LUIZ PHILIPPE MOLINA VANA

Estudo comparativo de matrizes dérmicas de colágeno bovino com e sem lâmina de silicone no tratamento da contratura cicatricial pós-queimadura - Análise clínica e histológica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa: Medicina

Área de concentração: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Alonso

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**SÃO PAULO
2017**

Equilíbrio significa harmonia, estabilidade, solidez.

No sentido figurado, prudência, moderação, domínio de si mesmo. É ter clareza e controle dos sentimentos para sair de situações problemáticas, para lidar com adversidades, sempre de forma pacífica.

“O rio atinge seu objetivo porque aprendeu a contornar obstáculos”.

Lao Tse

*Ao meu pai, fonte de todas as minhas inspirações,
meu exemplo de retidão. Saudade.*

*À minha mãe, amor impossível de ser medido.
Presente, paciente, sem nunca pedir nada em
troca.*

À Mônica, meu grande amor. Eterno, Sempre.

*Ao Gabriel e ao João, minhas quebras de
paradigmas. Por vocês eu acordo e saio em busca.*

*À minha irmã Thê, que me mantém ativo, vívido e
me faz pensar.*

*Ao Prof. Dr. Nivaldo Alonso, que acreditou em mim,
me apoiou e me deu todo o espaço.*

*À Cláudia, que com seu entusiasmo, me ensinou
de tudo, de receita de arroz integral às fibrilas de
colágeno. Sua paciência não tem fim. Sem a sua
dedicação e sua amizade, este trabalho teria sido
menor.*

*Ao Carlos Fontana, meu professor, meu amigo,
meu segundo pai.*

*À Profa. Élia Garcia Caldini, que me acolheu de
braços abertos com todo o carinho e me ensinou
pacientemente.*

*Aos pacientes, que acreditaram nesta pesquisa,
sem vocês não teria sido possível.*

AGRADECIMENTOS

Aos membros de minha clínica, Silaine Monteiro e Flávia Pereira, que me apoiaram e tiveram muita paciência.

A todos os membros do Laboratório de Biologia Celular, LIM 59, Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial, Sueli Fátima de Bastos, Maria Ires Amorim Mendes, Nilsa Regina Damaceno Rorigues, sempre simpáticos e muito atenciosos.

Aos membros do Setor de Microscopia Eletrônica, Adão Caetano e Maria Cecília Santos Lobo Marcondes pelo que fizeram.

Aos membros de minha equipe multidisciplinar do Hospital das Clínicas: Celeste Imaculada Conceição Gobbi, Dicarla Motta Magnani, Ana Paula Busnardo, Almir Retamero, Valquíria Silva do Rosário Felipe, Keila Lisboa Dias, Vera Lúcia Teixeira.

Ao Marcelo, desbravador da estatística, me ensinou e me distraiu com nossos devaneios.

Ao Fábio Carramaschi, responsável por meus primeiros ensinamentos.

Ao Mathias Donelan, que me ensinou a questionar.

Aos residentes da Disciplina de Cirurgia Plástica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, que sempre me ajudaram nas cirurgias e curativos.

Aos amigos que não foram aqui nomeados, mas que, também, enriquecem minha vida.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de quadros

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Enxerto Autógeno de Pele	6
1.1.1 Integra®.....	11
1.1.2 Matriderm®	11
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
2.2.1 Avaliação clínica	15
2.2.2 Avaliação histológica	15
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1 Pele	18
3.1.1 Epiderme.....	19
3.1.2 Derme	21
3.2 Tecido Conjuntivo	22
3.2.1 Matriz extracelular.....	23
3.2.2 Células do tecido conjuntivo	25
3.2.3 Fibras do tecido conjuntivo	27
3.2.3.1 Sistema colágeno	27
3.2.3.2 Sistema elástico.....	29
3.3 Processo de Reparação Tecidual Fisiológico	30
3.3.1 Lesão	31
3.3.2 Fase inflamatória	31
3.3.3 Epitelização	33
3.3.4 Fase proliferativa ou formação do tecido de granulação	35
3.3.5 Síntese de colágeno e proteoglicanos.....	37
3.3.6 Neovascularização	39
3.3.7 Fase de maturação ou remodelação dos tecidos	41
3.4 Reparação Cicatricial Anormal	43
3.5 Sequela de Queimadura	48
3.5.1 Classificação.....	49
3.5.2 Tratamento cirúrgico.....	52
3.6 Enxerto de Pele	53
3.6.1 Enxerto de pele de espessura parcial	54
3.6.2 Aderência.....	56
3.6.3 Embebição plasmática.....	56
3.6.4 Revascularização	57
3.7 Substitutos Cutâneos	58
3.8 Matrizes de Regeneração Dérmica	62

3.8.1	Integra®	63
3.8.2	Matriderm®	67
3.8.3	Estudos comparativos entre diferentes matrizes	69
3.9	Terapia por Pressão Negativa	70
3.9.1	Mecanismos de ação	71
3.9.1.1	Redução do edema	72
3.9.1.2	Fluxo sanguíneo	72
3.9.1.3	Neovascularização, formação de tecido de granulação e proliferação celular	72
3.9.1.4	Redução do tamanho da ferida	73
3.9.1.5	Remoção do exsudato e carga bacteriana	73
3.9.2	Indicações de uso	74
3.10	Escalas de Avaliação de Cicatriz	75
3.10.1	Vancouver	76
3.10.2	POSAS	78
4	MÉTODOS	80
4.1	Desenho do Estudo	81
4.2	Seleção de Pacientes	81
	Grupos	82
4.3	Avaliação Clínica	83
4.3.1	Avaliação da qualidade da cicatriz - Escala de Vancouver e POSAS	83
4.3.2	Avaliação funcional	84
4.3.3	Avaliação da retração da área operada	85
4.3.4	Avaliação das complicações e da integração da matriz e dos auto- enxertos	85
4.4	Técnica Cirúrgica	86
4.4.1	Técnica cirúrgica para colocação da matriz de regeneração dérmica	86
4.4.2	Técnica de aplicação do curativo de pressão negativa	87
4.4.3	Técnica cirúrgica para realização do auto-enxerto	88
4.6	Avaliação Histológica	89
4.6.1	Processamento do material biológico para microscopia de luz	89
4.6.1.1	Coloração Hematoxilina-Eosina (HE)	89
4.6.1.2	Coloração Picrossírius-Hematoxilina	90
4.6.1.3	Coloração de Resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona	90
4.6.2	Processamento do material biológico para microscopia eletrônica de transmissão	91
4.6.3	Métodos de medida histológica	91
4.6	Análise Estatística	94
5	RESULTADOS	95
5.1	Resultados Clínicos	96
5.1.1	Pacientes	96
5.1.2	Avaliação clínica	98
5.1.2.1	Escala de Vancouver	98
5.1.2.2	Escala de POSAS	100
5.1.2.3	Avaliação funcional	101
5.1.2.4	Avaliação da retração da área operada	102
5.1.2.5	Avaliação das complicações	105
5.2	Análise Histológica	106
5.2.1	Microscopia de luz	106
5.2.2	Microscopia eletrônica de transmissão	120
5.3	Correlações	124
6	DISCUSSÃO	127

7 CONCLUSÕES.....	149
8 ANEXOS	152
Anexo A - Aprovação CAPPesq	153
Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	154
Anexo C - Formulários e tabelas preenchidas de cada paciente.....	157
Anexo D - Escala POSAS	165
Anexo E - Valores das medições das escalas de Vancouver.....	167
Anexo F - Valores das medições das escalas de POSAS	168
Anexo G - Dados completos da avaliação funcional (AF).....	169
Anexo H - Lista das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz	170
Anexo I - Porcentagem de integração das matrizes.....	171
Anexo J - Porcentagem de integração dos auto-enxertos de pele	172
9 REFERÊNCIAS	173

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADPR	- Ribossoma difosfato de adenosina
AF	- Avaliação funcional
CID	- Classificação Internacional das Doenças
CSF1R	- <i>Colony stimulating factor 1 receptor</i>
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
FDA	- <i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FGF	- <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GAG	- Glicosaminoglicano
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HE	- Hematoxilina-eosina
HLA	- <i>Human Leukocyte Antigen</i>
ICC	- <i>Intraclass correlation coefficient</i>
IL	- Interleucina
MAPS	- <i>Matching Assessment of Photographs and Scars</i>
MCS	- Grupo matriz com silicone
MSS	- Grupo matriz sem silicone
NAD ⁺	- <i>Nicotinamide adenine dinucleotide oxidized</i>
NADH	- <i>Nicotinamide adenine dinucleotide reduced</i>
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PDGF	- Fator de crescimento derivado de plaquetas
POSAS	- <i>Patient and Observer Scar Assessment Scale</i>
RNA _m	- Ácido ribonucleico mensageiro
SC	- Substitutos cutâneos
TGF- α	- Fator de transformação de crescimento alfa
TGF- β	- Fator de transformação de crescimento beta
TNF	- Fator de necrose tumoral
TNP	- Terapia de pressão negativa

TSP	- <i>Thrombospondin</i>
VAC	- <i>Vacuum-assisted closure</i>
VEGF	- <i>Vascular endothelial growth factor</i>
VSS	- <i>Vancouver Scar Scale</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação da profundidade das queimaduras de 1º grau, 2º grau superficial, médio e profundo e 3º grau	3
Figura 2 - Tipos de enxerto, segundo sua espessura: parcial fino, médio, grosso e de espessura total	6
Figura 3 - Fibra colágena e sua estrutura.....	28
Figura 4 - Células envolvidas no processo cicatricial e seus produtos	33
Figura 5 - Fase inflamatória do processo cicatricial	35
Figura 6 - Reepitelização e neovascularização no processo cicatricial.....	41
Figura 7 - Fases da cicatrização de feridas.....	43
Figura 8 - Esquema cronológico do protocolo das cirurgias e das coletas de dados	83
Figura 9 - Sequência de utilização da matriz com silicone.....	86
Figura 10 - Sequência de utilização da matriz sem silicone.....	87
Figura 11 - Diagrama representativo da região enxertada e dos locais biopsiados ao longo dos meses	89
Figura 12 - Cortes histológicos de pele, corados pela Picrossírius-hematoxilina (a, b) e pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia (c), 12 dias após o auto enxerto..	92
Figura 13 - Micrografia de corte de pele analisada ao microscópio eletrônico de transmissão	93
Figura 14 - Cortes histológicos de pele, corados por Picrossírius-hematoxilina (a, c, d, e, f) e pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia (b).....	109
Figura 15 - Fotomicrografias de pele, sequenciais, de 2 casos representativos das matrizes com silicone (MCS) (a, b, c, d) e sem silicone (MSS) (e, f, g, h).....	112

- Figura 16 - Cortes histológicos de pele obtidos 12 dias (a até f) e 2 meses (g até l) após a colocação do enxerto, com uso das matrizes de regeneração dérmica: com silicone (MCS) (a, b, c, g, h, i) e sem silicone (MSS) (d, e, f, j, k, l)..... 114
- Figura 17 - Micrografias de cortes de cicatrizes de pele 12 meses após auto enxerto, corados pelo Picrossírius-hematoxilina. 116
- Figura 18 - Cicatrizes de pele 12 meses após o auto enxerto, coradas pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia, de pacientes tratados com a matriz com silicone (a, b) e sem silicone (c, d) 118
- Figura 19 - Micrografias eletrônicas de cortes de pele normal e das cicatrizes original ou após tratamento com a matriz com ou sem silicone..... 122

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais diferenças entre cicatrizes hipertróficas e queloides	45
Quadro 2 - Principais produtos no mercado de terapia por pressão negativa.....	71
Quadro 3 - Escala de Vancouver	77
Quadro 4 - Resumo dos dados analisados pelas escalas de Vancouver, POSAS Observador e POSAS Paciente, de avaliação da qualidade da pele das cicatrizes	84
Quadro 5 - Relação dos locais operados em cada paciente dos grupos MCS e MSS	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores das médias da avaliação funcional, escala de Vancouver e POSAS Observador antes da primeira cirurgia, para pacientes tratados com MCS ou com MSS.....	97
Tabela 2 - Médias das avaliações de qualidade de pele pela escala de Vancouver tomadas ao longo do estudo nos pacientes tratados com MCS.....	99
Tabela 3 - Médias das avaliações de qualidade de pele pela escala de Vancouver tomadas ao longo do estudo nos pacientes tratados com MSS.....	100
Tabela 4 - Médias das avaliações de qualidade de pele pela escala de POSAS Observador tomadas durante o estudo, nos pacientes tratados com MCS e MSS	101
Tabela 5 - Médias da avaliação funcional dos pacientes tratados com MCS e MSS. Taxa de Melhora Funcional - diferença entre as notas de pré-operatório e 12 meses	101
Tabela 6 - Médias das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz, dos pacientes tratados com MCS	103
Tabela 7 - Médias das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz, dos pacientes tratados com MSS	103
Tabela 8 - Porcentagens de integração das matrizes 19 dias após sua colocação em pacientes tratados com MCS e MSS.....	105
Tabela 9 - Porcentagens de integração dos auto-enxertos de pele 12 dias após sua colocação e valor de p referente à comparação entre os pacientes tratados com MCS e MSS	106
Tabela 10 - Espessura dos autos enxertos de pele para os pacientes tratados com MCS e com MSS e também para todos os pacientes juntos	120
Tabela 11 - Média dos diâmetros das fibrilas de colágeno medidas em nanômetros, dos pacientes tratados com MCS e MSS.....	124

RESUMO

Vana LPM. *Estudo comparativo de matrizes dérmicas de colágeno bovino com e sem lâmina de silicone no tratamento da contratura cicatricial pós-queimadura - Análise clínica e histológica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

O surgimento das matrizes de regeneração dérmica nas duas últimas décadas permitiu um grande avanço no tratamento tanto das queimaduras agudas como das sequelas. No entanto, ainda há carência de informações sobre a relação entre os resultados clínicos e o que ocorre no tecido com cada tipo de matriz. O objetivo deste estudo foi avaliar prospectivamente os aspectos clínicos quanto à qualidade de pele, escala de Vancouver e POSAS, função e retração da área tratada e os aspectos histológicos na microscopia de luz e eletrônica, com o uso de duas matrizes de regeneração dérmica, ambas de colágeno bovino, uma de duas camadas, recoberta com lâmina de silicone e outra sem. Vinte e quatro pacientes, sorteados 12 em cada grupo, tiveram suas retrações cicatriciais secundárias à queimaduras tratadas em duas cirurgias, a primeira de liberação da retração e colocação da matriz e a segunda, colocação do auto enxerto de pele; em ambas as cirurgias foi utilizado o curativo de pressão negativa. As avaliações da escala de Vancouver e medidas da retração da área foram realizadas no pré-operatório, 1, 3, 6 e 12 meses e a escala de POSAS e avaliação funcional no pré-operatório e aos 12 meses. As biópsias foram colhidas no pré-operatório, no dia da colocação do enxerto de pele, 12 dias, 2, 6 e 12 meses após o enxerto. A avaliação clínica mostrou retração de todas as áreas tratadas, melhora da qualidade da pele e funcional em todos os pacientes. A matriz com silicone, mostrou superioridade dos resultados quanto a qualidade da pele, função e menor retração da área tratada. A análise histológica mostrou o crescimento de tecido conjuntivo denso idêntico ao tecido cicatricial original, sem diferenças entre as matrizes e que não se assemelha à derme normal. Também não foi observada diferença no diâmetro das fibrilas de colágeno do tecido neoformado, a pele normal e a cicatriz.

Descritores: Queimadura/sequela; Pele artificial; Tratamento de ferimentos com pressão negativa.

ABSTRACT

Vana LPM. Comparative study of dermal regeneration template made by bovine collagen with and without silicone layer in the treatment of post-burn contracture - Clinical and histological analysis. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

The advent of dermal regenerate templates has fostered major advances in the treatment of acute burns and their sequelae, in the last two decades. Both data on morphological aspects of the newly-formed tissue, and clinical trials comparing different templates, are still lacking. The goal of this study was to prospectively analyze the outcome of patients treated with two of the existing templates, followed by thin skin autograft. They are both made of bovine collagen, one includes a superficial silicone layer. Surgery was performed on patients with impaired mobility resulting from burn sequelae (n = 12 per template). Negative pressure therapy was applied post-surgically; patients were monitored for 12 months. Data on scar skin quality (Vancouver and POSAS evaluation scales), rate of joint mobility recovery, and graft contraction were recorded; as well as morphological analyses at light microscopical and ultrastructural levels. Improvement in mobility and skin quality were demonstrated along with graft contraction, in all patients. The silicone-coupled template showed the best performance in all aspects. There was sub epidermal growth of dense connective tissue, indistinguishable from the original scars in both templates. The formation of tissue resembling normal dermis was not detected in any of the cases. Likewise, the ultrastructural analysis showed the same architecture of the connective tissue among the template scars and the original scar. No difference was detected when the collagen fibril diameters of the normal skin and of the scars (original and of the two templates) were compared.

Descriptors: Negative-pressure wound therapy; Dermal regeneration template; Artificial skin.

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano, corresponde a 16% do peso corporal. Histologicamente apresenta duas camadas altamente especializadas e unidas que são atravessadas por diversos apêndices, como glândulas sudoríparas e sebáceas, pelo e uma rede de capilares sanguíneos.

A epiderme, camada mais superficial, evita a perda de líquidos e serve de barreira de proteção entre o meio interno e o meio externo, dificultando a invasão bacteriana ou fúngica. A derme confere resistência e elasticidade à pele¹⁻⁵.

As lesões de pele causadas por agentes externos, como calor, eletricidade, radiação, produtos químicos ou fricção, são definidas como queimaduras; de acordo com a profundidade acometida, as queimaduras podem ser classificadas em 1º, 2º e 3º grau. Podem ainda ser subdivididas em queimaduras superficiais e profundas (Figura 1).

Figura 1 - Classificação da profundidade das queimaduras de 1º grau, 2º grau superficial, médio e profundo e 3º grau

As queimaduras superficiais lesam a epiderme e derme papilar, curam a partir dos anexos cutâneos em até 14 dias. As queimaduras profundas, 2º grau profundo, lesam a epiderme e a derme, em profundidades variadas, em geral comprometendo a derme reticular e curam espontaneamente em mais de 14 dias e 3º grau lesam a epiderme e derme em sua totalidade e não apresenta cura espontânea. Nestes dois casos, a enxertia de pele é o tratamento consagrado na literatura^{3,5}.

As primeiras evidências do tratamento das queimaduras foram encontradas em desenhos realizados pelo Homem de Neandertal (*Homo neanderthalensis*^{**}); desde então, muitos têm sido os avanços no tratamento das queimaduras I⁵.

Até a década de 1930, as queimaduras eram tratadas de forma expectante, as escaras eram observadas até a sua eliminação espontânea; as feridas curavam a partir de anexos cutâneos, por contração da ferida e cicatrização por segunda intenção. A sobrevida era baixa e a incidência de sequelas era alta. A resposta sistêmica às grandes queimaduras (mais de 20% de área corpórea queimada) era pouco compreendida e grande porcentagem dos pacientes morria nas primeiras 24 a 48 horas pós trauma; muitos dos que sobreviviam por mais tempo morriam no período de 10 dias pós-queimadura em decorrência de infecções⁵. As décadas de 1940 e 1950 foram marcadas por inúmeros estudos nessas áreas, que aprofundaram a compreensão sobre a fisiopatologia da resposta sistêmica à queimadura, principalmente quanto ao tratamento do choque hipovolêmico e alterações hemodinâmicas, como a diminuição do débito cardíaco, alterações da distribuição dos fluidos extra e intracelulares e alterações renais³. Assim, com os avanços no atendimento inicial, com reposição volêmica mais adequada, cuidados respiratórios com equipamentos mais sofisticados de ventilação, o uso de antibióticos cada vez mais potentes, além de cuidados de medicina intensiva, enfermagem, fisioterapia

* O Homem de Neandertal (*Homo neanderthalensis*) é uma espécie extinta, fóssil, do gênero *Homo* que habitou a Europa e partes do oeste da Ásia, que provavelmente evoluiu de um ramo do *Homo erectus*, desde cerca de 400.000 anos atrás até aproximadamente 30.000 a 40.000 anos atrás. Paixão-Côrtes VR, Viscardi LH, Salzano FM, Hünemeier T, Bortolini MC. *Homo sapiens*, *Homo neanderthalensis* and the Denisova specimen: new insights on their evolutionary histories using whole-genome comparisons. *Genet Mol Biol*. 2012; 35(4 Suppl 1):904-11.

e nutrição alcançou-se uma grande melhoria no tratamento e na sobrevida do paciente grande queimado^{1,6}.

Da mesma maneira avançavam os conhecimentos sobre o tratamento cirúrgico. Assim, em 1946, Pagdett desenvolveu o dermatomo regulável, o que melhorou a qualidade dos enxertos retirados e permitiu que na década de 1950, Jackson iniciasse uma das mais importantes mudanças no tratamento das queimaduras, a escarectomia precoce. Em 1964, Tanner desenvolveu o expansor de enxerto de pele, que permitiu a cobertura de grandes áreas queimadas que antes não eram possíveis pela escassez de áreas doadoras^{5,7}.

Ainda assim, alguns cirurgiões descontentes com o método expectantes referenciaram-se no princípio básico adquirido com outras patologias traumáticas, o princípio da pronta excisão de tecidos desvitalizados, o que parecia ideal para as queimaduras profundas (3º grau)⁶. Baseados neste conceito, na década de 1970 foram feitos diversos estudos sobre o tratamento precoce das queimaduras com a chamada excisão precoce da queimadura e pronta enxertia de pele⁷. Os avanços na compreensão clínica do paciente queimado associado a enxertia precoce das áreas queimadas profundas levaram a um grande decréscimo da morbimortalidade. Em 1987, Herndon *et al.*⁸ publicaram um estudo com sobrevida de 50% das crianças com 95% de área corpórea queimada. Ficou evidente que o tratamento precoce das queimaduras com a enxertia de pele passava a um papel não mais de coadjuvante e sim de principal^{7,9}.

1.1 Enxerto Autógeno de Pele

Os enxertos autógenos de pele parcial são o “padrão ouro” do reestabelecimento da pele em diversas situações de perda como áreas cruentas decorrentes da remoção de tumores, traumas e queimaduras.

Enxerto de pele, é uma porção de pele completamente destacada de sua origem e suprimento sanguíneo, sua sobrevivência depende do desenvolvimento de um novo suprimento sanguíneo a partir do leito onde é colocado¹⁰ (Figura 2).

Figura 2 - Tipos de enxerto, segundo sua espessura: parcial fino, médio, grosso e de espessura total. Quanto mais fino, menor quantidade de derme, quanto mais grosso, maior quantidade de derme. No enxerto de espessura total, toda a epiderme e derme estão incluídas.

No entanto os médicos que tratavam queimaduras permaneciam insatisfeitos com a cobertura cutânea de pacientes com grandes áreas queimadas, morbimortalidade e resultados obtidos com os tratamentos. Grandes queimados precisavam ser cobertos com enxertos muito finos e com enxertos em malha muito aberta (expansão 6:1 ou mais). Iniciaram-se então pesquisas para se desenvolver coberturas alternativas¹¹, que resultaram no

surgimento dos substitutos cutâneos, grupo heterogêneo de elementos biológicos e/ou sintéticos que possibilitaram a oclusão temporária ou permanente das feridas¹².

O substituto mais utilizado é o homoenxerto, que é um enxerto colhido de outro indivíduo geneticamente diferente, mas da mesma espécie do receptor - enxerto de doador cadáver¹⁰. No entanto, fatores como rejeição, pouca disponibilidade, contaminação, especialmente viral (hepatite e síndrome da imunodeficiência adquirida), criaram a necessidade do desenvolvimento de materiais alternativos, permanentes ou temporários^{13,14}.

Diversos materiais foram desenvolvidos nas últimas décadas. Balasubramani *et al.*¹⁵, em 2001, idealizaram a primeira classificação destes tipos de materiais, a qual foi modificada por Kumar¹⁶, em 2008. Esta classificação permanece sendo a mais utilizada e ordena os substitutos cutâneos em: Classe I - Material de Curativo Temporário e Impermeável, Classe II - Substitutos de pele permanentes de camada única e Classe III - Substitutos compostos de pele¹⁶.

Os produtos de cobertura temporária caracterizam-se por serem biologicamente aceitáveis, por um período de tempo, impedirem a formação excessiva de tecido de granulação, limitarem a invasão microbiana e diminuir a dor. Esses têm sido utilizados tanto em queimaduras de segundo grau profundo quanto de terceiro grau. Os mais comuns são o enxerto homogêneo, o xenoenxerto, definido como enxerto cirúrgico de tecido de uma espécie para outra distinta, o exemplo mais comum é o de porco, havendo também o âmnion humano e as membranas sintéticas¹⁹.

Os produtos de cobertura permanente são vistos como complementação do tratamento das queimaduras e feridas complexas^{18,19}. Suas características ideais são: prevenção de perda de água, atuar como barreira à invasão bacteriana, ter baixo custo, estar disponível no mercado, poder ser aplicado em um único ato cirúrgico, não estimular o desenvolvimento de cicatrizes patológicas, ser flexível, permitir contorno de superfícies curvas, não requerer refrigeração para sua conservação, não transmitir doenças, não levar à resposta inflamatória exacerbada, ser durável, crescer com o organismo e ser de fácil manuseio. No entanto, estas qualidades ainda não foram alcançadas por nenhum produto¹⁷.

Existem, no mercado mundial, diversos substitutos cutâneos com diferentes aplicações, vantagens e desvantagens, que devem ser escolhidos para cada situação clínica e conforme a disponibilidade de material. Dois tipos de substitutos cutâneos permanentes têm sido utilizados: os de camada única, que podem ser epidérmicos ou dérmicos, e os de duas camadas ou compostos, que mimetizam tanto a epiderme quanto a derme. Têm origem tanto biológica quanto em engenharia de tecidos¹².

Os substitutos permanentes mais utilizados atualmente são as matrizes de regeneração dérmica, podendo ser constituídas de uma camada de colágeno bovino, com ou sem elastina, recobertas ou não por uma membrana de silicone. A camada de colágeno bovino funcionaria como molde para que as células migrem para seu interior e depositem uma matriz extracelular, de maneira similar a uma derme humana normal, chamada de neoderme. A camada externa das matrizes de duas camadas, mimetizaria a epiderme

humana e funcionaria como barreira de proteção contra a perda de líquidos e invasão bacteriana^{14,15}.

O uso das matrizes de regeneração dérmica no tratamento agudo dos pacientes queimados mostrou-se eficiente na modulação da resposta sistêmica da queimadura, levando a uma melhora significativa da mortalidade e complicações da fase aguda, além de diminuir a necessidade do uso de aloenxerto e suas complicações²⁰.

Após a popularização do uso das matrizes de regeneração dérmica no tratamento da fase aguda das queimaduras, o conceito migrou para o tratamento dos pacientes com sequelas de queimaduras, evento não desejado secundário a uma queimadura²¹.

Cicatrizes hipertróficas, queloides, retrações cicatriciais e recidivas das retrações cicatriciais, tratadas com autoenxerto de espessura parcial pós-queimaduras, são resultados indesejados que podem causar deficiência funcional grave, assim como grave desfiguração. Apesar de tratamentos conservadores variados, como a utilização de malha compressiva, talas, fisioterapia, terapia ocupacional, serem indicados para prevenir as cicatrizes patológicas, a cirurgia reconstrutiva é muitas vezes necessária para resolver problemas refratários a eles²².

As dificuldades iniciam-se na maneira de avaliar ou classificar uma cicatriz. Isto se faz necessário para que se possa comparar ou avaliar os resultados obtidos com os diversos tratamentos. A avaliação clínica, consagrada na literatura, é realizada através da escala de Vancouver²³, e que foi validada para o português em 2014²⁴ e avalia pigmentação, flexibilidade, vascularização e altura.

Obter melhora de uma cicatriz no período pós-operatório, seja por meio de tratamentos clínicos ou cirúrgicos, continua a ser um grande desafio no campo da cirurgia reconstrutiva, especialmente em crianças que não entendem as justificativas e necessidades dos diversos tratamentos complementares como o uso de malhas compressivas e podem não colaborar com o tratamento. Além disso, o tratamento de queimaduras extensas leva ao uso repetitivo da mesma área doadora de enxertos o que pode causar uma escassez de pele de qualidade para a reconstrução e, assim, impor limitações a essas técnicas que dependem de grandes quantidades de enxertos de pele de qualidade. Em função desta carência de áreas doadoras, as matrizes de regeneração dérmica se tornaram uma alternativa atraente no tratamento destes pacientes, que vêm sendo dia, a dia mais utilizadas na prática clínica²⁵.

Em modelos experimentais, demonstrou-se que a matriz de regeneração dérmica reduz a contratura da ferida e é descrito que os feixes de fibras colágenas apresentam uma distribuição mais parecida com aquela da derme normal. Ensaio clínico com avaliação de longo prazo não mostraram diferença na elasticidade da cicatriz de matriz dérmica e enxertos de espessura parcial²⁶. No entanto, faltam dados clínicos e histológicos sobre o comportamento das feridas tratadas com matrizes e estudos comparativos entre os diversos tipos disponíveis no mercado²⁷⁻²⁹.

No mercado brasileiro existem alguns substitutos cutâneos permanentes, construídos pela indústria a partir de colágeno bovino. Entre eles destacam-se o Integra^{®†} e Matriderm^{®‡}.

[†] Integra Lifescience Corporation, Plainsboro, New Jersey, Estados Unidos.

[‡] Medskin Solutions Dr. Suwelack Skin & Health Care AG, Billerbeck, Alemanha.

1.1.1 Integra®

Desenvolvido por Yannas e Burke¹¹, na década de 1980, o Integra® é composto por duas camadas. A camada mais externa é formada por uma lâmina de silicone de 100 µm de espessura, permeável à água em um fluxo entre 1 mg/cm² e 10 mg/cm². A camada interna é formada por colágeno bovino ligado ao glicosaminoglicano (GAG) condroitin-6-sulfato. A espessura total da matriz é de 2 mm. A porosidade da matriz permite a migração de fibroblastos e o crescimento vascular. O novo tecido conjuntivo se desenvolve no molde e gradativamente ao longo dos meses o colágeno bovino é degradado³⁰. Após a vascularização da matriz, a camada mais externa de silicone deve ser substituída por um autoenxerto fino de pele, geralmente entre o 14º e o 21º dias.

1.1.2 Matriderm®

Esta matriz tridimensional acelular também tem 2 mm de espessura e é formada por uma única camada composta por fibras de colágeno tipo I, III e V revestidas com elastina que servem de suporte para a deposição de novo tecido conjuntivo. Tanto o colágeno quanto a elastina são derivados bovinos³¹. Da mesma maneira que a matriz Integra®, a matriz Matriderm® de 2 mm deve passar pelo processo de integração no leito para se realizar o autoenxerto fino de pele, sendo que este processo demora de 14 a 21 dias³².

Uma das principais dificuldades na utilização das matrizes de regeneração dérmica são os curativos. A sua confecção é extremamente importante, uma vez que a sua imobilização, por ser um produto sensível à

movimentação do paciente e a prevenção de contaminação, são extremamente importantes, requerendo um período prolongado de curativos e cuidados intensos. Ainda assim, tem uma taxa de integração média de 80%³³.

Paralelamente a este momento, surgia na medicina a terapia por pressão negativa. Seu estudo iniciou na década de 1980, por Chariker principalmente dirigido às feridas crônicas³⁴. Rapidamente a terapia mostrou-se efetiva e passou a ser utilizada de maneira rotineira no tratamento das feridas complexas³⁵⁻³⁷. A terapia com pressão negativa acelera a cicatrização de feridas através da manutenção de um ambiente com baixa pressão. Embora seu mecanismo de ação ainda seja objeto de estudo sabe-se que ao se criar um ambiente de baixa pressão através de um curativo local, ocorrem diminuição do edema, aumento da perfusão dos tecidos, promoção de tecido de granulação e facilitação da migração e proliferação celular³⁸.

Alguns autores começaram a associar a pressão subatmosférica às matrizes de regeneração dérmica e observaram uma menor incidência de perda^{39,40} e uma aparente aceleração na vascularização, fato ainda sem comprovação científica definitiva. No entanto, é seguro que a associação da pressão subatmosférica e matrizes de regeneração dérmica eleve a taxa de sucesso do procedimento com maior integração da matriz, além de não ter efeitos colaterais significativos³⁹.

A escolha entre as diferentes matrizes é baseada essencialmente nos benefícios sugeridos pelos fabricantes. A ausência de estudos comparativos na literatura tem tornado esta tarefa difícil para o cirurgião; apesar de todo o conhecimento adquirido nas últimas décadas, permanecem algumas

questões importantes quanto ao comportamento biológico e clínico das matrizes. Com a melhoria destes conhecimentos pretende-se responder à dúvida mais frequente, que envolve a escolha e a melhor indicação de cada uma das matrizes mencionadas. Esses questionamentos motivaram a execução deste trabalho, que pretende avaliar, ao longo do tempo, a resposta clínica e histológica da aplicação das matrizes de regeneração dérmica Integra® e Matriderm® na pele de pacientes submetidos à cirurgia reconstrutiva de retrações cicatriciais secundárias à queimaduras comparando os achados da área tratada aos da cicatriz original, tendo a pele contralateral à lesão como controle normal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, ao longo do tempo, a resposta clínica e histológica da aplicação das matrizes dérmicas com e sem lâmina de silicone, em pacientes submetidos à cirurgia reconstrutiva de cicatrizes de queimaduras comparando as características das cicatrizes originais e após reconstrução.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Avaliação clínica

a) Avaliar o comportamento clínico das áreas cicatriciais tratadas com matrizes dérmicas com e sem lâmina de silicone, quanto a retração, complicações e avaliação da qualidade da pele pelas escalas de Vancouver e *Patient and Observer Scar Assessment Scale* (POSAS).

b) Avaliar a amplitude do movimento da área tratada aos 12 meses.

2.2.2 Avaliação histológica

a) Avaliar a organização espacial das fibras de colágeno.

b) Avaliar a distribuição dos diâmetros das fibrilas de colágeno à microscopia eletrônica de transmissão.

- c) Avaliar a distribuição das fibras constituintes do sistema elástico (elásticas propriamente ditas, elaunínicas e oxitalânicas)
- d) Avaliar a espessura dos enxertos de pele.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Pele

A pele recobre o corpo, sendo constituída por uma porção epitelial de origem ectodérmica, epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, derme⁴¹.

A pele é o maior órgão do corpo humano, corresponde a 16% do peso corporal, variando de 0,2 m² no recém-nascido a 2,0 m² no indivíduo adulto. Histologicamente apresenta duas camadas altamente especializadas e unidas (epiderme e derme) que são atravessadas por diversos apêndices, como glândulas sudoríparas, sebáceas e pelos; na derme encontra-se uma rede de capilares sanguíneos. A epiderme, de origem ectodérmica, é a camada mais superficial e evita a perda de líquidos, serve como barreira de proteção entre o meio interno e o externo, dificultando a invasão bacteriana ou fúngica. A derme, porção conjuntiva de origem mesodérmica, confere resistência e elasticidade desempenhando diversas funções⁴¹:

- Proteção contra desidratação e atrito, graças a camada queratinizada além de colaborar na regulação de eletrólitos do corpo.
- Sensibilidade, através de suas terminações nervosas, recebe estímulo constante sobre o meio ambiente e os envia ao sistema nervoso central. Entre eles dor, temperatura ou pressão.
- Termorregulação do corpo, através de seus apêndices, previne a perda de calor assim como promove o resfriamento do corpo, através do

controle da evaporação de líquidos pelas glândulas sudoríparas e vasodilatação.

