

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi

**Utilização de pele de tilápia para o reparo e proteção do palato após
remoção de enxertos**

BAURU
2021

GUSTAVO GONÇALVES DO PRADO MANFREDI

**Utilização de pele de tilápia para o reparo e proteção do palato após
remoção de enxertos**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutorado em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Periodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Campo Passanezi Sant'Ana

BAURU

2021

Gonçalves do Prado Manfredi, Gustavo

Utilização de pele de tilápia para o reparo e proteção do palato após remoção de enxertos /Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi. – Bauru, 2021.

111 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof^a. Dr^a. Adriana Campo Passanezi Sant'Ana

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

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº:
08515519.1.0000.5417, Número
do Parecer: 3.598.001
Data: 25/09/2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a História.

Por mais que parece amplo, na essência da humanidade, as histórias são os principais instrumentos para transmitir conhecimento. Desde eras primitivas, ao redor da proteção de fogueiras, nossos antepassados contavam sobre grandes aventuras e descobertas, que eram passados por gerações e gerações.

A História é um registro do Tempo. O mesmo que faz curar feridas, faz as águas das correntezas não serem as mesmas, traz a finitude e o recomeço. Esses registros são como um clique de máquina fotográfica que não pode ser refeito, essa captura não voltará, mas outras fotografias podem ser feitas.

Por isso que toda História deve ser respeitada. Para chegarmos onde estamos, vários livros foram lidos, lágrimas escorridas e sorrisos disponibilizados. Muitas vezes não reconhecemos essas lições por estarmos distantes, e ao mesmo tempo, tão próximos.

Enfim, vários caminhos para chegar nesse ponto, que se tornará um próximo parágrafo e assim nos tornarmos História.

Gustavo G P Manfredi

AGRADECIMENTOS

Difícil traduzir em PALAVRAS minha GRATIDÃO a todos aqueles que diretamente e/ou indiretamente estiveram envolvidos no desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço:

Profa. Dra. Adriana Campos Passanezi Sant'Ana por todo conhecimento transmitido durante os congressos e cursos. E pelas orientações no decorrer do doutorado, que foram de grande importância para o desenvolvimento do trabalho.

Profa. Dra. Maria Lúcia Rubo de Rezende (Malu), Profa. Dra. Mariana Schutzer Raghianti Zangrando, Profa. Dra. Carla Damante e Prof. Dr. Sebastião Luíz Aguiar Gregghi, muito obrigado, por proporcionarem momentos enriquecedores de aprendizagem, e pela orientação na minha formação profissional, que levarei para vida toda.

Dr. Edmar Maciel Lima Junior, pela parceria, por ajudar na construção desse projeto, da etapa inicial até o final, agregando valiosas considerações ao longo de todo o processo. Agradecimentos extensivos a toda equipe da Universidade Federal do Ceara e do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos.

Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves, por suas considerações e sugestões no desenho do projeto e na finalização.

Dra. Cristiane Rocha, por auxiliar na entrega das tilápia-do-Nilo.

Agradeço a todos os funcionários da periodontia, **Ivânia Komatsu da Costa, Edilaine Lúcio Rodrigues Torrecilha e Marcela Maria Pereira** que, além de ajudar diretamente na pesquisa, pelas dicas de vida e do dia-a-dia que fazem total diferença nas atitudes que tomamos.

Dr. Heitor Marques de Honório e o **Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris**, pela contribuição da análise estatística.

A todos os **professores da FOB-USP**, que ofereceram grandes conhecimentos compartilhados ao longo destes anos. Muito obrigado!

Matheus Cardoso, Andreia Padovani, Vitor Stuani, Raphaella Michel e Rafael Ferreira, que foram fundamentais para desenvolvimento dessa pesquisa.

Pós-graduandos e a turma especialização de Periodontia de 2019, por toda ajuda, suporte, convivência, pelos momentos compartilhados.

A todos os **pacientes**, por voluntariarem-se e disponibilizarem-se a fazer parte da pesquisa.

Aos **funcionários** da Biblioteca, Esterilização, COSEAS, dos Departamentos, dos Setores Administrativos e de Serviços e Manutenção, enfim a todos que integram a grande equipe da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB/USP).

Aos **graduandos** pela contribuição efetiva, sobretudo nas atividades desenvolvidas em clínicas e nas salas de aula.

Aos meus grandes **amigos que durante essa caminhada**, agradeço o carinho e o compartilhamento. Poderia escrever um livro sobre cada um, e cada um seria único e especial, com vários atos que iriam ser finalizados com o meu **multíssimo obrigado por tudo!**

Agradeço a minha **Família**, pois é nesse espaço que desenvolvo minha ânsia de pertencimento. Local de refúgio das tempestades, para depois voltar ao alto-mar. Aprendo que, navegando nesse mar da vida, nunca poderei desrespeitar a história expressa no destino de cada embarcação, pois às vezes, senão na maioria delas, os detalhes podem se tornar os protagonistas da história.

Agradeço a **Deus**, por tudo isso. E por me fazer compreender que realmente:

*“Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu.”*

Fernando Pessoa

Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À esta **Faculdade**, em nome do diretor **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos** e ao vice-diretor **Prof. Dr. Guilherme dos Reis Pereira Janson**, por nos oferecer a melhor infra-estrutura possível.

Ao **Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)** e a **Universidade Federal do Ceará (UFC)** pela parceria e a viabilização dessa pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** – Código de Financiamento 001.

*“Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que
você não conhece como eu mergulhei. Não se
preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer
entendimento.”*

Clarice Lispector

RESUMO

A técnica de remoção de enxertos de tecido mole autógeno na região do palato, causa grande desconforto e morbidade para os pacientes durante o período de cicatrização. Vários estudos de materiais e técnicas buscam controlar a dor e auxiliam no processo de cicatrização da ferida. Mas ainda não foi encontrado o protocolo ideal. Dentro desta proposta, a pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) mostrou-se um excelente curativo oclusivo para tratamento de queimados, que reduz a dor, acelera o reparo tecidual e melhora a qualidade de vida desses pacientes. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilização da pele de Tilápia-do-Nilo (PTDN) como curativo oclusivo em pacientes submetidos a cirurgia de remoção de enxerto gengival autógeno do palato. Foram incluídos no estudo, 24 indivíduos com indicação de cirurgia plásticas periodontais ou periimplantares que precisem enxertos gengivais. Os pacientes foram aleatoriamente alocados em grupo controle (cimento cirúrgico, Coepack®; n= 12) e teste (PTDN; n= 12) para proteção da área doadora, e foram acompanhados por 7, 14 e 30 dias. Os desfechos centrados no paciente foram investigados por meio de aplicação da escala visual analógica de dor (VAS); avaliação qualitativa do desconforto, fala e mastigação, e também do número de analgésicos consumidos. Quanto aos parâmetros clínicos, foram registradas: as dimensões da ferida; epitelização completa; percentual de contração da área da ferida nos diferentes períodos de avaliação, e a similaridade de cor. Os resultados demonstraram que VAS de 7 dias, apresentou maiores escores no grupo C ($5,91 \pm 2,15$) do que no grupo T ($2,50 \pm 2,31$), com diferença estatística significativa ($p = 0,001$; teste t). No consumo de analgésicos ao 7 dias, não houve diferenças significantes ($p = 0,334$; teste t) entre os grupos T ($8,75 \pm 7,75$) e C ($12,08 \pm 8,71$). Observou-se maior redução da área da ferida de 7 a 14 dias nos dois grupos, sendo que o grupo T apresentou menor percentual de área não epitelizada do que o grupo C ($p = 0,025$; teste t). A epitelização total completou-se aos 30 dias, em todos os pacientes nos dois grupos. Aos 14 dias, 33,3% dos pacientes do grupo teste e 16,66% do controle mostraram epitelização completa da ferida cirúrgica. Houve ainda diferenças significantes ($p = 0,020$) entre os grupos T ($97,83 \pm 1,58$) e C ($96,08 \pm 1,83$) na similaridade de cor aos 30 dias pós-operatórios. Dentro das limitações do estudo, conclui-se que os resultados sugerem que a PTDN

possui potencial para ser utilizada como curativo biológico oclusivo para área doadora palatina após a remoção de enxertos gengivais.

