2016.

CEVALLOS, C. A. R. et al. Free gingival graft and acellular dermal matrix for gingival augmentation: a 15-year clinical study. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 2, p. 539–550, 12 jul. 2019.

CHUNG, D.M.; OH, T.J.; SHOTWELL, J.L.; MISCH, C.E.; WANG, H.L. Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. **Journal of Periodontology**, v.77, n.8, p.1410-20, 2006.

COHEN, D. W. Periodontal therapy. **The Mayan**, v. 2, n. 1, p. 20–3, 12 nov. 1966.

CORTELLINI, P.; TONETTI, M.; PRATO, G. P. The partly epithelialized free gingival graft (pe-fgg) at lower incisors. A pilot study with implications for alignment of the mucogingival junction. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 7, p. 674–680, 12 jul. 2012.

DALE, B.A. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. **Periodontology 2000**, v.30, n.1, p.70-8, 2002.

DONN, B. J. The Free Connective Tissue Autograft: A Clinical and Histologic Wound Healing Study in Humans. **Journal of Periodontology**, v. 49, n. 5, p. 253–260, 12 maio 1978.

ECKERT, R. L.; CRISH, J. F.; ROBINSON, N. A. The epidermal keratinocyte as a model for the study of gene regulation and cell differentiation. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 2, p. 397–424, 1 abr. 1997.

EDEL, A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 1, n. 4, p. 185–196, 12 dez. 1974.

EDEL, A.; FACCINI, J. M. Histologic changes following the grafting of connective tissue into human gingiva. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 43, n. 2, p. 190–195, 12 fev. 1977.

- FLEISCHMAJER, R. et al. There Is Binding of Collagen IV to beta1 Integrin during Early Skin Basement Membrane Assembly. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 857, n. 1 MORPHOGENESIS, p. 212–227, 1 out. 1998.
- FÜRHAUSER, R. et al. Evaluation of soft tissue around single-tooth implant crowns: the pink esthetic score. **Clinical Oral Implants Research**, v. 16, n. 6, p. 639–644, 12 dez. 2005.
- GANEM-QUINTANAR, A.; FALSON-RIEG, F.; BURI, P. Contribution of lipid components to the permeability barrier of oral mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 44, n. 2, p. 107–120, 12 set. 1997.
- GOLDMAN, H., COHEN, D. W.: Periodontal Therapy, ed 3, p. 560. **St. Louis, C. V. Mosby Co**, 1964.
- GREER, A.; ZENOBIA, C.; DARVEAU, R.P. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. **Periodontology 2000**, v.63, n.1, p.67-79, 2013.
- GUIHA, R. et al. Histological Evaluation of Healing and Revascularization of the Subepithelial Connective Tissue Graft. **Journal of Periodontology**, v. 72, n. 4, p. 470–478, 1 abr. 2001.
- HEIDARI, M. et al. Effect of laser photobiomodulation on wound healing and postoperative pain following free gingival graft: A split-mouth triple-blind randomized controlled clinical trial. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 172, n. 2, p. 109–114, 12 jul. 2017.
- JANSON, Waldyr Antônio; PASSANEZI, Euloir; ALVES, Mário E. Algodoal F.; NAHÁS, Deoclécio. Enxertos livres autógenos de gengiva: sua utilização em cirurgia muco-gengival. **Estomatologia e Cultura**, Bauru, v. 8, n. ja/ju 1974, p. 103-109, 1974.
- Jl, S. et al. Innate immune responses of gingival epithelial cells to nonperiodontopathic and periodontopathic bacteria. **Journal of Periodontal Research**, v. 42, n. 6, p. 503–510, 1 dez. 2007.
- JIN, L. An update on innate defense molecules of human gingiva- **Periodontology 2000**. V.56, n.1, p.125-42, 2011.
- KARAKIŞ AKCAN, S.; GÜLER, B.; HATİPOĞLU, H. The effect of different gingival phenotypes on dimensional stability of free gingival graft: A comparative 6-month clinical study. **Journal of Periodontology**, v. 90, n. 7, p. 709–717, 12 jul. 2019.
- KARRING, T.; LANG, N. P.; LOE, H. The role of gingival connective tissue in determining epithelial differentiation. **Journal of Periodontal Research**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 1 fev. 1975.
- KARRING, T.; OSTERGAARD, E.; LOE, H. Conservation of tissue specifically after heterotopic transplantation of gingiva and alveolar mucosa. **Journal of Periodontal Research**, v. 6, n. 4, p. 282–293, 1 ago. 1971.