- Proteção contra raios ultravioletas, o pigmento melanina, produzido nos melanócitos, protege a pele contra a ação nociva dos raios ultravioletas.
- Função imunológica, previne a entrada de microorganismos e apresenta células do sistema de defesa que atuam em eventual invasão.
- Produção de vitamina D.

3.1.1 Epiderme⁴¹

É constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado varia de 0,05 mm de espessura, em áreas com pálpebras a 1 mm ou mais em áreas como a planta dos pés. As células mais abundantes nesse epitélio são os queratinócitos. A epiderme apresenta ainda outros três tipos de células, os melanócitos, as células de Langerhans e as células de Merkel.

A partir da derme para a superfície, a epiderme apresenta as seguintes camadas: basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea.

A camada basal repousa sobre a membrana basal, que separa a derme da epiderme. É rica em células tronco da epiderme e é também conhecida como camada germinativa, por apresentar intensa atividade mitótica, sendo responsável junto da camada espinhosa pela renovação da epiderme. Esta renovação ocorre a cada 15 a 30 dias, dependendo do local e idade da pessoa.

A camada espinhosa é a responsável pela resistência ao atrito da pele. É formada por células cuboides que apresentam expansões citoplasmáticas que contém feixes de queratina, chamados de tonofilamentos. Essas expansões se aproximam e se mantêm unidas com as das células adjacentes por meio de desmossomos, o que confere a cada célula o aspecto espinhoso.

A camada granulosa é assim chamada por apresentar em seu citoplasma grânulos basófilos ou grânulos de querato-hialina e grânulos lamelares. Esta camada é responsável por criar uma barreira impermeável na pele, impedindo a desidratação do organismo.

A camada lúcida, pouco evidente na pele fina, apresenta células onde seu núcleo e organelas foram digeridos por enzimas dos lisossomos, sendo seu citoplasma rico em filamentos de queratina.

A camada córnea é formada por células mortas, sem núcleo e com citoplasma cheio de queratina que formam placas e descamam continuamente. Nesta camada, os tonofilamentos se aglutinam com a matriz formada pelos grânulos de querato-hialina. Nessa etapa da diferenciação, os queratinócitos estão transformados em placas sem vida e descamam continuamente.

Deve-se lembrar que em função da espessura da pele, algumas destas camadas podem não aparecer, na pele mais fina, em geral tende a desaparecer as camadas granulosa e lúcida.

3.1.2 Derme⁴¹

Normalmente, a derme tem a espessura da epiderme à qual se relaciona. A espessura média da pele é de 1 mm a 2 mm. Também fazem parte da pele os anexos dérmicos, formados por pelos, unhas, glândulas sudoríparas, sebáceas e mamárias.

É o tecido conjuntivo em que se apoia a epiderme. Sua superfície externa é irregular, observando-se saliências, as papilas dérmicas, que acompanham as reentrâncias correspondentes da epiderme. Estas reentrâncias aumentam a superfície de contato com a epiderme aumentando a união das duas camadas. É formada por células e matriz extracelular. É dividida em uma camada fina, superficial, chamada papilar e uma espessa, profunda, chamada de reticular e uma grande rede de vasos abaixo da derme, conhecido com plexo subdérmico, dá origem a múltiplos vasos em direção a epiderme que formam entre a derme reticular e papilar uma nova rede de vasos chamada de plexo dérmico. Outros vasos partem desta rede ainda em direção da epiderme e forma abaixo dela o plexo papilar. Estes vasos são os responsáveis pela nutrição e oxigenação da derme e epiderme. Outras estruturas encontradas na derme são os vasos linfáticos, folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas e nervos.

A camada papilar é delgada, constituída por tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas. Nesta camada foram descritas fibrilas especiais de colágeno (colágeno tipo VII), que se inserem por um lado na membrana basal e pelo outro penetram na derme. Essas fibrilas contribuem para prender a derme à epiderme.

A camada reticular é mais espessa, constituída por tecido conjuntivo denso. Ambas as camadas contêm muitas fibras do sistema elástico, responsáveis, em parte, pela elasticidade da pele.

3.2 Tecido Conjuntivo

Os tecidos conjuntivos são responsáveis pela definição e manutenção das formas no corpo. Funcionam, principalmente, por meio de seus componentes extracelulares, o que os diferem dos demais tecidos, sendo este, o componente principal e mais abundante. São estruturas biológicas complexas, formadas por uma variedade de componentes químicos distintos. Esses tecidos contêm colágeno, glicosaminoglicanos, fibras elásticas, células, água e minerais. A quantidade relativa de cada um dos componentes varia significativamente em cada tipo de tecido conjuntivo e também em função da idade. Além de fornecer o suporte estrutural para os tecidos, a matriz extracelular constitui importante meio pelo qual transitam informações entre as células, participando direta ou indiretamente de uma série de processos que incluem morfogênese, diferenciação e migração celular. O tecido conjuntivo também participa ativamente nos processos de reparo e fibrose, quando ocorrem interações dinâmicas e complexas entre os elementos matriciais⁴².

Os tecidos conjuntivos originam-se no mesênquima, que se origina, principalmente, do folheto embrionário intermediário mesoderma. São responsáveis pelo estabelecimento e sustentação da forma do corpo, isto se deve a matriz extracelular que conecta as células e as estruturas corporais. É composto por células, fibras e substância amorfa, sendo a matriz extracelular o principal componente⁴¹.

3.2.1 Matriz extracelular

É composta por diferentes combinações de proteínas fibrosas e substância fundamental. Além da função estrutural, desempenha diversos papéis biológicos, como armazenamento de hormônios, difusão de nutrientes e catabólitos para as células.

Substância fundamental amorfa

A substância fundamental amorfa é um complexo viscoso e altamente hidrofílico de macromoléculas aniônicas (glicosaminoglicanos e proteoglicanos) e glicoproteínas (principalmente laminina e fibronectina) que se ligam a proteína integrina presente na superfície das células, fornecendo força tênsil e rigidez à matriz⁴¹, preenche os espaços entre as células e fibras do tecido conjuntivo. Por ser viscosa, atua como lubrificante e barreira a entrada de microorganismos. É composta basicamente por macromoléculas e pela água ligada a elas (água de solvatação). As macromoléculas da substância fundamental podem ser agrupadas em duas classes principais: os glicosaminoglicanos e as glicoproteínas estruturais. Por ligarem-se a proteínas receptoras na superfície das células, assim como em outros componentes da matriz, fornecem força tênsil e rigidez a matriz extracelular, também desempenham papel na difusão de nutrientes e catabólitos entre as células e o sistema sanguíneo⁴¹.

Os glicosaminoglicanos são polímeros lineares formados por unidades repetidas de dissacarídeos em geral compostas de ácido urônico e de uma hexosamina. Com exceção do ácido hialurônico, todas estas cadeias lineares são ligadas covalentemente a um eixo proteico, formando a molécula de

proteoglicano. Devido à abundância de grupos hidroxila, carboxila e sulfato nas cadeias de carboidratos encontradas na maioria dos glicosaminoglicanos e proteoglicanos, suas moléculas são intensamente hidrofílicas. Os proteoglicanos são estruturas altamente hidratadas por uma espessa camada de água de solvatação que envolve a molécula de modo que estes se apresentam em solução aquosa. Nesta forma hidratada são altamente viscosos e preenchem grandes espaços nos tecidos.

Segundo sua estrutura química, os glicosaminoglicanos se dividem em: a) condroitim sulfato, encontrado em ossos e cartilagens; b) dermatam sulfato, encontrado na pele, tendões, fâscias, adventícia das artérias; c) ácido hialurônico, responsável pela viscosidade da substância fundamental amorfa, estando presente em locais em que atuam como lubrificantes (líquido sinovial), amortecedores de choques (núcleo pulposo dos discos intervertebrais) e preenchendo cavidades (humor vítreo); d) queratam sulfato, observado no estroma da córnea e em cartilagens de indivíduos senis; e) heparam sulfato, presente no pulmão, músculo liso, túnica íntima da aorta; f) heparina, sintetizada e armazenada por mastócitos teciduais, não sendo encontrada como um componente da matriz extracelular⁴².

Os proteoglicanos também podem formar interações com o colágeno e elas interferem nas propriedades físico-químicas dos tecidos conjuntivos e, portanto, têm implicações fisiológicas importantes. Os tecidos que apresentam principalmente colágeno do tipo I possuem menores quantidades de proteoglicanos quando comparados àqueles contendo somente colágeno tipo II, enquanto tecidos cujo maior constituinte fibrilar é o colágeno tipo III

contêm níveis intermediários de proteoglicanos⁴¹⁻⁴³.

As funções dos glicosaminoglicanos estão fundamentalmente relacionadas à sua estrutura polianiónica, uma consequência do grande número de grupamentos sulfato e carboxila na porção glicosídica destas moléculas. Em soluções que contêm glicosaminoglicanos, as cadeias polissacarídicas repelem-se eletrostaticamente umas às outras, e como resultado dispersam-se uniformemente e preenchem todo o espaço disponível. Este comportamento é diretamente responsável por uma das principais funções dos glicosaminoglicanos, a de ocupar espaços circundando e encapsulando as células do tecido conjuntivo e as fibras extracelulares⁴².

3.2.2 Células do tecido conjuntivo⁴¹

Diversas células compõem o tecido conjuntivo, algumas produzidas no próprio local e aí permanecendo, outras, como os leucócitos, oriundas de outros tecidos e que permanecem por tempo variado. Fazem parte do tecido conjuntivo as seguintes células: fibroblastos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos células adiposas e leucócitos.

Fibroblastos: São as células mais comuns no tecido conjuntivo. Responsáveis pela síntese do colágeno, elastina, glicosaminoglicanas, proteoglicanas e glicoproteínas. Também estão envolvidas na produção de fatores de crescimento, responsáveis pelo crescimento e diferenciação celular.

Macrófagos: Derivados dos monócitos, estão presentes na maioria dos tecidos. São os responsáveis pelo sistema fagocitário mononuclear. Na epiderme, são conhecidos como células de Langerhans.

Mastócitos: Amplamente distribuídos pelo corpo, sendo muito abundantes na derme, trato digestivo e respiratório. Responsáveis por armazenar mediadores químicos responsáveis pela resposta inflamatória. Desempenham papel fundamental na inflamação. Em sua superfície encontram-se receptores para imunoglobulina E. Estes anticorpos tem importante papel na imunidade celular.

Plasmócitos: Pouco frequentes no tecido conjuntivo normal. Tornam-se mais frequentes na presença de inflamação crônica, são responsáveis pela síntese de anticorpos.

Células adiposas: São células que se tornaram especializadas no armazenamento de energia na forma de triglicerídios. Podem ser encontradas isoladas ou em pequenos grupos no tecido conjuntivo, no entanto, a maioria delas forma grandes aglomerados, formando o tecido adiposo distribuído pelo corpo.

Leucócitos: São células especializadas em defesa imunológica que migram dos capilares e vênulas pós-capilares. Sendo intensificado durante as invasões de microorganismos. Auxiliando de maneira importante no processo inflamatório. Uma vez no tecido conjuntivo, os leucócitos não retornam para o sangue, com exceção dos linfócitos. Mesmo em situação normal, os tecidos conjuntivos contêm leucócitos. A inflamação é uma reação celular e vascular contra substâncias estranhas, como bactérias ou substâncias químicas irritantes.

3.2.3 Fibras do tecido conjuntivo

As fibras do tecido conjuntivo são formadas por proteínas polimerizadas alongadas. Os principais tipos são as colágenas, formadas pela proteína “colágeno” e as elásticas, formadas principalmente pela proteína elastina, que formam dois sistemas de fibras, o sistema colágênico e o sistema elástico, formado pelas fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas⁴³.

3.2.3.1 Sistema colágênico⁴⁴

As fibras do sistema colágeno pertencem a família das proteínas estruturais, conferindo rigidez, elasticidade e resistência à tensão em função das forças e necessidades exercidas pelo meio ambiente. São ricas em aminoácidos básicos e produzidas por diferentes tipos de células, sendo diferenciadas em função de suas composição química, o que lhes confere distintas características morfológicas. Cada tipo específico varia também em distribuição e função assim como nas patologias associadas. Os tipos de colágeno podem ser classificados em:

- Colágenos de fibras longas (Tipo I, II, III, V e XI): o Tipo I é o mais abundante, estando presente em ossos, dentina, tendões, cápsulas de órgãos e derme.
- Colágenos associados a fibrilas (Tipo IX, XII e XIV): são estruturas curtas que ligam as fibrilas de colágenos umas às outras e a outros componentes da matriz extracelular.
- Colágeno que forma rede (Tipo IV): é um dos principais componentes da lâmina basal, desempenhando papel na aderência e filtração.

- Colágenos de ancoragem (Tipo VII): ele forma as fibrilas que ancoram as fibras de colágeno Tipo I à lâmina basal.

São produzidos principalmente no tecido conjuntivo pelos fibroblastos, condroblastos e osteoblastos. Os principais aminoácidos envolvidos são a glicina, 33,5%, a prolina, 12% e a hidroxiprolina, 10%.

As fibrilas de colágenos se formam pela polimerização de unidades moleculares alongadas denominadas tropocolágeno, com 280 nm de comprimento e 1,5 nm de espessura e consiste em três subunidades arranjadas em tripla hélice. Todos os colágenos contêm o aminoácido glicina repetido a cada três posições na sequência. (Figura 3).

Figura 3 - Fibra de colágeno e sua ultraestrutura [Fonte: Bay Area Pelleve[§]].

[§] Disponível em: <<http://bayareapelleve.com/pelleve/collagen/>>. Acesso em: 13 fev 2016.

Nos colágenos Tipo I, II e III as moléculas de tropocolágeno se agregam em microfibrilas que se juntam para formar as fibrilas. Estas são finas e alongadas, medindo 20 nm a 90 nm de espessura podendo alcançar alguns micrômetros de comprimento. Apresentam estriações transversais causadas pela sobreposição de tropocolágeno que se repetem a cada 64 nm. Nos Tipos I e III, estas fibrilas se associam para formar fibras, estas mais espessas.

As fibras de colágeno Tipo III apresentam grande quantidade de glicoproteínas e glicosaminoglicanos associados a elas. São muito finas, de 0,5 μm a 2 μm . Sua disposição frouxa cria uma extensa rede flexível em órgãos sujeitos a mudanças fisiológicas de forma e volume, como as artérias, baço, fígado e útero. Também está presente em músculo liso, endoneuro e em órgãos hematopoéticos como baço, nódulos linfáticos, medula óssea vermelha e glândulas endócrinas.

3.2.3.2 Sistema elástico

Este sistema de fibras inclui as fibras elásticas propriamente ditas, as fibras elaunínicas e as oxitalânicas. A estrutura das fibras elásticas se desenvolve em três estágios sucessivos. No primeiro estágio, ocorre a deposição de um feixe de microfibrilas das fibras elásticas (estruturas alongadas, de aspecto tubular, medindo entre 10 e 12 nm de espessura). Posteriormente ocorre depósito de elastina em meio às microfibrilas, formando grumos. Conforme aumenta a quantidade de elastina, os grumos coalescem e formam um cilindro central eletrondenso, cercado por microfibrilas, característico das fibras elásticas propriamente ditas. A elastina é quem confere elasticidade aos tecidos, sem ela,

as estruturas ao serem submetidas ao estiramento, não retornariam a sua forma original. Em alguns locais anatômicos específicos, nota-se a presença de feixes de microfibrilas em tecidos maduros. Estas fibras nunca evoluirão para se transformar em fibras elásticas. Neste caso, ficaram conhecidas como fibras oxitalânicas. O mesmo ocorre para fibras formadas por um feixe de microfibrilas com grumos de elastina em tecidos maduros, que não constituem um estágio de evolução das fibras elásticas, estas fibras ficaram conhecidas como fibras elaunínicas. As fibras oxitalânicas na derme conectam o sistema elástico superficial à lâmina basal. As fibras elaunínicas também são encontradas na derme papilar, formando uma rede contínua com as fibras oxitalânicas superficiais e a rede mais profunda de fibras elásticas propriamente ditas⁴².

3.3 Processo de Reparação Tecidual Fisiológico

Cicatrização de feridas é um processo amplamente descrito na literatura, dinâmico e interativo envolvendo mediadores solúveis, células sanguíneas, matriz extracelular e células teciduais. É classicamente dividida em três fases: a fase inflamatória, a proliferativa ou de formação de tecido de granulação e, a de maturação ou remodelação dos tecidos; fases estas, que se sobrepõem ao longo do tempo. Existem ainda, autores que acrescentam a hemostasia como fase inicial⁴⁵.

3.3.1 Lesão

Todo processo cicatricial inicia com uma lesão e a criação de uma ferida. A ferida é definida como uma lesão no corpo que envolve tipicamente laceração ou quebra de uma membrana com danos aos tecidos envolvidos. Podem ser decorrentes de diferentes mecanismos ou forças térmicas que levam à interrupção da pele, dano ao tecido conjuntivo e vascular. Como decorrência tem-se o sangramento, exposição da matriz extracelular, endotélio e proteínas extravasculares. Estes elementos estimulam o início do processo de hemostasia. Todo o processo cicatricial se inicia com a hemostasia. Imediatamente após a lesão, ocorre a vasoconstrição e a formação do coágulo sanguíneo e a interrupção do sangramento. A hemostasia é alcançada com a ativação da cascata a coagulação⁴⁶.

3.3.2 Fase inflamatória

A lesão tissular provoca a ruptura dos vasos de sangue e extravasamento de componentes sanguíneos. O coágulo formado estabelece a hemostasia e fornece uma matriz extracelular provisória para a migração celular. As plaquetas presentes no coágulo além de formar o tampão hemostático secretam vários mediadores do processo cicatricial, como fator de crescimento derivado de plaquetas, que atraem e ativam os macrófagos e fibroblastos⁴⁷. Numerosos mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos são geradas pela coagulação, pela via do complemento e por células do tecido lesado. Estas substâncias recrutam os leucócitos inflamatórios para o local da

lesão⁴⁸.

Os recém-chegados neutrófilos limpam o tecido lesado de partículas estranhas e bactérias que são, então, eliminados com a escara necrótica ou fagocitado por macrófagos. Em resposta a fatores quimiotáticos específicos, tais como fragmentos de proteínas da matriz extracelular, fator de transformação de crescimento beta (TGF- β), e monócitos, estes também se infiltram no local da ferida e se transformam em macrófagos ativados que liberam fatores de crescimento como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento endotelial, que dão início a formação do tecido de granulação. Os macrófagos se ligam a proteínas específicas da matriz extracelular pelos seus receptores de integrina, uma ação que estimula a fagocitose de microrganismos e de fragmentos da matriz extracelular⁴⁹.

A adesão à matriz extracelular também estimula monócitos a se converterem em macrófagos inflamatórios ou reparadores. A adesão induz monócitos e macrófagos a expressar *Colony stimulating factor 1 receptor* (CSF1R), uma citocina necessária para a sobrevivência dos monócitos e macrófagos, fator de necrose tumoral (TNF) α , uma potente citocina inflamatória e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), um potente químico atraente e mitogênico para fibroblastos. Outras citocinas importantes expressada pelos monócitos e macrófagos são o fator de crescimento transformante alfa (TGF- α), a interleucina (IL)-1, TGF- β , e fator de crescimento semelhante à insulina I⁵⁰.

Figura 4 - Células envolvidas no processo cicatricial e seus produtos [Fonte: Modificado de Teller e White⁴⁶].

3.3.3 Epitelização

A reepitelização da ferida inicia dentro de horas após a lesão. Células epidérmicas oriundas dos apêndices epidérmicos removem rapidamente o coágulo sanguíneo e restos de matriz extracelular da ferida. Ao mesmo tempo, as células sofrem marcante alteração fenotípica que inclui retração dos tonofilamentos intracelulares; dissolução da maioria dos desmossomas intercelulares, que fornecem conexões entre as células; e a formação de filamentos citoplasmáticos de actina, que permitem o movimento celular^{9,11,12}.

Além disso, células epidérmicas e dérmicas não mais aderem-se umas às outras, devido à dissolução de ligações hemidesmosomais entre as células epidérmicas e da membrana basal, que permitem o movimento lateral das células epidérmicas. A expressão de receptores de integrina nas células epidérmicas lhes permite interagir com uma variedade de proteínas da matriz extracelular (por exemplo, fibronectina e vitronectina) que estão intercalados com colágeno tipo I do estroma e entrelaçados com fibrinas do coágulo na ferida^{10,13,14}. As células epidérmicas migram dissecando a ferida, separando a escara ressecada do tecido viável. O caminho da dissecação parece ser determinado pela matriz das integrinas que as células epidérmicas que migram expressam em suas membranas celulares⁵¹.

A migração das células epidérmicas entre a escara de fibrina e a derme colagenosa só é possível se houver ativação da plasmina e da colagenase. Isto ocorre pelo ativador de plasminogênio⁵².

Um a dois dias após a lesão, células epidérmicas na margem da ferida começam a proliferar ativamente por trás das células migratórias. Os estímulos para a migração e proliferação das células epidérmicas durante reepitelização ainda não foram determinados, mas existem várias possibilidades. A ausência de células vizinhas na margem da ferida (o efeito “borda livre”) pode assinalar tanto a migração como a proliferação das células epidérmicas. Liberação local de fatores de crescimento e aumento da expressão de receptores de fator de crescimento também podem estimular estes processos. Candidatos principais incluem o fator de crescimento epidérmico, fator de transformação de crescimento alfa e fator de crescimento

de queratinócitos. As características das células epidérmicas retornam ao seu original assim que elas estejam firmemente aderidas a membrana basal e umas às outras⁵³ (Figura 5).

Figura 5 - Fase inflamatória do processo cicatricial [Fonte: modificado de Singer e Clark⁵¹].

3.3.4 Fase proliferativa ou formação do tecido de granulação

Os eventos da fase inflamatória levam a limpeza da ferida, simultaneamente inicia-se o processo cicatricial com a reparação, que corresponde à fase proliferativa ou de formação do tecido de granulação, que irá durar do quarto ao 12º dia após a lesão tecidual. Inúmeros novos capilares são formados e dão ao tecido uma aparência granular. Macrófagos, fibroblastos e vasos sanguíneos vão em direção da ferida no mesmo

momento. Os macrófagos liberam os fatores de crescimento necessários para estimular a fibroplasia e a angiogênese. Os fibroblastos produzem a nova matriz extracelular necessária para o crescimento celular e os vasos sanguíneos são os responsáveis pelo transporte de nutrientes e oxigênio para sustentar o metabolismo celular. Os fatores de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-1, IL-2, IL-8, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), TGF- α , TGF- β e TNF- α em conjunto com a matriz extracelular estimulam os fibroblastos do tecido em ao redor da ferida a proliferam, que expressam receptores de integrina e migram para dentro da ferida^{51,54}.

As moléculas estruturais da recém-formada matriz extracelular, denominada matriz provisória, contribuem para a formação de tecido de granulação, proporcionando uma trama para a migração celular. Estas moléculas incluem fibrina, fibronectina, ácido hialurônico e colágeno tipo III. Os fibroblastos são responsáveis pela síntese, deposição e remodelação da matriz extracelular^{46,53}.

O movimento celular em direção a um coágulo de sangue, pode depender de um sistema proteolítico ativo que abra caminho para a migração celular. Uma variedade de enzimas derivadas de fibroblastos, além de derivados plasmáticos de soro, é candidata a esta tarefa, incluindo ativador de plasminogênio, collagenases, gelatinase A e estromelisina⁵⁵.

Além de mediar funções importantes na fibroplasia, PDGF e TGF- β desempenhar um importante papel na deposição de matriz extracelular. Ambos

estes fatores de crescimento estimulam os fibroblastos a produzir uma matriz provisória. A matriz é composta por fibroblastos e derivados de monômeros de colágeno, proteoglicanose e fibronectina. Juntas estas substâncias restabelecem a continuidade do tecido conjuntivo entre as bordas da ferida. A medida que a matriz é criada, também promove a estabilidade estrutural embora ocorra diminuição da atividade das proteases, aumentando inibidores teciduais das metaloproteinases, e aumentando a produção de proteínas de adesão celular^{56,57}.

Após a migração para a ferida, os fibroblastos iniciam a síntese de matriz extracelular. Esta matriz provisória é gradualmente substituída por uma matriz permanente de colágeno⁵⁸. Uma vez que uma quantidade abundante de colagénio tenha sido depositada na ferida, os fibroblastos param a sua produção e este tecido se torna uma cicatriz relativamente acelular. As células na ferida sofrem apoptose desencadeada por sinais pouco conhecidos. A desregulação destes processos ocorre em distúrbios fibróticos tais como a formação de cicatrizes patológicas⁵¹.

3.3.5 Síntese de colágeno e proteoglicanos

Apesar de existirem ao menos 20 tipos de colágeno no corpo humano, apenas dois são os mais importantes no processo cicatricial.

Colágeno do tipo I é predominante na pele intacta enquanto o colágeno do tipo III está presente em menores quantidades. A síntese de colágeno inicia-se horas após o ferimento. A ativação de fibroblastos para sintetizar o colágeno é derivada a partir de fatores de crescimento e do ambiente

metabólico dentro da ferida. A expressão gênica do colágeno é mediada por corticoides, TGF- β , e retinoides. O aumento da concentração de lactato e o meio ambiente hipóxico dentro da ferida também podem estimular a transcrição do gene do colágeno⁵⁹. Lactato converte *Nicotinamide adenine dinucleotide oxidized* (NAD⁺) a nicotinamida adenina dinucleótido (NADH). Isto esgota a disponibilidade de NAD⁺ para ser convertido em ribossoma difosfato de adenosina (ADPR). ADPR é um inibidor de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) de colágeno. Assim, uma redução em ADPR leva a um aumento na síntese de RNAm de colágeno. O RNAm transcrito (a transcrição do colágeno ocorre dentro do núcleo dos fibroblastos) é então traduzido e processado pelos ribossomas no citoplasma. A cadeia de polipeptídeo resultante tem um padrão triplo com um prolina ou lisina na segunda posição e uma glicina em cada terceira posição. Este protocolágeno tem cerca de 1.000 aminoácidos. Ao entrar no retículo endoplasmático, o protocolágeno sofre hidroxilação e glicosilação. O processo de hidroxilação requer a presença de cofatores (oxigênio e ferro), cosubstrato (α -cetoglutarato), e um doador de elétron (ácido ascórbico). A ligação de hidrogênio é alterada na cadeia protocolágeno hidroxilada e glicosilada, resultando em uma alfa-hélice. O protocolágeno torna-se pró-colágeno, com três cadeias α -helicoidais que são enroladas juntas em uma super-hélice. O protocolágeno é montado no interior do complexo de Golgi e exportado para dentro da matriz extracelular. Dentro do espaço extracelular, uma peptidase de protocolágeno cliva as extremidades das cadeias, permitindo também a polimerização. A formação de uma ligação covalente aumenta a resistência do colágeno resultante⁶⁵.

Além do colágeno, os fibroblastos produzem e secretam glicosaminoglicanos.⁵¹ Tipicamente, se ligam a um eixo proteico para se tornar, cadeias de polissacáridos sulfatados conhecidos como proteoglicanos. Devido à grande quantidade de carga negativa, atraem inúmeros cátions, sendo o mais atraído o sódio, que traz com ele uma molécula de água. Essa característica de atrair cátions e consequentemente água é que confere a sua característica hidratada. Como a matriz de colágeno substitui o coágulo de fibrina, proteoglicanos fornecem um papel de apoio para a montagem de fibrilas de colágeno⁴⁶.

3.3.6 Neovascularização

A formação de vasos na ferida é necessária para sustentar o tecido de granulação recém-formado. A angiogênese é um processo complexo que depende da matriz extracelular assim como da migração celular e crescimento endotelial⁶¹.

A indução da angiogênese foi inicialmente atribuída ao fator de crescimento de fibroblastos. Outras moléculas também foram identificadas como tendo atividade angiogênica, como o fator de crescimento vascular endotelial, angiogenina, angiotrofina, angiopoietina 1 e trombospondina, para citar apenas algumas^{62,63}. Baixa tensão de oxigênio e elevado ácido láctico também podem estimular a angiogênese⁶⁴. A ação destas moléculas citadas parece estar relacionada com a indução da angiogênese pela estimulação da produção de fator de crescimento de fibroblastos e fator de crescimento endotelial por macrófagos e células endoteliais. Células epidérmicas da ferida secretam

grandes quantidades de fator de crescimento endotelial^{64,65}.

Fatores de crescimento de fibroblastos parecem estar relacionados com a angiogênese nos primeiros três dias enquanto o fator de crescimento endotelial parece estar relacionado com o crescimento vascular durante a formação do tecido de granulação a partir do quarto dia até o sétimo. Quantidades crescentes de fibronectina depositada pelas células endoteliais parecem agir como caminho para o crescimento endotelial na ferida⁶⁶.

A série de acontecimentos que levam à angiogênese provavelmente ocorre da seguinte maneira, 01) lesão provoca a destruição do tecido e hipóxia; 02) fatores de angiogênese, tais como o fator de crescimento de fibroblastos são liberados imediatamente a partir de macrófagos após a ruptura celular, e a produção do fator de crescimento celular endotelial vascular pelas células epidérmicas é estimulada por hipóxia; 03) as enzimas proteolíticas liberadas no tecido conjuntivo degradam as proteínas da matriz extracelular; 04) fragmentos destas proteínas recrutam no sangue periférico monócitos para a lesão, em que se tornam ativados e macrófagos liberam fatores de angiogênese; 05) certos fatores de angiogênese de macrófagos, tais como o fator de crescimento de fibroblastos, estimulam células endoteliais para liberar o ativador do plasminogênio e procolagenase; 06) ativador do plasminogênio converte plasminogênio em plasmina e procolagenase à colagenase ativa, e em conjunto estas duas proteases digerem as membranas basais. A fragmentação da membrana basal permite que as células endoteliais estimuladas por fatores angiogênicos migrem e formem novos vasos sanguíneos no local da ferida (Figura 6). Uma vez que a ferida é

preenchida com o tecido de granulação, angiogênese é interrompida e muitos dos novos vasos sanguíneos são degradados como resultado de apoptose⁶⁷. Esta morte celular programada, provavelmente, é regulada por uma variedade de moléculas da matriz extracelular, tais como thrombospondins (TSP) 1 e 2, e fatores angiogênicos, como angiostatina, endostatina, e angiopoietina^{268,69}.

Figura 6 - Reepitelização e neovascularização no processo cicatricial [Fonte: modificado de Singer e Clark⁵¹].

3.3.7 Fase de maturação ou remodelação dos tecidos

A última fase do processo cicatricial envolve uma complexa interação entre as células, matriz extracelular e citocinas. Durante a segunda semana do processo cicatricial, fibroblastos assumem o fenótipo de miofibroblastos com

grandes quantidades de feixes de actina contendo microfilamentos dispostos ao longo da membrana citoplasmática⁵⁸. O surgimento do miofibroblasto corresponde ao início da contração da ferida e que provavelmente decorre da estimulação pelo fator de crescimento $\beta 1$ ou $\beta 2$, fator de crescimento derivado de plaquetas, conexões entre os fibroblastos e a matriz extracelular através dos receptores de integrina e ligações cruzadas entre as bandas de colágeno⁷⁰⁻⁷².

A remodelação do colágeno, durante a transição entre tecido de granulação e cicatriz, é dependente da continua síntese e degradação do colágeno a baixa velocidade. A degradação do colágeno na ferida é controlada por várias enzimas proteolíticas denominadas metaloproteinases de matriz, que são secretadas por macrófagos, células epidérmicas e células endoteliais, bem como fibroblastos⁵⁵. As várias fases da reparação da ferida vão depender de combinações distintas de metaloproteinases e seus inibidores⁷³.

Na derme de tecidos não lesados, o colágeno tipo I corresponde de 80% a 90% e o tipo III de 10% a 20%, já no tecido reparado, em sua fase inicial, o tipo III corresponde a 30% do total. Esta proporção aumentada do colágeno tipo III contribui para a baixa resistência a tensão da cicatriz e permitem a migração das células. Colagenases e proteases quebram e degradam estas fibras de colágeno e ocorre a substituição deste colágeno por outro mais grosso, resistente e organizado. Com o tempo a proporção das fibras colágenas tende à da pele não lesada. Após três semanas, alcança-se 30% da resistência normal e com três meses, a cicatriz, alcança o máximo de sua resistência, que corresponde a 80% da resistência da pele não lesada^{46,74}.

Ilustração demonstrando as fases cicatriciais e a produção de matriz (Figura 7).

Figura 7 - Fases da cicatrização de feridas [Fonte: Modificado de Teller e White⁴⁶].

3.4 Reparação Cicatricial Anormal

A cicatrização das feridas é um delicado processo controlado pelo organismo, com envolvimento de células e mediadores químicos diversos. Quando erros neste processo ocorrem, pode ocorrer a formação de cicatrizes patológicas como os queloides e cicatrizes hipertróficas. Os termos cicatriz hipertrófica e quelóide são frequentemente usados como sinônimos, que podem levar à identificação e diagnóstico clínico incorretos, resultando em esquemas terapêuticos equivocados. No entanto, existem muitas diferenças

clínicas, patológicas e bioquímicas que sugerem que estas estruturas são distintas uma da outra⁷⁵.

Nas cicatrizes hipertróficas, o processo cicatricial inicia normalmente, mas a deposição de matriz extracelular permanece por um longo período. Elas são tipicamente nas cores vermelha ou rosa, muitas vezes pruriginosas, elevadas, mas se mantêm dentro dos limites da ferida original. Os primeiros sintomas demoram várias semanas após o início do processo cicatricial. O decurso de tempo é consideravelmente prolongado em comparação com o ciclo de cicatriz normal. No entanto, depois de um rápido aumento no tamanho, uma fase estática começa e que passa espontaneamente para um período de regressão. O processo de maturação das cicatrizes hipertróficas pode levar anos^{75,76}.

Em contraste, os queloides não seguem o mesmo padrão de evolução, estabilização e involução. O quelóide pode aparecer imediatamente após o início do processo cicatricial ou após anos da lesão. Apesar de terem uma reação menos intensa que a cicatriz hipertrófica, a continua e indefinida proliferação supera o crescimento delas e excede em tamanho. Como resultado, os queloides são exuberantes, eritematosos, crescem além dos limites da lesão original e raramente regride ao longo do tempo. Podem ainda ser dolorosos (46% dos casos) e pruriginosos (86% dos casos). Quando se torna inativo, para de crescer mas permanece elevado⁷⁷⁻⁸¹.