Palavras-chave: Dor. Tilápia-do-Nilo. Palato. Curativos Biológicos. Autoenxertos.

ABSTRACT

The use of Nile tilapia skin to wound repair and protection of the palate after graft removal

Soft tissue autogenous grafts are frequently removed from the hard palate, with increased discomfort and morbidity during healing period. Therefore, many studies searched for varying materials and techniques that could reduce post-operative morbidity and accelerate wound healing. In this context, tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin has been shown a good biomaterial to burn treatment, that reduces pain, accelerates tissue repair and increasing patients' quality of life. The aim of this study of this study was to evaluate the use of Nile Tilapia Skin (NTS) as an occlusive dressing in patients undergoing surgery to remove autogenous gingival graft from the palate. Twenty-four participants with indication for periodontal or peri-implant plastic surgery who needed gingival grafts were included in the study. Patients were randomly allocated into control (wound dressing, Coepack® n= 12) and test (NTS; n= 12), and were followed up for 7, 14 and 30 days. Patient-centered outcomes were investigated using the visual analogue pain scale (VAS); qualitative assessment of discomfort, speech and chewing, and also the number of painkillers consumed. As for clinical parameters, the following were recorded: wound dimensions; complete epithelialization; percentage of contraction of the wound area in the different evaluation periods, and the similarity of color. The results showed that VAS on 7 days, presented higher scores in group C ($5,91 \pm 2,15$) than group T ($2,50 \pm 2,31$), with a statistically significant difference ($p = 0,001$; independent t test). In the consumption of analgesics at 7 days, there were no significant differences ($p = 0,334$; t test) between groups T ($8,75 \pm 7,75$) and C ($12,08 \pm 8,71$). There was a greater reduction in the wound area from 7 to 14 days in both groups, and group T having a lower percentage of non-epithelialized area than group C ($p = 0.025$; t test). Total epithelialization was completed at 30 days, in all patients in both groups. At 14 days, 33.3% of the patients in the test group and 16.66% of the control group showed complete epithelialization of the surgical wound. There were also significant differences ($p = 0,020$) between groups T (97.83 ± 1.58) and C (96.08 ± 1.83) in color similarity at 30 days postoperatively. Within the limitations of the study, it is

concluded that the results suggest that NTFS has the potential to be used as an occlusive biological dressing for the palatal donor area after the removal of gingival grafts.

Keywords: Pain. Nile Tilapia. Palate. Biological Dressings. Autografts.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Preparação do leito e dimensões do enxerto. A) Preparação do leito para aumento de mucosa ceratinizada em região periimplantar. B) Realizado mapa para guiar o tamanho do enxerto no local do leito. C) Estabilização do enxerto no leito receptor58
- Figura 2** - Foto ilustrativa da proteção do palato com o cimento cirúrgico.....59
- Figura 3** - Preparo da PTDN e estabilização na ferida cirúrgica. A) Lavagem da PTDN, massageando por 5 minutos, sendo realizada 3 vezes com lavagem com soro fisiológico B) Confecção do PTDN utilizando 2 mm além do mapa cirúrgico C) Suturas para estabilização da PTDN na ferida cirúrgica.60
- Figura 4** - Desenho do estudo61
- Figura 5** - Esquema representativo da mensuração da altura e largura da ferida. A) Medida da altura (azul) e largura (marrom) do mapa cirúrgico utilizado como guia para obtenção do enxerto. B) Esquema representativo da medida da altura (azul) e largura (laranja) do leito receptor após a remoção do enxerto.62
- Figura 6** - Diagrama de fluxo67
- Figura 7** - Gráfico dos escores da dificuldade de fala e mastigação, e desconforto do material no período de 7 dias. 0 representa nenhuma dificuldade ou desconforto e 2, muita dificuldade e desconforto.69
- Figura 8** - Gráfico da porcentagem de pacientes com sensação de ardência no período de acompanhamento do estudo.....71
-
-

Figura 9 - Gráfico da porcentagem da área da ferida durante 30 dias em comparação a medida ferida inicial.....	73
Figura 10 - Fotografias representativas das amostras dos grupos teste e controle obtidas nos pós-operatórios.	73
Figura 11 - Fotografias de amostras representativas no período de 30 dias de cada grupo de estudo, que foram utilizados analisa de similaridade da cor. A) pós-operatório de 30 dias do grupo C. B) pós-operatório de 30 dias do grupo T.	74

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Vantagens e desvantagens ao uso do cimento cirúrgico após cirurgia periodontal (adaptado Kathariya et al. 2015).....32
- Tabela 2** - Característica demográfica do estudo.....67
- Tabela 3** - Características da amostra em relação a área da ferida cirúrgica, espessura do palato remanescente e espessura do enxerto no TO68
- Tabela 4** - Escala analógica de dor (VAS) pós-operatório referida pelo paciente.....69
- Tabela 5** - Consumo total de analgésico (unidade) relatados na primeira e segunda semana de pós-operatórios.....70
-
-

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1.	Enxertos gengivais	21
2.2.	Área doadora e cicatrização	22
2.3.	Curativos para área doadora	24
2.4.	Cimento Cirúrgico	28
2.5.	Biomateriais de origem pisciana	33
2.6.	Pele de tilápia-do-Nilo no Brasil como biomaterial.....	42
2.7.	Obtenção e preparo da PTDN	42
2.8.	Caracterização da PTDN.....	43
2.9.	Aplicações clínicas	45
3.	PROPOSIÇÃO	51
3.1.	Objetivo geral ou primário.....	51
3.2.	Objetivos específicos.....	51
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1.	Aspectos Éticos	55
4.2.	Desenho experimental.....	55
4.3.	População do estudo	55
4.3.1.	Critérios de inclusão	55
4.3.2.	Critérios de exclusão	56
4.3.3.	Calculo e poder da amostra.....	56
4.3.4.	Local e data do recrutamento	56
4.3.5.	Alocação	57
4.3.6.	Preparo inicial	57
4.4.	Procedimento cirúrgico	57
4.4.1.	Proteção do palato.....	59
4.4.2.	Cuidados pós-operatórios.....	60
4.5.	Desfechos centrados no paciente (“patient-reported outcome measures” – PROMs).....	61

4.6.	Avaliação da dimensão da ferida cirúrgica	62
4.7.	Similaridade de cor da área da ferida em cicatrização nos 30 dias	63
4.8.	Análise estatística	63
5.	RESULTADOS	67
5.1.	Características gerais	67
5.2.	Desfechos centrados no paciente	68
5.2.1.	Escala de Dor	68
5.2.2.	Dificuldade de fala, mastigação e desconforto em relação ao material	69
5.3.	Consumo de analgésicos	70
5.4.	Ardência da mucosa do palato	70
5.5.	Análise descritiva dos relatos dos pacientes	71
5.6.	Contração da ferida cirúrgica	72
5.7.	Grau de similaridade de cor com os tecidos adjacentes	74
6.	DISCUSSÃO	77
7.	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS	93
	ANEXOS	105



1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os enxertos autógenos de tecido mole são amplamente utilizados no tratamento de defeitos periodontais e peri-implantares como recobrimento radicular (LANGER; CALAGNA, 1982; CHAMBRONE et al., 2010), aumento de faixa de mucosa ceratinizada (SULLIVAN; ATKINS, 1969; CHAMBRONE et al., 2008; YAGHOBEET et al., 2018; TAVELLI et al., 2019c), reconstrução de papila interproximal (HAN, 1996; NEMCOVSKY, 2001), preenchimento de crista do rebordo (LANGER; CALAGNA, 1982; MILLER, 1986) e manejo tecidual ao redor de implantes (SANZ et al., 2012; THOMA et al., 2018).