- LAGOS, M.L.E.P. Participação da mastigação e da gengiva ceratinizada na fisiologia do sulco gengival (dissertação). Bauru-SP: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2003.
- LANG, N. P.; LÖE, H. The Relationship Between the Width of Keratinized Gingiva and Gingival Health. **Journal of Periodontology**, v. 43, n. 10, p. 623–627, 1 out. 1972.
- LANGER, B.; LANGER, L. Subepithelial Connective Tissue Graft Technique for Root Coverage. **Journal of Periodontology**, v. 56, n. 12, p. 715–720, 1 dez. 1985.
- LARJAVA, H. et al. Expression of integrins and basement membrane components by wound keratinocytes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 92, n. 3, p. 1425–1435, 1 set. 1993.
- LAUER, G. et al. Immunohistochemical study during healing of free palatal mucosa grafts on plastic-embedded samples. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 30, n. 2, p. 104–112, 24 fev. 2001.
- LIN, G.-H.; CHAN, H.-L.; WANG, H.-L. The Significance of Keratinized Mucosa on Implant Health: A Systematic Review. **Journal of Periodontology**, v. 84, n. 12, p. 1755–1767, 24 dez. 2013.
- LINDHE, J., LANG, N. P., KARRING, T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 1304.
- LOPES, T.R.; MACHADO, C.N.; CAMARGO-ROGACHESKI, M.; VERBICARO, T.; GIOVANINI, A.F.; MIRANDA-DELIBERADOR, T. Aesthetic improvements in free gingival graft due to its association with frenectomy. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, v. 10, n. 2, p. 135-142, 2013.
- MACEDO, P.S. Re-epitelização dos enxertos autógenos livres de epitélio-conjuntivo e conjuntivo de gengiva: origem e diferenciação celular (Tese). Bauru-SP: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 1989.
- MACKENZIE, I. C. The role of epithelial-mesenchymal interactions in epithelial migration and differentiation. **Journal of Periodontal Research**, v. 19, n. 6, p. 656–660, 24 nov. 1984.
- MAYNARD, J. G.; OCHSENBEIN, C. Mucogingival Problems, Prevalence and Therapy in Children. **Journal of Periodontology**, v. 46, n. 9, p. 543–552, 24 set. 1975.
- MENDONÇA, J.A.G. Avaliação e análise das distâncias biológicas do periodonto mediante a nova metodologia [dissertação]. Bauru (SP):Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo;2001.
- MÖRMANN, W.; SCHAER, F.; FIRESTONE, A. R. The Relationship Between Success of Free Gingival Grafts and Transplant Thickness: Revascularization and

Shrinkage—A One Year Clinical Study. **Journal of Periodontology**, v. 52, n. 2, p. 74–80, 21 fev. 1981.

OUHAYOUN, J. P. et al. Re-epithelialization of a palatal connective tissue graft transplanted in a non-keratinized alveolar mucosa: A histological and biochemical study in humans. **Journal of Periodontal Research**, v. 23, n. 2, p. 127–133, 24 mar. 1988.

PANDIT, N. et al. Comparison of two techniques of harvesting connective tissue and its effects on healing pattern at palate and recession coverage at recipient site. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 7, n. 1, p. 3, 21 jul. 2016.

PEROTTO, S. et al. Vascularization and Innervation of Connective Tissue Grafts in the Treatment of Gingival Recessions: A Histologic and Immunohistochemical Study. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 37, n. 4, p. 551–558, 21 jul. 2017.

POLLACK, R. P. Bilateral Creeping Attachment Using Free Mucosal Grafts: A Case Report with 4-Year Follow-Up. **Journal of Periodontology**, v. 55, n. 11, p. 670–672, 15 nov. 1984.

RAOOFI, S.; ASADINEJAD, S. M.; KHORSHIDI, H. Evaluation of Color and Width of Attached Gingiva Gain in Two Surgical Techniques: Free Gingival Graft and Connective Tissue Graft Covered By Thin Mucosal Flap, a Clinical Trial. **Journal of dentistry** (Shiraz, Iran), v. 20, n. 4, p. 224–231, 12 dez. 2019.