A formação de cicatrizes é influenciada por uma série de fatores, como localização, patogênese (trauma, queimadura, cirurgia), cuidados profiláticos (técnicas cirúrgicas, radioterapia ou infiltração com corticosteroides), doenças

crônicas, sexo, idade, raça, tipo de pele ou até mesmo estilo de vida (exposição solar, tabagismo). Os queloides afetam indivíduos de pele mais escura aproximadamente 15 vezes mais do que os caucasianos, sugerindo um fator genético, afetando cerca de 15% a 20% da população afro americana e hispânica. Ocorrem tipicamente entre as idades de 10 a 30 anos, são raros nos extremos de idade. Embora não haja uma predileção por sexo, pode regredir na menopausa ou piorar na gestação^{75,82}.

Quadro 1 - Principais diferenças entre cicatrizes hipertróficas e queloides.⁷⁵

Incidência	Queloide	Cicatriz hipertrófica
Incidência	rara	frequente
Tipo de pele associada	Prevalência maior em populações de pele escura	Nenhuma
Local típico	Qualquer local, mais frequente em esterno e lobo da orelha	Qualquer local
Regressão espontânea	Não	Frequente
Recorrência após tratamento cirúrgico	Alta	Baixa
Limitação da lesão	Avança nos tecidos vizinhos	Restrito ao local original
Orientação das fibras de colágeno	Fibras largas, grossas, mais onduladas, orientação randômica	Orientação paralela à superfície epidérmica
Miofibroblastos	Não	Nódulos abundantes
Colágeno	Aumento na relação do colágeno tipo I para tipo III	Prevalência do colágeno tipo III
Alfa (I) - Procolágeno	Aumento da transcrição gênica e síntese proteica	Aumento concentração do RNAm com compensação à nível postranscripcional
Incidência	rara	frequente

Histologicamente, queloides invadem a derme normal circundante, uma nítida diferença com as cicatrizes hipertróficas, que permanecem dentro dos limites das fronteiras da ferida. Em queloides, as fibras colágenas são maiores, mais espessas, onduladas e orientadas a esmo. As fibras de colágeno em cicatrizes hipertróficas e cicatrizes normais são orientados paralelamente à superfície epidérmica. As fibras colágenas em queloides são dispostas em feixes de colágeno grossas que são embalados firmemente dentro da derme, onde há uma falta de glândulas sebáceas e papilas epidérmicas. Estes feixes de colágeno são pobres em células, como os miofibroblastos. Cicatrizes hipertróficas formam nódulos fibrosos compostos de fibroblastos, de fibras colágenas tipo III e vasos. Em contrapartida, queloides formam nódulos com vascularização reduzida e uma aparência hipocelular. Este núcleo acelular dentro dos queloides é caracterizado por feixes grossos de colágeno tipo I e tipo III intercaladas por fibroblastos^{75,83} (Quadro 1).

Apesar dos avanços no conhecimento histológico de queloides, sua patogênese exata e etiologia ainda não estão claros. Diversas teorias têm sido usadas para explicar o seu desenvolvimento, certamente nenhuma explica isoladamente o fenômeno e sim uma combinação delas. Pode-se citar as teorias da isquemia, das células mastócitos, imunológica, do TGF-beta, mecânica, interação epiderme-derme, hormônio estimulante do melanócito, biologia molecular e genética⁸⁴.

Teoria imunológica

Cohen *et al.*⁸⁵ sugerem a associação entre o grupo sanguíneo A e o antígeno leucocitário humano (HLA) B14, 21, BW35, DR5 e DQW3 em

pacientes portadores de queloides apontando para uma resposta imunológica anormal, associada a elevada incidência de resposta imunológica alterada nestes pacientes com elevados níveis de imunoglobulina E. Também foram identificados alterações nos níveis de complemento, imunoglobulina G e M, sugerindo um estado imunológico geneticamente alterado que predisporia a formação dos queloides^{86,87}.

Teoria dos fatores de crescimento

Elevados níveis de TGF- β e PDGF são encontrados nos queloides, a atividade aumentada destes fatores de crescimento parece estar relacionada a expressão aumentada de seus receptores⁷⁵. TGF- β estimula fibroblastos a produzir e depositar colágeno na matriz extracelular, também induz a produção de PDGF, que é um dos responsáveis por controlar a taxa de formação de tecido de granulação e estimula a produção de colágeno nas fases tardias do processo cicatricial⁷⁵. Além disso, há diminuição da colagenase, do ativador do plasminogênio e das metaloproteinases, o que poderiam explicar a formação dos queloides.

A família de TGF- β de fatores de crescimento funciona mediada por uma resposta através do sistema intracelular Smad. A ativação de receptores Smad^{**} regulam a produção de matriz extracelular. Há uma série de ativadores Smad, um deles é conhecido como inibidores, o I-Smad, o equilíbrio entre o Smad e o I-Smad pode ser uma das causas da formação de queloides⁸⁸.

^{**} Smad - Proteína intracelular que converte sinais extracelulares do TGF- β para ativação da transcrição de gene.

Teoria da biologia molecular

A nível molecular, existe regulação positiva da hidroxilase de prolina, collagenase, alfa-1-antitripsina e alfa-2-macroglobulina (inibidores de proteinase intersticiais), e níveis de condroitina-4-sulfato. A atividade de prolina hidroxilase aumentada é *pari passu* com atividade de collagenase aumentada em quelóides⁸⁴.

Teoria genética

Diversos padrões de hereditariedade foram identificados nos queloides, predominantemente autossômicos dominantes, ligações genéticas (cromossomos 2q23 e 7p11), diversos alelos HLA (HLA-DRB1*15, HLA-DQA1*0104, DQ-B1*0501, DQB1*0503 entre outros) e pelo menos 25 genes desregulados relatados em vários estudos de microarranjos de ácido desoxirribonucléico (DNA)⁸⁹. Berman⁹⁰ reportou que o principal caminho para o desenvolvimento dos queloides é a apoptose, proteínquinases ativadas por mitógenos, TGF- β , interleucina 6 e inibidor de ativador de plasminogênio. Provavelmente mais de um gene está envolvido no aumento de susceptibilidade de formação de queloides⁸⁴.

3.5 Sequela de Queimadura

Assim que é terminado o tratamento da chamada fase aguda, isto é, não se tem mais lesões cruentas ou feridas, tampouco alterações clínicas que necessitem de internação ou acompanhamento, o paciente passa para a fase de acompanhamento que é chamado de tratamento das sequelas causadas

pelas queimaduras. Não há na literatura definições cristalinas sobre o que são, mas o senso comum as define como alterações indesejados na pele secundárias a uma queimadura.

3.5.1 Classificação

A Classificação Internacional das Doenças (CID) encontra-se em sua 10ª edição (2006) é editada pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Define sequela como “*efeito residual (condição produzida) após a fase aguda de uma doença ou de lesão que tenha terminado*”. Não apresenta códigos ou definições específicas para sequelas de queimaduras⁹⁹.

A severidade da lesão e a deformidade causada por uma queimadura varia de leve ou inexistente a severa. Mesmo lesões leves podem causar severas alterações psicológicas e sociais. As maiores preocupações estão relacionadas sempre à função, seja física ou psicológica. Cicatrizes normais ou patológicas, contraturas cicatriciais, perda de parte do corpo, alterações de textura e cor são processos típicos e únicos aos pacientes vítimas de queimaduras⁹².

Em geral, os pacientes esperam que os resultados do tratamento cirúrgico sejam esteticamente agradáveis, bem como funcionalmente correto. Talvez mais do que outros pacientes, as suas expectativas quanto ao que querem e desejam frequentemente vão muito além das possibilidades reais das técnicas disponíveis na medicina.

Apesar de diversos tipos de sequelas, como alterações de cor e textura, na maioria das vezes, estão nos referindo as contraturas cicatriciais e

cicatrizes patológicas. O seu entendimento é fundamental para a sua prevenção. Aparentemente, o processo cicatricial normal inicia e não é interrompido, assim, a contração normal da ferida, que é um processo fisiológico, continua e uma contração normal tornando-se em uma contratura e posteriormente uma cicatriz patológica com grave dano funcional⁹³.

Uma maneira de diminuir as contraturas e cicatrizes patológicas é diminuindo o tempo em que a contração normal das feridas ocorre reduzindo a intensidade da fase inflamatória antes de do início da fase proliferativa do processo cicatricial. Isto é alcançado através da excisão e enxertia precoce da queimadura⁹³.

O tratamento das sequelas de queimaduras inicia na fase aguda, procurando-se preveni-las o máximo possível. Assim, a adequada abordagem da queimadura em sua fase aguda é determinante, ainda que não infalível, na quantidade de sequelas resultantes. Deve-se lembrar que a janela de oportunidade para se realizar o adequado tratamento da fase aguda se encerra no momento em que não mais se tem ferida abertas. E que o tratamento do paciente queimado se encerra quando atingimos as expectativas do paciente ou se não houver mais nada a oferecer^{5,92}.

O correto manejo das sequelas de queimaduras deve incluir uma equipe multidisciplinar, assim, faz parte desta equipe o cirurgião, o terapeuta ocupacional, o fisioterapeuta, o psicólogo, o enfermeiro, o assistente social e qualquer outro profissional que se faça necessário para garantir um tratamento global do paciente^{94,95}. O posicionamento realístico da situação deve ser colocado. Frequentemente pacientes em início do tratamento

perguntam “*quando as cirurgias plásticas irão iniciar?*”, esta falta de compreensão da realidade pode ser catastrófica para o paciente⁹⁶.

Se possível, a reconstrução é adiada até as cicatrizes amadureceram, o que varia de paciente para paciente, mas em geral aguardar de seis meses a um ano é necessário. Frequentemente, isto não é possível se a deformidade for progressiva ou que provoque um severo déficit funcional. Nestes casos, a reconstrução é iniciada precocemente. O planejamento cirúrgico é vital. O correto diagnóstico de uma deficiência de tecido pode ser o passo mais importante na reconstrução. O plano cirúrgico envolve recriar a perda de tecido inicial e, em seguida, a adição de tecido apropriado. As reconstruções deverão ser efetuadas por fases, com as prioridades dadas a determinadas áreas anatômicas⁹⁷.

A determinação das prioridades de tratamento é fundamental para o sucesso do mesmo. Não há uma regra única e a escolha é feita em função de cada caso. Em geral deve-se iniciar tratando as sequelas de caráter funcional, mas não se pode negligenciar os aspectos não funcionais, que por vezes, se apresentam como mais importantes aos pacientes. Há procedimentos que são urgentes, outros que são necessários e outros que são desejados⁹².

Procedimentos urgentes são aqueles em que não se deve aguardar a fase de maturação da cicatriz pois uma estrutura nobre está severamente comprometida. Seu objetivo primordial é a correção da função e a prevenção de complicações secundárias a ela, como o ectrópio secundário a uma retração palpebral, que pode levar a úlcera de córnea ou ainda, uma microstomia severa, que pode levar a desnutrição em crianças⁹⁷.

Procedimentos necessários são aqueles que embora não sejam urgentes, uma vez que estruturas importantes não estão em risco, se fazem necessários para que os resultados quanto a função e aparência tenham a médio e longo prazo melhor evolução. Assim, enquadram-se nesta categoria as cicatrizes patológicas, contraturas e outras alterações que embora não sejam incapacitantes, dificultam a vida diária^{5,92}.

Procedimentos desejados são os mais comuns. Encaixam-se nesta categoria todas as alterações funcionais de pequena magnitude, como cicatrizes patológicas e pequenas contraturas cicatriciais e não funcionais, conhecidas e chamadas como alterações estéticas, assim têm-se as alterações de cor, textura e perda de pelos. Muitas destas alterações melhoram ou até mesmo desaparecem ao longo dos primeiros anos, desta maneira, um procedimento inicialmente maior é substituído por um menor ou até mesmo eliminado por completo^{5,92}.

Deve-se ainda lembrar que o momento correto de se realizar um tratamento cirúrgico dependerá de outros fatores como condições sociais, econômicas e psicológicas. A decisão cirúrgica deve ser sempre em conjunto, entre a equipe e o paciente. Uma decisão incorreta pode levar a perda de confiança e quebra da relação médico paciente e consequentemente maus resultados no tratamento das sequelas de queimaduras⁹⁷.

3.5.2 Tratamento cirúrgico

Diversos tratamentos são utilizados no dia a dia do tratamento das sequelas de queimaduras. O arsenal completo da cirurgia plástica está

disponível, o que transforma esta área numa das mais amplas de toda a cirurgia plástica⁹⁷.

As técnicas utilizadas vão depender essencialmente da deficiência ou não de tecidos. Pode-se resumi-las da seguinte maneira:

- Sem deficiência de tecidos
 - Excisão e fechamento primário
 - Plástica em “Z” e suas variantes
- Com deficiência de tecidos
 - Reconstrução simples
 - Enxerto de pele
 - Retalhos de transposição
 - Reconstruções complexas
 - Retalhos axiais e randômicos
 - Retalhos miocutâneos
 - Expansor de tecidos
 - Retalhos livres

3.6 Enxerto de Pele

Em pacientes onde a deficiência de tecidos está presente, pode-se fazer necessário a utilização de enxerto de pele autógena. Amplamente utilizado em toda a cirurgia plástica, é o seu uso que permite salvar a vida de pacientes com queimaduras profundas extensas. Da mesma maneira, é utilizado como método de escolha no tratamento das sequelas de queimaduras em diversas situações⁹⁸. Assim, na presença de uma contratura

cicatricial que ao ser liberada cria-se um defeito, um enxerto de pele poderá ser colocado para a cobertura da ferida criada. Também são utilizados na revisão de cicatrizes patológicas e enxertos com maus resultados. Podem ser de espessura parcial ou de espessura total. Os enxertos de espessura parcial, incluem a epiderme e parte da derme, já os de espessura total incluem a epiderme e a derme em sua totalidade⁵.

3.6.1 Enxerto de pele de espessura parcial

O enxerto de pele de espessura parcial pode ser fino, intermediário ou grosso, em função da quantidade de derme presente. O enxerto fino tende a contrair e apresentar alteração na coloração, resultando em uma qualidade de resultado pobre. Em geral tem até 0,009 polegadas de espessura. Sua área doadora cicatriza rapidamente sem deixar sequelas maiores, e podendo ainda servir para novas retiradas de enxertos. Os enxertos espessos, a partir de 0,018 polegadas de espessura, apresentam resultados melhores comparados com os finos, similares ao de espessura total, mas o local de onde foram retirados tende a evoluir mal ou até mesmo com cicatrizes patológicas. Os enxertos médios, situados no intervalo dos finos e dos espessos, são os mais usados no dia a dia. Definir a espessura do enxerto que se deseja em cada caso é muito difícil, pois cada paciente reage de uma maneira a ele, assim como retirar a exata espessura planejada do enxerto também é muito difícil, uma vez que depende de vários fatores como precisão do equipamento

(dermátomo), pressão colocada durante a retirada e do local da retirada. A regra geral diz, mais derme no enxerto, menor a tendência do enxerto mudar no pós-operatório^{5,99}.

As áreas doadoras irão restaurar a partir do apêndices dérmicos, glândulas sebáceas e sudoríparas e pelos. Quanto mais fino o enxerto, mais rapidamente a área doadora cura e com menor número de sequelas e complicações, sendo o inverso verdadeiro para os enxertos mais espessos¹⁰⁰.

As indicações do enxerto de pele de espessura parcial são cobertura de áreas de contratura liberadas, áreas de cicatrizes patológicas removidas, tratamento de áreas queimadas ou enxertadas despigmentadas ou com contorno ou textura ruim, fechamento de áreas doadoras de enxerto de pele espessos e fechamento de áreas doadoras de retalhos que não são passíveis de fechamento primário⁹⁹.

Os enxertos de pele total apresentam vantagens como menor contração, melhor coloração, melhor textura e elasticidade e menores complicações da área doadora, uma vez que seu fechamento é primário, por esta razão, há relativamente pouca área doadora para este tipo de enxerto. As áreas doadoras mais usadas são, região inguinal, supraclavicular, retro auricular, face interna do braço e pálpebra. As indicações mais frequentes deste tipo de enxerto são: correção de ectrópio, correção de cicatrizes patológicas da face, cobertura de áreas ou estruturas nobres e correção de alterações na mão. Devido a sua espessura, requerem um leito com boa vascularização e não toleram qualquer tipo de coleção, seja de sangue ou sérica, sobre o leito. Por estas razões, uma das principais complicações é a

epiteliólise e a necrose parcial do enxerto. Quando se necessita de uma maior quantidade de enxerto de espessura total, pode-se utilizar a expansão de pele para aumentar a quantidade de pele disponível. Este recurso, apesar de trabalhoso, é de grande valia em casos selecionados^{98,99,101}.

A integração do enxerto de pele é um processo biológico mediado por mecanismos celulares e hormonais, ainda não totalmente esclarecidos. É classicamente dividido em três fases, aderência, embebição e vascularização⁵.

3.6.2 Aderência

Quando um enxerto é colocado em um leito limpo, este rapidamente adere-se pelas ligações de fibrina entre o enxerto e o leito receptor. Inicialmente, a aderência é fraca e facilmente rompida por forças de tração, acúmulo de fluídos, como plasma ou sangue. Após três dias, o crescimento fibrovascular e a formação da rede de colágeno estabilizam o enxerto. A aderência é pior em leitos de feridas crônicas e contaminados, devido à qualidade do tecido de granulação e às proteases secretadas pelas bactérias^{98,99,102}.

3.6.3 Embebição plasmática

O significado exato da embebição plasmática permanece pouco claro. Alguns autores, como Pepper¹⁰³ e Hinshaw e Miller¹⁰⁴, acreditam que seja importante para a nutrição celular, no entanto outros autores, como Converse

et al.^{105,106} e Clemmensen^{107,108}, acreditam que sirva muito mais para prevenir o ressecamento do enxerto e manter seus vasos patentes¹⁰³⁻¹⁰⁸. No entanto alguns fatos parecem consenso. Os enxertos ganham cerca de 40% de seu peso original, a partir do movimento de fluidos a partir do leito receptor para o enxerto^{5,102}. Este edema faz parte do processo inflamatório¹⁰¹. Os enxertos permanecem isquêmicos em função do leito receptor, cerca de 24 horas em um leito com granulação jovem e cerca de 48 horas em um leito sem nenhuma granulação. Os enxertos toleram melhor esta fase quanto mais finos são, porque a difusão dos nutrientes é mais eficiente¹⁰⁶.

3.6.4 Revascularização

A revascularização é restabelecida por dois processos distintos. A chamada inosculação, onde as terminações dos capilares do leito e do enxerto são alinhadas e restabelecem uma rede vascular, a neovascularização. Este processo se inicia após 48 h às 72 h e completa entre o sétimo e o 10º dia^{105,109}. A circulação linfática é também restaurada após uma semana. Assim que o processo se estabelece, o edema e o volume característico desaparecem^{110,111}.

O processo de reinervação inicia-se com duas a quatro semanas após a enxertia e ocorre através do crescimento de fibras nervosas dentro do enxerto a partir do leito receptor e das regiões vizinhas, podendo levar de meses a anos para completar¹¹².

3.7 Substitutos Cutâneos

Skin is a truly amazing organ, rarely properly appreciated until it is missing¹¹³.

A excisão precoce da escara da queimadura e do seu fechamento melhora significativamente a sobrevida de pacientes com queimaduras graves. A pronta excisão pode reduzir a morbidade e mortalidade, o tempo de permanência hospitalar e os custos médicos¹¹⁴.

Uma vez que este conceito se estabeleceu, houve uma evidente corrida na direção de coberturas cutâneas. O auto-enxerto de pele parcial é evidentemente a cobertura cutânea mais próxima do ideal, no entanto, sua carência, especialmente em pacientes grandes queimados levou à busca de novos materiais. Os chamados substitutos cutâneos¹¹³.

Substitutos cutâneos (SC) são produtos de engenharia de tecidos desenhados para repor, tanto temporariamente quanto permanentemente, a forma e as funções da pele¹¹⁵. Os SC são usados frequentemente em úlceras crônicas, como úlceras diabéticas ou varicosas e feridas traumáticas. Estas feridas contribuem tanto para o aumento da morbidade como para o aumento do risco de infecção, amputação de membros e morte. Os SC têm o potencial de melhorar a cicatrização e reduzir as complicações associadas às feridas¹¹⁶.

O SC ideal apresenta características similares a pele humana. Assim, teria como características: prevenir à perda de água, servir como barreira contra bactérias, ser barato, poder permanecer armazenado por longos períodos, poder ser aplicado em apenas um procedimento, não se tornar hipertrófico, ser flexível, poder ser aplicado em superfícies irregulares, não requerer refrigeração para ser armazenado, não transmitir doenças, não piorar a resposta inflamatória sistêmica, ser durável, ser de fácil acesso e

crescer com o corpo¹¹⁵.

Diversas classificações foram propostas para os substitutos cutâneos^{12,117-119}, uma das mais utilizadas foi descrita por Balasubramani *et al.*¹⁵, em 2001, e que foi modificada por Kumar¹⁶, em 2008. Balasubramani *et al.*¹⁵ classificaram os SC em três classes, baseadas na estrutura da pele que o SC mimetizaria, Classe I, substitutos que equivaleriam a epiderme, Classe II, a derme e Classe III, substitutos de pele que possuem componente dérmico e epidérmico. Já Kumar¹⁶ criou uma nova classificação, também com três classes de materiais.

Classe I, curativos temporários impermeáveis. Não apresentam nenhuma camada similar a epiderme ou a derme. Funcionam como barreira mecânica contra a invasão bacteriana, reduzem a perda de água por evaporação e ajudam a manter o ambiente úmido para melhorar o processo cicatricial.

a) Materiais de camada única:

- Membranas naturais: membrana amniótica.
- Membranas sintéticas: lâmina de polímeros sintético (Tegaderm, Opsite, Dermafilm).

b) Materiais de camada dupla:

- Membrana de polímero com camada de colágeno, proteínas da matriz e fatores de crescimento produzidos por fibroblastos de recém-nascidos (Transcyte).

Classe II, substitutos cutâneos de camada única permanentes. Neste grupo encontram-se materiais de origem biológica que permanecem

definitivamente na ferida onde são colocados.

- a) Substitutos epidérmicos: em geral apresentam resultados ruins, cicatrizes de má qualidade, bolhas e baixa resistência. São as culturas epidérmicas (Apligraf).
- b) Substitutos dérmicos: estes substitutos são originados de pele processada ou fabricados com colágeno ou a partir de outras matrizes proteicas. Em geral apresentam melhor cicatriz final. Neste grupo encontram-se as lâminas de colágeno bovino (Kollagen®), lâminas de colágeno porcino (Permacol®), matriz dérmica bovina (Matriderm®) e matriz dérmica humana (Alloderm®).

Classe III, substitutos de pele compostos. Neste grupo encontra-se os SC com duas camadas, uma mimetizando a epiderme e a outra a derme.

- a) Enxerto de pele de origem biológica
 - Alo enxerto (cadáver).
 - Xeno enxerto (porco).
- b) Pele de engenharia de tecidos: apresentam uma camada externa de silicone flexível e uma camada interna que pode variar na composição, podendo ser apenas de colágeno ou ainda estar associado a glicosaminoglicano (Integra® e Pelnac®).

Ainda que bastante utilizada, esta classificação apresenta limitações. Por esta razão, foi desenvolvida por Ferreira *et al.*¹² outra mais abrangente e que possibilita a inclusão de novas tecnologias, como a seguir:

Classe I - Material de Curativo Temporário e Impermeável

São substitutos cutâneos com função de barreira epidérmica, que,

apesar de não possuírem componentes celulares, realizam algumas das funções dessa camada da pele. Geralmente são temporários e impermeáveis, apresentando função de barreira mecânica contra bactérias e evitando a perda insensível de água.

- a) Materiais de camada única, produtos biológicos (membrana amniótica) e produtos sintéticos, membranas ou filmes de polímeros sintéticos (Opsite®, Hydrofilm®, Tegaderm®), biosintético (Nexfill®), camada de biocelulose (Veloderm®, Mepilex®).
- b) Materiais de camada dupla, produzidos por engenharia de tecidos (Transcyte®).

Classe II - Substitutos cutâneos de camada única

- a) Substitutos epidérmicos (Epidex®).
- b) Substitutos dérmicos, constituídos por substância similar à derme, com pele processada, ou fabricados como matriz de colágeno dérmico e outras proteínas de matriz.
 - Membranas de colágeno suíno (Oasis wound matrix®, Permacol®).
 - Matrizes dérmicas de colágeno bovino (Matriderm®, PriMatrix®).
 - Matrizes dérmicas de origem humana (Alloderm®).

Classe III - Substitutos de pele compostos

- a) Substitutos com pele humana, enxerto alógeno de pele.
- b) Substitutos produzidos com engenharia de tecidos, apresentam um análogo epidérmico e um dérmico. Em geral o epidérmico é de

silicone e o dérmico de colágeno (Integra®).

Desde as primeiras publicações inúmeros de artigos vêm sendo publicados a cada ano. Este estudo irá se deter a dois diferentes substitutos cutâneos, permanentes, chamados de matrizes de regeneração dérmica, um de camada dupla, Integra®, Integra Lifescience e um de camada única, Matriderm®, Medskin solutions. Ambos são formados de colágeno de origem bovina, além do colágeno, o Integra® contém glicosaminoglicano condroitina-6-sulfato e o Matriderm®, elastina em suas composições.

3.8 Matrizes de Regeneração Dérmica

As matrizes de regeneração dérmica surgiram no início da década de 1980 com o trabalho de Ioannis V. Yannas, professor de engenharia mecânica do Massachusetts Institute of Technology e John F. Burke, cirurgião geral, chefe do serviço de trauma do Massachusetts General Hospital, que se associaram e desenvolveram os estudos que deram a origem a primeira matriz disponível no mercado^{11,120-122}.

O estudo intitulado “*Desenho de uma pele artificial*”, que foi publicado em quatro partes, onde cada uma definia uma etapa do processo de desenvolvimento da matriz. Assim, a primeira parte apresentou os princípios básicos, a segunda, controle da composição química, a terceira, controle da estrutura porosa e a quarta, uso clínico de auto-enxerto em ilha sobre a matriz, sua evolução clínica e histológica.

Em 1981, Burke *et al.*¹²³ publicaram a primeira série de 10 pacientes com queimaduras que variaram de 50% a 95% do corpo queimado mostrando

que a “neoderme” formada, a assim denominada matriz integrada, mantinha parte das características anatômicas e comportamentais de uma derme normal.

No final da década de 1990, foi aprovado para uso clínico em pacientes vítimas de queimaduras pela Agência Americana U.S. Food and Drug Administration (FDA).

Desde as primeiras publicações vários de artigos vêm sendo publicados a cada ano sobre os diferentes tipos de matrizes disponíveis no mercado¹²⁴. O número de produtos cresce a cada ano, hoje dispomos mais de 10 opções de matrizes, cada uma com suas características, mas em comum, são substitutos cutâneos permanentes que mimetizam a derme e em alguns casos a epiderme. Dentre eles tem-se, Oasis[®], Primatrix[®], Alloderm[®], Pelnac[®], Matriderm[®], Integra[®], Renoskin[®], Gammagraft[®], Biobrane[®], Awbat[®], Graftjacket[®] e Permacol^{®12,115,124}.

Este estudo avaliou duas matrizes, Integra[®] e Matriderm[®], por isso, serão analisados em detalhes cada um dos produtos.

3.8.1 Integra[®]

O início de desenvolvimento ocorreu na década de 1970 em uma parceria de Yannas e Burke. O resultado foi o Integra[®], uma matriz de duas camadas de 2,1 mm que passou a ser largamente utilizada no tratamento de queimaduras^{11,120}.

A camada mais superficial é formada de uma fina lâmina de dimetil polissiloxane, é o mais utilizado polímero orgânico baseado no silicone e é particularmente conhecido por suas propriedades reológicas. Baseada nelas,

têm o fluxo de líquidos controlados, desta maneira, apresenta perda de líquidos e impermeabilização similares a da pele. Esta camada foi desenvolvida para prover duas características fundamentais a vida, controle da perda de líquidos e controle de infecção¹²⁵.

A camada mais profunda é formada de uma trama de colágeno tipo I de origem bovina associado a glicosaminoglicano condroitin-6-sulfato, em uma relação de 92:8 (colágeno: GAG), como poros de diâmetro médio de 30 µm a 120 µm, ocupando 98% do espaço¹²⁵.

Inicialmente seu uso foi aprovado para o tratamento das queimaduras em sua fase aguda. Seu primeiro uso ocorreu em 10 pacientes do Massachusetts General Hospital e Shriners Burn Institute, ambos em Boston. Neste estudo foi cunhado o termo neoderme, o qual se refere ao tecido formado a partir da integração da matriz ao leito e que apresentaria algumas características anatômicas e comportamentais similares a uma derme normal, com potencial de melhora da função e da aparência em relação a um enxerto convencional¹²³.

Os primeiros trabalhos definiram a maneira de se trabalhar com o Integra[®], antissepsia exaustiva, hemostasia cuidadosa, curativos eficientes e com trocas regulares em ambiente adequado e enxerto ultrafino, 0,004 polegadas. Medidas como essas, tornarem-se padrão e foram amplamente difundidas^{33,123,125,126}.

Um estudo multicêntrico, com 841 queimaduras em 216 pacientes grandes queimados, realizado por Heimbach *et al.*¹²⁷, em 1988, reportou uma média de integração da matriz de 76,2% e uma média de integração do

enxerto de 87,5%. Infecção em 13,2% dos casos foi a principal causa de perda da matriz, a segunda causa foi a não adequada aderência da matriz em seu leito receptor.

Heitland *et al.*¹²⁸ enfatizaram em um estudo com seis anos de experiência em 15 centros de tratamento de queimaduras na Alemanha a importância da técnica meticulosa para o sucesso do seu emprego.

Observações histológicas nos primeiros dias após a aplicação da matriz mostra um modesto infiltrado inflamatório, com a matriz aparentemente servindo de molde para as células. Entre o 10º e 15º dia, tecido de granulação contendo fibroblastos, macrófagos e linfócitos aparecem na matriz. Entre 14º e 17º dias, fibroblastos metabolicamente ativos prevalecem. Após o 30º dia, muitas fibras da matriz começam a se degradar, o epitélio fica intacto, mas com perda das cristas epiteliais^{129,130}.

Alguns relatos sugerem que os resultados a longo prazo usando Integra® levam a uma pele com elasticidade semelhante à da pele normal. Estudos objetivos de citometria, mostram resultados conflitantes. Wisser *et al.*¹³¹ relataram menos elasticidade em locais tratados com Integra® do que na pele normal. Em contraste, num estudo posterior, Nguyen *et al.*²⁰ apresentaram resultados comparáveis entre lesões tratadas com enxerto convencional e matriz. Sendo a pele com matriz passível de expansão¹³¹.

Uma vez que o uso da matriz Integra® já se fazia corrente nas unidade de tratamento de queimaduras, elas passaram a ser utilizadas também no tratamento das sequelas de queimaduras^{25,133}. Neste momento também foi notada a capacidade da matriz ser vascularizada mesmo sobre tecidos

avasculares como ossos e tendões¹³⁴⁻¹³⁸. Desta maneira, passou a ser utilizada em defeitos que antes era formalmente contraindicada, como pequenas exposições ósseas e tendões. Estes achados levaram os cirurgiões a usar a matriz Integra® em outras áreas da medicina, além do tratamento de queimaduras¹²⁵.

A matriz Integra®, tem sido utilizada para substituir cicatrizes hipertróficas e queloides nos últimos anos com resultados controversos. Aparentemente o uso de matriz com enxertos muito finos levam a bons resultados na área doadora, com baixo risco de cicatrizes patológicas e resultados pobres na área receptora^{22,139,140}. Apesar da pequena quantidade de publicações com nível de evidência elevado, muitos autores têm relatado grande satisfação com o emprego das matrizes nos tratamentos de contraturas cicatriciais^{139,141,142}.

Em um estudo multicêntrico realizado entre Estados Unidos, Inglaterra, França e Alemanha com 89 pacientes com contraturas cicatriciais, com seguimento de 11,4 meses, teve uma taxa de integração média de 92,3%, houve 76% de melhora da função segundo os médicos e 82% dos pacientes ficaram satisfeitos com os resultados gerais. Ocorreu recidiva da contratura em 25% dos casos. Concluíram que a matriz de regeneração dérmica é uma valiosa ferramenta no arsenal terapêutico do paciente com contraturas cicatriciais secundárias a queimaduras de qualquer gravidade, especialmente em áreas predispostas a formação de nova contratura¹⁹. Na literatura a taxa de recidiva de contratura cicatricial varia de 62% a 80% em enxerto de espessura parcial e 38% a 50% em enxerto de espessura total¹⁴³⁻¹⁴⁵.

3.8.2 Matriderm®

É uma matriz de camada única formada por 98% de colágeno tipo I de origem bovina lincado a 2% de alfa-elastina hidrolisada, com 2 mm de espessura, produzida pela Medskin, Alemanha¹⁴⁶. Devido a sua única camada é mandatório manter umedecido, sendo a principal recomendação, o uso da terapia de pressão negativa (TPN)¹⁴⁷. Da mesma maneira que o Integra®, serve como uma estrutura de suporte para o crescimento de células e vasos. O seu componente de elastina aumenta a estabilidade e elasticidade do tecido regenerado¹¹⁵. A medida que o processo de cicatrização ocorre, a matriz é povoada com fibroblastos e absorvida¹⁴⁸. As indicações de uso são similares ao da matriz Integra®^{27,148}.

Em modelos experimentais a matriz Matriderm® reduz a contratura da ferida e histologicamente suas bandas de colágeno são mais aleatórias que em uma cicatriz normal. Em ensaios clínicos, não foram demonstradas diferenças na elasticidade da cicatriz entre o Matriderm® e auto-enxerto de espessura parcial²⁶.

Em 1994, de Vries *et al.*¹⁴⁶ publicaram estudo onde justificou o uso da combinação de colágeno e elastina. Esta combinação levaria a menor quantidade de fibroblastos e miofibroblastos no interior da matriz e consequentemente a menor fibrose e contração da ferida. Além de uma reabsorção mais lenta, em quatro semanas. Também demonstrou que a presença de ácido hialurônico leva a uma população maior de fibroblastos e miofibroblastos enquanto a presença de fibronectina leva a epitelização aberrante.

Em um segundo estudo, de Vries *et al.*¹⁴⁹, demonstraram que a associação de colágeno e elastina leva a uma menor contração da ferida onde a matriz é aplicada, comparado com cicatrizes sem matrizes, matrizes com ácido hialurônico e matrizes com fibronectina.

Min *et al.*¹⁵⁰, em 2014, publicaram uma série de 31 pacientes com defeitos cutâneos de espessura total onde mediu com cutômetro a elasticidade do defeito tratado com Matriderm® e auto-enxerto de espessura parcial e pele normal e não identificou diferença estatística entre elas.

Inúmeros estudos têm sido realizados, nas mais diversas situações, como membros¹⁵¹, mãos¹⁵², defeitos pós-traumáticos¹⁵³, defeitos secundários à exérese de tumores¹⁵⁴, úlceras crônicas¹⁵⁵ com resultados promissores quando comparados com auto-enxerto de espessura parcial, especialmente quanto a elasticidade e a contração do enxerto colocado no defeito. No entanto, poucos estudos específicos no tratamento de sequelas de queimaduras foram publicados. Greenwood e Mackie¹⁵⁶ publicaram o relato de um caso de liberação de contratura cervical severa, com resultado promissor.