Para a remoção desses enxertos, é necessária uma segunda área cirúrgica, sendo comumente escolhido o palato, por apresentar quantidade e qualidade tecidual, sendo um tecido semelhante ao que se encontra ao redor dos dentes (BORGHETTI et al. 2011). Ao remover o enxerto de tecido mole com epitélio, o leito doador fica cruento, com possibilidade de hemorragia, dor, desconforto, aumento no consumo de analgésicos e comprometimento das atividades diárias dos pacientes (LIU, C. L.; WEISGOLD, 2002; ZUCHELLI et al., 2010; THOMA et al., 2012; OZCELIK; SEYDAOGLU; HAYTAC, 2016; AL-SHIBANI, 2019; TAVELLI et al., 2019b) O período de cicatrização total dessa área é de aproximadamente 2 - 4 semanas (FARNOUSH, 1978); BORGHETTI et al. 2011). Portanto, a dor e desconforto oriundos da técnica de remoção, são causa de preocupação para profissionais e pacientes (GRIFFIN et al., 2006).

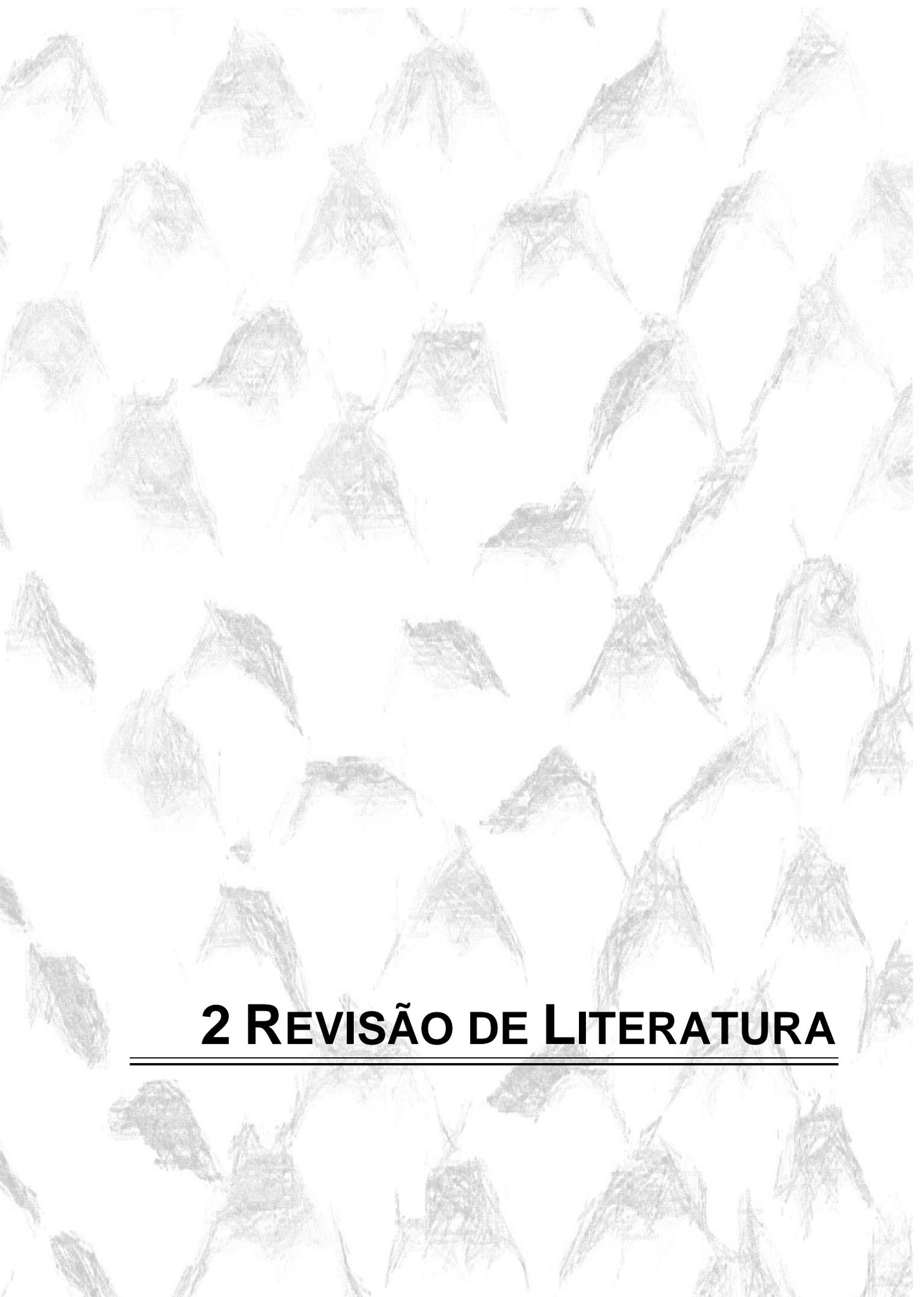
Diferentes formas de proteção do palato foram propostas na literatura, incluindo uso de cimento cirúrgico (BAGHANI; KADKHODAZADEH, 2013; KATHARIYA; JAIN; JADHAV, 2015), placa de Hawley modificada (FARNOUSH, 1978), plasma rico em fibrina (SHAYESTEHE et al., 2012), esponja de colágeno com cianoacrilato (TAVELLI et al., 2019b), fotobioestimulação com laser de baixa potência (WANG et al., 2015), ácido hialurônico (YILDIRIM et al., 2018), entre outros. Destes, os mais frequentemente utilizados são a placa de Hawley modificada e o cimento cirúrgico, que atuam como barreira, impedindo o trauma mecânico à área operada,

porém apresentando como desvantagens desconforto, dor e sensação de queimação, além de dificuldade fonética.

Alguns desses materiais, além da atuação como proteção, também apresentam propriedades bioativas com conteúdo de colágenos tipo I e tipo III visando o processo regenerativo e reconstrutor (THOMA et al., 2012; THOMA et al., 2016). Embora vários estudos tenham discorrido sobre o tema, ainda não foi estabelecido o melhor material para ser utilizado.

Recentemente, o uso de pele de tilápia foi proposto para o tratamento de queimaduras de segundo grau (LIMA JUNIOR et al., 2020a). A pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresenta estrutura morfológica semelhante à pele humana, sendo a derme composta por feixes de colágeno compactados, longos e organizados do tipo I, com elevada resistência à tração (ALVES et al., 2018). Até o momento, a utilização desse biomaterial em outras áreas como cirurgia plástica, ginecologia e queimadura (COSTA et al., 2019; DIAS et al., 2019; DIAS et al., 2020; LIMA JUNIOR et al., 2020a; LIMA JUNIOR et al., 2020b; RODRIGUEZ et al., 2020) tem se mostrado eficaz, sem ocorrência de efeitos colaterais significativos.

Tendo em vista suas propriedades biológicas e a inexistência de estudos que investiguem seu papel na proteção do leito doador em cirurgias periodontais ou peri-implantares de enxerto de tecido mole, o objetivo deste estudo é comparar a cicatrização do palato duro após a remoção do enxerto quando protegido por pele de tilápia-do-Nilo e cimento cirúrgico.



2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo foi construído de forma a facilitar a compreensão da metodologia, dos resultados e da discussão durante a pesquisa. Para tal, abordará conceitos sobre cirurgias periodontais, enxertos gengivais, materiais de proteção e reparo da área doadora, xenoenxertos de origem pisciano, e a utilização da pele de tilápia-do-Nilo na saúde.

2.1 Enxertos gengivais

A cirurgia plástica periodontal, termo introduzido por Miller em 1993, consiste em procedimentos cirúrgicos que visam a prevenção ou correção de defeitos de desenvolvimento traumáticos ou induzidos por doenças gengivais, mucosa alveolar ou osso (ZUCCHELLI; MOUNSSIF, 2015).

Essas condições afetam grande parcela da população (CORTELLINI; BISSADA, 2018), podendo causar hipersensibilidade dentinária, insatisfação com a estética (PINI-PRATO et al., 1999) e desequilíbrio na homeostasia ao redor de dentes e implantes (MAZZOTTI et al., 2018; ZUCCHELLI et al., 2018).