RESENDE, D. R. B. et al. Acellular dermal matrix allograft versus free gingival graft: a histological evaluation and split-mouth randomized clinical trial. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 2, p. 539–550, fev. 2019.

SANAVI, F.; WEISGOLD, A. S.; ROSE, L. F. Biologic Width and its Relation to Periodontal Biotypes. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 10, n. 3, p. 157–163, 24 maio 1998.

SCHMITT, C. M. et al. Long-term outcomes after vestibuloplasty with a porcine collagen matrix (Mucograft®) versus the free gingival graft: a comparative prospective clinical trial. **Clinical Oral Implants Research**, v. 27, n. 11, p. e125–e133, nov. 2016.

SCHOO, W. H.; VELDEN, U. Marginal soft tissue recessions with and without attached gingiva. **Journal of Periodontal Research**, v. 20, n. 2, p. 209–211, 21 mar. 1985.

SCHROEDER, E.H.; LISTGARTEN, M.A. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. **Periodontology 2000**. v.13, n.1, p.91-120, 1997.

SCHROTT, A.R. et al Five-year evaluation of the influence of keratinized mucosa on peri-implant soft-tissue health and stability around implants supporting full-arch mandibular fixed prostheses. **Clinical Oral Implants Research**, v.20, n.10, p.1170-7, 2009.

SHAH, R.; THOMAS, R.; MEHTA, D. Recent modifications of free gingival graft: A case series. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 6, n. 3, p. 425, 12 jul. 2015.

SILVA, C. O. et al. Free Gingival Grafts: Graft Shrinkage and Donor-Site Healing in Smokers and Non-Smokers. **Journal of Periodontology**, v. 81, n. 5, p. 692–701, maio 2010.

STETLER, K. J.; BISSADA, N. F. Significance of the Width of Keratinized Gingiva on the Periodontal Status of Teeth with Submarginal Restorations. **Journal of Periodontology**, v. 58, n. 10, p. 696–700, 21 out. 1987.

STINGL, G. New Aspects of Langerhans' Cell Function. **International Journal of Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 189–213, 21 maio 1980.

SULLIVAN, H. C.; ATKINS, J. H. Free autogenous gingival grafts. I. Principles of successful grafting. **Periodontics**, v. 6, n. 3, p. 121–9, 21 jun. 1968.

SULLIVAN, H. C.; ATKINS, J. H. Free autogenous gingival grafts. 3. Utilization of grafts in the treatment of gingival recession. **Periodontics**, v. 6, n. 4, p. 152–60, 21 ago. 1968.

THOMA, D. S. et al. Efficacy of soft tissue augmentation around dental implants and in partially edentulous areas: a systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 11, p. S77–S91, 15 abr. 2014.

WOODLEY, D. T. et al. Adult Human Keratinocytes Migrating over Nonviable Dermal Collagen Produce Collagenolytic Enzymes That Degrade Type I and Type IV Collagen. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 86, n. 4, p. 418–423, 21 abr. 1986.

ZUCHELLI, G. et al. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 37, n. 8, p. 728–738, ago. 2010.

Anexos

ANEXO A – Registro dimensional dos enxertos gengivais ao longo de 6 meses

			GC1	GC2	GE
Paciente nº	Medida A	<i>baseline</i>			
		1 mês			
		2 meses			
		3 meses			
		4 meses			
		6 meses			
	Medida B	<i>baseline</i>			
		1 mês			
		2 meses			
		3 meses			
		4 meses			
		6 meses			
	Espessura	<i>baseline</i>			
		6 meses			

ANEXO B – Análise estética sob o ponto de vista dos pacientes após 6 meses
de reparação dos enxertos gengivais

	Grupo GC1	Grupo GC2	Grupo GE
Paciente 1 Obs.-			
Paciente 2 Obs.-			
Paciente 3 Obs.-			
Paciente 4 Obs.-			
Paciente 5 Obs.-			
Paciente 6 Obs.-			
Paciente 7 Obs.-			
Paciente 8 Obs.-			
Paciente 9 Obs.-			

**Anexo C - Análise estética sob o ponto de vista dos profissionais após 6 meses
de reparação dos enxertos gengivais considerando itens 6 e 7 do índice de
estética rosa (PES - Pink Esthetic Score)**

	Periodontista 1						Periodontista 2						Periodontista 3					
	Escores						Escores						Escores					
	cor			textura			cor			textura			cor			textura		
	GC1	GC2	GE	GC1	GC2	GE	GC1	GC2	GE	GC1	GC2	GE	GC1	GC2	GE	GC1	GC2	GE
Paciente 1																		
Paciente 2																		
Paciente 3																		
Paciente 4																		
Paciente 5																		
Paciente 6																		
Paciente 7																		
Paciente 8																		
Paciente 9																		

Fonte: FURHAUSER et al., 2005.