O uso do Matriderm® com a TPN tem sido recomendado pelo fabricante assim como outros autores, como uma maneira de diminuir as complicações do procedimento, como infecção e perda da matriz por falta de integração¹⁵⁷.

3.8.3 Estudos comparativos entre diferentes matrizes

Em pesquisa realizada na biblioteca nacional dos Estados Unidos^{††}, considerando título e resumo, o termo Matriderm[®] retorna 67 publicações, enquanto o termo Integra[®] retorna 649. Quando pesquisado o Integra[®] *versus* Matriderm[®] foi encontrado apenas dois artigos publicados^{27,29}. Um estudo comparando cinco diferentes matrizes também foi encontrado²⁸. Existem ainda, comparativos entre outras matrizes¹⁵⁸⁻¹⁶⁰, mas não foram o foco do estudo.

Schneider *et al.*²⁷ publicaram, em 2009, um estudo comparativo entre Integra[®] e Matriderm[®] onde avalia a taxa de integração e vascularização em um modelo animal com ratos. A taxa de integração do enxerto de pele e vascularização, não mostraram diferenças entre as duas matrizes. Em outro estudo de 2012, Böttcher-Haberzeth *et al.*²⁹ comparam Integra[®] de 1,3 mm e Matriderm[®] de 1 mm em um modelo animal em ratos, as duas matrizes são para uso em tempo cirúrgico único. Foram avaliados a taxa de integração do enxerto de pele, deposição de colágeno, vascularização e resposta inflamatória. A única diferença encontrada foi quanto a celularidade mais densa no Matriderm[®]. Os outros aspectos, mostraram comportamento similar.

^{††} PubMed. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>>. Acesso em: 14 mai 2016.

3.9 Terapia por Pressão Negativa

As evidências são grandes de que o uso da matriz associada a TPN diminui as complicações, aumentando os índices de sucesso³⁹. Os mecanismos não são claros, aparentemente o isolamento do meio externo diminui a contaminação, a aplicação de uma força regular em toda a superfície ajudaria na aderência e o aumento do crescimento dos vasos na matriz aceleraria a sua integração¹⁶¹.

A Terapia com Pressão Negativa é uma modalidade de tratamento que se tornou amplamente adotada para uma vasta gama de indicações para tratamentos de feridas desde seu advento no final da década de 1990.

Na década de 1980, os primeiros cinco artigos sobre o uso de pressão negativa para tratamento de feridas foram publicados na literatura russa¹⁶². Em 1989, Chariker *et al.*¹⁶³ publicaram suas experiências com TPN em sete casos com fístulas cutâneas. Eles usaram gaze úmida que era colocada sobre a ferida com um dreno coberto com filme oclusivo. O dreno era conectado a uma linha de vácuo de parede padrão do hospital e mantida uma sucção contínua de 60 mmHg a 80 mmHg. Desde então inúmeras variações têm sido usadas^{164,165}.

Na década de 1990, foi introduzido comercialmente um equipamento, Vacuum-assisted closure (VAC) utilizando uma espuma de etileno, com dreno integrado e equipamento que mantinha uma pressão de 125 mmHg^{164,166,167}. Desde 2004, uma série de novos equipamentos comerciais veem sendo lançados no mercado¹⁶⁸ (Quadro 2).

Quadro 2 - Principais produtos no mercado de terapia por pressão negativa.

Empresa	Equipamento
Smith&Nephew	Vista, EzCare, Renasys
Hartmann	Vivano
Boehringer	Engenex Advanced NPWT
Innovative Therapies	SVEDMAN e SVED wound
Kalypso Medical	NPD 1000 NPWT
KCI	V.A.C.
Medela	Invia
The medical wound care company	Exusdex
Premco Medical Systems	Prodigy NPWT
Prospera Technology	PRO-II e PRO-III
Talley group	Venturi Avanti e Venturi Compact

As principais diferenças entre os produtos comerciais encontram-se no material utilizado para o contato com a ferida, gaze ou espuma, a maneira como o dreno de sucção é colocado e a pressão indicada, que varia de 50 mmHg a 200 mmHg¹⁶⁸.

3.9.1 Mecanismos de ação

Os mecanismos de ação da TPN comumente sugeridos são, criação de um ambiente úmido, redução do edema, aumento do fluxo sanguíneo local, estímulo a neovascularização e formação de tecido de granulação, estímulo da proliferação celular, redução do tamanho e complexidade da ferida, remoção de inibidores da cicatrização, redução da carga bacteriana, macrodeformação e microdeformação do leito da ferida¹⁶⁹⁻¹⁷¹.

Apesar de frequentemente comentado no dia a dia da prática clínica, poucos artigos foram publicados demonstrando os mecanismos de ação dos efeitos da TPN na melhora das feridas e por isso, estudos neste sentido

devem se desenvolver.

3.9.1.1 Redução do edema

Edema localizado naturalmente ocorre no local da lesão e pode levar a um aumento da pressão intersticial. Esta pressão aumentada pode levar a uma oclusão da microvasculatura e reduzir a drenagem linfática, o que pode levar a uma redução dos nutrientes e oxigênio^{172,173}.

3.9.1.2 Fluxo sanguíneo

Morykwas *et al.*¹⁶⁷, em seu estudo em 1997, demonstraram um aumento de quatro vezes no fluxo sanguíneo em feridas em tratamento com TPN com pressão de 125 mmHg e estabeleceu o padrão de pressão ideal no tratamento. Em pressões acima de 125 mmHg foram demonstradas diversas complicações como aumento do edema, ruptura de fibras musculares, hemorragia e infiltração inflamatória^{174,175}. No entanto, alguns autores sugerem uma pressão diferente para cada tipo de ferida, sugerindo que a pressão ótima depende de cada caso^{170,176-178}.

3.9.1.3 Neovascularização, formação de tecido de granulação e proliferação celular

Chen *et al.*¹⁷⁹, em 2005, demonstraram, com o uso de microscopia, que a TPN levou a um aumento da velocidade do fluxo sanguíneo, aumento do calibre capilar e do volume sanguíneo, estimulou a proliferação endotelial e

angiogênese, diminuiu os espaços endoteliais e restaurou a integridade da membrana basal capilar mais que no controle. Diversos outros estudos demonstraram um aumento da vascularização e formação de tecido de granulação^{167,180-182}. Também foi demonstrado um aumento de IL-8, fator de crescimento endotelial vascular no fluido intersticial, o que sugere o seu mecanismo de ação¹⁸³.

Em outros estudos, ficou demonstrado a deformação dos tecidos de 5% a 20% do tecido onde a TPN foi aplicada, que é similar a deformação obtida in vitro quando apresenta proliferação celular^{184,185}. Através de imunohistoquímica demonstrou-se alta taxa de proliferação celular¹⁸².

3.9.1.4 Redução do tamanho da ferida

Inúmeros estudos descreveram a redução do tamanho da ferida com o uso da TPN¹⁸⁶⁻¹⁸⁸. O mecanismo desta redução não é ainda compreendido.

3.9.1.5 Remoção do exsudato e carga bacteriana

O exsudato da ferida contém um excesso de metaloproteinase e seus inibidores, o que pode estar associado a uma cicatrização pobre e inibição do crescimento celular. Com o uso da TPN ocorre alterações nas citocinas, metaloproteinases e inibidor de metaloproteinase. A modulação da concentração das metaloproteinases pela TPN é um dos mecanismos de ação da TPN¹⁸⁹⁻¹⁹¹.

O comportamento da TPN na carga bacteriana ainda não é claro.

Diversos estudos divergem entre si quanto a redução¹⁶⁷, a mudança do tipo da carga bacteriana¹⁸⁶ e o aumento da carga bacteriana^{188,192}. No entanto parece um consenso que o uso da TPN em feridas muito contaminadas associada a desbridamento e antibioticoterapia sistêmica leva a redução da carga bacteriana¹⁷⁰.

3.9.2 Indicações de uso

As indicações mais comuns são úlceras diabéticas, úlceras de pressão, feridas infectadas, feridas traumáticas, enxertos de pele, curativo de matrizes dérmicas¹⁹³⁻¹⁹⁵ e feridas de parede abdominal^{37,170,195}.

Uma revisão sistemática publicada pelo The Cochrane Collaboration, em 2014¹⁹⁶, demonstrou haver evidência dos benefícios de seu uso em enxerto de pele, com maior taxa de integração e redução de hematoma e seroma, porém, estes estudos apresentavam um risco elevado de viés.

O uso da TPN nos curativos de matrizes de regeneração dérmica são amplamente realizados e até mesmo recomendados pelos fabricantes¹⁹⁷.

Em diversos estudos da literatura foi demonstrado o aumento da vascularização e da velocidade de ocorrência da mesma^{39,161,198-200}. Potter *et al.*²⁰⁰ e Baldwin *et al.*¹⁶¹, em estudos separados reproduziram os mesmos resultados, demonstraram que a migração de células endoteliais ocorre 35% mais rápido com TPN em modo contínuo e 75% em modo intermitente. No entanto, Moimen *et al.*¹⁹³ demonstraram em estudo imunohistoquímico com anticorpos para CD3 e CD4 que não houve aumento na vascularização comparado com outros estudos histológicos. O que também foi suportado por

estudo de Gregor *et al.*²⁰¹ e Ubbink *et al.*²⁰².

Além da vascularização, na qual persiste alguma controvérsia, não parece haver dúvidas que ocorre maior taxa de integração da matriz, menor perda por escorregamento, antecipação da integração, melhor fixação, menor incidência de hematomas e seromas, maior facilidade dos curativos^{37,194,197,203}. Em estudo realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), houve um aumento para 100% de integração das matrizes dos casos operados, anteriormente ao uso da TPN a taxa de integração era de 80%¹⁹⁵.

3.10 Escalas de Avaliação de Cicatriz

A avaliação da cicatriz é vital no tratamento de queimaduras e sequelas de queimaduras para confirmar a eficácia da cirurgia e outros tratamentos, e para documentar as mudanças que ocorrem ao longo do tempo para o paciente²⁰⁴.

Os instrumentos comumente utilizados incluem escalas subjetivas de classificação da cicatriz como a Vancouver Scar Scale (VSS)²⁰⁵ e a escala POSAS²⁰⁶. Instrumentos objetivos também estão disponíveis para medir as propriedades físicas das cicatrizes, tais como a altura ou vascularização. Infelizmente, é difícil obter uma avaliação global da cicatriz usando instrumentos objetivos, pois vários equipamentos caros, como o tonômetro, o dermaspectrometro, ou com o cromômetro²⁰⁷ são necessários, tornando a avaliação demorada, cara e pouco prática em ambientes clínicos. Além disso, a falta de dados conclusivos obtidos com algumas medidas objetivas de

cicatrizes²⁰⁸ demonstram que a aplicabilidade clínica destas medidas ainda não está clara, apesar do uso frequente em estudos de investigação^{207,209-212}. Já as escalas subjetivas de classificação de cicatrizes de queimadura são capazes de captar as percepções dos avaliadores, dos pacientes, bem como dor e coceira²¹³. Por isso, elas ainda têm um papel importante na prática diária e é provável que continuem²⁰⁴.

3.10.1 Vancouver

O Vancouver Scar Scale é composta por quatro parâmetros (pigmentação, vascularização, maleabilidade, altura) avaliado por meio de escalas de resposta categóricas. Ela demonstrou confiabilidade entre avaliadores moderada (Kappa 0,40 e 0,56, significa Kappa 0,5 para cada par de observador) no estudo original²⁰⁵; no entanto, não foi apresentada nenhuma prova da confiabilidade intra avaliador, consistência interna e validade. Estudos subsequentes mostraram de moderada a alta confiabilidade geral entre avaliadores para a escala^{214,215}. Nedelec *et al.*²¹⁴ testaram a VSS para tentar validar comparando os dados da VSS com medidas objetivas de volume de cicatriz usando moldes de elastômero de vidraceiro. Dados divergentes foram confirmados pela ausência de correlação entre o volume de cicatriz com os parâmetros de pigmentação, vascularização e maleabilidade. Outros estudos forneceram evidências da correlação dos parâmetros de pigmentação e vascularização com medidas objetivas de cor da cicatriz^{207,216,217}. Correlações entre as avaliações quantitativas de vermelhidão e da vascularização foi moderado ($r=0,42$) e significativa, no entanto, as correlações para o parâmetro

de pigmentação têm sido baixas e variam muito²¹⁷.

O parâmetro pigmentação têm sido continuamente destacado como problemático. A avaliação se torna difícil devido à dificuldade de se separar pigmentação de vascularização²¹⁸. Além disso, os parâmetros de avaliação da pigmentação são nominais (normal, hipopigmentado e hiperpigmentado), o que torna a somatória dos seus valores inadequado. Deve-se notar também que o peso dado a cada item de avaliação foi arbitrário e evidência quanto a sua eficiência em queimaduras não foi obtida²⁰⁴.

Baryza e Baryza²³ e Gankande *et al.*²¹⁹ modificaram a classificação acrescentando no item pigmentação a categoria “pigmentação mista” e no item altura uma nova categoria, mudando de quatro para cinco.

Apesar das limitações, a VSS têm sido utilizadas amplamente na avaliação dos resultados obtidos no tratamento das queimaduras^{141,220-222}. A sua aplicação na prática diária exige uma curva de aprendizado e se mostra muito subjetiva (Quadro 3).

Quadro 3 - Escala de Vancouver.

Elasticidade	Vascularização	Espessura	Pigmentação
0 = normal	0 = normal	0 = normal/plana	0 = normal
1 = flexível	1 = rosa	1 = >0 a 1mm	1 = hipopigmentada
2 = complacente	2 = vermelha	2 = >1 a 2 mm	2 = mista
3 = firme	3 = roxa	3 = >2 a 4mm	3 = hiperpigmentada
4 = aderido		4 = >4 mm	
5 = contratura			

3.10.2 POSAS

A VSS é dirigida na avaliação da cicatriz realizada por um profissional, era evidente, portanto, a necessidade de uma avaliação feita pelo paciente. Essa limitação foi levada em conta no desenvolvimento da POSAS²⁰⁶. Esta escala consiste em duas escalas numéricas com múltiplos itens cada, uma chamada escala do observador e outra escala do paciente²⁰⁶.

A escala do observador foi baseada na revisão da literatura e na experiência dos autores. Vascularização, pigmentação, espessura, relevo e maleabilidade, são avaliados em uma escala de 1 a 10, sendo 1 normal e 10 a pior possível. Os itens da escala do paciente correspondem aos mesmos da escala do observador, exceto pela avaliação da cor e a inclusão dos itens dor e prurido. Da mesma maneira, a avaliação é de 1 a 10, 1 correspondendo a sem queixas ou normal e 10 a pior possível ou o mais diferente possível. A somatória das avaliações é realizada, quanto menor a nota, melhor a cicatriz. As duas escalas mostraram aceitável consistência, com alfa de Cronbach^{††} de 0,76 na escala do paciente e 0,69 na escala do observador. Sugerindo que a somatória das avaliações pode ser realizada para gerar uma nota total. A confiabilidade inter-observador para a escala do observador foi apenas ligeiramente superior ao VSS quando um único observador classificou a cicatriz (*Intraclass correlation coefficient* [ICC] de 0,73 para a escala Observer *versus* ICC 0,69 para o VSS), mas muito alto quando o teste foi aplicado com quatro observadores (ICC 0,92). Alguma evidência de validade foi obtida entre

^{††} O coeficiente alfa de Cronbach foi apresentado por Lee J. Cronbach, em 1951, como uma forma de estimar a confiabilidade de um questionário aplicado em uma pesquisa. Cronbach LJ. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika*. 1951;16(3):297-34.

a escala do observador e a VSS ($r = 0,89$, $p < 0,001$). Entretanto, uma comparação entre a escala do paciente e a VSS não foi realizada, assim como com outros métodos objetivos, sugerindo a necessidade de outros estudos²²³.

Na prática pode-se observar uma dificuldade muito grande dos pacientes em avaliar os itens do questionário, da mesma maneira que a escala de Vancouver exige um treinamento do observador²⁰⁴.

Embora a escala de Vancouver seja amplamente utilizada, não deveria ser considerada “padrão ouro”, uma vez que não há evidências suficientes dos seus resultados na avaliação das cicatrizes de queimaduras. Por outro lado, a escala POSAS do paciente foi criada sem a correta metodologia e sem aplicação de teste que a validem²²³.

Uma revisão sistemática do assunto, Track *et al.*²⁰⁴ resumiram as recomendações quanto ao uso das escalas de avaliação de cicatrizes de queimaduras:

- Para estudos longitudinais ou medidas a longo prazo baseado em respostas preliminares, usar Vancouver ou Vancouver modificada.
- Para estudos transversais ou onde apenas uma medida de comparação é realizada, usar POSAS.
- Para obter a avaliação do paciente de suas cicatrizes, usar POSAS.

4 MÉTODOS

Este projeto de pesquisa obteve aprovação (número 0084/10) pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) HC-FMUSP (Anexo A).

4.1 Desenho do Estudo

O estudo realizado foi prospectivo, randomizado, com caso controle.

4.2 Seleção de Pacientes

Após a seleção a partir do ambulatório de sequelas de queimaduras do HC-FMUSP e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram operados 24 pacientes, no Instituto Central do HC-FMUSP, durante o período de julho de 2013 a novembro de 2014, de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão (Anexo B).

Os critérios de inclusão foram: pacientes necessitando de tratamento cirúrgico de sequela de queimadura de segundo ou terceiro grau, com uma cobertura cutânea considerada de má qualidade, com contagem na escala de Vancouver maior que 6, apresentando limitação funcional e que seriam candidatos a cirurgia com auto-enxerto de pele, com idade entre 15 e 65 anos, com disposição de se manter em seguimento por 12 meses.

Os critérios de exclusão foram: pacientes em tratamento médico que sabidamente interfira na cicatrização, diabéticos ou portadores de doença autoimune ou imunossupressora; gestantes ou lactantes, indivíduos com predisposição alérgica ou alergia conhecida a colágeno bovino e pacientes incluídos em outro protocolo de pesquisa.

Grupos

Os pacientes incluídos no estudo foram randomicamente separados por sorteio em dois grupos.

Grupo matriz sem silicone (MSS): 12 pacientes receberam a matriz sem lâmina de silicone com 2 mm, comercializada com o nome de Matriderm®.

Grupo matriz com silicone (MCS): 12 pacientes receberam a matriz com lâmina de silicone, comercializada com o nome de Integra®.

O protocolo aplicado para o tratamento e a coleta de dados dos pacientes seguiu o desenho experimental abaixo (Anexo C):

- Primeira cirurgia: colocação da matriz de regeneração dérmica; coleta das biópsias controle, de pele normal e cicatriz original.
- Segunda cirurgia: 19 dias após a colocação da matriz, coleta da biópsia do leito contendo a matriz e realização do auto-enxerto fino de pele. Coleta de biópsias 12 dias, dois, seis e 12 meses após o enxerto.

Os demais dados: avaliação funcional, avaliação da qualidade da pele (pelas escalas de Vancouver e POSAS), Medida das áreas (matriz ou enxerto) foram colhidos conforme demonstrado na Figura 8.

Figura 8 - Esquema cronológico do protocolo das cirurgias e das coletas de dados. Doze dias, 1 mês, 2, 3, 6 e 12 meses são contados a partir da colocação do auto-enxerto de pele.

4.3 Avaliação Clínica

A avaliação clínica foi dividida em avaliação da qualidade da cicatriz, avaliação da função, avaliação da retração da área operada e avaliação das complicações.

4.3.1 Avaliação da qualidade da cicatriz - Escala de Vancouver e POSAS

A avaliação da qualidade da pele das cicatrizes originais e após a colocação dos enxertos foi realizada, pelo cirurgião com a escala de Vancouver, e pelo cirurgião e pelo paciente com a escala POSAS, (Quadro 4, Anexo D). Para ambas as escalas, o menor valor corresponde à pele normal.

Quadro 4 - Resumo dos dados analisados pelas escalas de Vancouver, POSAS Observador e POSAS Paciente, de avaliação da qualidade da pele das cicatrizes. Os valores representam, as notas mínima e máxima, em cada caso (o menor valor corresponde à pele normal).

Escala de Avaliação		
Vancouver 0 - 15	POSAS Observador 7 - 70	POSAS Paciente 7 - 70
Elasticidade (0-5)	Pliabilidade (1-10)	A consistência da cicatriz é diferente da pele normal no momento? (1-10)
Espessura (0-4)	Espessura (1-10)	A espessura da cicatriz é diferente da pele normal no momento? (1-10)
Pigmentação (0-3)	Pigmentação (1-10)	A cor da cicatriz é diferente da cor da pele normal no momento? (1-10)
Vascularização (0-3)	Vascularização (1-10)	A cicatriz coçou nas últimas semanas? (1-10)
	Relevo (1-10)	A cicatriz é mais irregular que a pele normal no momento? (1-10)
	Área cicatricial (1-10)	A cicatriz doeu nas últimas semanas? (1-10)
	Opinião geral (1-10)	Qual é a sua opinião geral sobre a sua tirar cicatriz comparada à pele normal? (1-10)

4.3.2 Avaliação funcional

Foi desenvolvida uma escala de zero a 20 para avaliar a movimentação do local a ser operado. Esta nota foi dividida em duas partes, a primeira se referia exclusivamente à amplitude do movimento e a segunda se referia ao desconforto do paciente ao realizar o movimento.

O paciente recebeu uma nota de zero a 10 representando o grau de limitação da amplitude de movimento da região a ser tratada sendo que zero correspondia à amplitude total.

Quanto ao desconforto, a nota foi dada pelo paciente considerando dor,

repuxamento e necessidade de esforço para realizar o movimento, numa escala de zero a dez, sendo que zero corresponde à ausência de desconforto.

As duas notas foram somadas. A diferença entre a nota no pré-operatório e aos 12 meses foi denominada taxa de melhora funcional.

4.3.3 Avaliação da retração da área operada

Para a avaliação da retração da área tratada foram feitas medidas do maior eixo no local operado e a seguir do maior eixo perpendicular ao primeiro. Para cada paciente, a área da matriz foi considerada 100% e as demais áreas foram transformadas em porcentagem em relação à área da matriz, para que fosse possível comparar as lesões, uma vez que os tamanhos iniciais não eram idênticos em todos os indivíduos.

4.3.4 Avaliação das complicações e da integração da matriz e dos auto-enxertos

Nos primeiros três meses de pós-operatório, foram computados dados sobre a presença de complicações, como infecção, hematoma, bolhas, coleção serosa, descolamento da lâmina de silicone da matriz. Também foram calculadas as porcentagens de área de integração da matriz e do auto-enxerto de pele.

4.4 Técnica Cirúrgica

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo cirurgião.

4.4.1 Técnica cirúrgica para colocação da matriz de regeneração dérmica

A área cicatricial e todo o tecido fibrótico foram removidos até o tecido celular subcutâneo. Após hemostasia rigorosa, a matriz de regeneração dérmica era colocada sobre a área cruenta. A matriz com silicone era fixada com fio inabsorvível monofilamentar de poliamida 5-0. A matriz sem silicone não era fixada no leito (Figuras 9 e 10).

Figura 9 - Sequência de utilização da matriz com silicone. (1) Defeito criado após a remoção do tecido cicatricial, (2) Matriz colocada sobre o defeito, fixada com pontos cirúrgicos, (3) Aparência da matriz madura sem silicone e (4) Auto-enxerto de pele colocado sobre a matriz.

Figura 10 - Sequência de utilização da matriz sem silicone. (1) Defeito criado após a remoção do tecido cicatricial, (2) Matriz colocada sobre o defeito, (3) Aparência da matriz madura e (4) Auto-enxerto de pele colocado sobre a matriz.

4.4.2 Técnica de aplicação do curativo de pressão negativa

O curativo iniciava-se com a colocação de uma lâmina de tecido não aderente de fibras de celulose, conhecida como *raiom* ou *rayon*, sobre a qual apoiava-se uma esponja de poliuretano no exato formato da lesão cirúrgica. A seguir um filme plástico aderente era colocado sobre a espuma; em sua porção central, removia-se um círculo de 1 cm de diâmetro do plástico, onde colocava-se uma ventosa aderente, que era conectada ao equipamento de aspiração que gerava a pressão negativa. A pressão programada no sistema foi de 125 mmHg no modo contínuo. O curativo era trocado a cada quatro dias com técnica asséptica.

4.4.3 Técnica cirúrgica para realização do auto-enxerto

No 19º dia após a colocação da matriz de regeneração dérmica, o paciente era levado novamente ao centro cirúrgico, para realização de auto-enxerto fino (0,010 polegadas o que corresponde a 0,254 mm), retirado com dermatomo elétrico e fixado com fio inabsorvível monofilamentar de poliamida 5-0. No caso da matriz com silicone, antes da colocação do enxerto, a lâmina era retirada (Figuras 9 e 10). A área doadora era adequada à disponibilidade de cada paciente, porém, preferencialmente utilizou-se a pele da região anterior das coxas. O curativo era realizado ao término do procedimento de auto-enxerto à semelhança dos curativos anteriormente realizados sobre as matrizes com sistema de pressão negativa (Figuras 9 e 10).

O material para análise histológica foi colhido através de biópsias com *punch* descartável de 4 mm durante as cirurgias e posteriormente sob anestesia local. O controle da cicatriz original foi colhido do centro da cicatriz removida, e o da pele normal retirado de local semelhante, contralateral à lesão. As demais amostras foram colhidas de locais pré-determinados ilustrados na Figura 11. Para microscopia eletrônica, foram retirados pequenos fragmentos das seguintes biópsias: controle de pele normal e cicatriz original, no dia do enxerto e aos 12 meses.

Figura 11 - Diagrama representativo da região enxertada e dos locais biopsiados ao longo dos meses. Estas regiões foram determinadas a fim de evitar que o processo cicatricial desencadeado na região de cada biópsia fosse representado numa biópsia subsequente. Assim sendo, todas as biópsias representam unicamente o processo cicatricial decorrente do enxerto em estudo. DE - Dia do enxerto, leito com matriz, antes da colocação do enxerto; 12D - 12 dias pós-enxerto; 2M - 2 meses pós-enxerto; 6M - 6 meses pós-enxerto; 12M - 12 meses pós-enxerto.

4.6 Avaliação Histológica

4.6.1 Processamento do material biológico para microscopia de luz

Após a coleta os fragmentos foram fixados em solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato (0,1M e pH 7,2) por 24 horas, à temperatura ambiente, desidratados em concentração crescente de etanol, diafanizados em xilol embebidos e incluídos em parafina a 65° C.

Para análise histológica foram obtidos cortes de 4 micrômetros de espessura em um micrótomo RM 2245 (Leica Microsystems, Nussloch, Alemanha), coletados em lâminas histológicas e corados pelos métodos descritos a seguir.

4.6.1.1 Coloração Hematoxilina-Eosina (HE)

Os cortes foram desparafinados, hidratados e corados pelo método do HE para o estudo histológico geral de identificação celular e tecidual.

4.6.1.2 Coloração Picrossírius-Hematoxilina

A coloração pelo Picrossírius permite identificar o colágeno, que adquire uma intensa coloração vermelha quando analisado sob luz convencional⁴³. Os cortes histológicos foram desparafinados, hidratados e corados durante uma hora em uma solução 0,1% de Sirius Red (Sirius Red F3 B 200, Mobay Chemical Co. New Jersey, EUA) dissolvido em solução aquosa saturada de ácido pícrico. Os cortes foram lavados durante cinco minutos em água corrente e contracorados com hematoxilina de Harris durante dois minutos.

4.6.1.3 Coloração de Resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona

Resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona é uma coloração para elastina, que demonstra fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas conferindo-lhes uma cor púrpura.

Cortes histológicos desparafinados e hidratados foram tratados com solução de Oxona 10% (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemanha) por 40 minutos. A seguir foram lavados em água corrente por cinco minutos e colocados na solução de Resorcina-fucsina de Weigert²²⁴ por uma hora, à temperatura ambiente, lavados rapidamente em água e colocados em etanol 70% por três minutos. Quando necessário, a coloração de fundo foi removida em novo banho em etanol 70%. Este último procedimento deve ser constantemente controlado ao microscópio, tomando-se cuidado para evitar a descoloração das fibras mais finas. Após lavagem em água corrente, foram desidratados, diafanizados e montados.

4.6.2 Processamento do material biológico para microscopia eletrônica de transmissão

Fragmentos de pele (de aproximadamente 3 mm³) foram processadas para a microscopia eletrônica segundo a rotina do Laboratório de Biologia Celular (LIM 59) da Faculdade de Medicina da USP. Os fragmentos foram fixados em solução de glutaraldeído 2% em tampão fosfato (0,15M; pH 7,2) contendo 0,1% de ácido tânico, por duas horas à temperatura ambiente, seguido de pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% em cloreto de sódio 0,9% por uma hora em temperatura ambiente e coloração em bloco em solução aquosa de acetato de uranila 0,5%, por 18 horas a 4°C. Os fragmentos foram então desidratados e incluídos em resina Araldite 502 (EMS, Hatfield, EUA). Cortes ultra-finos, prateados (de aproximadamente 70nm) foram obtidos em ultra-micrótomo Reichert Ultracut R (Leica, Áustria) e contrastados com solução aquosa de citrato de chumbo 0,5%. Os cortes foram analisados e micrografados em um microscópio eletrônico de transmissão JEM 1010 (Jeol, Tóquio, Japão).

4.6.3 Métodos de medida histológica

Espessura do enxerto

Na biópsia colhida 12 dias após o enxerto foram feitas medidas da espessura da derme do enxerto (milímetros), em 10 locais aleatoriamente escolhidos ao longo da amostra, utilizando o programa de análise de imagens Image-Pro Plus 7.01 (Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, EUA) acoplado a um microscópio de luz Optiphot-2 (Nikon, Japão) e uma câmera digital Nikon digital sight DS - 5M (Nikon, Japão) de acordo com a técnica descrita na Figura

12. Para cada paciente foi calculada a média entre as 10 medidas.

Figura 12 - Cortes histológicos de pele, corados pela Picrossírius-hematoxilina (a, b) e pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia (c), 12 dias após o auto enxerto (12a). Pode-se observar uma diferença nítida entre a densidade da derme do enxerto (X) e do tecido conjuntivo neoformado subjacente. Na região inferior do corte encontra-se a matriz com silicone (M), permeada por tecido conjuntivo. A extensão da derme do enxerto foi dividida em 10 regiões equivalentes (linhas brancas). Primeiramente foi medida a espessura da derme (desde a transição com a epiderme (E) até a transição com o tecido conjuntivo) onde houvesse a menor profundidade (linha cor de laranja), e a seguir a maior (linha amarela). Nas demais regiões, foram tomadas as medidas no centro do intervalo (linhas azuis). Nos pacientes tratados com a matriz sem silicone, por vezes perdia-se a nitidez da transição derme do enxerto/tecido conjuntivo neoformado (12b). Nota-se que à direita a diferença é evidente e à esquerda não há limite nítido. Observou-se, ao analisar os cortes corados com a Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia (12c), a presença das fibras do sistema elástico (coradas em púrpura) na derme do enxerto (X) o que permitia delimitar a transição com facilidade, devido a sua ausência no tecido conjuntivo subjacente.

Diâmetro das fibrilas de colágeno

Foram obtidas micrografias digitais, em aumento apropriado, das fibrilas colágenas presentes da pele normal e nas cicatrizes: original, no dia do enxerto e 12 meses após o enxerto. Nas referidas imagens foram medidos os diâmetros de ao menos 200 fibrilas de cada população de fibrilas encontrada (mais finas, intermediárias ou mais grossas) para cada paciente, utilizando o programa de análise de imagens JMicroVision (University of Genebra, Suíça), como mostra a Figura 13.

Figura 13 - Micrografia de corte de pele analisada ao microscópio eletrônico de transmissão, onde se observam fibrilas de colágeno do tecido conjuntivo subepidérmico em corte transversal. Os diâmetros foram medidos traçando-se uma reta sobre o maior eixo da fibrila (linhas vermelhas), quando presente, que servia de guia para que fosse medido o diâmetro (linhas brancas), que corresponde ao maior eixo possível, perpendicular à linha guia. Os cortes das fibrilas apresentam perfis elípticos quando são oblíquos. Quando perfeitamente transversais, os perfis são circulares e dispensam a orientação de uma linha guia. Esta diferença da direção de corte se deve à variação na orientação espacial das fibrilas em relação ao plano do corte histológico.

4.6 Análise Estatística

Para cada grupo foram necessários 12 pacientes. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado com o programa Power Sample²²⁵ levando em conta: diferença entre as médias, desvio padrão, alfa de 5% e poder de análise de 0,8.

Quando foram comparados os dados de MCS e MSS foi utilizado o teste t de Student ou teste de Mann Whitney, conforme a distribuição dos dados. Para as comparações entre pré-operatório e 12 meses foram usados teste t de Student pareado ou teste de Wilcoxon. Para determinar se havia diferença entre avaliações consecutivas de um mesmo dado foi aplicado ANOVA, ou teste de Friedman; a busca de possíveis diferenças entre os grupos 2 a 2 foi feita pelo teste de Dunn. A busca por correlações foi feita pelo teste de Pearson ou Spearman, conforme necessário. Os testes de normalidade e homogeneidade de variâncias foram aplicados; Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5%.

O programa utilizado foi o SPSS - Statistics, versão 17.0, 2008, IBM, New York, EUA.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados Clínicos

5.1.1 Pacientes

As idades dos pacientes do grupo MCS variaram entre 16 e 58 anos (média = 36,5; mediana = 28; três homens) e no grupo MSS variaram entre 17 e 61 anos (média = 33,8; mediana = 27,5; cinco homens).

Por meio da análise dos dados clínicos foi possível observar que a designação dos pacientes para tratamento com MCS ou MSS mostrou-se homogênea; quando comparadas as avaliações de qualidade da pele pelas escalas de Vancouver e de POSAS Observador pré-operatórias, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Também não houve diferença estatisticamente significativa quando foram comparados os pacientes designados para tratamento com MCS ou MSS em relação ao grau de limitação da movimentação (avaliação funcional [AF]) pré-operatória (Tabela 1). Os valores detalhados para cada item específico das avaliações de Vancouver, POSAS e AF encontram-se nos Anexos E, F e G, respectivamente.

Tabela 1 - Valores das médias (desvio padrão) da avaliação funcional, escala de Vancouver e POSAS Observador antes da primeira cirurgia, para pacientes tratados com MCS ou com MSS.

	Média (Desvio padrão)	
	MCS	MSS
Avaliação Funcional	10,75 (3,166)	9,75 (3,079)
Vancouver	11,50 (0,90)	12,00 (1,91)
POSAS Observador	49,50 (9,48)	51,08 (10,07)

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

Os locais operados são apresentados Quadro 5.

Quadro 5 - Relação dos locais operados em cada paciente dos grupos MCS e MSS.