Para correção desses defeitos, diferentes técnicas cirúrgicas foram propostas com finalidade de recobrimento radicular (LANGER; CALAGNA, 1982; CHAMBRONE et al., 2010) aumento de faixa de mucosa ceratinizada (SULLIVAN; ATKINS, 1969; CHAMBRONE et al., 2008; YAGHOBEE et al., 2018; TAVELLI et al., 2019a), reconstrução de papila interproximal (HAN, 1996; NEMCOVSKY, 2001), preenchimento de crista do rebordo (LANGER; CALAGNA, 1982; MILLER, 1986) e manejo tecidual ao redor de implantes (SANZ et al., 2012; THOMA et al., 2018).

Para melhores resultados, essas técnicas são associadas com a utilização de enxertos, sendo os enxertos autógenos considerados como padrão ouro para criação de faixa de gengiva ceratinizada, recobrimento radicular e aumento de volume de tecido mole (CHAMBRONE et al., 2008), sendo o palato a área doadora

mais utilizada (ZUCHELLI et al., 2010) por apresentar boa qualidade e quantidade tecidual (BORGHETTI et al. 2011).

As principais desvantagens das técnicas que empregam enxertos autógenos de tecido mole é a morbidade pós-operatória associada à remoção do enxerto do leito doador, com sintomatologia de leve a severa requerendo o uso de analgésicos e anti-inflamatórios para controle da dor pós-operatória. Além disso, há risco de hemorragia pós-operatória, além da existência simultânea de dois leitos cirúrgicos na cavidade bucal, causando dificuldades fonéticas e mastigatórias nos primeiros dias após a cirurgia, conforme abordado a seguir.

2.2 Área doadora e cicatrização

Para a obtenção dos enxertos autógenos, é necessário áreas doadoras que possuam características semelhantes ao tecido gengival adjacente aos dentes e implantes, os quais podem ser removidos parte anterior e posterior do palato e da tuberosidade da maxila (ZUHR; BAUMER; HURZELER, 2014).

Destas, o palato duro é a área mais comumente utilizada para obtenção de enxertos autógenos de tecido mole (BORGHETTI 2011; ZUHR; BAUMER; HURZELER, 2014; ZUCHELLI et al. 2010), sendo composta por mucosa mastigatória formada por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, com tecido conjuntivo fibroso e denso, que é considerado o tecido doador com ótima qualidade para enxertia (KIERSZENBAUM, 2012; BORGHETTI 2011).

Após a remoção do enxerto, a cicatrização da lesão inicia-se com o processo de coagulação na região da ferida que servirá como uma matriz provisória para migração celular (GRZESIK; NARAYANAN, 2002). Nesse momento há migração epidérmica e invasão de células inflamatórias, ocorrendo a liberação de fatores de crescimento e de função antimicrobiana, para prevenir infecção (THOMA et al., 2012; ETTLIN et al., 2013). O processo de inflamação é modulado, inicia com angiogênese e síntese de colágeno no coágulo, substituindo por um tecido de granulação. Nesta fase, há também aumento de fibroblastos, dos quais alguns se

transformam em miofibroblastos, células responsáveis pela aproximação das bordas em sentido concêntrica, contraindo a ferida (GRZESIK; NARAYANAN, 2002).

Com o avanço do processo de cicatrização, a matriz do tecido de granulação começa a ser substituída por tecido conjuntivo, tendo a sua epitelização total de 3 a 4 semanas após a cirurgia, sendo que para uma segunda retirada de enxerto deve-se esperar aproximadamente 3 meses depois da cirurgia (LINDHE, 2005).

Durante processo cicatricial, principalmente nos primeiros dias, os pacientes sentem dor, sensação de queimação, dificuldade de mastigação e fala (Yildirim (OZCELIK; SEYDAOGLU; HAYTAC, 2016; YILDIRIM et al., 2018; AL-SHIBANI, 2019; TAVELLI et al., 2019a). A percepção de dor nessa fase inicial é visto no ensaio clínico de Esfahani et al. 2021 (NAMADMALIAN ESFAHANI; KHORSAND; MOHSENI SALEHIMONFARED, 2021), que realizaram um estudo com 31 pacientes que foram submetidos a remoção de EGL no palato para ganho de mucosa ceratinizada ao redor de implantes. Foram divididos em dois grupos de acordo com o tamanho dos enxertos removidos. Para que os enxertos menores (correspondendo a 60% do tamanho do leito receptor; n =16) foram utilizados a técnica da sanfona para atingirem o tamanho do leito receptor, já o outro grupo, era realizado o convencional (n=15), que é o tamanho do enxerto correspondente do tamanho de leito receptor. Os pacientes relataram os desfechos de dor usando escala analógica visual (VAS). Nos resultados foi observado que entre os grupos não apresentavam diferença estatística significativa para dor, sugerindo então, que o tamanho do enxerto não influenciou na sintomatologia dolorosa. Entre outras análises, foi verificado que o maior pico de dor aconteceu no segundo dia de pós-operatório, e que diminuía até zerar após 14 dias.

Para reduzir tais complicações pós-operatórias, vários estudos estão sendo desenvolvidos, utilizando materiais que tem a função de proteção, cicatrização, agentes hemostáticos e de analgesia.

2.3 Curativos para área doadora

Os curativos utilizados para as cirurgias de remoção de enxertos devem ser aplicados em íntimo contato com a ferida, contribuindo para a manutenção de condições favoráveis para que ocorra a migração celular, garantindo a cicatrização e proteção da região. Eles podem ser divididos em passivos - aqueles que promovem apenas a proteção física da ferida, e bioativos - aqueles que apresentam uma interação com a ferida servindo como protetor e acelerador do processo de cicatrização (THOMA et al., 2012; SIRITIENTONG et al., 2014).

Dos curativos encontrados na literatura, encontram-se: cimentos cirúrgicos (FARNOUSH, 1978; BAGHANI; KADKHODAZADEH, 2013; KATHARIYA; JAIN; JADHAV, 2015); placa de Hawley modificada (FARNOUSH, 1978); plasma rico em fibrina (SHAYESTEH et al., 2012); esponja de colágeno com cianoacrilato (TAVELLI et al., 2019b); fotobioestimulação com laser de baixa potência (SKOPIN; MOLITOR, 2009); matriz colágena (WIRTHLIN et al., 1980); ácido hialurônico (YILDIRIM et al., 2018), dentre outros.

Wang et al. em 2015(WANG et al., 2015) demonstraram que a irradiação da ferida do palato com LED em comprimento de onda de 660 nm acelera a cicatrização do palato, potencialmente através da redução da produção de espécies reativas de oxigênio, facilitando a angiogênese e promovendo matriz provisória e reorganização da ferida.

Keceli et al. (KECELI et al., 2015) utilizaram extrato de planta medicinal embebido em gaze para obtenção de hemostasia e cicatrização precoce da ferida em sítios doadores de EGL, comparativamente ao soro fisiológico embebido em gaze. O sangramento primário e secundário foi menor no grupo teste. Durante 6 dias, os escores de dor foram mais altos no grupo controle, embora posteriormente não houvesse diferenças entre os grupos. A epitelização foi relativamente mais rápida e a coloração melhor no grupo teste do que no controle.

O manejo pós cirúrgico de feridas do palato após EGL com PRF e esponja de gelatina foi comparado por Femminella et al. em 2016.(FEMMINELLA et al., 2016), observando-se maior epitelização completa da ferida no grupo teste a partir de 2

semanas de pós-operatório. Os pacientes do grupo testem também relataram menor desconforto pós-operatório, menor alteração nos hábitos alimentares e menor dose de analgésicos.