Anexo D - Análise comparativa de cor tecidual realizada pelo programa ImageJ,
das áreas enxertadas, com MC vestibular adjacente não enxertada

	GRUPO GC1	MC vestibular adjacente (não enxertada)	GRUPO GC2	GRUPO GE	MC vestibular adjacente (não enxertada)
Paciente 1					
Paciente 2					
Paciente 3					
Paciente 4					
Paciente 5					
Paciente 6					
Paciente 7					
Paciente 8					
Paciente 9					

Anexo E – Aprovação do Comitê de Ética

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Estudo clínico comparativo entre enxertos gengivais livres convencionais (EGL) e enxertos gengivais livres invertidos (EGLI), em boca dividida: estudo em humanos

Pesquisador: Gabriel Amantini

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 71634717.9.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.899.844

Apresentação do Projeto:

Idem ao Parecer: 2.683.161, de 29/05/2018.

Objetivo da Pesquisa:

Idem ao Parecer: 2.683.161, de 29/05/2018.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Idem ao Parecer: 2.683.161, de 29/05/2018.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Idem ao Parecer: 2.683.161, de 29/05/2018.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Idem ao Parecer: 2.683.161, de 29/05/2018.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador responsável solicita ao CEP correção no Parecer Consubstanciado emitido na data de 29/05/2018 considerado Aprovado (Considerações Finais a critério do CEP) e, de forma equivocada, foi liberado como Pendente. Desta forma corrija-se para situação APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador responsável solicita ao CEP correção no Parecer Consubstanciado emitido na data de 29/05/2018 considerado Aprovado (Considerações Finais a critério do CEP) e, de forma

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9

Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901

UF: SP **Município:** BAURU

Telefone: (14)3235-8356

Fax: (14)3235-8356

E-mail: cep@fob.usp.br

**USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP**

Continuação do Parecer: 3.899.844

equivocada, foi liberado como Pendente. Desta forma corrija-se para situação APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_932750.pdf	03/03/2020 17:35:03		Aceito
Outros	solicitacao_de_correcao_de_parecer.pdf	03/03/2020 17:33:57	Gabriel Amantini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_Gabriel3.docx	22/12/2017 16:48:06	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	Resposta_CEP_3.docx	22/12/2017 16:42:27	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	carta_convite.docx	22/12/2017 16:40:03	Gabriel Amantini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGabrielAmantini_4.docx	22/12/2017 16:39:02	Gabriel Amantini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGabrielAmantini_3.docx	01/11/2017 17:06:57	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	Resposta_CEP_projeto_Gabriel_2.doc	01/11/2017 17:06:44	Gabriel Amantini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_Gabriel2.docx	30/10/2017 17:54:59	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	Resposta_CEP_ProjetoGABRIEL.doc	11/09/2017 16:00:01	Gabriel Amantini	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGabrielAmantini_2.docx	11/09/2017 15:59:26	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	questionario.docx	19/07/2017 18:07:17	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	Declaracao_de_compromisso.jpg	19/07/2017 17:39:59	Gabriel Amantini	Aceito
Outros	termo_de_aquiescencia.jpg	19/07/2017 17:37:16	Gabriel Amantini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_Gabriel.docx	19/07/2017 17:12:04	Gabriel Amantini	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_Gabriel_Amantini.docx	19/07/2017	Gabriel Amantini	Aceito

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP

Continuação do Parecer: 3.899.844

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Gabriel_Amantini.docx	17:03:57	Gabriel Amantini	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	19/07/2017 17:01:23	Gabriel Amantini	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 05 de Março de 2020

Assinado por:**Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida**
(Coordenador(a))**Endereço:** DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9**Bairro:** VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901**UF:** SP **Município:** BAURU**Telefone:** (14)3235-8356**Fax:** (14)3235-8356**E-mail:** cep@fob.usp.br