Local operado	
MCS	MSS
Mama	Tronco
Pescoço	Pescoço
Pescoço	Pescoço
Cotovelo	Cotovelo
Cotovelo	Tronco
Axila	Axila
Axila	Axila
Mão	Axila
Mão	Mão
Cotovelo	Cotovelo
Cotovelo	Cotovelo
Pescoço	Pescoço

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

5.1.2 Avaliação clínica

5.1.2.1 Escala de Vancouver

Com o intuito de se determinar se houve melhora da qualidade da pele dos pacientes após os tratamentos, foram comparados os valores obtidos pela escala de Vancouver entre os tempos: pré-operatório, um, três, seis e 12 meses. O teste de ANOVA para medidas repetidas mostrou diferença estatisticamente significativa, tanto para MCS ($p < 0,0001$) quanto para MSS ($p = 0,0001$), demonstrando que houve melhora na qualidade da pele em ambas (Tabelas 3 e 4). As comparações dois a dois entre os diferentes tempos de coleta para o MCS, demonstraram que aos seis meses a qualidade da pele é significativamente melhor que no pré-operatório e com um mês. Aos 12 meses houve diferença estatisticamente significativa entre o pré-operatório, um e três meses. Não foi detectada diferença significativa entre os tempos seis e 12 meses; assim como entre os tempos pré-operatório, um e três meses (Tabela 2). A média aos 12 meses é significativamente menor que no início do tratamento, demonstrando que houve melhora na qualidade da pele. Os valores detalhados para cada item específico da avaliação de Vancouver encontram-se no Anexo E.

Tabela 2 - Médias (desvio padrão) das avaliações de qualidade de pele pela escala de Vancouver tomadas ao longo do estudo nos pacientes tratados com MCS. Resultados das comparações dos grupos dois a dois, pelo teste de Dunn após ANOVA com medidas repetidas.

	MCS				
	Pré-operatório	1 mês	3 meses	6 meses	12 meses
Média	11,50 (0,90)	10,08 (2,07)	7,42 (2,57)	5,00 (2,52)	2,67 (2,50)
Pré-operatório	--	ns	ns	p=0,001	p<0,001
1 mês	--	--	ns	p=0,006	p<0,001
3 meses	--	--	--	ns	p=0,045
6 meses	--	--	--	--	ns
12 meses	--	--	--	--	--

DP - Desvio padrão; ns - Não significativo; MCS - Matriz com silicone

Para a MSS, aos seis meses, só houve diferença estatisticamente significativa em relação ao pré-operatório. Como na MCS, a qualidade da pele aos 12 meses mostrou-se significativamente melhor que no pré-operatório, com um mês e com três meses; também não há diferença entre seis e 12 meses, e entre o pré-operatório, um e três meses (Tabela 3). A média aos 12 meses é significativamente menor que no início do tratamento.

Tabela 3 - Médias (desvio padrão) das avaliações de qualidade de pele pela escala de Vancouver tomadas ao longo do estudo nos pacientes tratados com MSS. Resultados das comparações dos grupos dois a dois, pelo teste de Dunn após ANOVA com medidas repetidas.

	MSS				
	Pré-operatório	1 mês	3 meses	6 meses	12 meses
Média	12,00 (1,91)	10,50 (1,78)	10,33 (1,92)	8,42 (1,78)	6,00 (1,71)
Pré-operatório	--	ns	ns	p=0,016	p<0,001
1 mês	--	--	ns	ns	p=0,001
3 meses	--	--	--	ns	p=0,003
6 meses	--	--	--	--	ns
12 meses	--	--	--	--	--

DP - Desvio padrão; ns - não significativo; MSS - Matriz sem silicone

Foi também detectada diferença estatisticamente significativa quando comparado o grau de melhora da qualidade da pele entre os pacientes tratados com MCS ou MSS após um ano ($p=0,002$), sendo a qualidade final da pele melhor nos pacientes tratados com MCS (Tabelas 2 e 3).

5.1.5.2 Escala de POSAS

Para determinar se houve melhora da qualidade da pele dos pacientes após os tratamentos, por meio da escala de POSAS, foram comparadas as avaliações do pré-operatório e aos 12 meses de pós-operatório, demonstrando-se melhora estatisticamente significativa tanto na MCS quanto na MSS. Também foi detectada diferença estatisticamente significativa quando comparado o grau de melhora da qualidade da pele entre os pacientes tratados com MCS ou MSS após um ano ($p=0,001$), sendo a qualidade final da pele melhor nos pacientes tratados com MSS (Tabela 4, Anexo F).

Tabela 4 - Médias (desvio padrão) das avaliações de qualidade de pele pela escala de POSAS Observador tomadas durante o estudo, nos pacientes tratados com MCS e MSS. A comparação dos tempos pré-operatório e 12 meses demonstrou que a média aos 12 meses é significativamente menor que no início do tratamento para ambas as matrizes.

	Pré-operatório	12 meses	p
MCS	49,50 (9,48)	20,17 (9,36)	< 0,001
MSS	51,08 (10,07)	33,00 (8,99)	< 0,001

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

5.1.2.3 Avaliação funcional

A avaliação funcional foi realizada no pré-operatório e aos 12 meses de pós-operatório com uma nota de 0 a 20. Pode-se observar que as duas matrizes apresentam melhora com significância estatística na comparação entre pré-operatório e 12 meses (MCS $p < 0,000$) (MSS $p < 0,000$) (Tabela 5 e Anexo G).

Tabela 5 - Médias da avaliação funcional dos pacientes tratados com MCS e MSS. Taxa de Melhora Funcional - diferença entre as notas de pré-operatório e 12 meses. Os valores representam Média (desvio padrão).

	AF pré-operatório	AF 12meses	Taxa de melhora funcional
MCS	10,75 (3,17)	3,92 (3,32)	6,83 (3,90)
MSS	9,75 (3,08)	6,25 (4,18)	3,50 (2,07)

AF - Avaliação funcional; MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

Na comparação entre as duas matrizes aos 12 meses, observou-se diferença estatisticamente significativa na taxa de melhora funcional. A melhora da amplitude dos movimentos foi maior nos pacientes tratados com MCS do que nos tratados com MSS ($p = 0,018$) (Tabela 5).

5.1.2.4 Avaliação da retração da área operada

Foi avaliada a retração dos enxertos, usando como dado a porcentagem da área medida em cada tempo experimental em relação à área no dia da colocação da matriz (que foi considerada 100%) (Tabelas 6 e 7, Gráfico 1 e Anexo H). Demonstrou-se diferença estatisticamente significativa ao longo do tempo por meio do teste de Friedman para o MCS ($p=0,000$) e para o MSS ($p=0,000$). A área no dia do enxerto se mostrou significativamente maior do que aos três meses e aos seis meses no grupo MCS. Já para o MSS, a área no dia do enxerto se mostrou significativamente maior que aos três meses, que aos seis meses e que aos 12 meses (teste de Dunn). Quando analisadas as comparações dois a dois entre os tempos de estudo, observou-se que tanto para o MCS quanto para o MSS a área da matriz se mostrou significativamente maior que a área com um, três, seis, e 12 meses (teste de Dunn). Embora tenha havido retração, as diferenças não foram estatisticamente significativas nas comparações matriz – enxerto e enxerto – um mês (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 - Médias das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz, dos pacientes tratados com MCS. Resultados das comparações dos grupos dois a dois, pelo teste de Dunn após o teste de Friedman.

MCS						
	Intra-OP matriz	Intra-OP enxerto	1 mês	3 meses	6 meses	12 meses
Média (DP)	100	85,32 (13,14)	60,76 (13,97)	60,17 (14,80)	59,15 (19,98)	64,01 (21,86)
Intra-OP matriz	--	ns	p=0,01	p <0,001	p<0,001	p=0,001
Intra-OP enxerto	--	--	ns	p=0,028	p=0,006	ns
1 mês	--	--	--	ns	ns	ns
3 meses	--	--	--	--	ns	ns
6 meses	--	--	--	--	--	ns
12 meses	--	--	--	--	--	--

Intra-OP Matriz - dia da colocação da matriz; Intra-OP Enxerto - dia da colocação do enxerto; DP - desvio padrão; ns - não significativo; MCS - Matriz com silicone

Tabela 7 - Médias das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz, dos pacientes tratados com MSS. Resultados das comparações dos grupos dois a dois, pelo teste de Dunn após o teste de Friedman.

MSS						
	Intra-OP matriz	Intra-OP enxerto	1 mês	3 meses	6 meses	12 meses
Média (DP)	100	81,57 (25,35)	47,81 (18,93)	34,59 (16,88)	36,91 (17,72)	35,67 (16,72)
Intra-OP matriz	--	ns	p=0,016	p<0,001	p<0,001	p<0,001
Intra-OP enxerto	--	--	ns	p=0,001	p=0,007	p=0,001
1 mês	--	--	--	ns	ns	ns
3 meses	--	--	--	--	ns	ns
6 meses	--	--	--	--	--	ns
12 meses	--	--	--	--	--	--

Intra-OP Matriz - dia da colocação da matriz; Intra-OP Enxerto - dia colocação do enxerto; DP - desvio padrão; ns - não significativo; MSS - Matriz sem silicone

Foram comparados os grupos MCS e MSS para se verificar se houve diferença entre os graus de retração dos enxertos entre os dois tipos de matrizes. A partir dos três meses pós-enxerto a retração na MSS foi sempre estatisticamente maior do que na MCS. Não se constatou diferença estatisticamente significativa, entre MCS e MSS, nem à época do enxerto, nem um mês após o enxerto (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Porcentagens de área da matriz e dos enxertos, no dia da colocação e após 1 mês, 3 meses, 6 meses e 12 meses. Os valores de p se referem à comparação entre MCS e MSS.

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone; Intra-OP Matriz - Dia da colocação da matriz; Intra-OP Enxerto - Dia da colocação do enxerto

Pode-se observar que houve diminuição das porcentagens de área com o tempo, em ambas as matrizes. Na MCS, porém, ocorreu uma pequena recuperação na área entre os seis e os 12 meses, não suficientemente grande para se notar uma diferença estatística entre esses grupos, mas suficiente para que não se observe diferença estatisticamente significativa entre 12

meses e o dia do enxerto (Tabela 6). Para o grupo MSS, não se detectou o mesmo fenômeno, e a retração presente aos três meses se manteve até o final do estudo.

5.1.2.5 Avaliação das complicações

Não houve complicação no intraoperatório ou no pós-operatório da colocação das matrizes ou ainda na cirurgia de colocação do auto-enxerto de pele. Também não foi observada complicação dos curativos de pressão negativa, nem na coleta das biópsias. No pós-operatório não houve formação de hematomas, bolhas e coleções serosas, tampouco descolamento da lâmina de silicone e infecção.

Integração da matriz no leito

As porcentagens da área de integração das matrizes foram avaliadas no dia da colocação do auto-enxerto de pele (19º pós-operatório). A média dos resultados é apresentada na Tabela 8, e os resultados completos no Anexo I. Quando comparadas as duas matrizes, MCS e MSS, não houve diferença na taxa de integração.

Tabela 8 - Porcentagens de integração das matrizes 19 dias após sua colocação em pacientes tratados com MCS e MSS. Os valores representam Média (desvio padrão).

Integração das matrizes (%)	
MCS	98,67 (2,64)
MSS	99,58 (1,44)

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

Integração do auto-enxerto de pele na matriz

As porcentagens de área de integração dos auto-enxertos de pele foram avaliadas 12 dias após a sua colocação. Quando foram comparadas as perdas dos auto-enxertos de pele sobre as matrizes, pode-se observar que a MSS apresentou menor perda que a MCS, com significância estatística (Tabela 9, Anexo J).

Tabela 9 - Porcentagens de integração dos auto-enxertos de pele 12 dias após sua colocação e valor de p referente à comparação entre os pacientes tratados com MCS e MSS. Os valores representam Média (desvio padrão).

	MCS	MSS	P
Integração dos enxertos (%)	90,33 (10,62)	97,92 (2,27)	0,023

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

5.2 Análise Histológica

5.2.1 Microscopia de luz

As cicatrizes foram descritas após exame cuidadoso dos cortes corados pelo Picrossírius-hematoxilina. As cicatrizes originais apresentavam cobertura epidérmica íntegra, formada por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado típico. A derme mostrou ser formada por tecido conjuntivo constituído principalmente por grossos feixes de fibras colagênicas dispostos oblíqua ou paralelamente à epiderme e frequentemente acompanhados de um feixe vascular. De modo geral, as fibras colagênicas eram mais finas do que as da derme reticular normal e no interior de cada feixe, eram dispostas paralelamente entre si. Os feixes encontravam-se densamente empacotados e distribuídos uniformemente desde a junção dermo-epidérmica até as regiões

mais profundas, de modo que não foi possível distinguir uma região diferenciada que correspondesse à derme papilar da pele normal. A linha de junção dermo-epidérmica ora encontrava-se retificada ora apresentava alguns cones epiteliais. Não se observaram pelos ou quaisquer outros anexos da pele (Figura 14 “a”). Quando se analisaram cortes corados pela Resorcina-fucsina de Weigert pôde-se observar que as cicatrizes apresentavam ou a completa ausência de fibras do sistema elástico, ou a presença de poucas fibras de espessura fina a intermediária (quando comparadas às fibras normais da pele), longas e distribuídas seguindo a mesma orientação das fibras colagênicas adjacentes. Quando presentes, as fibras do sistema elástico eram mais abundantes na região superficial e iam escasseando com a profundidade.

Dezenove dias após a retirada da cicatriz original e colocação das matrizes de regeneração dérmica pôde-se observar crescimento de tecido conjuntivo novo, com deposição de fibras colagênicas e presença de fibroblastos e miofibroblastos além de vasos. As fibras colagênicas na região profunda se mostravam grossas e densamente empacotadas, começando a se assemelhar ao padrão da cicatriz original, embora ainda não se observasse a formação de feixes. Nos casos tratados com MCS observou-se a presença de sua malha colagênica na porção superficial das amostras. A matriz MSS, no entanto, estava ausente nas biópsias já no momento da colocação do enxerto. Entremeando a MCS e na região superficial dos casos tratados com MSS o padrão tecidual era compatível com tecido conjuntivo de granulação clássico, com fibras colagênicas finas, frouxamente distribuídas, apresentando grande quantidade de material interfibrilar e vasos neoformados.

Doze dias após a colocação do enxerto fino de pele (Figura 14 “c” e “e”) já se pode observar integração total do enxerto, havendo inclusive crescimento de vasos e fibras colagênicas para o interior da derme original do enxerto. Notou-se uma diferença nítida entre a densidade do tecido conjuntivo neoformado superficial e aquela da derme do enxerto. Ainda se observava a presença de tecido conjuntivo mais denso na profundidade e mais frouxo em direção à epiderme.

Essa diferença foi desaparecendo com o passar do tempo e seis meses após a colocação do enxerto não se podia mais distinguir variação de densidade no tecido conjuntivo neoformado devido ao maior acúmulo homogêneo de colágeno (Figura 14 “d” e “f”). Nessa fase tornou-se difícil inclusive determinar o limite entre a derme original do enxerto e o tecido conjuntivo neoformado, quando analisando através do Picrossírius.

A partir dos dois meses pós-enxerto, quase todo o tecido conjuntivo neoformado se assemelhava ao das cicatrizes originais, com presença de feixes de fibras densamente empacotados, correndo em diferentes direções e acompanhados de vasos (Figura 14 “d”, “f” e “a”).

As matrizes de regeneração dérmica tiveram comportamentos diferentes; enquanto a presença da matriz MCS pôde sempre ser observada nos cortes histológicos (Figura 14 “c”), em todos os tempos experimentais (Figuras 14 “c” e “d”), a matriz MSS em geral não pôde ser identificada nas amostras (Figura 14 “e” e “f”). Em raros casos, no dia do enxerto e 12 dias após o enxerto, notou-se a presença de pequenos fragmentos isolados de MSS em meio ao tecido conjuntivo; em cinco dos 12 pacientes, nunca além dos 12 dias pós-enxerto (matriz presente em somente cinco das 60 amostras analisadas).

Figura 14 - Cortes histológicos de pele, corados por Picrossírius-hematoxilina (a, c, d, e, f) e pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia (b). 14a - Cicatriz original pós-queimadura mostrando epiderme (E) íntegra e derme formada por tecido conjuntivo denso em toda a sua espessura, rico em fibras colagênicas que formam feixes grossos, distribuídos paralela ou obliquamente à epiderme. 14b - Cicatriz 12 dias após o enxerto, onde se observa a epiderme (E) e a presença da matriz de regeneração dérmica MCS (M). As fibras do sistema elástico, coradas em púrpura logo abaixo da epiderme, apresentam sua típica distribuição na pele. Notar que abaixo do enxerto (X) não se observam fibras do sistema elástico. 14c - Nesta cicatriz com MCS, 12 dias após enxerto, observa-se a presença da matriz (M). Tecido conjuntivo novo aparece entremeando a malha da matriz de regeneração dérmica e também abaixo e acima dela. Notar que esse tecido conjuntivo é heterogêneo, nas regiões mais profundas da matriz é denso, e abaixo dela forma feixes, como a cicatriz original; nas regiões mais superficiais da matriz é relativamente frouxo, tornando fácil sua distinção com a derme do enxerto (X). 14d - Cicatriz 6 meses após o enxerto. A matriz MCS (M) ainda pode ser observada nos cortes histológicos. Não é mais possível determinar o limite entre a derme do enxerto e o tecido conjuntivo neoformado, uma vez que este apresenta agora um aspecto denso (semelhante ao da cicatriz original) que se confunde com a derme reticular do enxerto. 14e - Cicatriz 12 dias após enxerto com uso de MSS. Neste estágio ainda se delimita o enxerto (X); o tecido conjuntivo neoformado é mais denso na profundidade que na superfície. Já se observam feixes de fibras colagênicas correndo em diferentes direções. No entanto, não é possível identificar a matriz de regeneração dérmica. 14f - Cicatriz 6 meses após enxerto associado à matriz MSS, que não pôde ser identificada. O tecido conjuntivo neoformado segue a mesma organização já descrita para esta fase e a cicatriz original.

Original

MCS 12 dias

MCS 6 meses

MSS 12 dias

MSS 6 meses

No dia em que foi feita sua colocação o enxerto entrou em contato com tecido de granulação, formando uma lâmina contínua no caso da MSS, ou que chegou até a superfície, entremeando a malha no caso da MCS (Figura 15 “a” e “e”). Aos 12 dias, pode-se observar a formação de uma camada de tecido de granulação entre o enxerto e a malha de MCS (Figura 15 “b”). O mesmo tecido entremeia a malha, ocupando uma espessura que, apesar de variar entre os casos, contempla pelo menos sua metade superficial. Já na MSS nesta mesma fase (Figura 15 “f”), o tecido conjuntivo é mais frouxo na região superficial que na região profunda da cicatriz, mas não tem o mesmo aspecto do delicado tecido de granulação observado tanto no dia do enxerto quanto aos 12 dias na região superficial do MCS (Figura 15 “a”, “b” e “e”).

Dois meses após o enxerto, o tecido neoformado é composto por conjuntivo denso cicatricial nos casos tratados pelos dois tipos de matrizes (Figura 15 “c”, “g” e 16 “g” a “i”). Com MSS, toda a espessura apresenta feixes grossos de fibras colagênicas dispostos em várias direções, como visto nas cicatrizes originais, aspecto que se manteve inalterado aos seis (Figuras 15 “d” e “e”) e aos 12 meses (Figura 17). Na matriz MCS aos dois meses, o tecido neoformado presente superficialmente à matriz também é semelhante ao observado nos casos MSS e nas cicatrizes originais. Entremeando a malha da matriz também há tecido conjuntivo denso, mas não se formam feixes grossos, havendo somente o preenchimento dos espaços da malha. Abaixo da matriz, quando presente, o tecido neoformado é do tipo denso cicatricial. Aos seis e 12 meses, o mesmo padrão se manteve (Figuras 15 e 17).

Figura 15 - Fotomicrografias de pele, sequenciais, de 2 casos representativos das matrizes com silicone (MCS) (a, b, c, d) e sem silicone (MSS) (e, f, g, h); no dia do enxerto de pele (a, e), 12 dias após o enxerto (b, f), 2 meses (c, g) e 6 meses (d, h) depois do enxerto. Notar a presença da matriz MCS (espessura delimitada pelas barras) ao longo de todo o tempo de observação (a, b, c, d). O mesmo não ocorre com a MSS (e, f, g, h). Doze dias após o enxerto (b, f) é evidente a diferença entre a derme original do enxerto e o tecido conjuntivo neoformado subjacente. (Picrosírius-hematoxilina).

6 meses

2 meses

12 dias

Dia do enxerto de pele

MCS

MSS

Figura 16 - Cortes histológicos de pele obtidos 12 dias (a até f) e 2 meses (g até l) após a colocação do enxerto, com uso das matrizes de regeneração dérmica: com silicone (MCS) (a, b, c, g, h, i) e sem silicone (MSS) (d, e, f, j, k, l). Observa-se a presença de tecido de granulação abaixo do enxerto em a, b, c. Doze dias após o enxerto nos casos tratados com MSS (d, e, f) o tecido conjuntivo é mais frouxo próximo ao enxerto, mas muito mais denso do que no caso do MCS (comparar com a, b, c). Tecido conjuntivo com densidade similar só é visto na MCS após 2 meses do enxerto (g, h, i). Dois meses após enxerto tratado com MSS o tecido conjuntivo denso se distribui por toda a espessura da derme e é semelhante ao das cicatrizes originais (Comparar com Figura 10a). (Picrossírius-hematoxilina).

MCS

MSS

MCS

MSS

Figura 17 - Micrografias de cortes de cicatrizes de pele 12 meses após auto enxerto, corados pelo Picrosirius-hematoxilina. Nos casos tratados com a matriz com silicone (MCS) ainda se pode notar sua presença em meio ao tecido conjuntivo (espessura delimitada pelas barras) (a, b, c). A quantidade de tecido conjuntivo cicatricial em meio à malha da matriz é bastante variável. 17a – Neste caso há pouca quantidade de tecido em meio à matriz e o aspecto se assemelha aos tempos experimentais mais iniciais. O mesmo não se observa em b, onde se nota grande quantidade de tecido conjuntivo crescendo na metade superficial na matriz, tornando difícil sua visualização neste aumento. Já em c, há muito pouca quantidade de tecido conjuntivo em meio à matriz, que se localiza numa região bastante profunda da cicatriz, diferente do que encontra em outros casos (Comparar com as Figuras 17a e 17b). Nos casos tratados com a matriz sem silicone (d, e, f) o tecido conjuntivo denso ocupa toda a região subepidérmica, com fibras colagênicas densamente empacotadas, formando feixes grossos até a transição dermo-epidérmica, como nas cicatrizes originais e também nos casos tratados com a MCS.

Como se pode notar em vários exemplos aqui apresentados (Figuras 14 “d”, 15 “b”, “c”, “h” e 16 “a”, “e”, “f” e “h”), nem sempre havia nas amostras a presença de algum tecido que pudesse delimitar o final do tecido cicatricial nas regiões mais profundas. Por essa razão, não foram feitas medidas da espessura das cicatrizes, uma vez que não havia garantia de que toda a sua espessura tivesse sido representada.

Analisando-se os cortes corados pela Resorcina-fucsina de Weigert pôde-se observar inicialmente, como nas amostras da cicatriz original, a completa ausência de fibras do sistema elástico no tecido conjuntivo neoformado. Essa coloração mostrou-se excelente para determinar o exato limite entre o tecido receptor e o do enxerto, pois as fibras do sistema elástico contidas no enxerto nunca foram degradadas e apareciam nitidamente distribuídas em sua organização original (Figura 14 “b”) até o final do experimento (Figura 18). A partir dos dois meses pós-enxerto, algumas fibras do sistema elástico, longas e de espessura fina, começaram a ser vistas, dispostas paralelamente às fibras colagênicas adjacentes, no tecido conjuntivo neoformado. Estas fibras não foram observadas em todos os casos analisados nesta fase, mas se acumulavam e se tornavam mais espessas com o passar do tempo em todos os pacientes. Houve variação individual em relação à época em que as fibras do sistema elástico começaram a aparecer, assim como na espessura e na profundidade que chegavam a atingir aos 12 meses (Figura 18). Em todos os casos mantiveram o padrão de deposição inicialmente superficial, aparecendo em regiões mais profundas com o passar do tempo.

Figura 18 - Cicatrizes de pele 12 meses após o auto enxerto, coradas pela Resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia, de pacientes tratados com a matriz com silicone (a, b) e sem silicone (c, d). Pode-se notar que a espessura do enxerto ainda pode ser facilmente determinada pelo aspecto das fibras do sistema elástico originais. As fibras do sistema elástico presentes no tecido conjuntivo neoformado não apresentam nem a mesma espessura nem a mesma distribuição das originais. Não há homogeneidade na quantidade entre os casos; à esquerda (a, c) encontram-se exemplos onde a quantidade é maior e à direita (b, d) é menor. No tecido conjuntivo neoformado, as fibras do sistema elástico são mais abundantes nas regiões

mais superficiais. No quarto inferior de todos os cortes há áreas onde elas estão ausentes.

Embora tenha havido variação individual na espessura de tecido conjuntivo acima da matriz e na quantidade deste entremeando a malha da MCS (Figura 17 “a”, “b” e “c”), não foi possível estabelecer nenhuma relação entre os achados histológicos e a taxa de melhora funcional dos pacientes. Da mesma maneira, não foi possível estabelecer qualquer relação entre as fibras do sistema elástico e a melhora da movimentação. A variação na quantidade dessas fibras, embora não quantificada, pareceu pouco exuberante e casos com quantidades aparentemente maiores não corresponderam aos melhores resultados; assim como as aparentes menores quantidades não corresponderam aos piores resultados, tanto para os pacientes tratados com MSS quanto com MCS.

Espessura dos enxertos

A espessura dos enxertos foi avaliada medindo-se a espessura da derme 12 dias após o auto enxerto. Nessa época, os enxertos já estavam bem integrados, a derme já parecia hidratada e se mostrava semelhante à da pele íntegra; além disso, o único tecido conjuntivo novo que invadia a derme do enxerto era a pequena quantidade que envolve os vasos neoformados. Desta forma, garantiu-se a melhor amostragem possível, evitando a retração do tecido conjuntivo presente no enxerto isolado e quaisquer alterações devidas ao crescimento de tecido conjuntivo neoformado que ocorre em fases mais avançadas da cicatrização. Quando se compararam os grupos MCS e MSS,

não se observou diferença estatisticamente significativa (Tabela 10), bem como nenhuma correlação foi encontrada entre a espessura dos enxertos e a taxa de melhora funcional, a área dos enxertos aos 12 meses ou a qualidade da pele aos 12 meses, pela escala de Vancouver e de Posas Observador. Não se observou correlação entre a espessura do enxerto e a porcentagem de integração do enxerto.

Tabela 10 - Espessura dos autos enxertos de pele para os pacientes tratados com MCS e com MSS e também para todos os pacientes juntos. Os valores representam Média (desvio padrão).

	Espessura (mm)
MCS	0,204 (0,118)
MSS	0,243 (0,134)
MCS + MSS	0,224 (0,125)

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

5.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão

Foram medidos os diâmetros de um total de 31931 fibrilas de colágeno nos 24 pacientes.

A avaliação ultraestrutural também mostrou que a epiderme da pele normal e das cicatrizes apresentava aspecto típico esperado, assim como a junção dermo-epidérmica.

As fibrilas de colágeno, que compõem as fibras colagênicas visíveis ao microscópio de luz, tanto das cicatrizes quanto da pele normal apresentavam contornos cilíndricos regulares e a típica estriação transversal de 64 nm, sem sinais de digestão ou desestruturação. As fibrilas se associavam para formar

fibras. Na pele normal, as fibras se organizam em todas as direções com presença de moderada quantidade de material entre elas. Nas cicatrizes, as fibras se associavam formando feixes de fibras densamente empacotados, com pouco material entre as fibras e entre os feixes de fibras, que se organizavam em várias direções. Entre as fibras colágenas observavam-se perfis ultraestruturais característicos de miofibroblastos, fibroblastos, mastócitos e raros linfócitos, além de vasos de aspecto normal, em todos os casos.

As fibrilas variavam de diâmetro, finas, intermédias e grossas, às vezes aparecendo finas numa área e intermediárias ou grossas em outra área; outras vezes variando o diâmetro numa mesma área. Quando foi possível identificar a localização em relação ao epitélio, observou-se que os diâmetros das fibrilas próximas à epiderme tendiam a ser mais finos que as mais profundas, à semelhança da pele normal.

Observaram-se também fibras do sistema elástico, oxitalânicas (feixe de microfibrilas), elaunínicas (feixe de microfibrilas entremeados a grumos de elastina) e elásticas propriamente ditas (cilindro central de elastina rodeado por microfibrilas) distribuídas pelo tecido conjuntivo (Figura 19).

Figura 19 - Micrografias eletrônicas de cortes de pele normal e das cicatrizes original ou após tratamento com a matriz com ou sem silicone. 19a - Pequeno aumento da região da transição dermo-epidérmica mostrando o aspecto típico encontrado em todos os casos estudados, tanto na pele normal como em todas as cicatrizes. Observa-se a epiderme na região superior, com os queratinócitos justapostos, repletos de melanossomos. Notar que o tecido conjuntivo é rico em fibras de colágeno em meio a pouco material interfibrilar e alguns fibroblastos. 19b - Micrografia em maior aumento, mostrando o aspecto ultraestrutural do tecido conjuntivo de uma cicatriz. Pode-se notar que tipicamente as fibras de colágeno apresentam-se constituídas por fibrilas, que em cada fibra são paralelas entre si. Na Figura c pode-se observar em grande aumento, que em cada uma das fibras as fibrilas se encontram dispostas em uma direção. Cortes transversais de fibrilas de colágeno em grande aumento (d, e, f - tomadas com o mesmo aumento). Havia distintas populações de fibrilas, de acordo com o diâmetro, nos casos analisados; regiões com fibrilas grossas e distribuição homogênea (d), outras regiões apresentando fibrilas finas e homogêneas (f), ou ainda regiões com fibrilas de diâmetros variáveis (e). 19g - Corte do tecido conjuntivo em pequeno aumento, onde se observa a presença da matriz com silicone (setas) em meio a fibras de colágeno e células. 19h - Detalhe em maior aumento da Figura g. Pode-se observar o aspecto heterogêneo da matriz (demarcada entre setas) e a presença de um macrófago (N - núcleo do macrófago). 19i - Corte em grande aumento, em que se pode notar que a matriz com silicone (demarcada entre setas) é composta por fragmentos de fibras colágenas imersos em material amorfo menos eletrondenso, com aspecto nitidamente distinto do das fibrilas de colágeno (cabeças de seta) do tecido conjuntivo cicatricial. 19 j, k, l - Detalhes do tecido conjuntivo dos pacientes mostrando fibras do sistema elástico (demarcadas entre cabeças de seta): elásticas propriamente ditas compostas pelo núcleo central amorfo de elastina, intensamente eletrondenso (j), elaunínicas tipicamente formadas por grumos de elastina eletrondensa em meio a microfibrilas (k) e oxitalânicas constituídas por microfibrilas somente (l).

Com relação ao diâmetro das fibrilas de colágeno, os histogramas de distribuição, assim como os valores mínimo e máximo observados em cada grupo de cicatrizes analisado (cicatriz original, dia do enxerto e 12 meses pós-enxerto) não diferiram dos dados observados nas peles normais (Tabela 11). Quando comparadas as médias dos diâmetros das cicatrizes com a pele normal e as cicatrizes entre si, não se observaram diferenças estatisticamente significativas. Do mesmo modo, não foram detectadas diferenças entre as cicatrizes dos pacientes tratados com MCS ou MSS.

Tabela 11 - Média dos diâmetros das fibrilas de colágeno medidas em nanômetros, dos pacientes tratados com MCS e MSS. Os valores representam Média (desvio padrão), diâmetros mínimo e máximo.

	Pele normal	Cicatriz original	Dia enxerto	12 meses
MCS	76,04 (15,13) 24 - 153	69,15 (15,73) 25 - 122	47,55 (20,98) 20 - 109	71,16 (13,05) 22 - 118
MSS	72,17 (20,49) 19 - 130	74,53 (21,94) 27 - 134	63,81 (23,95) 11 - 108	66,20 (13,78) 30 - 121

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

5.3 Correlações

Procurou-se pela presença de correlação entre os dados de avaliação funcional, qualidade da pele da cicatriz e porcentagem de área dos enxertos aos 12 meses. É importante ressaltar que a presença de correlação não demonstra a existência de uma relação de causa e efeito, ela simplesmente mostra que os dados se correlacionam de uma maneira diretamente ou inversamente proporcional.

Porcentagem de área aos 12 meses e taxa de melhora funcional aos 12 meses

Há correlação entre a porcentagem de área final e a taxa de melhora funcional aos 12 meses, $p=0,00$ e $\rho=0,755$, mostrando que quanto maior a área final maior a taxa de melhora funcional. A regressão linear se mostrou positiva ($p=0,000$; $r^2=0,571$) (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Regressão linear da porcentagem de área e a taxa de melhora funcional.

MCS - Matriz com silicone; MSS - Matriz sem silicone

Porcentagem de área aos 12 meses e qualidade da pele aos 12 meses

A qualidade final da pele se correlacionou com a porcentagem de área dos enxertos aos 12 meses, pela escala de Vancouver ($p=0,003$; $\rho= - 0,579$) e de POSAS Observador ($p=0,004$; $\rho= - 0,565$); quanto melhor a qualidade da pele, menor a retração dos enxertos.

Qualidade da pele aos 12 meses e taxa de melhora funcional aos 12 meses

A qualidade da pele aos 12 meses mostrou ter correlação com a taxa de melhora funcional, tanto pela escala de Vancouver ($p=0,000$; $\rho=-0,664$), quanto pela escala de POSAS Observador ($p=0,000$; $\rho=-0,678$), demonstrando que quanto melhor a qualidade da pele, maior a taxa de melhora funcional.

Para verificar se a idade poderia influenciar na resposta dos pacientes, procurou-se por correlações com a área dos enxertos, com a qualidade da pele e com a taxa de melhora funcional e não houve resposta positiva para nenhum dos dados. Também não foi encontrada nenhuma diferença quando se compararam os resultados dos homens com o das mulheres.

Em todas as análises envolvendo a qualidade da pele se obteve resultados idênticos com a escala de Vancouver e a escala de POSAS Observador. O mesmo não aconteceu com a escala de POSAS Paciente cujos achados foram inconsistentes, ora espelhando os das outras duas escalas, mas, em sua maioria, discordando.

6 DISCUSSÃO

O tratamento das sequelas de queimaduras constitui um enorme desafio. Alguns dos pacientes vítimas de queimaduras evoluem com cicatrizes de má qualidade; lesões complexas e muitas vezes extensas que demandam a substituição do tecido, por outro de melhor qualidade, que solucione tanto as questões funcionais quanto as estéticas. Idealmente, os auto-enxertos espessos de pele são os mais indicados; como se sabe, a quantidade de derme no auto-enxerto de pele tem um papel determinante para a elasticidade e a aparência final da ferida enxertada. A derme provê as propriedades de resistência e flexibilidade da pele. Enxertos com camadas muito finas de derme, ou às vezes com áreas de derme ausente, resultam em regiões frágeis, pouco elásticas, instáveis e de aparência irregular; e evoluem frequentemente com retração secundária intensa, e até perda do resultado do tratamento^{8,19,226}.