Mudanças quantitativas na espessura do leito doador do palato após EGL foram investigadas por Keskiner et al.(KESKINER et al., 2016) em 2016. Foram incluídos no estudo 40 pacientes divididos em 2 grupos de acordo com a espessura residual após a coleta: grupo 1 - < 2mm e grupo 2 - ≥ 2 mm. O preenchimento tecidual foi medido em três pontos da área do defeito (mesial, centro e distal) em diferentes períodos de tempo (baseline, após coleta, 1, 3 e 6 meses depois). A espessura do novo tecido formado do baseline até 1 mês de acompanhamento foi maior no grupo 2 do que no grupo 1, enquanto que a espessura de 1 a 3 meses e de 3 a 6 meses foi maior no grupo 1 do que no 2. A espessura residual do palato estava positivamente correlacionada com o preenchimento por novo tecido em todos os períodos de tempo, indicando que a espessura da mucosa após a coleta do enxerto pode influenciar o seu preenchimento após a cirurgia. A periferia das feridas foi preenchida primeiro e em maior extensão do que o centro.

Ustaoglu et al.(USTAOGLU; ERCAN; TUNALI, 2017) em 2016 investigaram os efeitos clínicos de fibrina rica em plaquetas preparada com titânio (T-PRF) na cicatrização da mucosa palatina e em mudanças na espessura de tecido mole em termos de histocondução, comparativamente ao grupo controle não tratado. Houve similaridade dos escores de cor no grupo teste significativamente maior do que o controle após 7 e 14 dias, assim como maior frequência de epitelização completa da ferida no dia 14 no grupo teste. A prevalência de sangramento foi menor no teste do que no controle nos dois primeiros dias. Foi observado diminuição tempo dependente na espessura tecidual depois de 1 e 6 meses no grupo controle em relação ao baseline, mas essa diferença não existiu no grupo teste. Esses achados indicaram que o T-PRF é uma matriz autógena promissora para histocondução.

Heidari et al. em 2017 (HEIDARI et al., 2017) avaliaram se a fotobioestimulação a laser foi efetiva para melhora da cicatrização e da dor pós-operatória em estudo clínico randomizado, do tipo boca-dividida, com intervalos de 30 dias entre os procedimentos em um mesmo paciente. No grupo teste, as áreas doadoras e receptoras foram tratadas com laser diodo (4J/cm²) imediatamente após

a cirurgia e depois de 1, 2, 4 e 7 dias. O lado controle recebeu o mesmo tratamento, porém com o laser desligado (placebo). A epitelização completa da ferida, cura clínica da ferida e escala analógica visual foram utilizados para análise entre os grupos. Aos 14 e 21 dias após a cirurgia, o número de sítios doadores com epitelização completa foi maior no grupo teste do que no controle. Depois de 21 dias, todos os sítios doadores do grupo teste estavam completamente epitelizados, enquanto que no grupo controle apenas oito sítios estavam completamente epitelizados. Em termos de cicatrização clínica, os grupos teste e controle não mostraram diferenças durante o período de 45 dias, exceto no dia 1 para o sítio receptor e 14 para o doador, quando o grupo teste mostrou melhores resultados. O escore de dor VAS não mostrou diferenças significantes entre os dois grupos, exceto pelas primeiras 3 horas após o procedimento em favor do grupo laser.

Ustaoglu et al.(USTAOGLU; ERCAN; TUNALI, 2017) em 2017 também avaliaram os efeitos da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de sítios doadores de EGL. Foram analisados os parâmetros: índice de cicatrização da ferida (WHI – wound healing index), consistência do tecido, similaridade de cor e teste de formação de bolhas da H₂O₂ para avaliação da epitelização completa da ferida nos dias 3, 7, 14 e 21 dias após a cirurgia. A espessura do tecido mole da área doadora foi medida no exame inicial e no primeiro mês. A prevalência de epitelização completa foi maior no grupo laser, como no estudo anterior, nos dois primeiros dias. Foram observados escores maior de WHI no grupo teste do que no grupo controle em todas as visitas. Os escores de similaridade de cor foram maiores no grupo teste nas primeiras 3 visitas. A espessura do tecido mudou de 4,62 ± 0,62 para 4,01 ± 0,68 mm no grupo controle, sugerindo que o laser de baixa intensidade favorece a cicatrização do sítio doador e preserva espessura do tecido no leito doador.

O PRP também foi utilizado para proteção do palato duro após EGL por Samani et al. em 2017 (SAMANI et al., 2017). O desfecho se baseou na comparação entre PRP e cicatrização natural em relação à extensão do fechamento da ferida, escala de Manchester, escala de cicatrização de Landry, escala visual analógica e espessura do tecido entre os dois grupos em diferentes intervalos de tempo. Diferenças significantes foram encontradas entre os grupos e nos diferentes intervalos em todos os parâmetros em favor do PRP, exceto por alterações na espessura tecidual.

Madi e Kassem (MADI; KASSEM, 2018) em 2018 avaliaram a aplicação tópica de gel de sinvastatina/chitosan no sítio doador do palato após procedimento de EGL. A amostra foi dividida em quatro grupos: I- suspensão de sinvastatina; II: gel de sinvastatina/chitosan; III: gel de chitosan; IV: gel de petróleo. Cada paciente recebeu o tratamento 3x/dia durante 7 dias. A cicatrização foi avaliada nos dias 3, 7 e 14 pós-operatório. Houve redução significativa nos escores de cicatrização da ferida aos 3 e 7 dias comparativamente aos demais grupos, além de menor escore da escala VAS nos dias 1, 3 5 e 7, sugerindo que a aplicação de gel de sinvastatina/chitosan melhora a cicatrização e reduz a dor no sítio doador do palato após EGL.

Barhammam(BAHAMMAM, 2018) realizou ensaio clínico randomizado para avaliar os efeitos da aplicação de PRF na área doadora após a obtenção do tecido para enxerto autógeno em 24 pacientes, sendo 12 no grupo teste e 12 no controle. Os pacientes relataram os níveis de dor nos primeiros 7 dias usando escala analógica visual (VAS), escala de graduação numérica de 101 pontos (NRS-101) e verbal de 4 pontos (VRS-4). Foram ainda analisados os níveis pré-operatórios de ansiedade e o padrão de cicatrização nos períodos de 1, 2, 3,4 e 8 semanas após a cirurgia. Não houve diferenças no nível de ansiedade entre os dois grupos, mas a mesma poderia influenciar nos resultados da cirurgia. Pacientes do grupo PRF relataram significativamente menores de dor, com os níveis voltando aos basais gradativamente comparado com o grupo controle. Esses achados sugerem que o PRF reduz de forma significativa a dor e desconforto após remoção de EGL.

Outros estudos foram realizados para comparar a eficácia de diferentes materiais na minimização da dor pós-operatória da área doadora após EGL. Tavelli et al. em 2019 (TAVELLI et al., 2019b) avaliaram 44 leitos doadores em 44 pacientes tratados por meio de EGL. Os leitos foram protegidos com esponja colágena hemostática no grupo controle e com esponja colágena + cianoacrilato no grupo teste. Os pacientes foram acompanhados por 14 dias, analisando-se o nível de dor por meio de escala analógica visual, consumo de analgésicos no período de retratamento, disposição para retratamento e características do enxerto. Foram observadas diferenças significantes na percepção de dor entre os dois grupos, com menor consumo de analgésicos no grupo teste. O tamanho do enxerto (<14 mm) estava associado também com menor desconforto. Esses dados sugeriram que o

cianoacrilato sobre a esponja de colágeno reduz o desconforto na área doadora e a resultante necessidade de consumo de analgésicos no pós-operatório de EGL.

Femminella et al. em 2016 (FEMMINELLA et al., 2016) investigaram os efeitos de proteção do palato com PRF e esponja de gelatina em 40 pacientes submetidos à cirurgia para recobrimento de recessões classe I ou II de Miller por meio de EGL. Os pacientes foram acompanhados semanalmente no primeiro pós-operatório. Foram determinados a completa epitelização da ferida, alteração de sensibilidade ao redor da ferida da área doadora, desconforto pós-operatório e mudanças no padrão alimentar, além de determinação do consumo de analgésicos na primeira semana. Os resultados mostraram que a adição do PRF acelerou a epitelização da ferida, que se mostraram completamente fechadas depois de 3 semanas no grupo teste comparativamente a 25% no grupo controle. Os pacientes também relataram menos desconforto e o consumo de analgésicos foi reduzido no grupo teste.

Sousa et al. em 2020 (SOUSA et al., 2020) avaliaram o uso de membranas de A-PRF nas feridas do palato após a obtenção de EGL para avaliar a taxa de reepitelização e experiência de dor. O grupo teste foi composto por 14 pacientes e o grupo controle por 11 pacientes, que receberam proteção por esponja de gelatina. A taxa de reepitelização da ferida foi mais rápida no grupo teste, sendo significativamente superior ao final de 30 dias, com diferença significativa na proporção de pacientes mostrando fechamento total da ferida no grupo teste aos 14 dias de pós-operatório. A sintomatologia dolorosa e desconforto também foram menores nestes grupos até os 14 dias, sendo o pico de dor aos 2 dias pós-operatório.

2.4 Cimento Cirúrgico

Dentre os citados, o cimento cirúrgico é um dos mais utilizados (FARNOUSH, 1978) em procedimentos que visam proteção dos sítios cirúrgicos contra o trauma durante a mastigação e deglutição, minimização da dor, infecção, hemorragia pós-operatória e por muitas vezes, dar suporte aos dentes móveis durante a fase de cicatrização (SACHS et al., 1984).

Existem basicamente 3 categorias de cimentos cirúrgicos periodontais (KATHARIYA; JAIN; JADHAV, 2015):

- I. Contendo óxido de zinco e eugenol (Wondrpak®; fórmula de Kirkland);
- II. Não contendo eugenol (Coe-Pak®, Crosspack®, Peripac®, Septopac®, Perio Care®, Perio Putty®, Periogenix®);
- III. Não contendo nem óxido de zinco e nem eugenol (fórmulas comerciais: cianoacrilato, resinas polimerizáveis, matriz colágena do tipo I de origem animal, adesivos biológicos como gelatina, pectina, carboximetilcelulose sódica e polímero poliisobutileno).

Os cimentos cirúrgicos periodontais foram introduzidos, conforme revisão de Sachs et al. (1984), em 1923 através do Dr. A. W. Ward. Este material, chamado de Wondrpak, era constituído de óxido de zinco e eugenol misturado com álcool, óleo de pinha e fibras de asbestos e tinha por objetivo cobrir e proteger a área cirúrgica, realizar esplintagem de dentes móveis, imobilização de áreas lesionadas e dessensibilização de dentes, trazendo maior conforto aos pacientes. Posteriormente, os cimentos cirúrgicos foram utilizados para controlar o sangramento pós-operatório, diminuir o desconforto do paciente, permitir cicatrização tecidual sob condições assépticas, evitar traumatismos à área da ferida cirúrgica durante o período de cicatrização e auxiliar na estabilização do retalho, além das indicações anteriormente descritas.

Segundo estes autores, os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol podem causar necrose tecidual e atrasar o processo cicatricial, enquanto que os asbestos podem apresentar efeitos sistêmicos, causando asbestose, câncer de pulmão e mesotelioma. Portanto, foram eliminados do mercado e substituídos por cimentos não eugenol, contendo óxido de zinco, bacitracina e gordura hidrogenada.

Os cimentos cirúrgicos periodontais não contendo eugenol (Coe-Pak®), comumente utilizados na prática clínica, apresentam propriedades anti-bacterianas mecânicas, ou seja, impedem a contaminação da ferida por bactérias e seus produtos presentes na saliva, conforme demonstrado por O'Neil em 1975.

Haugen em 1980 (HAUGEN, 1980) investigou a propriedade anti-bacteriana contra microorganismos salivares após estocagem de três cimentos cirúrgicos a seco ou em líquido por 1 e 2 dias. A inibição do crescimento de bactérias foi avaliada em placas de ágar-sangue. A capacidade de colonização das superfícies por *S. mutans* também foi avaliada. O teste de contato de superfície indicou atividade anti-bacteriana contra microorganismos presentes na saliva pelo Coe-Pak® e Wondrpak®, presentes em até dois dias após a estocagem em metade das amostras. O efeito do Peripac® se limitou à fase inicial. O teste de acúmulo de placa mostrou células bacterianas simples na superfície do Coe-Pak® e Wondrpak®, enquanto o Peripac® apresentou colonização bacteriana. O cimento cirúrgico utilizado rotineiramente na disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP é o Coe-Pak®, daí a importância de apresentarmos revisão quanto às suas propriedades físicas e químicas.

O Coe-Pak® consiste de duas pastas, uma contendo óxido de zinco, óleo (para plasticidade), cola (para coesão) e lorotidol (fungicida). A outra pasta consiste de ácidos graxos de coco, espessados com rosina e clorotimol, um agente bacteriostático. Estes foram reduzidos posteriormente em quantidade por causar irritação tecidual. As propriedades físicas dos cimentos apresentam efeitos em sua performance clínica, especialmente no que diz respeito à adaptação à área da ferida. O Coe-Pak® apresenta melhor adesão à ferida, embora seja necessário travamento mecânico para melhor estabilização. Por outro lado, a irritação local provocada pelo uso do cimento cirúrgico contendo ou não eugenol pode contribuir para o aumento da dor e edema pós-operatórios, muitas vezes requerendo a interposição de outro material entre a ferida e o cimento cirúrgico. Em cultura de células, após 24 horas, o Coe-Pak inibiu o crescimento de fibroblastos, além de apresentar citotoxicidade para leucócitos PMN e inibição do crescimento de células epiteliais in vitro. No entanto, esses efeitos negativos são dissipados clinicamente pela saliva e fluido tissular, segundo Sachs et al., em 1984. As desvantagens do uso do cimento cirúrgico são: desconforto na fala e mastigação, mau hálito, mau odor e alteração do paladar, além da possibilidade de reação alérgica em pacientes sensíveis aos componentes da fórmula (SACHS et al., 1984).

A adição de agentes antibióticos permitiu o crescimento de fungos oportunistas, daí a necessidade de adição de anti-fúngicos e a recomendação de se

remover o cimento cirúrgico em até 7 dias. Assim, alguns estudos sugeriram não utilizar cimento cirúrgico periodontal após cirurgia, já que não existem diferenças clínicas e histológicas que justifiquem seu uso após cirurgia, especialmente em pacientes sistemicamente comprometidos, já que existe bacteremia transitória na troca do cimento cirúrgico. Embora o uso de cimento cirúrgico não mude os parâmetros clínicos de cicatrização e pareçam causar mais edema e dor, ele reduz a sensibilidade, a dificuldade de mastigação e acelera a cicatrização quando comparado à ausência do cimento cirúrgico em cirurgia periodontal, sugerindo que a opção de usar ou não cimento cirúrgico após cirurgia periodontal é uma escolha pessoal. Apresenta proteção adequada para estabilização da posição do retalho e proteção a áreas cruentas (como no leito doador do EGL), mas requer remoção em 1 semana (SACHS et al., 1984).

Em relação à dor e desconforto, vários fatores podem influenciar mais do que a presença ou ausência de cimento: tipo de cirurgia, adaptação do retalho, quantidade de cirurgia óssea e trauma cirúrgico, manejo do retalho e duração da cirurgia. Por outro lado, os fatores que mais pesam contra o uso de cimento cirúrgico é a colonização bacteriana superficial, atrasando a cicatrização, o que pode ser minimizado pelo uso de clorexidina, reduzindo o desconforto pós-operatório. Quando, no entanto, houvesse boa adaptação do retalho, o uso do cimento cirúrgico seria dispensável (SACHS et al. 1984).