Em geral, ainda que a ansiedade dos pacientes seja grande, aguarda-se a maturação da cicatriz resultante da queimadura. Com isso diminuem os riscos do procedimento, especialmente o excesso de sangramento, e confere a certeza de que não haverá uma regressão espontânea ou decorrente dos recursos não cirúrgicos, como o uso de malha compressiva, massagem, fisioterapia, terapia ocupacional, ácidos, lasers entre outros e que devem ser esgotados antes do tratamento cirúrgico²²⁷⁻²²⁹. Tais recursos ganham força dia a dia. Infelizmente, em

alguns casos, a espera leva a um tempo de recuperação longo e mantém o paciente limitado, seja funcional ou socialmente¹⁹.

Estes pacientes, que necessitam refazer a cobertura cutânea, seguem uma sequência de raciocínio já estabelecida⁹⁷, inicialmente realiza-se o tratamento clínico, caso não seja o suficiente, opta-se pelo auto-enxerto de pele de espessura parcial com espessura média. Quando isso não é possível, seja por que a área doadora já foi utilizada anteriormente ou porque já foi realizado auto-enxerto sem sucesso, utiliza-se uma matriz dérmica. Desta maneira, tenta-se prover a maior quantidade de derme na pele que cobrirá o defeito criado pelo tratamento da sequela, seja realizando um auto-enxerto de pele espesso ou através da indução da formação de uma nova derme com uma matriz de regeneração dérmica.

Busca-se há décadas por soluções. As matrizes de regeneração dérmica surgiram como uma alternativa de reposição da derme; arcabouços de colágeno, em forma de malha utilizados para cobrir o leito e guiar o crescimento de uma derme adequada para nutrir a epiderme, ideal para os enxertos finos de pele¹⁴². Vários produtos foram lançados, prometendo resultados similares aos dos auto-enxertos espessos de pele, por meio da indução da formação de uma nova derme^{20,150,197,230} capaz de garantir uma pele com qualidade similar à pele normal^{20,230}, após a colocação de enxertos finos²³¹.

As matrizes disponíveis apresentam algumas diferenças, notadamente na composição da malha, na presença ou não de uma cobertura de silicone e por serem absorvíveis ou inabsorvíveis. Não há consenso sobre as melhores indicações para cada tipo de matriz, nem, de fato, informações sólidas comparando os resultados obtidos com cada uma delas^{19,27-29}.

No presente estudo a proposta foi comparar os resultados da utilização de duas matrizes de regeneração dérmica disponíveis, um com lâmina de silicone (MCS) e um sem (MSS), em pacientes com lesões em vários locais diferentes, como ocorre na prática. O objetivo era acompanhar a evolução dos pacientes, comparar os resultados obtidos com cada matriz e avaliar o aspecto histológico das peles enxertadas e seus leitos de tecido conjuntivo, com o intuito de melhor conhecer o comportamento dessas matrizes e eventualmente melhor orientar suas indicações.

A MSS é formada por colágeno bovino tipo I sem ligações cruzadas e elastina. O objetivo de não ter ligações cruzadas é provocar menor reação imunológica²³² e o da elastina de retardar a absorção da matriz, além de diminuir a invasão de fibroblastos e miofibroblastos na matriz¹⁴⁶. Já a MCS é formada de colágeno tipo I com ligações cruzadas e condroitin-6-sulfato. A condroitin-6-sulfato é um glicosaminoglicano sulfatado que aumenta a resistência a colagenase, da mesma maneira como o colágeno com ligações cruzadas, fazendo com que sua absorção seja mais lenta. Portanto, como diferença fundamental entre as matrizes, está o tempo esperado quanto a sua absorção: na MCS a absorção é lenta e o produto permanece no leito onde foi aplicado por meses, ao contrário da MSS que se espera absorção em poucas semanas.

Vinte e quatro pacientes foram incluídos no estudo, com lesões que envolveram cotovelo, pescoço, axila, mão e tronco. Procurou-se parear pacientes, para que a composição dos dois grupos fosse homogênea em relação aos locais operados, ao grau de limitação da movimentação e à

qualidade da pele. Os pacientes foram alocados por sorteio para constituir os grupos de estudo, segundo critérios de inclusão baseados na classificação da qualidade da pele original pelas escalas de Vancouver e POSAS e uma avaliação funcional para classificar o grau de limitação da movimentação que permitisse a comparação entre articulações diferentes, e que levou em conta não somente a limitação, mas também informações sobre desconforto e/ou dor à realização dos movimentos. Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre os grupos na avaliação pré-operatória, nem para a avaliação funcional, nem para as avaliações de qualidade da pele realizadas pelas escalas de Vancouver e POSAS Observador.

A integração dos enxertos de pele está intimamente relacionada à qualidade do leito de tecido conjuntivo que receberá o enxerto. Um suprimento vascular adequado obviamente influenciará na melhor integração do enxerto, mas também a constituição da matriz extracelular é de grande importância. Espessura das fibras colagênicas, formação de feixes de fibras, disposição arquitetural das fibras e feixes, quantidade de material interfibrilar e sua composição química e quantidade de água são todos aspectos que podem influenciar as propriedades biomecânicas dos tecidos.

As cicatrizes responsáveis pelas sequelas observadas nos pacientes apresentam combinações variáveis de algumas das seguintes alterações morfológicas da derme: aumento da espessura dos feixes de colágeno; alterações na distribuição arquitetural desses feixes; perda da camada superficial de tecido conjuntivo frouxo presente na pele intacta (derme papilar); aumento da espessura de tecido conjuntivo subepidérmico em relação à derme normal;

diminuição proporcional da quantidade de substância fundamental amorfa entre os feixes de colágeno; e até mesmo alterações na composição dos elementos da substância amorfa, como diferenças na quantidade e/ou qualidade dos proteoglicanos, glicosaminoglicanos e ácido hialurônico. Estas alterações podem afetar as propriedades biomecânicas do tecido e também a mobilidade da pele em relação aos tecidos subjacentes (gordura, músculos, fáscias, articulações), sendo responsáveis pelas cicatrizes que podem apresentar distorções de cor e relevo; consistência e espessura; aderência além de limitação na movimentação das articulações. O objetivo do tratamento é a correção, ou a minimização destes problemas.

As matrizes de regeneração dérmica trouxeram uma nova perspectiva ao tratamento das sequelas de queimaduras, prometendo resultados similares aos dos auto-enxertos espessos de pele¹⁴², por meio da indução da formação de uma nova derme que possibilitaria a colocação de um auto-enxerto fino de pele, levando a menores sequelas na área doadora e uma qualidade de pele similar à da pele normal, especialmente quanto a sua elasticidade^{20,150,230}.

O uso das matrizes, no entanto, envolve certos cuidados como a hemostasia rigorosa, uma vez que a presença de pequenos hematomas leva a não integração da matriz; a realização de curativos com técnica asséptica a cada três ou quatro dias; na maioria das vezes, a realização de duas cirurgias, o que resultam em um tempo de internação prolongado. Além de terem custo elevado²³³.

A técnica cirúrgica envolveu a completa remoção dos tecidos responsáveis pela retração das articulações, sobre o qual eram implantadas

as matrizes dérmicas, que posteriormente eram recobertos por auto-enxertos finos de pele. Como citado acima, o leito de tecido conjuntivo influencia na integração do enxerto e na qualidade da cicatriz resultante; portanto, não é interessante que se mantenha a cicatriz original como leito receptor. A correta utilização das matrizes requer um tempo de aprendizado sobre, por exemplo, como aplicar em superfícies curvas e com grande movimentação. A aplicação da MCS se mostrou mais difícil, em função da presença da lâmina de silicone. A matriz é pouco maleável tornando difícil sua adaptação às superfícies curvas, exigindo recorte constante e a realização de pontos cirúrgicos de adesão entre a matriz e o leito. Em contrapartida, a presença da lâmina de silicone permite a fixação da matriz com pontos cirúrgicos à borda da ferida, impedindo sua movimentação. Já a aplicação da MSS se mostrou bastante fácil, permitindo uma perfeita adaptação a qualquer superfície. Por outro lado, a falta da lâmina de silicone impede sua fixação com pontos cirúrgicos à borda da ferida. Ao ser umedecida, encolhe cerca de 5%, exigindo, portanto, atenção para que a matriz não fique menor que a ferida ao término da cirurgia. A facilidade da sua colocação certamente é uma vantagem. A troca de curativos da MCS se mostrou bastante fácil e indolor. Não trazendo nenhuma queixa dos pacientes, uma vez que a lâmina de silicone não aderiu ao curativo. Isso não aconteceu com a MSS, os pacientes queixavam-se de muita dor, já que a lâmina de *rayon* aderiu ao leito. Além disso, sua retirada levava frequentemente a sangramento. Ainda assim, não se observou nenhuma complicação (infecção, hematoma, bolhas, coleção serosa, descolamento da lâmina de silicone) nos pacientes deste estudo. Esses resultados estão de

acordo com a literatura²⁰³.

As matrizes de regeneração dérmica têm o intuito de se refazer a derme, chamando-a de neoderme¹⁹³. De fato, não há uma definição para o termo “neoderme” no contexto das matrizes dérmicas; se se refere à formação de uma camada de tecido conjuntivo suficientemente adequada para receber e nutrir o enxerto, propiciando uma cobertura cutânea satisfatória, ou se se refere a uma semelhança histo-arquitetural com a derme normal. Claramente o primeiro objetivo é alcançado, há formação de um leito adequado, que dá origem a cicatrizes de melhor qualidade. Nossa avaliação, no entanto, demonstrou que o tecido conjuntivo neoformado após a implantação das matrizes nunca atinge as características morfológicas da derme normal. Segue os processos de deposição de tecido conjuntivo descritas para qualquer cicatrização; deposição inicial de tecido conjuntivo frouxo, rico em vasos neoformados (tecido de granulação), que depois dá origem a um tecido conjuntivo com densidade variável, dependendo do tamanho da lesão e do local afetado. O que se observou, foi a formação de um tecido conjuntivo arquiteturalmente indistinguível do das cicatrizes originais dos pacientes. Desse modo, o termo neoderme só se aplica à definição de camada suficientemente adequada para receber e nutrir o enxerto. De fato, o tecido neoformado é cicatricial. Isso não invalida a vantagem do uso das matrizes; clinicamente é indiscutível a grande porcentagem de bons resultados com sua aplicação, e o alcance de cicatrizes de muito melhor qualidade do que as originais^{25,142,151,193,234}.

Como esperado, a MSS sofreu absorção. Já no dia do enxerto (19 dias

depois da implantação), não se observava a presença da matriz nos cortes histológicos. Somente pequenos fragmentos da MSS estavam presentes em meio ao tecido conjuntivo neoformado, em algumas biópsias colhidas no dia do enxerto (três casos) e 12 dias após o enxerto (três casos), no material analisado pela microscopia de luz. A MSS nunca foi detectada no material analisado pela microscopia eletrônica. Como descrito, no dia do enxerto o tecido conjuntivo neoformado era mais denso na profundidade e ficava mais frouxo conforme se aproximava da superfície, onde tinha o aspecto clássico de tecido de granulação. Já a MCS, não foi reabsorvida. No dia do enxerto também havia crescimento de tecido conjuntivo mais denso na profundidade, que ficava mais frouxo em direção à superfície, povoando as lacunas da malha até o topo. A presença da camada de silicone limitava o crescimento do tecido, portanto, no dia do enxerto, observou-se uma superfície formada pelo topo da matriz e a pequena quantidade de tecido presente nas lacunas. Embora esse tecido fosse igual ao tecido de granulação presente na MSS, inclusive com vasos, a quantidade disponível para contato com o enxerto era menor (não quantificado). Constatou-se que a taxa de integração dos enxertos foi menor no grupo MCS do que no MSS. Não havia uma camada de tecido conjuntivo sobre a MCS, no dia do enxerto, acredita-se, então, que a capacidade de fornecer nutrição para o enxerto, quer pela vascularização quer por embebição, não fosse igual à dos casos tratados com MSS, e talvez justificasse a diferença de integração. Essa impressão merece maiores estudos para ser confirmada, eventualmente retirando-se a camada de silicone da MCS antes da implantação, para avaliar os resultados, como fez Schneider *et al.*²⁷ em seu estudo comparativo entre

Integra[®] e Matriderm[®]. Desta forma, seria possível avaliar se a aplicação do enxerto sobre um tecido conjuntivo frouxo que já tivesse se desenvolvido acima da matriz favorece a integração, aproximando-a das taxas conseguidas com a MSS. Seria interessante também quantificar a vascularização, usando os mesmos moldes de aplicação das matrizes deste estudo, comparando a MCS à MSS no dia do enxerto e também 12 dias após o enxerto, quando já havia sido formada a camada de tecido de granulação acima da MCS, entre ela e o enxerto. Schneider não observou diferença na vascularização entre as duas matrizes dérmicas. Ainda que se tenha constatado diferença entre as taxas de integração dos enxertos entre os grupos, os níveis alcançados foram altos para ambos (MCS 90,3% e MSS 97,9%). A média calculada para toda a série de pacientes foi de 94,6%. A taxa média de integração de enxertos na literatura é de 89%^{39,235}, nota-se então, que mesmo o índice mais baixo alcançado com a MCS não fugiu do esperado.

Não houve diferença entre a taxa de integração das matrizes dérmicas, que atingiu quase 100% em todos os casos (98,67% para a MCS e 99,58% para a MSS), o que comprovou a eficácia da técnica cirúrgica e do método escolhido de curativo, a terapia de pressão negativa. Na literatura, a taxa de integração média das matrizes dérmicas sem o uso de TPN é de 80%^{39,197,203,236}.

Os altos índices de integração alcançados tanto das matrizes dérmicas quanto dos auto-enxertos de pele devem-se certamente aos cuidados técnicos e ao uso dos curativos de pressão negativa, que é amplamente utilizado e recomendado por diversos autores com este intuito^{39,125,161,237}.

Aldunate *et al.*¹⁹⁵ descreveram um aumento de 80% para 100% de integração das matrizes com o uso da TPN. O curativo de TPN mudou os resultados das cirurgias com matrizes dérmicas, ainda que tenha um custo elevado, parece indicado sempre que possível, pois, além de diminuir de maneira significativa as complicações, viabiliza a utilização das matrizes em regiões anatômicas difíceis de se fazer curativos convencionais, como as axilas^{238,239}, pois oferece a sua adequada imobilização, necessária à sua integração¹⁹⁴, além de trazer conforto ao paciente, em contrapartida, os pacientes precisam permanecer conectados à bomba de vácuo, mas o equipamento tem bateria e permite pequenas caminhadas. A sinergia observada no uso TPN parece estar relacionada com o isolamento eficiente das matrizes com o meio externo, diminuindo as infecções, a imobilização adequada e homogênea da matriz sobre o leito^{161,198-200} e o aumento da velocidade da vascularização da matriz^{39,198-200}. Baldwin *et al.*¹⁶¹ demonstraram que a migração de células endoteliais ocorre 35% mais rápido com TPN em modo contínuo e 75% em modo intermitente. No entanto, em 2010, Moiemmen *et al.*¹⁹³ demonstraram em estudo imunohistoquímico com anticorpos para CD3 e CD4 que não houve aumento na vascularização comparado com outros estudos histológicos. O que também foi suportado por estudo de Gregor *et al.*²⁰¹ e Ubbink *et al.*²⁰². Apesar de alguma controvérsia quanto a vascularização persistir na literatura, parece não haver mais dúvida no que tange a maior taxa de integração da matriz, menor perda por escorregamento, antecipação da integração, melhor fixação, menor incidência de hematomas e seromas e maior facilidade dos curativos^{193-195,203}.

Os resultados do estudo demonstraram que houve melhora na amplitude de movimentação para os dois grupos após o seguimento dos pacientes por um ano; a qualidade da pele também melhorou. A taxa de melhora funcional foi maior para o grupo tratado com a MCS em comparação com a MSS (MCS 6,83; MSS 3,5). Também a pele, avaliada pelas escalas de Vancouver e POSAS Observador, demonstrou melhor qualidade para o grupo MCS (Vancouver MCS 2,67; MSS 6,00; POSAS MCS 20,17; MSS 33,00). Todos os pacientes apresentaram alguma melhora tanto da movimentação quanto da qualidade da pele. A partir dos três meses após o enxerto já se constatava melhora superior da qualidade da pele no grupo tratado com a MCS (Vancouver). A avaliação da qualidade da pele ao longo do tempo para cada matriz, mostrou não haver diferença entre os seis e os 12 meses em ambos os grupos.

Quando ficou constatado que a MCS teve comportamento superior ao da MSS, restava tentar descobrir o porquê da diferença. Ao se analisar a área dos enxertos, pode-se observar que houve retração em ambos os grupos, no entanto a retração final com o uso da MCS foi menor do que com a MSS. Além disso, para a MCS, não mais se observou diferença estatisticamente significativa entre a porcentagem de área no dia do enxerto e aos 12 meses, diferença que ainda foi encontrada quando se compararam os mesmos tempos experimentais para a MSS. Na MCS, houve um pequeno aumento das áreas após os seis meses. Foi evidenciada também correlação entre a taxa de melhora funcional dos pacientes e a área final dos enxertos, desta forma mostrando que os pacientes que melhoraram mais, tiveram menor retração.

Apesar de ter havido retração entre o dia da colocação das matrizes e o dia do enxerto (19 dias depois), não se constatou diferença estatística. A partir dos três meses pós-enxerto, a retração na MSS foi sempre estatisticamente maior do que na MCS.

A suspeita de que o tecido conjuntivo formado na MCS tivesse uma qualidade melhor do que com as MSS, no sentido de que se assemelhasse mais à derme normal não se confirmou. O tecido formado é cicatricial e seguiu os padrões clássicos de deposição, tanto para MCS quanto para MSS. A evolução do processo cicatricial não foi idêntica, para os dois grupos. Sete (dados não apresentados) e doze dias após o enxerto, notou-se a presença de uma camada de tecido de granulação entre a matriz e o enxerto nos casos de MCS. Nesta época na MSS, havia tecido conjuntivo mais frouxo na superfície, mas que já não tinha mais o aspecto de tecido de granulação. Aos dois meses, todo o tecido conjuntivo neoformado era denso na MSS e em alguns casos já nem era mais possível delimitar o limite com a derme do enxerto, quando avaliado pelo método do Picrossírius. Na MCS, os achados foram mais variáveis, alguns casos ainda apresentavam tecido conjuntivo mais frouxo na superfície e outros já tinham aspecto semelhante ao da MSS, com tecido conjuntivo denso em toda a espessura. A partir dos seis meses já não se notou mais essa diferença. Todos os casos só continham tecido conjuntivo denso, agregado em feixes grossos, densamente empacotados, dispostos em várias direções, com muito pouca substância fundamental amorfa de permeio, indistinguível do padrão das cicatrizes originais. Os achados sugerem que na MCS, a fase de tecido de granulação se prolonga

um pouco, em comparação com a MSS, para que uma quantidade adequada de tecido prolifere e possa garantir suporte e nutrição para o enxerto, ainda depois de sua colocação. No caso da MCS, a matriz esteve presente em todos os casos, até um ano pós-enxerto. Philandrianos em um estudo comparativo entre grupo controle e matrizes dérmicas em porco, refere absorção parcial e fragmentação da matriz Integra[®], 21 dias após a colocação, e degradação completa, tanto da Integra[®] quanto da Matriderm[®] após 60 dias²⁸. Em quatro dos pacientes tratados com MCS, foi observada a presença de áreas de descontinuidade na matriz, como se ela houvesse rasgado num único ponto, mas não havia fragmentos isolados em nenhum dos casos; a presença da MCS era facilmente identificável, como demonstrado nas várias ilustrações apresentadas. Houve sim, alguma variação na quantidade de tecido conjuntivo que se acumulava em meio à malha da matriz, com uma tendência de aumentar ao longo do tempo em alguns pacientes. A interpretação destes dados, no entanto, requer maior aprofundamento e foge do objetivo deste trabalho. O mesmo estudo também reporta que seis meses após a implantação das matrizes, não havia diferença na histologia ou na retração, quando se compararam os vários tipos de matrizes. Com os dados disponíveis na publicação, não conseguimos indícios para explicar essa discrepância com os achados do presente estudo (maior retração na MSS que na MCS, desde os três meses após o enxerto).

Não havia presença de tecido normal abaixo da cicatriz em todas as biópsias. Isso seria necessário para que se pudesse medir seguramente a espessura das cicatrizes, sabendo que todo o tecido tinha sido representado.

Por esse motivo, não se pôde avaliar a espessura das cicatrizes. Esse dado teria sido importante para determinar se há diferença entre os dois tipos de matrizes. O fato de não se ter detectado nenhuma diferença no tecido conjuntivo entre os grupos, nem a nível microscópico nem a nível ultraestrutural (não se constataram quaisquer diferenças estatisticamente significativas entre os diâmetros das fibrilas de colágeno quando comparadas pele normal, cicatriz original, MCS e MSS), nos deixa ainda a dúvida: qual a explicação para a diferença de resposta aos tratamentos? Algumas suposições são possíveis: a) a espessura de tecido conjuntivo formado na MSS é mais grossa do que na MCS e isso seria responsável pela maior retração, b) a quantidade de tecido conjuntivo na MCS é menor do que na MSS, devido ao espaço ocupado pela matriz, c) a simples presença da matriz resulta em propriedades biomecânicas diferentes e mais favoráveis no tecido da MCS, e d) uma combinação entre as três hipóteses. Estudos em andamento já conseguiram solucionar o problema com a espessura das biópsias. Dados complementares, necessários para a quantificação do tecido conjuntivo também já estão sendo computados. A resposta, no entanto, pode estar em outros pontos. Os achados deste estudo são compatíveis com a hipótese de que a permanência da matriz pode limitar a retração. Alguns estudos recentes descrevem a construção de matrizes dérmicas que durem por mais tempo, utilizando para isso a incorporação de quitosan à malha de colágeno, polissacarídeo presente no exoesqueleto de crustáceos^{240,241}. Outros ainda referem a construção de matrizes mais “rígidas”, exatamente com a intenção de que funcionem como um arcabouço que restrinja a

retração²⁴².

Quatro casos chamaram a atenção, nos quais a retração foi severa (acima de 85%), mas em que ainda se observou melhora na movimentação. Não existe na literatura nenhuma explicação. Tredget *et al.*²⁴³ descrevem a realização de plástica em “Z” intralesional, com melhora da qualidade da cicatriz em toda a região e propõe que a explicação envolva o fato de o processo inflamatório não ficar restrito e se expandir além da lesão, levando à remodelação do tecido conjuntivo próximo à cirurgia. Isso sugere que o mesmo pudesse ocorrer na região dos enxertos. Entretanto, não se pode esquecer também, que a expansão da área de pele disponível altera as forças biomecânicas que agem na região enxertada, a própria mobilidade aumentada também contribui para isso, sessões adicionais de fisioterapia podem acrescentar alongamento. Além disso, a remodelação decorrente do processo inflamatório deve acontecer logo após a cirurgia. O que se observou nos pacientes foi uma diminuição progressiva da área dos enxertos até os três meses após a cirurgia. No caso da MSS não houve recuperação na área dos enxertos; na MCS houve um pequeno aumento entre os seis e os 12 meses. Nessa época, o processo inflamatório não tem mais influência. A explicação mais provável reside no fato de que a cirurgia inicial abriu espaço para a recuperação da amplitude total do movimento, criando uma “falha” que foi preenchida pela matriz e o enxerto. Todos os pacientes partiram de um aumento na área de superfície de pele; em nenhum caso houve retração completa, nem uma medida chegou a zero. Desta forma, por maior que tenha sido a retração, todos os casos ainda acabaram com um “ganho” de área de pele, provavelmente responsável pela melhora, ainda que pequena, observada na

movimentação.

A retração dos enxertos foi avaliada através da área. Essa não foi uma decisão simples, mas a dúvida trouxe à tona ideias interessantes. Para começar, os enxertos não tinham formatos regulares e nem tinham superfícies planas. Optou-se por medir o maior eixo do enxerto e o maior eixo perpendicular a ele. As medidas foram feitas sempre pelo mesmo avaliador, e obtidas diretamente nos pacientes, com uma fita métrica, de modo a melhor incorporar variações nas medidas devido ao relevo e facilitar no caso de superfícies curvas. Atualmente já foi incorporado um método que se pode dizer que é mais acurado, que consiste em cobrir a superfície com um filme plástico, acompanhando minuciosamente os contornos da região e desenhando as margens.

A literatura é rica em artigos sobre avaliação cicatricial, e concorda que nenhuma escala de avaliação é perfeita^{204,213}. A escala de Vancouver²⁰⁵, em uso desde 1990, tornou-se amplamente utilizada na avaliação de cicatrizes²⁰⁴. Tendo sido traduzida em 2014 para o português do Brasil²⁴. Devido às suas limitações, apenas quatro parâmetros são avaliados: elasticidade, vascularização, espessura e pigmentação, surgiram outras escalas, como *Matching Assessment of Photographs and Scars* (MAPS)²⁴⁴, VAS²⁴⁴, POSAS²⁰⁶, MSS^{211,244-246} ou variações da escala de Vancouver foram desenvolvidas^{23,207,214,219,247,248}. Em comum, todas são subjetivas, pois avaliam as mesmas características ou avaliam aspectos como distorção, textura e contorno (MSS) com exame clínico ou fotográfico. Além de levarem em conta apenas a avaliação do observador, exceto a escala de POSAS

paciente, que tem uma escala específica para ele. Tyack *et al.*^{204,249}, realizaram uma revisão sistemática com diversas escalas e sugere baseado nos dados o uso da escala de Vancouver modificada para estudos controlados, longitudinais com medidas ao longo do tempo e o POSAS para estudos com medida isolada e que deseja ouvir a opinião do paciente, uma vez que não foi testado quanto à capacidade de resposta ou reteste. Este estudo nos motivou a utilizar estas duas escalas de avaliação.

A escala de avaliação de POSAS ganhou popularidade nos últimos anos²⁰⁶, tendo sido traduzida para o português do Brasil em 2016²⁵⁰. Seu mérito teórico está em avaliar a cicatriz tanto do ponto de vista do observador quanto do ponto de vista do paciente, além de ter tido demonstrado em seu estudo original ser mais confiável na avaliação de cicatrizes de queimaduras que a escala de Vancouver. No entanto, da mesma maneira como a escala de Vancouver, também é subjetiva, pois é realizada apenas no exame clínico do paciente. Em seu estudo original²⁰⁶, a escala se mostrou mais completa, por ter duas avaliações, observador e paciente e com resultados estatísticos superiores, consistência interna maior que Vancouver, Cronbach's alpha, 0,76 (paciente) e 0,69 (observador), enquanto Vancouver aparece com 0,49.

A versão do paciente, que no início acreditava-se ser uma vantagem se mostrou um problema na prática. Se para um profissional da área da saúde é difícil avaliar, para o leigo, a escala se mostrou muito complexa, ainda que suas perguntas fossem simples como “*A cor da cicatriz está diferente da cor da pele normal neste momento?*” ou “*A altura da cicatriz está diferente da pele normal neste momento?*”. Dar uma nota de 1 a 10 na prática foi muito

difícil para os pacientes, eles se mostravam confusos, inseguros e algumas vezes referiam não saber. Em sua tradução para o português, Collares *et al.*²⁵⁰ referiram que 13% dos pacientes apresentaram dificuldade na compreensão das perguntas e atribuiu ao baixo nível de escolaridade dos mesmos.

Apesar da subjetividade, são amplamente utilizadas e seu emprego permite que os resultados sejam comparados aos de outros estudos. Todas elas exigem que o observador seja treinado para que as medidas tenham consistência. Elas envolvem um misto de informações sobre textura da pele, cor e relevo, mas não avaliam sempre os mesmos aspectos. A escala POSAS, por exemplo, tem um item que solicita uma “opinião geral” sobre a cicatriz; tanto do observador como do paciente. De partida pensou-se que até mesmo a comparação entre o resultado das duas escalas não fosse mostrar correlações. Foram testadas algumas opções; utilizou-se da soma completa dos itens (Vancouver e POSAS Observador), mas também procurou-se fazer outros agrupamentos que incluíssem somente aspectos avaliados nas duas escalas (elasticidade, espessura, pigmentação e vascularização); e também usando informações somente de dados que pudessem estar relacionados à melhora da movimentação (elasticidade e espessura). Foram empregadas até a soma completa da escala de Vancouver contra a soma da escala POSAS excluindo a opinião geral, e assim por diante, mais algumas tentativas. Surpreendentemente, os resultados corresponderam, para os vários subgrupos de dados. Já para a escala POSAS Paciente o mesmo não aconteceu; embora as perguntas fossem claras (“A cor da cicatriz é diferente da cor da pele normal no momento?” ou “A espessura da cicatriz é diferente da pele normal no momento?”), os pacientes

tiveram muita dificuldade para dar uma nota de um a 10, mostravam-se confusos, inseguros e algumas vezes referiam não saber. Como descrito anteriormente, a análise dos dados (POSAS Paciente) mostrou resultados inconsistentes, e quase sem correspondência com os das outras escalas (Vancouver e POSAS Observador). O mesmo problema não é descrito na literatura^{249,251}. Foi dado início a análises para tentar esclarecer as razões, mas até o momento do fechamento deste trabalho, ainda não se havia chegado a uma conclusão a respeito. O melhor seria abandonar o uso das escalas e partir para a quantificação direta, muito embora a referência à dor e coceira, assim como o desconforto também levado em conta na avaliação funcional, não possam prescindir da impressão dos pacientes.

Existem aparelhos específicos para medir algumas destas características, como o cutômetro, o torquímetro, ultrassom ou o colorímetro, mas que infelizmente não estão disponíveis para uso e, que também apresentam limitações²⁰⁴. De qualquer maneira, de posse deles, provavelmente não caberia mais o uso de escalas de avaliação e avançar-se-ia ao uso de medidas objetivas^{20,230,252}.

Durante as cirurgias piloto, observou-se que havia muita diferença na coloração dos enxertos logo após sua retirada da área doadora, dando a impressão de que havia variação de espessura entre eles. Em função disso, Vana *et al.*²⁵³ realizaram um estudo com os oito dermatômos disponíveis no centro cirúrgico em que se comparou a espessura medida diretamente na fenda de retirada do enxerto com a espessura marcada na regulação do aparelho. Os resultados mostraram discrepância entre os dados. O problema

foi resolvido com a padronização da técnica, o mesmo dermatômetro foi utilizado durante todo o estudo e o enxerto foi sempre retirado pelo mesmo cirurgião.

Para comprovar a homogeneidade entre os grupos MCS e MSS, medimos a espessura dos enxertos 12 dias após o enxerto e os resultados não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Também não foi observada nenhuma correlação entre a espessura dos enxertos e a taxa de melhora funcional, a área dos enxertos aos 12 meses ou a qualidade da pele aos 12 meses, pela escala de Vancouver e de Posas Observador, demonstrando que a espessura dos enxertos não interferiu nos resultados do estudo.

O estado da arte no tratamento do paciente queimado é: sem mortes, sem cicatriz e sem dor. A sua busca contínua passa pelo substituto de pele ideal, que deve contemplar as seguintes características: estar disponível e ser fácil de armazenar, fácil utilização, integração fácil e duradoura, não ter rejeição, não precisar de enxertos ou tratamentos complementares e prover cobertura epitelial definitiva²⁵⁴.

Novas tecnologias surgem e abrem a possibilidade de se desenvolver produtos que se sejam capazes de induzir a formação de uma nova pele com suas diversas estruturas ou ainda, que já sejam apresentados como um produto pronto, com suas duas camadas. Nesta direção temos o desenvolvimento de matrizes de regeneração dérmica impressas em impressoras 3D associadas a células cultivadas ou não. A impressão tridimensional possibilita a criação de poros e túneis que permitem a migração celular selecionada e a deposição de matriz extracelular de maneira

controlada. Ou ainda o desenvolvimento de substitutos de duas camadas formados com combinação de colágeno e fibroblastos cobertos com epitélio, ambos originados do próprio paciente e cultivados em laboratório. As células tronco avançam dia a dia, associadas ou não a matrizes²⁵⁵, seu potencial de desenvolver um órgão completo persiste e seduz, são cada vez mais compreendidas e abrem novas perspectivas, porém ainda longe da realidade.

Certamente nos próximos anos, a cobertura cutânea alcançará um novo estágio de desenvolvimento com novos produtos e por isso, estudos avaliando-os e comparando-os continuarão necessários. Vale prosseguir nesta direção com a nova linha de pesquisa que se estabeleceu.

7 CONCLUSÕES

a) A avaliação clínica mostrou que todos os pacientes tratados apresentaram algum grau de melhora clínica. Todas as análises apresentadas demonstraram resultados estatisticamente significativos.

- Houve aumento da amplitude dos movimentos com o emprego das duas matrizes dérmicas.
- Houve melhora da qualidade da pele das áreas tratadas com o emprego das duas matrizes dérmicas.
- Houve retração das áreas dos enxertos com o emprego das duas matrizes dérmicas.

b) A avaliação clínica mostrou superioridade da matriz de regeneração dérmica com lâmina de silicone. Todas as análises apresentadas demonstraram resultados estatisticamente significativos.

- A melhora funcional foi maior na matriz com silicone.
- A melhora da qualidade da pele foi maior com a matriz com silicone.
- A retração das áreas dos enxertos foi menor na matriz com silicone.

c) O tecido neoformado abaixo da epiderme é do tipo conjuntivo denso, idêntico ao das cicatrizes originais dos pacientes, tanto na matriz dérmica com silicone quanto na sem silicone.

d) Não houve diferença no tecido conjuntivo dos casos tratados com as matrizes dérmicas com silicone e sem silicone.

e) Não houve formação de um tecido semelhante ao da derme normal em nenhuma das matrizes de regeneração dérmica.

f) Não houve diferenças nos diâmetros das fibrilas de colágeno à microscopia eletrônica quando se comparam a pele normal, as cicatrizes originais e as cicatrizes na matriz dérmica com silicone e na sem silicone.

g) Não houve diferença na espessura dos enxertos de pele entre os dois grupos estudados.

Anexo A - Aprovação CAPPesq

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0084/10

Título: ESTUDO COMPARATIVO DO COMPORTAMENTO DE MATRIZES BIOLÓGICAS DE REGENERAÇÃO DÉRMICA, ANÁLISES CLÍNICA E HISTOLÓGICA.

Pesquisador Responsável: Luiz Philipe Molina Vana

Departamento: CIRURGIA

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA ad-referendum** em 22/01/2013, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

- Carta datada de 10/12/2012 - Será tese de doutorado do pesquisador executante tendo como orientador o Prof. Dr. Nivaldo Alonso
- Relatório parcial
- Novo projeto

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 22 de Janeiro de 2013

PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº..... APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO Nº..... APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Estudo comparativo entre as matrizes de regeneração dérmica Integra® e Matriderm® em 20 pacientes, análise clínica e histológica.