Mais recentemente, em 2015, Kathariya et al. apresentaram nova revisão de literatura para analisar o estado atual dos cimentos cirúrgicos periodontais. Citando Pasteur (“O germe não é nada. É o terreno no qual ele se encontra que é tudo.”), os autores consideraram que um ambiente favorável à cicatrização das feridas pode ser criado pelo cimento cirúrgico periodontal. Seus objetivos são: estabilização do retalho em posição; proteção do tecido neoformado; minimizar dor, infecção e hemorragia pós-operatória; proteção dos sítios cirúrgicos contra o trauma durante a mastigação e deglutição; dar suporte aos dentes móveis durante a fase de cicatrização. Assim como na revisão anterior, os autores enalteceram que os cimentos à base de eugenol foram usados especialmente após gengivectomia em bisel externo devido às propriedades analgésicas, além de prevenir ou retardar o crescimento bacteriano devido às propriedades antissépticas. No entanto, o eugenol foi considerado como irritante aos tecidos orais, induzindo reações alérgicas e

causando necrose tecidual, particularmente de osso, levando ao atraso na cicatrização, além de dificuldade de manipulação e superfície rugosa após a aplicação. Evidências histológicas sugeriram que os cimentos contendo eugenol produziam maior destruição tecidual, com maior infiltração celular e resposta de tecido conjuntivo, sendo citotóxico em altas concentrações, com efeitos adversos em fibroblastos e osteoblastos. Os autores citaram quatro ensaios clínicos em que os resultados foram favoráveis ao uso do cimento cirúrgico e 9 outros estudos contrários à colocação de cimento cirúrgico. Para um melhor entendimento, foi realizado uma tabela simplificada e modificada a seguir.

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens ao uso do cimento cirúrgico após cirurgia periodontal (adaptado Kathariya et al. 2015)

Vantagens	Desvantagens
Proteção da ferida cirúrgica ao trauma mecânico;	Pouco efeito na cicatrização;
Estabilidade do leito cirúrgico durante a fase de cicatrização;	Maior acúmulo de placa;
Conforto do paciente;	Maior sintomatologia dolorosa;
Boa adaptação à gengiva e osso;	Invasão microbiana subsequente;
Prevenção de hemorragia ou infecção pós-operatória;	Irritação aos tecidos, aumentando a chance de infecção;
Diminuição da sensibilidade dentinária;	Dificuldade na mastigação.
Proteção do coágulo durante fala e mastigação;	Cimentos Cirúrgicos constituído por óxido de zinco e eugenol podem causar necrose tecidual ou atrasar a cicatrização (Sachs, Farnoush et al. 1984)
Prevenção do deslocamento da gengiva da superfície radicular;	Desconforto na fala e mastigação
Prevenção do deslocamento do retalho;	Mau hálito
Suporte mecânico em procedimentos de enxerto gengival livre;	Alteração do paladar
Melhora dos resultados clínicos de longo-prazo.	Possibilidade de reação alérgica

Os benefícios do uso do cimento cirúrgico podem ser agrupados em dois grupos: físicos e terapêuticos, segundo os autores. Os efeitos físicos incluem a estabilização do retalho, proteção contra hemorragia e trauma mecânico, estabilização do coágulo e prevenção de contaminação bacteriana, produzindo conforto e melhorando a cicatrização. Os efeitos terapêuticos incluem suporte temporário aos tecidos após a cirurgia, oclusão e proteção mecânica da área da

ferida cirúrgica, favorecimento da cicatrização e atividade anti-microbiana (KATHARIYA; JAIN; JADHAV, 2015).

Shanmugam et al. em 2010 compararam os efeitos do cimento cirúrgico com curativo de colágeno em 32 pacientes que iriam realizar enxerto gengival livre. Os parâmetros foram analisados por meio de escala VAS e incluíram ardência e espessura da mucosa aos 2, 7, 14 e 42 dias após a cirurgia. Também foi realizada avaliação histológica das amostras obtidas. Nesse estudo, o uso de curativo de colágeno demonstrou evidências de reparo mais rápido, com menor morbidade para pacientes, comparado ao cimento cirúrgico.

2.5 Biomateriais de origem pisciana

A utilização de colágeno em procedimentos regenerativos e reconstrutivos é algo cada vez mais explorado nas áreas biomédicas, pois muitas vezes não há tecido autógeno disponível para tais abordagens. O colágeno é a proteína mais abundante na matriz extracelular, sendo uma macromolécula biológica natural e, assim, apresenta fraca antigenicidade, baixa reação inflamatória, boa biodegradabilidade e altas taxas de adesão e proliferação celular. Além disto, é um ótimo agente hemostático e pode ser comercializado em diferentes apresentações (SUN et al., 2020).

As fontes primárias para obtenção de colágeno são bovinas, suínos e equinos. No entanto, recentemente, pesquisas estão explorando alternativas como de origem pisciana (HASSANBHAI et al., 2017), por ser um material de fácil obtenção, obtido a partir de pele do peixe que seria descartada após o preparo para o uso alimentício do peixe, contribuindo para a preservação do meio ambiente, sendo também de baixo custo e baixa imunogenicidade em seres humanos, reduzindo o risco de contaminação interespecíes, como, por exemplo, encefalopatia espongiiforme bovina, conforme descrito por diferentes autores (TERADA et al., 2012; TANG; SAITO, 2015; HASSANBHAI et al., 2017).

Esta aplicação biomédica de colágeno pisciano é sustentada por diferentes estudos, como de Terada et al. em 2012 que avaliaram a biocompatibilidade *in vitro*

de arcabouço compósito de quitosana-colágeno construído por meio de mistura comercial de quitosana e colágeno de tilápia contendo queratinócitos de mucosa oral, além de caracterizar as características histológicas e imunohistoquímicas de equivalente de mucosa oral produzido *ex-vivo* utilizando o C3 (EVPOME-C) e comparar este material com constructos de mucosa oral utilizando AlloDermVR (EVPOME-A), BioMendVR Extend TM (EVPOME-B) e mucosa oral nativa. O equivalente *ex-vivo* de mucosa oral é produzido com a partir do Alloderm, uma matriz dérmica acelular obtida de cadáveres humanos e que tem problemas de natureza jurídica para comercialização, dependendo do país. Por isso, os autores propuseram a confecção de um novo constructo utilizando colágeno obtido de tilápias, considerando-se o baixo risco de transmissão de doenças entre as espécies pisciana e mamífera, além de ser obtido a partir de material que seria descartado e apresentando baixo custo. O arcabouço de C3 apresentava uma rede de fibrilas bem desenvolvidas com porosidade suficientemente pequena para impedir o crescimento dos queratinócitos na parte interna do arcabouço após a cultura de células. Os constructos EVPOME-C e EVPOME-B apresentaram, após cultura com interface ar-líquido, epitélio multi-camadas ceratinizado, enquanto o EVPOME-A, com o colágeno de tilápia, apresentou um epitélio estratificado mais organizado. Células imunomarcadas na camada basal de todos os arcabouços testados sugeriram a capacidade regenerativa dos biomateriais. Apesar disso, quando comparado com mucosa oral nativa, os padrões de ceratina 15 e 10/13 observados em todos os arcabouços foram menos organizados do que a mucosa nativa. Apenas o EVPOME-A e a mucosa nativa apresentaram formação completa de membrana basal, indicando que o colágeno de tilápia (C3) tem aplicação potencial na engenharia de tecidos e pode ser usado como um acessório terapêutico para regeneração de tecidos mucosos orais.

Yamamoto et al. em 2014 investigaram a segurança do atelocolágeno preparado a partir de pele de tilápia, em ensaios *in vitro* e *in vivo* para aplicação clínica. Nesse estudo foi verificado a biocompatibilidade, antigenicidade, biodegradabilidade e potencial de proliferação celular. Foi visto que não houve presença de vírus e bactérias, bem como foram negativos os testes de toxicidade celular, sensibilização, aberrações cromossômicas, reações intracutâneas,

toxicidade sistêmica aguda, reações pirogênicas e hemólise (YAMAMOTO et al., 2014).

Outro estudo El-Rashidy et al em 2015 (EL-RASHIDY et al., 2015), avaliaram quimicamente e biologicamente o colágeno extraído e purificado da escamas da tilápia-do-Nilo. Foi realizada co-cultura de células fibroblásticas obtidas de hamsters bebês em gel colágeno tridimensional. Os resultados demonstraram a constituição fundamentalmente por colágeno tipo I e temperatura de desnaturação de 32°C, em estrutura de tripla-hélice. A proliferação ativa das células mostrou ausência de toxicidade nas duas concentrações avaliadas (0,3% e 0,5%), sugerindo que o biomaterial pode ter uma boa aplicação na área biomédica.