PESQUISADOR : Luiz Philipe Molina Vana

RGO/FUNÇÃO: médico chefe do ambulatório de sequelas de queimaduras do HC – FMUSP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 79.754

UNIDADE DO HCFMUSP: Ambulatório de Cirurgia Plástica do HC-FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 1 ano

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, isto quer dizer que você participa se quiser, não é obrigado e não atrapalhará o seu tratamento no nosso ambulatório. Este estudo visa a melhoria das técnicas de cirurgia no tratamento das sequelas de queimaduras com a utilização da matriz de regeneração dérmica, conhecida popularmente, mesmo que o nome não seja este de “pele artificial”.

Os procedimentos ou cirurgia que serão realizados serão iguais aos que já realizamos rotineiramente em nossos pacientes, exceto pelo fato de que estes pacientes terão biópsias de pele, isto é, serão colhidos pequenos pedaços de pele com anestesia local (não atrapalha o dia do paciente e não dói ou dói muito pouco), chamado de biópsia, para exame (anátomo patológico). Assim, teremos uma primeira etapa, que seria igual a do enxerto convencional de pele, onde colocamos a “pele artificial” e uma segunda etapa onde colocamos sobre a “pele artificial, um enxerto fino, o mais fino que conseguimos tirar do paciente. Estas duas camadas, “pele artificial junto com o enxerto fino, vão formar a pele definitiva com espessura parecida com a pele normal.

Os procedimentos serão iguais aos que já realizamos normalmente e são iguais a qualquer cirurgia realizada, exames pré-operatórios de sangue e do coração.

Os desconfortos serão parecidos aos já ocorridos nos pacientes quando da realização de enxertos de pele, exceto pelo fato de que terão alguns curativos a mais e um tempo de internação um pouco maior, cerca de 30% a mais, isto é, se normalmente num enxerto fica 15 dias internado, com a “pele artificial” passa a ficar 21 dias internado. Além disso, o paciente realizará uma cirurgia a mais. Os riscos são iguais aos de um enxerto normal, o de perder e não pegar a “pele artificial”. Esperamos uma perda de até 5% da “pele artificial”. Se isto ocorrer, a solução é o enxerto pele normal, que também têm perda de cerca de 5%.

As vantagens desta cirurgia estão no fato de que a sequele resultante na área doadora do enxerto fino de pele é quase inexistente, os resultados de cor, textura, elasticidade e de retração das áreas tratadas é menor e melhor do que quando tratado com enxerto comum.

Garantia de conseguir falar com alguém: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o **Dr. Luiz Philipe Molina Vana** que pode ser encontrado no endereço Prédio dos Ambulatórios (PAMB – prédio amarelo) 6º andar bloco 1, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, Telefone(s) 11-3069-7568. O telefone particular dele é 11-3057-0930. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel.: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br ou cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

O paciente tem direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

O paciente tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer parte do estudo, incluindo

exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. A única despesa eventual, caso não consiga com a assistente social, será a de aquisição da malha compressiva que o paciente usa depois de qualquer enxerto. Vale lembrar que qualquer tipo de enxerto de pele, o paciente deve usar a malha e sempre pode ter dificuldade para conseguir a malha.

Eu Luiz Philipe Molina Vana me comprometo a utilizar os dados e o material coletado neste estudo somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Estudo comparativo entre as matrizes de regeneração dérmica Integra® e Matriderm® em 20 pacientes, análise clínica e histológica"**.

Eu discuti com o **Dr. Luiz Philipe Molina Vana** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data / /

Nome:

Assinatura da testemunha

Data / /

Nome:

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Luiz Philipe Molina Vana

Data / /

Anexo C - Formulários e tabelas preenchidas de cada paciente

RELAÇÃO DOS DOCUMENTOS PREENCHIDOS

Data		Registro	
Nome			

	DATA	NÃO	PORQUE
Consentimento livre e esclarecido			
Critérios de inclusão e exclusão			
POSAS pré-op observador			
POSAS pré-op paciente			
Vancouver pré-op			
Identificação			
Procedimento I – colocação matriz			
Curativo 1			
Curativo 2			
Curativo 3			
Curativo 4			
Procedimento II – enxerto de pele			
Curativo 1			
Curativo 2			
Curativo 3			
Curativo 4			
Acompanhamento pós-enxerto 1 mês			
Acompanhamento pós-enxerto 3 meses			
Acompanhamento pós-enxerto 6 meses			
Acompanhamento pós-enxerto 12 meses			
Acompanhamento pós-enxerto 18 meses			

RELAÇÃO DAS BIÓPSIAS

Dia	ID frasco	Local	Data	OK	Observação
D0	1A	1bx pele normal			Controles
D0	1B	1bx cicatriz			Controles
D19	2	Matriz/Enxertia pele			19 dias após a colocação da matriz
D26	3	Matriz com enxerto			26 dias pós matriz = 7 dias pós a colocação do enxerto sobre a matriz
D35	4	Matriz com enxerto			1 mês pós matriz = 12 dias pós a colocação do enxerto sobre a matriz
D80	5	Matriz com enxerto			2 meses = 80 dias pós coloc da matriz 60 dias após enxerto
D200	6	Matriz com enxerto			6 meses = 200 dias pós coloc da matriz 180 dias pós enxerto
D385	7	Matriz com enxerto			12 meses = 385 dias pós colocação da matriz 365 dias após enxerto

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Data		Registro	
Nome			
Caso no.		Integra	Matriderm

	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	SIM	NÃO
1	Idade de 5 à 65 anos	☐	☐
2	Geograficamente estável	☐	☐
3	Paciente necessitando de uma reconstrução da derme em razão de queimadura de 2º ou 3º grau ou reconstrução cirúrgica	☐	☐
4	Paciente ou um ente próximo que tenha assinado o Termo Consentimento	☐	☐
5	Disposição do paciente em ter no mínimo 18 meses de acompanhamento	☐	☐

Se em algum desses tópicos estiver marcado NÃO, o paciente Não pode participar do estudo

	CRITÉRIOS DE EXCLUSAO	SIM	NÃO
1	Idade < 5 anos ou > 65 anos	☐	☐
2	Diabetes	☐	☐
3	Tratamento médico que influencia na cicatrização	☐	☐
4	Auto-imune ou doença imunossupressora	☐	☐
5	Predisposição alérgica ou alergia conhecida a colágeno bovino	☐	☐
6	Paciente incluso em outro protocolo	☐	☐
7	Grávida ou Lactante N/A	☐	☐

Se algum desses critérios estiver marcado com SIM, o paciente talvez Não possa participar do estudo.

IDENTIFICAÇÃO

Data		Registro	
Nome			

Data de Nascimento: ____/____/____ (dd/mm/aa) Sexo : ☐ F ☐ M Idade: _____

Altura: _____ cm Peso: _____ kg

Histórico Médico/Cirúrgico

Histórico médico

☐ Queimaduras de 3º grau

Data da queimadura: ____/____/____ (dd/mm/aa) ou Idade quando se queimou: _____ anos

% da área do corpo queimada: _____%

☐ Fase aguda tratada com cirurgia

Fotos: ☐ Sim ☐ Não

PROGRAMAÇÃO CIRÚRGICA

Localização das áreas que serão tratadas

- ☐ Face 1/3 médio ☐ Frontal ☐ Pescoço ☐ Mãos
☐ Membros superiores ☐ Braço ☐ Antebraço ☐ Pés
☐ Peito ☐ Dorso ☐ Nádegas ☐ Abdômen
☐ Membros inferiores ☐ Coxas ☐ Pernas ☐ Mamas
☐ Outro:

Contagem de Vancouver pré-operatória: _____

Elasticidade	Vascularização	Espessura	Pigmentação
0 = normal	0 = normal	0 = normal	0 = normal
1 = flexível	1 = rosa	1 => 0 a 1mm	1 = hipopigmentada
2 = complacente	2 = vermelha	2 => 1 a 2 mm	2 = mista
3 = firme	3 = roxa	3 => 2 a 4 mm	3 = hiperpigmentada
4 = aderido		4 => 4mm	
5 = contratura			

PROCEDIMENTO I: APLICAÇÃO DA MATRIZ

Data		Registro	
Nome			

Teste bacteriológico da área antes da aplicação da matriz:

☐ Sim, data do teste: ____/____/____

☐ Não

Resultados: ☐ Negativo

☐ Positivo: _____

Medidas dos principais eixos:

Comprimento: _____ cm

Largura: _____ cm

Modo de fixação: ☐ pontos: _____ ☐ outros:

Curativo à vácuo: ☐ Sim

☐ Não, especificar tipo do curativo utilizado e razão:

Ocorreram complicações durante o procedimento?

☐ Sim

☐ Não

Se Sim, favor completar o formulário de Evento Adverso.

Fotos:

☐ Sim

☐ Não

Data programada para o enxerto epiderme: ____/____/____

Comentários:

CURATIVOS DA MATRIZ

Data		Registro	
Nome			

- O paciente recebeu alta hospitalar antes de receber o enxerto epidérmico? ☐ Sim ☐ Não

Se Sim, data da alta: ____/____/____

- Medidas dos principais eixos:

Comprimento: _____cm Largura: _____cm

Evolução Local

- Hematoma: ☐ Sim ☐ Não

Se Sim, complete o Formulário de Eventos Adversos

- Infecção: ☐ Sim ☐ Não

☐ Severa ☐ Local ☐ Nenhuma

Teste bacteriológico da área antes da aplicação da matriz:

☐ Sim, data do teste: ____/____/____

☐ Não

Resultados: ☐ Negativo

☐ Positivo: _____

- Seroma: ☐ Sim ☐ Não

- Bolhas: ☐ Sim ☐ Não

- Separação da derme: ☐ Sim ☐ Não

- Separação da placa de silicone: ☐ Sim ☐ Não

- Rasgo da placa de silicone: ☐ Sim ☐ Não

- Outra complicação: ☐ Sim ☐ Não

Se Sim, especificar:

- Coloração da derme

☐ Branca ☐ Amarela ☐ Pêssego ☐ Marrom-alaranjado

☐ Laranja ☐ Vermelha ☐ Outra, favor especificar:

- Curativo à vácuo: ☐ Sim

☐ Não, especificar tipo do curativo utilizado e razão:

- Fotos: ☐ Sim ☐ Não

Comentários:

PROCEDIMENTO II: ENXERTO DE PELE

Data		Registro	
Nome			

- Índice de pega da matriz:

0% 25% 50% 75% 100%

- Biópsia realizada?

☐ Sim, local:

☐ Não, especificar porque:

- Aspecto da derme:

☐ Limpa

☐ Infectada:

☐ Severa

☐ Local

Teste bacteriológico da área antes da aplicação da matriz:

☐ Sim, data do teste: ____/____/____

☐ Não

- Resultados:

☐ Negativo

☐ Positivo: _____

- Separação da placa de silicone:

☐ Fácil

☐ Difícil

- Autoenxerto da Epiderme

- Área doadora da pele:

- Medidas dos principais eixos:

Comprimento: _____cm

Largura: _____cm

- Espessura da área doadora:

- Modo de fixação do enxerto:

☐ pontos: _____

☐ outros:

- Curativo à vácuo: ☐ Sim

☐ Não, especificar tipo do curativo utilizado e razão:

- Ocorreram complicações durante o procedimento?

☐ Sim

☐ Não

Fotografias :

☐ Sim

☐ Não

Comentários:

CURATIVOS PÓS-ENXERTO

Data		Registro	
Nome			

Curativo nº: ____

- Ocorreram complicações ou intercorrências desde a colocação do autoenxerto?

☐ Sim☐ Não

Se Sim, especificar:

- Aspecto do autoenxerto durante a ____ troca: ☐ Íntegro ☐ Danificado

- Índice de pega do autoenxerto

0%

25%

50%

75%

100%

- Medidas dos principais eixos:

Comprimento: _____ cm

Largura: _____ cm

- Biópsia realizada?

☐ Sim, local:☐ Não, especificar porque:

- Infecção:

☐ Severa☐ Local☐ Nenhuma

Teste bacteriológico da área antes da aplicação da matriz:

☐ Sim, data do teste: ____/____/____☐ Não

Resultados:

☐ Negativo☐ Positivo: _____

- Seroma:

☐ Sim☐ Não

- Bolhas:

☐ Sim☐ Não

- Hematoma:

☐ Sim☐ Não

- Outra complicação:

☐ Sim☐ Não

Se Sim, especificar:

- Curativo à vácuo: ☐ Sim☐ Não, especificar tipo do curativo utilizado e razão:

Fotos:

☐ Sim☐ Não

Comentários:

SEGUIMENTO ____ MESES

Data		Registro	
Nome			

- Medidas dos principais eixos:

Comprimento: _____cm

Largura: _____cm

- Biópsia realizada?

☐ Sim, local:☐ Não, especificar porque:

- Retração:

☐ Sim☐ Não

- Sensibilidade cutânea:

☐ normal☐ parestesia☐ hipersensibilidade☐ nenhum

- Prurido:

☐ Sim☐ Não

- Contagem de Vancouver: _____

Elasticidade	Vascularização	Espessura	Pigmentação
0 = normal	0 = normal	0 = normal/plana	0 = normal
1 = flexível	1 = rosa	1 = >0 a 1mm	1 = hipopigmentada
2 = complacente	2 = vermelha	2 = >1 a 2 mm	2 = mista
3 = firme	3 = roxa	3 = >2 a 4mm	3 = hiperpigmentada
4 = aderido		4 = >4 mm	
5 = contratura			

- Malha compressiva adequada:

☐ Sim☐ Não

Se Não, favor especificar:

- Reabilitação:

☐ Sim☐ Não

Se Sim, favor especificar o tipo:

Favor especificar a frequência:

- Fotos:

☐ Sim☐ Não

Comentários:

Anexo D - Escala POSAS

POSAS – ESCALA DO OBSERVADOR

Data		Pré-op	Pós-op
Nome

1= é igual à pele normal e 10= pior cicatriz possível

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Categoria				
Vascularização											pálido	rosa	vermelho	roxo	misto
Pigmentação											hipo	hiper	misto		
Espessura											+espesso	-espesso			
Relevo											+irregular	-irregular	misto		
Pliabilidade											flexível	rígido	misto		
Área cicatricial											expandiu	contraiu	misto		
Opinião geral															

Explanation

The observer scale of the POSAS consists of six items (vascularity, pigmentation, thickness, relief, pliability and surface area). All items are scored on a scale ranging from 1 ("like normal skin") to 10 ("worst scar imaginable"). The sum of the six items results in a total score of the POSAS observer scale. Categories boxes are added for each item. Furthermore, an overall opinion is scored on a scale ranging from 1 to 10. All parameters should preferably be compared to normal skin on a comparable anatomic location.

Explanatory notes on the items:

- **VASCULARITY** Presence of vessels in scar tissue assessed by the amount of redness, tested by the amount of blood return after blanching with a piece of Plexiglas
- **PIGMENTATION** Brownish coloration of the scar by pigment (melanin); apply Plexiglas to the skin with moderate pressure to eliminate the effect of vascularity
- **THICKNESS** Average distance between the subcuticular-dermal border and the epidermal surface of the scar
- **RELIEF** The extent to which surface irregularities are present (preferably compared with adjacent normal skin)
- **PLIABILITY** Suppleness of the scar tested by wrinkling the scar between the thumb and index finger
- **SURFACE AREA** Surface area of the scar in relation to the original wound area

Anexo E - Valores das medições das escalas de Vancouver

Caso	MCS					MSS				
	Pré-operatório	1 M	3 M	6 M	12 M	Pré-operatório	1 M	3 M	6 M	12 M
1	11	13	9	5	1	12	10	12	9	7
2	11	10	6	3	2	14	14	14	6	3
3	12	12	14	11	7	11	11	9	9	7
4	11	8	7	7	3	11	11	9	9	7
5	11	12	6	3	4	9	12	8	9	4
6	11	12	8	4	1	15	9	12	11	8
7	11	12	8	4	1	10	9	9	11	5
8	11	8	7	5	1	12	9	9	6	5
9	12	9	6	4	0	14	12	12	9	8
10	11	8	8	8	8	14	12	12	9	8
11	14	10	7	4	2	10	8	9	7	5
12	12	7	3	2	2	12	9	9	6	5

Anexo F - Valores das medições das escalas de POSAS

POSAS Observador

Caso	MCS		MSS	
	Pré-operatório	12 meses	Pré-operatório	12 meses
1	35	16	39	22
2	33	13	57	36
3	47	34	55	32
4	48	14	55	32
5	47	22	42	18
6	48	16	65	38
7	48	16	29	27
8	53	19	49	30
9	61	14	58	48
10	52	44	58	48
11	67	17	57	35
12	55	17	49	30
Média (DP)	49,50 (9,48)	20,17 (9,36)	51,08 (10,07)	33,00 (8,99)

POSAS Paciente

Caso	MCS		MSS	
	Pré-operatório	12 meses	Pré-operatório	12 meses
1	52	14	61	25
2	50	11	57	43
3	48	49	56	14
4	44	15	56	14
5	48	23	43	14
6	46	13	60	44
7	46	13	28	38
8	62	16	39	45
9	60	30	44	29
10	55	29	44	29
11	65	33	49	36
12	36	25	39	45
Média (DP)	51,00 (8,30)	22,58 (11,29)	33,00 (8,99)	31,33 (12,39)

Anexo G - Dados completos da avaliação funcional (AF)

Casos	MCS			MSS		
	AF Pré	AF 12M	AF Pré-12	AF Pré	AF 12M	AF Pré-12
1	11	0	11	10	6	4
2	14	4	10	14	12	2
3	8	7	1	11	10	1
4	13	8	5	12	11	1
5	4	1	3	11	5	6
6	13	9	4	15	12	3
7	12	8	4	9	1	8
8	12	2	10	10	8	2
9	15	1	14	6	3	3
10	8	4	4	6	3	3
11	8	0	8	7	2	5
12	11	3	8	6	2	4
Média (DP)	10,75 (3,17)	3,92 (3,32)	6,83 (3,90)	9,75 (3,08)	6,64 (4,15)	3,50 (2,07)

Anexo H - Lista das porcentagens de área dos enxertos, em relação à área inicial no dia da colocação da matriz

Intra-OP Matriz = dia da colocação da matriz; **Intra-OP Enxerto** = dia da colocação do enxerto; **1m** = 1 mês pós-enxerto; **3m** = 3 meses pós-enxerto; **6m** = 6 meses pós-enxerto; **12m** = 12 meses pós-enxerto. **M** – média; **DP** – desvio padrão.

Caso	MCS						MSS					
	Intra-OP matriz	Intra-OP enxerto	1M	3M	6M	12M	Intra-OP matriz	Intra-OP enxerto	1M	3M	6M	12M
1	100,00	87,30	55,80	50,40	70,30	82,32	100,00	29,71	17,14	15,18	12,64	10,97
2	100,00	90,48	42,67	71,62	78,57	85,71	100,00	87,86	47,62	16,67	15,24	11,24
3	100,00	50,26	38,15	26,67	8,90	12,31	100,00	35,74	10,41	10,41	10,41	8,69
4	100,00	76,09	82,44	76,09	68,01	66,58	100,00	78,95	37,42	25,84	34,45	40,19
5	100,00	94,44	55,09	55,09	35,88	45,37	100,00	85,12	59,52	32,74	39,29	38,69
6	100,00	82,11	57,26	75,16	67,37	71,58	100,00	87,69	52,23	32,69	35,95	33,85
7	100,00	81,08	48,24	59,41	54,23	52,67	100,00	81,63	68,03	38,78	44,90	50,95
8	100,00	92,31	70,14	72,40	67,19	57,01	100,00	91,59	46,07	36,64	35,01	37,04
9	100,00	89,74	67,69	58,67	73,85	93,33	100,00	100,00	51,43	61,33	65,35	55,80
10	100,00	85,22	64,79	59,04	52,41	65,71	100,00	100,00	72,69	62,12	54,81	46,04
11	100,00	103,85	81,82	72,84	76,97	80,00	100,00	81,48	46,30	50,93	58,89	53,98
12	100,00	90,91	65,01	44,63	56,07	55,54	100,00	119,05	64,81	31,75	35,98	40,63
M	--	85,32	60,76	60,17	59,15	64,01	--	81,57	47,81	34,59	36,91	35,67
DP	--	13,14	13,97	14,80	19,98	21,86	--	25,35	18,93	16,88	17,72	16,72

Anexo I - Porcentagem de integração das matrizes

Caso	MCS %	MSS %
1	100	100
2	95	100
3	97	100
4	100	100
5	100	100
6	92	95
7	100	100
8	100	100
9	100	100
10	100	100
11	100	100
12	100	100

Anexo J - Porcentagem de integração dos auto-enxertos de pele

Caso	MCS %	MSS %
1	98	93
2	98	95
3	95	98
4	95	98
5	95	100
6	85	100
7	85	97
8	95	97
9	70	100
10	70	100
11	100	100
12	98	97

9 REFERÊNCIAS

1. Sheridan RL. Comprehensive treatment of burns. *Curr Probl Surg*. 2001; 38(9):657-756.
2. Madison KC. Barrier function of the skin: la raison d'être" of the epidermis. *J Invest Dermatol*. 2003; 121(2):231-41.
3. DeSanti L. Pathophysiology and current management of burn injury. *Adv Skin Wound Care*. 2005; 18(6):323-32.
4. Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol*. 2008; 17(12):1063-72.
5. Herndon DN. *Total burn care*. 4^a ed. China: Saunders, 2012.
6. Spencer SS. *Principles of surgery*. 6^a ed. EUA: McGraw-Hill, 1994.
7. Burke JF, Quinby WC, Bondoc CC. Primary excision and prompt grafting as routine therapy for the treatment of thermal burns in children. *Surg Clin North Am*. 1976; 56(2):477-94.
8. Herndon DN, Gore D, Cole M, Desai MH, Linares H, Abston S, Rutan R, Van Osten T, Barrow RE. Determinants of mortality in pediatric patients with greater than 70% full-thickness total body surface area thermal injury treated by early total excision and grafting. *J Trauma*. 1987; 27(2):208-12.

9. Thompson P, Herndon DN, Abston A, Rutan T. Effect of early excision on patients with major thermal injury. *J Trauma*. 27(2):205-7.
10. Rennekampff HO. Skin graft procedures in burn surgery. *Unfallchirurg*. 2009; 112(6):543-9.
11. Yannas IV, Burke JF. Design of an artificial skin. I. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14(1):65-81.
12. Ferreira MC, Paggiaro AO, Isaac C, Neto NT, Santos GBF. Substitutos cutâneos: conceitos atuais e proposta de classificação. *Rev Bras Cir Plást*. 2011; 26(4):696-702.
13. Kealey G, Aguiar J, Strauss R. Cadaver skin allografts and transmission of human cytomegalovirus to burn patients. *J Am Coll Surg*. 1996; 182(3):201-5.
14. Pham C, Greenwood J, Cleland H, Woodruff P, Maddern G. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: A systematic review. *Burns*. 2007; 33(8):946-57.
15. Balasubramani M, Kumar TR, Babu M. Skin substitutes: a review. *Burns*. 2001; 27(5):534-44.
16. Kumar P. Classification of skin substitutes. *Burns*. 2008; 34(1):148-9.
17. Pruitt BA, Levine NS. Characteristics and uses of biologic dressings and skin substitutes. *Arch Surg*. 1984; 119(3):312-22.

18. Jones I, Currie L, Martin R. A guide to biological skin substitutes. *Br J Plast Surg*. 2002; 55(3):185-93.
19. Frame JD, Still J, Lakhel-LeCoadou A, Carstens MH, Lorenz C, Orlet H, Spence R, Berger AC, Dantzer E, Burd A. Use of dermal regeneration template in contracture release procedures: a multicenter evaluation. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 113(5):1330-8.
20. Nguyen DQ, Potokar TS, Price P. An objective long-term evaluation of Integra (a dermal skin substitute) and split thickness skin grafts, in acute burns and reconstructive surgery. *Burns*. 2010; 36(1):23-8.
21. Moiemmen NS, Staiano JJ, Ojeh NO, Thway Y, Frame JD. Reconstructive surgery with a dermal regeneration template: clinical and histologic study. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 108(1):93-103.
22. Wainwright DJ. Burn reconstruction: the problems, the techniques, and the applications. *Clin Plast Surg*. 2009; 36(4):687-700.
23. Baryza MJ, Baryza GA. The vancouver scar scale: An administration tool and its interrater reliability. *J Burn Care Rehabil*. 1995; 16(5):535-8.
24. Santos MC, Tibola J, Marques CMG. Tradução, revalidação e confiabilidade da escala de cicatrização de Vancouver para língua portuguesa - Brasil. *Rev Bras Queimaduras*. 2014; 13(1):26-30.
25. Stiefel D, Schiestl C, Meuli M. Integra artificial skin for burn scar revision in adolescents and children. *Burns*. 2010;36(1):114-20.

26. Kolokythas P, Aust MC, Vogt PM, Paulsen F. Dermal substitute with the collage-elastin matrix Matriderm in burn injuries: a comprehensive review. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 2008; 40(6):367-71.
27. Schneider J, Biedermann T, Widmer D, Montano I, Meuli M, Reichmann E, Schiestl C. Matriderm versus Integra: a comparative experimental study. *Burns.* 2009; 35(1):51-7.
28. Philandrianos C, Andrac-Meyer L, Mordon S, Feuerstein JM, Sabatier F, Veran J, Magalon G, Casanova D. Comparison of five dermal substitutes in full-thickness skin wound healing in a porcine model. *Burns.* 2012; 38(6):820-9.
29. Böttcher-Haberzeth S, Biedermann T, Schiestl C, Hartmann-Fritsch F, Schneider J, Reichmann E, Meuli M. Matriderm® 1 mm versus Integra® Single Layer 1.3 Mm for one-step closure of full thickness skin defects: a comparative experimental study in rats. *Pediatr Surg Int.* 2012; 28(2):171-7.
30. Jaksic T, Burke JF. The use of "artificial skin" for burns. *Ann Rev Med.* 1987; 38:107-17.
31. Haslik W, Kamolz LP, Nathschläger G, Andel H, Meissl G, Frey M. First experiences with the collagen-elastin matrix Matriderm as a dermal substitute in severe burn injuries of the hand. *Burns.* 2007; 33(3):364-8.

32. van Zuijlen PP, van Trier AJ, Vloemans JF, Groenevelt F, Kreis RW, Middelkoop E. Graft survival and effectiveness of dermal substitution in burns and reconstructive surgery in a one-stage grafting model. *Plast Reconstr Surg*. 2000; 106(3):615-23.
33. Heimbach DM, Warden GD, Luterman A, Jordan MH, Ozobia N, Ryan CM, Voigt DW, Hickerson WL, Saffle JR, DeClement FA, Sheridan RL, Dimick AR. Multicenter postapproval clinical trial of integra dermal regeneration template for burn treatment. *J Burn Care Rehabil*. 2003; 24(1):42-8.
34. Banwel PE. Topical negative pressure therapy in wound care. *J Wound Care*. 1999; 8(2):79-84.
35. Birke-Sorensen H, Malmsjo M, Rome P, Hudson D, Krug E, Berg L, Bruhin A, Caravaggi C, Chariker M, Depoorter M, Dowsett C, Dunn R, Duteille F, Ferreira F, Francos Martínez JM, Grudzien G, Ichioka S, Ingemansson R, Jeffery S, Lee C, Vig S, Runkel N; International Expert Panel on Negative Pressure Wound Therapy [NPWT-EP], Martin R, Smith J. Evidence-based recommendations for negative pressure wound therapy: treatment variables (pressure levels, wound filler and contact layer)--steps towards an international consensus. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011; 64(Suppl 1):S1-16.

36. Vig S, Dowsett C, Berg L, Caravaggi C, Rome P, Birke-Sorensen H, Bruhin A, Chariker M, Depoorter M, Dunn R, Duteille F, Ferreira F, Martínez JM, Grudzien G, Hudson D, Ichioka S, Ingemansson R, Jeffery S, Krug E, Lee C, Malmsjo M, Runkel N. Evidence-based recommendations for the use of negative pressure wound therapy in chronic wounds: steps towards an international consensus; International Expert Panel on Negative Pressure Wound Therapy. *J Tissue Viability*. 2011; 20 (Suppl 1):S1-18.
37. Krug E, Berg L, Lee C, Hudson D, Birke-Sorensen H, Depoorter M, Dunn R, Jeffery S, Duteille F, Bruhin A, Caravaggi C, Chariker M, Dowsett C, Ferreira F, Martínez JM, Grudzien G, Ichioka S, Ingemansson R, Malmsjo M, Rome P, Vig S, Runkel N, Martin R, Smith J. Evidence-based recommendations for the use of negative pressure wound therapy in traumatic wounds and reconstructive surgery: steps towards an international consensus; International Expert Panel on Negative Pressure Wound Therapy. *Injury*. 2011; 42(Suppl 1):S1-12.
38. Schintler MV. Negative pressure therapy: theory and practice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012; 28(Suppl 1):72-7.
39. Molnar JA, DeFranzo AJ, Hadaegh A, Morykwas MJ, Sehen P, Argenta LC. Acceleration of Integra incorporation in complex tissue defects with sub atmospheric pressure. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 113(5):1339-46.

40. Menn ZK, Lee E, Michael J, Klebuc MJ. Acellular dermal matrix and negative pressure wound therapy: a tissue-engineered alternative to free tissue transfer in the compromised host. *J Reconstr Microsurg*. 2012; 28(2):139-44.
41. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica - Texto e atlas*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
42. Battlehner CN. *Distribuição diferencial das fibras do sistema elástico na mucosa do colo uterino de ratas: Estudo morfométrico das variações durante o ciclo estral, no fim da gravidez e após castração* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2000.
43. Montes GS, Junqueira LCU. Histochemical localization of collagen and proteoglycans in tissues. In: Nimni ME (ed.). *Collagen*. Vol. 2. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 41-72.
44. Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int*. 1996; 20(1):15-27.
45. Janis JE, Harrison B. Wound healing: part I. Basic science. *Plast Reconstr Surg*. 2014; 133(2):199-207.
46. Teller P, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. *Perioper Nurs Clin*. 2011; 6(2):159-70.

47. Heldin C-H, Westermark B. Role of platelet-derived growth factor in vivo. In: Clark RAF (ed.). *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2^a ed. New York: Plenum Press, 1996. p. 249-73.
48. Clark RAF (ed.). *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2^a ed. New York: Plenum Press, 1996.
49. Brown EJ. Phagocytosis. *Bioessays*. 1995; 17(2):109-17.
50. Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF- α and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science*. 1988; 241(4866):708-12.
51. Singer AJ, Clarck RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999; 341(10):738-46.
52. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol*. 1997; 137(6):1445-57.
53. Clark RAF, Lanigan JM, DellaPelle P, Manseau E, Dvorak HF, Colvin RB. Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound reepithelialization. *J Invest Dermatol*. 1982; 79(5):264-9.
54. Xu J, Clark RAF. Extracellular matrix alters PDGF regulation of fibroblast integrins. *J Cell Biol*. 1996; 132(1-2):239-49.

-
55. Mignatti P, Rifkin DB, Welgus HG, Parks WC. Proteinases and tissue remodeling. In: Clark RAF (ed.). *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2ª ed. New York: Plenum Press, 1996. p. 427-474.
 56. Diegelmann RF. Cellular and biochemical aspects of normal wound healing: an overview. *J Urol*. 1997; 157(1):298-302.
 57. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117(7 Suppl.):12S-34S.
 58. Welch MP, Odland GF, Clark RAF. Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectin matrix assembly, and fibronectin receptor expression to wound contraction. *J Cell Biol*. 1990; 110(1):133-45.
 59. Hunt TK. Wound healing. In: Doherty GM, Way LW (Eds.). *Current surgical diagnosis and treatment*. 12ª ed. New York: McGraw-Hill; 2006.
 60. Edron, DE, Chandrakanth A, Park JE, et al. Wound healing. In: Brunnicardi C, Andersen DK, Billiar TR (eds.). *Schwartz's principles of surgery*. 8ª ed. New York: McGraw-Hill, 2005.
 61. Madri JA, Sankar S, Romanic AM. Angiogenesis. In: Clark RAF (ed.). *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2ª ed. New York: Plenum Press, 1996. p. 355-71.
 62. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997; 386(6626):671-4.
 63. Folkman J, D'Amore PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis? *Cell*. 1996; 87(7):1153-5.

-
64. Detmar M, Brown LF, Berse B, Jackman RW, Elicker BM, Dvorak HF, Claffey KP. Hypoxia regulates the expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/ VEGF) and its receptors in human skin. *J Invest Dermatol.* 1997; 108(3):263-8.
 65. Pintucci G, Bikfalvi A, Klein S, Rifkin DB. Angiogenesis and the fibrinolytic system. *Semin Thromb Hemost.* 1996; 22(6):517-24.
 66. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol.* 1998; 152(6):1445-52.
 67. Ilan N, Mahooti S, Madri JA. Distinct signal transduction pathways are utilized during the tube formation and survival phases of in vitro angiogenesis. *J Cell Sci.* 1998; 111 (Pt 24):3621-31.
 68. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: an overview. *EXS.* 1997; 79:1-8.
 69. Guo N, Kruttsch HC, Inman JK, Roberts DD. Thrombospondin 1 and type I repeat peptides of thrombospondin 1 specifically induce apoptosis of endothelial cells. *Cancer Res.* 1997; 57(9):1735-42.
 70. Montesano R, Orci L. Transforming growth factor- β stimulates collagen-matrix contraction by fibroblasts: implications for wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988; 85(3):4894-7.

71. Clark RAF, Folkvord JM, Hart CE, Murray MJ, McPherson JM. Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices. *J Clin Invest*. 1989; 84(3):1036-40.
72. Schiro JA, Chan BMC, Roswit WT, Kassner PD, Pentland AP, Hemler ME, Eisen AZ, Kupper TS. Integrin $\alpha 2\beta 1$ (VLA-2) mediates reorganization and contraction of collagen matrices by human cells. *Cell*. 1991; 67(2):403-10.
73. Madlener M, Parks WC, Werner S. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their physiological inhibitors (TIMPs) are differentially expressed during excisional skin wound repair. *Exp Cell Res*. 1998; 242(1):201-10.
74. Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF III, Berard CW, Rosen H. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg*. 1965; 161:293-308.
75. Bran GM, Goessler UR, Hormann K, Riedel F, Sadick H. Keloids: current concepts of pathogenesis (review). *Int J Mol Med*. 2009 Sep;24(3):283-93.
76. Slemp AE, Kirschner RE. Keloids and scars: a review of keloids and scars, their pathogenesis, risk factors, and management. *Curr Opin Pediatr*. 2006; 18(4):396-402.
77. Lee SS, Yosipovitch G, Chan YH. Pruritus, pain, and small nerve fiber function in keloids: a controlled study. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 51(6):1002-6.

78. Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kaufmann CL, Davison SP. Keloid pathogenesis and treatment. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117(1):286-300.
79. Robles DT, Moore E, Draznin M, Berg D. Keloids: pathophysiology and management. *Dermatol Online J*. 2007; 13:9.
80. Ogawa R. The most current algorithms for the treatment and prevention of hypertrophic scars and keloids. *Plast Reconstr Surg*. 2010; 125(2):557-68.
81. Sidle DM, Kim H. Keloids: prevention and management. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2011; 19(3):505-15.
82. Butler PD, Longaker MT, Yang GP. Current progress in keloid research and treatment. *J Am Coll Surg*. 2008; 206(4):731-41.
83. Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H. Hypertrophic scars and keloids - a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatol Surg*. 2009; 35(2):171-81.
84. Colin S. Hypertrophic scars and keloids in surgery: current concepts. *Ann Plast Surg*. 2014; 73(Supp. 1):S108-18.
85. Cohen IK, McCoy BJ, Mohanakumar T, Diegelmann RF. Immunoglobulin, complement, and histocompatibility antigen studies in keloid patients. *Plast Reconstr Surg*. 1979; 63(5):689-95.
86. Bloch EF, Hall MG Jr, Denson MJ, Slay-Solomon V. General immune reactivity in keloid patients. *Plast Reconstr Surg*. 1984; 73(3):448-51.

87. Kazeem AA. The immunological aspects of keloid tumor formation. *J Surg Oncol*. 1988; 38(1):16-8.
88. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J*. 2004; 18(7):816-27.
89. Shih B, Bayat A. Genetics of keloid scarring. *Arch Dermatol Res*. 2010; 302(5): 319-39.
90. Berman B. Keloid and hypertrophic scar. *Medscape*. 2016. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/1057599>>. Acesso em: 15 jan 2017.
91. WHO - World Health Organization. Classifications. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/classifications/icd/en/>>. Acesso em 10 jan 2017.
92. Wolf SE, Herdon DN (eds.). *Burn care*. Austin, Texas, USA: Landes Bioscience, 1999.
93. Robson MC, Barnett RA, Leitch IOW, Hayward PG. Prevention and treatment of postburn scars and contracture. *World J Surg*. 1992; 16(1):87-96.
94. Bernstein NR, Robson MC. *Comprehensive approaches to the burned person*. New Hyde Park, NY: Medical Examination Publishing, 1983.
95. Robson MC, Smith DJ. Reconstruction of burned face, neck and scalp. In: Boswick JA (ed.). *The art and science of burn care*. Rockville: Aspen Publishers, 1987.

-
96. Bjaranson D, Phillips LG, McCoy B, Murphy L, McCauley RL, Desai M, Herndon DN, Robson MC. Reconstruction of the face in children: are our faces the same? *J Burn Care Rehabil.* 1992; 13(3): 389-90.
 97. Vana LPM, Fontana C, Ferreira MC. Algoritmo de tratamento cirúrgico do paciente com sequela de queimadura. *Rev Bras Queimaduras.* 2010; 9(2):45-9.
 98. Harrison CA, MacNeil S. The mechanism of skin graft contraction: An update on current research and potential future therapies. *Burns.* 2008; 34(2):153-63.
 99. Sood R. *Achauer and sood's burn surgery, burn surgery, reconstruction and rehabilitation.* EUA: Saunders Elsevier, 2006.
 100. Robson MC, Parsons RW. Reconstructive and plastic surgery. In: Cushieri A, Giles GR, Moosa AR. *Essential surgical practice.* Bristol, England: John Wright and Sons. 1982. Cap. 22.
 101. Birch J, Branemark PI. The vascularization of a free full-thickness skin graft. I. A vital microscopic study. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969; 3(1):1-10.
 102. Thornton JF, Gosman AA. Skin grafts and skin substitutes and principles of flaps. *SRPS.* 2004; 10(1):1-53.
 103. Pepper FJ. Studies on the viability of mammalian skin autografts after storage at different temperatures. *Br J Plast Surg.* 1954; 6(4):250-6.

104. Hinshaw JR, Miller ER. Histology of healing split-thickness, full-thickness autogenous skin grafts and donor sites. *Arch Surg*. 1965 91(4):658-70.
105. Converse JM, Smahel J, Ballantyne DL Jr, Harper AD. Inosculation of vessels of skin graft and host bed: a fortuitous encounter. *Br J Plast Surg*. 1975; 28(4):274-82.
106. Converse JM, Uhlschmid GK, Ballantyne DI Jr. Plasmatic circulation in Skin Grafts. The phase of sérum inhbition. *Plast Reconstr Surg*. 1969; 43(5):495-9.
107. Clemmesen T. Experimental studies on the healing of free skin autografts. *Danish Med Bull*. 1967; 14 (Suppl 11):1-73.
108. Clemmesen T. The early circulation in split skin grafts. *Acta Chir Scand*. 1962; 124:11-8.
109. Clemmesen T, Ronhovde DA. Restoration of the blood supply to human skin autografts. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1960; 2(1):44-6.
110. McGregor IA, Conway H. Development of lymph flow from autografts and homografts of skin. *Transplant Bull*. 1956; 3:46.
111. Johnson TM, Ratner D, Nelson BR. Soft tissue reconstruction with skin grafting. *J Am Acad Dermatol*. 1992; 27(2):151-65.
112. Waris T, Rechardt I, Kyösola K. Reinnervation of human skin grafts: a histochemical studdy. *Plast Reconst Surg*. 1983; 72(4):439-47.

-
113. Sheridan RL, Tompkins RG. Alternative wound coverings. In: Herndon DN. *Total burn care*. 2^a ed. China: Saunders, 2002. Cap. 15.
114. Still JM, Law EJ. Primary excision of the burn wound. *Clin Plast Surg*. 2000; 27(1):23-47.
115. Halim AS, Khoo TL, Mohd Yussof SJ. Biologic and synthetic skin substitutes: an overview. *Indian J Plast Surg*. 2010; 43(Suppl):S23-8.
116. Vyas KS; Vasconez HC. Wound healing: biologics, skin substitutes, biomembranes and scaffolds. *Healthcare (Basel)*. 2014; 2(3):356-400.
117. Atiyeh BS, Gunn SW, Hayek SN. State of the art in burn treatment. *World J Surg*. 2005; 29(2):131-48.
118. Horch RE, Kopp J, Kneser U, Beier J, Bach AD. Tissue engineering of cultured skin substitutes. *J Cell Mol Med*. 2005; 9(3):592-608.
119. Lazic T, Falanga V. Bioengineering skin constructs and their use in wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127(Suppl 1):75S-90S.
120. Yannas IV, Burke JF, Gordon PL, Huang C, Rubenstein RH. Design of an artificial skin. II. Control of chemical composition. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14(2):107-32.
121. Dagalakakis N, Flink J, Stasikelis P, Burke JF, Yannas IV. Design of an artificial skin. Part III. Control of pore structure. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14(4):511-28.

122. Orgill DP, Yannas IV. Design of an artificial skin. IV. Use of island graft to isolate organ regeneration from scar synthesis and other processes leading to skin wound closure. *J Biomed Mater Res*. 1998; 39(4):531-5.
123. Burke JF, Yannas IV, Quinby WC Jr, Bondoc CC, Jung WK. Successful use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury. *Ann Surg*. 1981; 194(4):413-28.
124. Nathoo R, Howe N, Cohen G. Skin substitutes: an overview of the key players in wound management. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2014; 7(10):44-8.
125. Yannas IV, Orgill DP, Burke JF. Template for skin regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127(Suppl 1):60S-70S.
126. Michaeli D, McPherson M. Immunologic study of artificial skin used in the treatment of thermal injuries. *J Burn Care Rehabil*. 1990;11(1):21-6.
127. Heimbach D, Luterman A, Burke J, Cram A, Herndon D, Hunt J, Jordan M, McManus W, Solem L, Warden G, et al. Artificial dermis for major burns: A multi-center randomized clinical trial. *Ann Surg*. 1988; 208(3):313-20.
128. Heitland A, Piatkowski A, Noah EM, Pallua N. Update on the use of collagen/glycosaminoglycate skin substitute: six years of experiences with artificial skin in 15 German burn centers. *Burns*. 2004; 30(5):471-5.

-
129. Stern R, McPherson M, Longaker MT. Histologic study of artificial skin used in the treatment of full-thickness thermal injury. *J Burn Care Rehabil.* 1990; 11(1):7-13.
130. Compton CC, Butler CE, Yannas IV, Warland G, Orgill DP. Organized skin structure is regenerated in vivo from collagen-GAG matrices seeded with autologous keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1998; 110(6):908-16.
131. Wisser D, Rennekampff HO, Schaller HE. Skin assessment of burn wounds covered with a collagen based dermal substitute in a 2 year-follow-up. *Burns.* 2004; 30(4):399-401.
132. Tsoutsos D, Stratigos A, Gravvanis A, Zapandioti P, Kakagia D. Burned breast reconstruction by expanded artificial dermal substitute. *J Burn Care Res.* 2007; 28(3):530-2.
133. Figus A, Leon-Villapalos J, Philp B, Dziwulski P. Severe multiple extensive post burn contractures: A simultaneous approach with total scar tissue excision and resurfacing with dermal regeneration template. *J Burn Care Res.* 2007; 28:913-17.
134. Violas P, Abid A, Darodes P, Galinier P, de Gauzy JS, Cahuzac JP. Integra artificial skin in the management of severe tissue defects, including bone exposure, in injured children. *J Pediatr Orthop B.* 2005; 14(5):381-4.

135. Clerici G, Caminiti M, Curci V, Quarantiello A, Faglia E. The use of a dermal substitute (integra) to preserve maximal foot length in a diabetic foot wound with bone and tendon exposure following urgent surgical debridement for an acute infection. *Int J Low Extrem Wounds*. 2009; 8(4):209-12.
136. Clerici G, Caminiti M, Curci V, Quarantiello A, Faglia E. The use of a dermal substitute to preserve maximal foot length in diabetic foot wounds with tendon and bone exposure following urgent surgical debridement for acute infection. *Int Wound J*. 2010; 7(3):176-83.
137. Yeong EK, Chen SH, Tang YB. The treatment of bone exposure in burns by using artificial dermis. *Ann Plast Surg*. 2012; 69(6):607-10.
138. Shores JT, Hiersche M, Gabriel A, Gupta S. Tendon coverage using an artificial skin substitute. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012; 65(11):1544-5.
139. Clayman MA, Clayman SM, Mozingo DW. The use of collagen-glycosaminoglycan copolymer (Integra) for the repair of hypertrophic scars and keloids. *J Burn Care Res*. 2006; 27(3):404-9.
140. Orgill DP, Ogawa R. Current methods of burn reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2013; 131(5):827e-36e.
141. Palao R, Gómez P, Huguet P. Burned breast reconstructive surgery with Integra dermal regeneration template. *Br J Plast Surg*. 2003; 56(3):252-9.

-
142. Moiemmen NS, Vlachou E, Staiano JJ, Thawy Y, Frame JD. Reconstructive surgery with Integra dermal regeneration template: histologic study, clinical evaluation, and current practice. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 117(7 Suppl):160S-74S.
143. Kraemer MD, Jones T, Deitch EA. Burn contractures: incidence, predisposing factors, and results of surgical therapy. *J Burn Care Rehabil*. 1988; 9(3):261-5.
144. Iwuagwu FC, Wilson D, Bailie F. The use of skin grafts in postburn contracture release: A 10-year review. *Plast Reconstr Surg*. 1999; 103(4):1198-204.
145. Stephenson AJ, Griffiths RW, La Hausse-Brown TP. Patterns of contraction in human full thickness skin grafts. *Br J Plast Surg*. 2000; 53(5):397-402.
146. de Vries HJ, Middelkoop E, Mekkes JR, Dutrieux RP, Wildevuur CH, Westerhof H. Dermal regeneration in native non-cross-linked collagen sponges with different extracellular matrix molecules. *Wound Repair Regen*. 1994; 2(1):37-47.
147. Suwelack AG. Medskin solutions. *MatriDerm® Application Guide*. Disponível em: <<http://www.medskin-suwelack.com>>. Acesso em 10 fev 2017.
148. Ryssel H, Gazyakan E, Germann G, Ohlbauer M. The use of MatriDerm in early excision and simultaneous autologous skin grafting in burns- A pilot study. *Burns*. 2008; 34(1):93-7.

149. De Vries HJ, Zeegelaar JE, Middelkoop E, Gijsbers G, Van Marle J, Wildevuur CH, Westerhof W. Reduced wound contraction and scar formation in punch biopsy wounds. native collagen dermal substitutes. A clinical study. *Br J Dermatol*. 1995; 132(5):690-7.
150. Min JH, Yun IS, Lew DH, Roh TS, Lee WJ. The use of matriderm and autologous skin graft in the treatment of full thickness skin defects. *Arch Plast Surg*. 2014; 41(4):330-6.
151. Rehim SA, Singhal M, Chung KC. Dermal skin substitutes for upper limb reconstruction: current status, indications, and contraindications. *Hand Clin*. 2014; 30(2):239-52.
152. Ryssel H, Germann G, Kloeters O, Gazyakan E, Radu CA. Dermal substitution with Matriderm(®) in burns on the dorsum of the hand. *Burns*. 2010; 36(8):1248-53.
153. Cervelli V, Brinci L, Spallone D, Tati E, Palla L, Lucarini L, De Angelis B. The use of matriderm® and skin grafting in post-traumatic wounds. *Int Wound J*. 2011; 8(4):400-5.
154. Bertolli E, Campagnari M, Molina AS, Macedo MP, Pinto CA, Cunha IW, Duprat Neto JP. Artificial dermis (Matriderm®) followed by skin graft as an option in dermatofibrosarcoma protuberans with complete circumferential and peripheral deep margin assessment. *Int Wound J*. 2015; 12(5):545-7.

-
155. De Angelis B, Gentile P, Agovino A, Migner A, Orlandi F, Delogu P, Cervelli V. Chronic ulcers: Matriderm(®) system in smoker, cardiopathic, and diabetic patients. *J Tissue Eng*. 2013; 4:2041731413502663.
156. Greenwood JE; Mackie IP. Neck contracture release with matriderm collagen/elastin dermal matrix. *Eplasty*. 2011; 11:e16.
157. Duncan RT, Goodwin A, Dunn KW. Matriderm and vac: a case of complex penile reconstruction. *Burns*. 2009; 35(Suppl. 1):S37.
158. Guo R, Teng J, Xu S, Ma L, Huang A, Gao C. Comparison studies of the in vivo treatment of full-thickness excisional wounds and burns by an artificial bilayer dermal equivalent and j-1 acellular dermal matrix. *Wound Repair Regen*. 2014; 22(3):390-8.
159. Nicoletti G, Brenta F, Blevé M, Pellegatta T, Malovini A, Faga A, Perugini P. Long-term in vivo assessment of bioengineered skin substitutes: a clinical study. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015; 9(4):460-8.
160. Seo DK, Kym D, Jur J. Management of neck contractures by single-stage dermal substitutes and skin grafting in extensive burn patients. *Ann Surg Treat Res*. 2014; 87(5):253-9.
161. Baldwin C, Potter M, Clayton E, Irvine L, Dye J. Topical negative pressure stimulates endothelial migration and proliferation: a suggested mechanism for improved integration of Integra. *Ann Plast Surg*. 2009; 62(1):92-6.

-
162. Kostiuchenok BM, Kolker KVA II, Ignatenko SN, Muzykant LI. Vacuum treatment in the surgical management of suppurative wounds. *Vestnik Khirurgii II Grek*. 1986; 137(9):18 -21.
163. Chariker ME, Jeter KF, Tintle TE, Bottsford JE. Effective management of incisional and cutaneous fistulae with closed suction wound drainage. *Contemp Surg*. 1989; 34:59-63.
164. Fleischmann W, Lang E, Russ M. Treatment of infection by vacuum sealing. *Unfallchirurg*. 1997; 100(4):301-4.
165. Fleischmann W, Russ M, Westhauser A, Stampehl M. Vacuum sealing as carrier system for controlled local drug administration in wound infection. *Unfallchirurg*. 1998; 101(4):649-54.
166. Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. *Ann Plast Surg*. 1997; 38(6):563-76.
167. Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, McGuirt W. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. *Ann Plast Surg*. 1997; 38(6):553-62.
168. Center EE. *BP-negative pressure wound therapy devices. Technology assessment report. Prepared Agency Healthc Res Qual (AHRQ)*. March 30, 2009; Contract No. 290 -2007-10063. Project ID: WNDT1108. Rockville, MD: AHRQ.

169. Vikatmaa P, Juutilainen V, Kuukasjärvi P, Malmivaara A. Negative pressure wound therapy: a systematic review on effectiveness and safety. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008; 36(4):438-48.
170. Mouës CM, Heule F, Hovius SER. A review of topical negative pressure therapy in wound healing: sufficient evidence? *Am J Surg*. 2011; 201(4):544-56.
171. Huang C, Leavitt T, Bayer LR, Orgill DP. Effect of negative pressure wound therapy on wound healing. *Curr Probl Surg*. 2014; 51(7):301-31.
172. Kamolz LP, Andel H, Haslik W, Winter W, Meissl G, Frey M. Use of subatmospheric pressure therapy to prevent burn wound progression in human: first experiences. *Burns*. 2004; 30(3):253-8.
173. Simman R, Forte R, Silverberg R, Moriera-Gonzalez A. A comparative histological pilot study of skin graft take with tie over bolster dressing versus vacuum assisted closure in a pig model. *Wounds*. 2004;16(2):76-80.
174. Wackenfors A, Gustafsson R, Sjogren J, Algotsson L, Ingemansson R, Malmsjö M. Blood flow responses in the peristernal thoracic wall during vacuum-assisted closure therapy. *Ann Thorac Surg*. 2005; 79(5):1724-3.
175. Wackenfors A, Sjogren J, Gustafsson R, Algotsson L, Ingemansson R, Malmsjö M. Effects of vacuum-assisted closure therapy on inguinal wound edge microvascular blood flow. *Wound Repair Regen*. 2004; 12(6):600-6.

-
176. Timmers MS, Le Cessie S, Banwell P, Jukema GN. The effects of varying degrees of pressure delivered by negative-pressure wound therapy on skin perfusion. *Ann Plast Surg*. 2005; 55(6):665-71.
177. Lindstedt S, Malmström M, Sjögren J, Gustafsson R, Ingemansson R. Impact of different topical negative pressure levels on myocardial microvascular blood flow. *Cardiovasc Revasc Med*. 2008; 9(1):29-35.
178. Kairinos N, Solomons M, Hudson DA. Negative-pressure wound therapy. I: the paradox of negative-pressure wound therapy. *Plast Reconstr Surg*. 2009; 123(2):589-98.
179. Chen SZ, Li J, Li XY, Xu LS. Effects of vacuum-assisted closure on wound microcirculation: an experimental study. *Asian J Surg*. 2005; 28(3):211-7.
180. Morykwas MJ, Faler BJ, Pearce DJ, Argenta LC. Effects of varying levels of subatmospheric pressure on the rate of granulation tissue formation in experimental wounds in swine. *Ann Plast Surg*. 2001; 47(5):547-51.
181. Joseph E, Hamori C, Bergman S, et al. A prospective randomized trial of vacuum assisted closure versus standard therapy of chronic non-healing wounds. *Wounds*. 2000; 12:60-7.
182. Scherer SS, Pietramaggiore G, Mathews JC, Prsa MJ, Huang S, Orgill DP. The mechanism of action of the vacuum-assisted closure device. *Plast Reconstr Surg*. 2008; 122(3):786-97.

-
183. Labler L, Rancan M, Mica L, Hälter L, Mihic-Probst D, Keel M. Vacuum-assisted closure therapy increases local interleukin-8 and vascular endothelial growth factor levels in traumatic wounds. *J Trauma*. 2009; 66(3):749-57.
184. Takei T, Rivas-Gotz C, Dellling CA, Koo JT, Mills I, McCarthy TL, Centrella M, Sumpio BE. Effect of strain on human keratinocytes in vitro. *J Cell Physiol*. 1997; 173(1):64-72.
185. Saxena V, Hwang CW, Huang S, Eichbaum Q, Ingber D, Orgill DP. Vacuum-assisted closure: microdeformations of wounds and cell proliferation. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 114(5):1086-96.
186. Mouës CM, Vos MC, van den Bemd GJ, Stijnen T, Hovius SE. Bacterial load in relation to vacuum-assisted closure wound therapy: a prospective randomized trial. *Wound Repair Regen*. 2004; 12(1):11-7.
187. Moisidis E, Heath T, Boorer C, Ho K, Deva AK. A prospective, blinded, randomized, controlled clinical trial of topical negative pressure use in skin grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 114(4):917-22.
188. Braakenburg A, Obdeijn MC, Feitz R, van Rooij IA, van Griethuysen AJ, Klinkenbijn JH. The clinical efficacy and cost effectiveness of the vacuum-assisted closure technique in the management of acute and chronic wounds: a randomized controlled trial. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 118(2):390-7.

189. Ladwig GP, Robson MC, Liu R, Kuhn MA, Muir DF, Schultz GS. Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen.* 2002; 10(1):26 -37.
190. Stechmiller JK, Kilpadi DV, Childress B, Schultz GS. Effect of vacuum-assisted closure therapy on the expression of cytokines and proteases in wound fluid of adults with pressure ulcers. *Wound Repair Regen.* 2006; 14(3):371-4.
191. Greene AK, Puder M, Roy R, Arsenault D, Kwei S, Moses MA, Orgill DP. Microdeformational wound therapy: effects on angiogenesis and matrix metalloproteinases in chronic wounds of 3 debilitated patients. *Ann Plast Surg.* 2006; 56(4):418-22.
192. Weed T, Ratliff C, Drake DB. Quantifying bacterial bioburden during negative pressure wound therapy: does the wound VAC enhance bacterial clearance? *Ann Plast Surg.* 2004; 52(3):276-9.
193. Moiemmen NS, Yarrow J, Kamel D, Kearns D, Mendonca D. Topical negative pressure therapy: does it accelerate neovascularisation within the dermal regeneration template, Integra? A prospective histological in vivo study. *Burns.* 2010; 36(6):764-8.

194. Leffler M, Horch RE, Dragu A, Bach AD. The use of the artificial dermis (Integra) in combination with vacuum assisted closure for reconstruction of an extensive burn scar - A case report. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010; 63(1):e32-5.
195. Aldunate JLCB, Vana LPM, Fontana C, Ferreira MC. Uso de matriz dérmica associado ao curativo por pressão negativa na abordagem da contratura em pacientes queimados. *Rev Bras Cir Plást*. 2012, 27(3):369-73.
196. Webster J, Scuffham P, Stankiewicz M, Chaboyer WP. Negative pressure wound therapy for skin grafts and surgical wounds healing by primary intention. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; (10):CD009261.
197. González Alaña I, Torrero López JV, Martín Playá P, Gabilondo Zubizarreta FJ. Combined use of negative pressure wound therapy and integra® to treat complex defects in lower extremities after burns. *Ann Burns Fire Disasters*. 2013; 26(2):90-3.
198. McEwan W, Brown TLH, Mills SM, Muller MJ. Suction dressings to secure dermal substitution. *Burns*. 2004; 30(3):259-61.
199. Jeschke MG, Rose C, Angele P, Fuchtmeier B, Nerlich MN, Bolder U. Development of new reconstructive techniques: user of Integra in combination with fibrin glue and negative-pressure therapy for reconstruction of acute and chronic wounds. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 113(2):525-30.

200. Potter M, Banwell P, Baldwin C, Clayton E, Irvine L, Linge C, Grobbelaar AO, Sanders R, Dye JF. In vitro optimization of topical negative pressure regimes for angiogenesis into synthetic dermal replacement. *Burns*. 2008; 34(2):164-74.
201. Gregor S, Maegele M, Sauerland S, Krahn JF, Peinemann F, Lange S. Negative pressure wound therapy: a vacuum of evidence? *Arch Surg*. 2008; 143(2):189-96.
202. Ubbink DT, Westerbos SJ, Nelson EA, Vermeulen H. A systematic review of topical negative pressure therapy for acute and chronic wounds. *Br J Surg*. 2008; 95(6):685-92.
203. Stiefel D, Schiestl CM, Meuli M. The positive effect of negative pressure: vacuum-assisted fixation of integra artificial skin for reconstructive surgery. *J Pediatr Surg*. 2009; 44(3):575-80.
204. Tyack Z, Simons M, Spinks A, Wasiak J. A systematic review of the quality of burn scar rating scales for clinical and research use. *Burns*. 2012 Feb;38(1):6-18.
205. Sullivan T, Smith J, Kermode J, McIver E, Courtemanche DJ. Rating the burn scar. *J Burn Care Rehabil*. 1990; 11(3):256-60.
206. Draaijers LJ, Tempelman FR, Botman YA, Tuinebreijer WE, Middelkoop E, Kreis RW, van Zuijlen PP. The patient and observer scar assessment scale: a reliable and feasible tool for scar evaluation. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 113(7):1960-5.

207. Oliveira GV, Chinkes D, Mitchell C, Oliveras G, Hawkins HK, Herndon DN. Objective assessment of burn scar vascularity, erythema, pliability, thickness, and planimetry. *Dermatol Surg.* 2005; 31(1):48-58.
208. Nedelec B, Correa JA, Rachelska G, Armour A, LaSalle L. Quantitative measurement of hypertrophic scar: intrarater reliability, sensitivity, and specificity. *J Burn Care Res.* 2008; 29(3):489-500.
209. Spann K, Mileski WJ, Atilas L, Purdue G, Hunt J. The 1996 Clinical research award use of a pneumatometer in burn scar assessment. *J Burn Care Rehabil.* 1996; 17(6 Pt 1):515-7.
210. Davey RB, Sprod RT, Neild TO. Computerised colour: a technique for the assessment of burn scar hypertrophy. A preliminary report. *Burns.* 1999; 25(3):207-13.
211. Bray R, Forrester K, Leonard C, McArthur R, Tulip J, Lindsay R. Laser Doppler imaging of burn scars: a comparison of wavelength and scanning methods. *Burns.* 2003;29(3):199-206.
212. Lye I, Edgar DW, Wood FM, Carroll S. Tissue tonometry is simple, objective measure for pliability of burn scar: is it reliable? *J Burn Care Res.* 2006; 27(1):82-5.
213. Brusselaers N, Pirayesh A, Hoeksema H, Verbelen J, Blot S, Monstrey S. Burn scar assessment: a systematic review of objective scar assessment tools. *Burns.* 2010; 36(8):1157-64.

-
214. Nedelec B, Shankowsky HA, Tredget EE. Rating the resolving hypertrophic scar: comparison of the Vancouver Scar Scale and scar volume. *J Burn Care Rehabil.* 2000; 21(3):205e12.
215. Truong PT, Abnoui F, Yong CM, Hayashi A, Runkel JA, Philips T, Olivetto IA. Standardized assessment of breast cancer surgical scars integrating the Vancouver Scar Scale, Short-Form McGill Pain Questionnaire, and patients' perspectives. *Plast Reconstr Surg.* 2005; 116(5):1291-9.
216. Li-Tsang CW, Lau JC, Liu SK. Validation of an objective scar pigmentation measurement by using a spectrophotometer. *Burns.* 2003; 29(8):779e84.
217. Draaijers LJ, Tempelman FR, Botman YA, Kreis RW, Middelkoop E, van Zuijlen PP. Colour evaluation in scars: tristimulus colorimeter, narrow-band simple reflectance meter or subjective evaluation? *Burns.* 2004; 30(2):103e7.
218. van Zuijlen PP, Angeles AP, Kreis RW, Bos KE, Middelkoop E. Scar assessment tools: implications for current research. *Plast Reconstr Surg.* 2002; 109(3):1108e22.
219. Gankande TU, Wood FM, Edgar DW, Duke JM, DeJong HM, Henderson AE, Wallace HJ. A modified Vancouver Scar Scale linked with TBSA (mVSS-TBSA): inter-rater reliability of an innovative burn scar assessment method. *Burns.* 2013; 39(6):1142-9.
220. van Zuijlen PP, Vloemans JF, van Trier AJ, Suijker MH, van Unen E,

- Groenevelt F, Kreis RW, Middelkoop E. Dermal substitution in acute burns and reconstructive surgery: a subjective and objective long-term follow-up. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 108(7):1938-46.
221. Chou TD, Chen SL, Lee TW, chen SG, Cheng TY, Lee CH, Chen TM, Wang HJ. Reconstruction of burn scar of the upper extremities with artificial skin. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 108(2):378-84.
222. Musgrave MA, Umraw N, Fish JS, Gomez M, Cartotto RC. The effect of silicone gel sheets on perfusion of hypertrophic burn scars. *J Burn Care Rehabil*. 2002; 23(3):208-14.
223. Durani P, McGrouther DA, Ferguson MW. Current scales for assessing human scarring: a review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 62(6):713-20.
224. Weigert, C. Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. *Zentbl Allg Pathol u Pathol Anat*. 1898; 9:289-92.
225. Dupont WD, Plummer WD. Power and sample size calculations: review and computer program. *Control Clin Trials*. 1990; 11(2):116-28.
226. McDonald, W. S., and Deitch, E. A. Hypertrophic skin grafts in burned patients: A prospective analysis of variables. *J Trauma*. 1987; 27(2):147-50.

227. Donelan MB, Parrett BM, Sheridan RL. Pulsed dye laser therapy and z-plasty for facial burn scars: The alternative to excision. *Ann Plast Surg.* 2008, 60(5):480-6.
228. Parrett BM, Donelan MB. Pulsed dye laser in burn scars: Current concepts and future directions. *Burns.* 2010; 36(4):443-9.
229. Hultman CS, Edkins RE, Lee CN, Calvert CT, Cairns BA. Shine on: Review of laser- and light-based therapies for the treatment of burn scars. *Dermatol Res Pract.* 2012; 2012:243651.
230. Danin A, Georgesco G, Touze AL, Penaud A, Quignon R, Zakine G. Assessment of burned hands reconstructed with integra(®) by ultrasonography and elastometry. *Burns.* 2012; 38(7):998-1004.
231. Fang P, Engrav LH, Gibran NS, Honari S, Kiriluk DB, Cole JK, et al. Dermatome setting for autografts to cover INTEGRA. *J Burn Care Rehabil.* 2002; 23(5):327-32.
232. Anselme K, Bacques C, Charriere G, Hartmann DJ, Herbage D, Garrone R. Tissue reaction to subcutaneous implantation of a collagen sponge: a histological, ultrastructural, and immunological study. *J Biomed Mater Res.* 1990; 24:689-703.
233. Dantzer E, Braye FM. Reconstructive surgery using an artificial dermis (integra): Results with 39 grafts. *Br J Plast Surg.* 2001; 54(8):659-64.

234. Shridharani SM, Tufaro AP. A systematic review of acellular dermal matrices in head and neck reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2012; 130(5 Suppl 2):35S-43S.
235. Lohana P, Hassan S, Watson SB. Integra™ in burns reconstruction: Our experience and report of an unusual immunological reaction. *Ann Burns Fire Disasters*. 2014; 27(1):17.
236. Park CA, Defranzo AJ, Marks MW, Molnar JA. Outpatient reconstruction using Integra and subatmospheric pressure. *Ann Plast Surg*. 2009; 62(2):164-9.
237. Rudzki Z, Rucińska M, Jurczak W, Skotnicki AB, Maramorosz-Kurianowicz M, Mruk A, Piróg K, Utych G, Bodzioch P, Srebro-Stariczuk M, Włodarska I, Stachura J.. ALK-positive diffuse large b-cell lymphoma: Two more cases and a brief literature review. *Pol J Pathol*. 2005; 56(1):37-45.
238. Unglaub F, Ulrich D, Pallua N. Reconstructive surgery using an artificial dermis (Integra): results with 19 grafts. *Zentralbl Chir*. 2005; 130:157e61.
239. Hop MJ, Bloemen MC, van Baar ME, Nieuwenhuis MK, van Zuijlen PP, Polinder S, Middelkoop E; TOPSKIN Study Group. Cost study of dermal substitutes and topical negative pressure in the surgical treatment of burns. *Burns*. 2014; 40(3):388-96.

-
240. Danlybayeva G, Zhylybayeva A, Akhmedeyeva A, Belan E, Ramazanov Z. Clinical experience with chitosan matrix and cultured fibroblasts for burns. *Cent Asian J Glob Health*. 2014; 3(Suppl.):. Disponível em: <<http://cajgh.pitt.edu>>. Acesso em: 15 jan 2017.
241. Kumar PTS, Praveen G, Raj M, Chennazhi KP, Jayakumar R. Flexible, microporous chitosan–gelatin hydrogel/nanofibrin composite bandages for treating burn wounds. *RSC Adv*. 2014; 4:65081-7.
242. Wang X, Wu P, Hu X, You C, Guo R, Shi H, Guo S, Zhou H, Yu C, Zhang Y, Han C. Polyurethane membrane/knitted mesh-reinforced collagen-chitosan bilayer dermal substitute for the repair of full-thickness skin defects via a two-step procedure. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016; 56:120-33.
243. Tredget EE, Levi B, Donelan MB. Biology and principles of scar management and burn reconstruction. *Surg Clin North Am*. 2014; 94(4):793-815.
244. Masters M, McMahon M, Svens B. Reliability testing of a new scar assessment tool, matching assessment of scars and photographs (MAPS). *J Burn Care Rehabil*. 2005; 26(3):273-84.
245. Beausang E, Floyd H, Dunn KW, Orton CI, Ferguson MW. A new quantitative scale for clinical scar assessment. *Plast Reconstr Surg*. 1998; 102(6):1954-61.

-
246. Martin D, Umraw N, Gomez M, Cartotto R. Changes in subjective vs objective burn scar assessment over time: does the patient agree with what we think? *J Burn Care Rehabil.* 2003; 24(4):239-44.
247. Schwanholt CA, Ridgway CL, Greenhalgh DG, Staley MJ, Gaboury TJ, Morress CS, Walling SJ, Warden GD. A prospective study of burn scar maturation in pediatrics: does age matter? *J Burn Care Rehabil.* 1994; 15(5):416-20.
248. Forbes-Duchart L, Marshall S, Strock A, Cooper JE. Determination of inter-rater reliability in pediatric burn scar assessment using a modified version of the Vancouver Scar Scale. *J Burn Care Res.* 2007; 28(3):460-7.
249. Tyack Z, Wasiak J, Spinks A, Kimble R, Simons M. A guide to choosing a burn scar rating scale for clinical or research use. *Burns.* 2013; 39(7):1341-50.
250. Collares MVM, Linhares CB, Viaro MSS. Portuguese translation of patient and observer scar assessment scale (POSAS). *Braz J Plastic Surg.* 2016; 31(1):95-100.
251. van de Kar AL, Corion LU, Smeulders MJ, Draaijers LJ, van der Horst CM, van Zuijlen PP. Reliable and feasible evaluation of linear scars by the patient and observer scar assessment scale. *Plast Reconstr Surg.* 2005; 116(2):514-22.

252. Fearmonti R, Bond J, Erdmann D, Levinson H. A review of scar scales and scar measuring devices. *Eplasty*. 2010; 10:e43.
253. Vana LPMV, Fontana C, Borda JCA, Bragagnollo JPF, Alonso N. Dermátomos: sua regulagem é precisa e confiável? In: Congresso Brasileiro de Queimaduras. Gramado, 2014.
254. Wolf SE, Tompkins RG, Herndon DN. On the horizon: Research priorities in burns for the next decade. *Surg Clin North Am*. 2014; 94(4):917-30.
255. Lee KC, Joory K, Moiemmen NS. History of burns: The past, present and the future. *Burns Trauma*. 2014; 2(4):169-80.