Tang e Saito, em 2015, investigaram as respostas proliferativa, de diferenciação e mineralização in vitro de uma linhagem de odontoblastos de ratos (MDPC-23) ao colágeno tipo 1 isolado de escamas de tilápias marinhas, para testar sua possível aplicação em Odontologia. Foram realizados ensaios de análise morfológica, contagem celular, atividade de fosfatase alcalina, PCR em tempo real e alizarina vermelha. Houve proliferação e espalhamento celular após 44 horas em cultura após adição do meio, observando-se morfologia mais poligonal quando cultivados sobre substrato de colágeno de tilápia (T-COL) e mais alongada quando cultivados sobre substrato de colágeno suíno (P-COL). O pico proliferativo se deu aos 3 dias e os dois grupos apresentaram número de células significativamente maior do que o controle. O início da diferenciação celular se deu aos 6 dias de cultivo, conforme ensaio de atividade de fosfatase alcalina, mantendo-se estável até 8 dias e sendo significativamente superior ao controle para os dois biomateriais investigados. A expressão de mRNA de fosfatase alcalina, sialoproteína óssea (BSP), osteonectin, DMP-1 e Run-X2, investigada por meio de PCR em tempo real, mostraram aumento significativo dos níveis de BSP para os dois biomateriais após 7 dias, sendo significativamente maior do que o controle. Da mesma forma, aos 10 dias, houve o dobro de nódulos mineralizados denotados pelo ensaio de alizarina vermelha com os dois biomateriais relativamente ao controle, sem diferença entre os grupos. Esses achados sugeriram que o colágeno obtido de tilápia marinha apresentou biocompatibilidade comparável ao colágeno suíno, podendo ser utilizado como uma alternativa para procedimentos regenerativos na região oromaxilofacial.

O potencial uso de colágeno hidrolisado obtido da escama de tilápias do Nilo na viabilidade e diferenciação osteogênica de fibroblastos de ligamento periodontal em cultura foi investigado por Liu e Sun em 2015(LIU, C.; SUN, 2014), para possível aplicação na regeneração dos tecidos periodontais. Foram investigadas a viabilidade das células de ligamento periodontal em cultura e a expressão de diversos genes relacionados à osteogênese, como ALP, colágeno I, OCN e Runx-2. Além disso, a produção de proteínas osteogênicas foi também avaliada, bem como os mecanismos envolvidos na indução de diferenciação osteogênica das células de ligamento periodontal. Os resultados obtidos demonstraram que o material foi capaz de induzir diferenciação osteogênica nas células de ligamento periodontal, podendo ser utilizado como material regenerador periodontal.

Ensaio clínico também suportam o uso destes enxertos. Baldursson et al. em 2015 (BALDURSSON et al., 2015) realizaram um ensaio clínico randomizado foi realizado para determinar se o tempo de cicatrização de feridas tratadas com matriz dérmica acelular de peixe comparadas com matriz extracelular de submucosa de intestino delgado de suínos no antebraço de 81 pacientes. A matriz piscoe não apresentou inferioridade comparado com a suína, sendo que também apresentou uma cicatrização significativamente mais rápida.

Yang et al. 2016(YANG; POLANCO; LANTIS, 2016) acompanharam 18 pacientes que apresentavam feridas classificadas como de difícil cicatrização tratados com enxertos piscianos, onde observaram uma redução de 40% da área das lesões e de 48% de sua profundidade nas 5 primeiras semanas de tratamento.

Zhou et al. em 2016 (ZHOU et al., 2016)reportaram o desenvolvimento de esponja de colágeno de pele de tilápia e nanofibras de eletrospun desenvolvidas como protetor de antebraço. O biomaterial, composto por dois peptídeos, não mudou o número de linfócitos em camundongos, nem a proporção de linfócitos CD4+/CD8+ ou níveis de IgG ou IgM em ratos. A força tensional e ângulo de contato das nanofibras de colágeno foram de $6,72 \pm 0,44$ Mpa e $26,71 \pm 4,88$, respectivamente. Houve boa estabilidade térmica e propriedade de inchaço. As nanofibras provoveram proliferação significativa de ceratinócitos humanos e estimularam a diferenciação epidérmica através de sobre-regulação da expressão gênica de

involucrina, filagerina e transglutaminase do tipo I em HaCATs. Além disso, facilitaram a regeneração da pele de ratos.

No ano seguinte, os autores (ZHOU et al., 2017) publicaram outro artigo para descrever a estrutura, força tensional, atividade antibacteriana e efeitos biológicos do material sobre ceratinócitos humanos, fibroblastos dérmicos humanos e células endoteliais vasculares humanas, além de validar seus efeitos como protetor biológico em modelos de defeito de pele de ratos. Os resultados confirmaram os achados anteriores e observou-se atividade antibacteriana e promotora da adesão, proliferação e migração de ceratinócitos. Houve secreção de colágeno tipo 1 e VEGF por fibroblastos dérmicos, mais estimulados pela proliferação de VEGF, atestando seu potencial aceleração da cura da ferida de pele.

O colágeno tipo 1 também é utilizado como protetor cirúrgico nas formas de hidrogel, filme, pó, spray, nanofibra e esponja, podendo ser produzida por meio de processo de congelação a seco sob a forma de esponja porosa. Sob esta forma, poderia ser utilizada para hemostasia e auxiliar a cura da ferida, considerando-se a melhora na adesividade, absorção aos fluidos tissulares, troca de oxigênio, crescimento de células epiteliais e formação de tecido de granulação reparativo. A baixa resistência e fraca resistência à biodegradação do colágeno natural limita sua utilização clínica e, para fortalecer esses aspectos, diferentes métodos são utilizados para promover *cross-linkings* ou reticulações no colágeno. Assim, Sun et al. em 2017 (SUN et al., 2017) analisaram as propriedades mecânicas, biológicas e de biodegradação de esponjas de pele de tilápia do Nilo, que foram tratadas por desidrotêmicos (DHT) e reticulação de glutaraldeído (GTA). Os resultados obtidos demonstraram que as esponjas de GTA tiveram maior reticulação, extensão da resistência à tração e higroscopicidade do que DHT. A capacidade de coagulação não foi modificada pela introdução da reticulação. A compatibilidade das amostras com sangue foi analisada por meio de ensaio de hemólise in vitro, mostrando resultados favoráveis para as esponjas modificadas e não modificadas. Esses achados demonstraram que a pele de tilápia do Nilo é uma alternativa segura para obtenção de biomateriais à base de colágeno. Dentre as propriedades mecânicas, a higroscopia e resistência à biodegradação por colagenase, a esponja de colágeno modificada por GTA foi superior àquela modificada por DHT. Esses resultados mostraram que as ligações cruzadas aumentaram a estabilidade da esponja de

colágeno e fortaleceram a resistência à biodegradação, ao mesmo tempo que se mantiveram com alta porosidade e boa compatibilidade, podendo ser usada como cimento cirúrgico para favorecer a reparação de feridas.

Em 2017, Magnusson et al. (MAGNUSSON et al., 2017) investigaram o uso de pele acelular de peixe para reparo tecidual de feridas de guerra comparativamente à membrana de córion/amnion humana desidratada, considerando-se a ausência de risco de transmissão de doenças por príons e vírus. Os resultados do estudo demonstraram que a microestrutura da pele de peixe é altamente porosa, enquanto que a membrana de córion/amnion é majoritariamente não porosa. Os enxertos de pele de peixe apresentaram capacidade superior de suportar o crescimento tridimensional interno de células, servindo também barreira contra invasão bacteriana por 24 a 48 horas. Esses achados sugeriram que o enxerto de pele de peixe acelular é o material ideal a ser utilizado quando se intenciona a proteção de trauma severo e queimaduras decorrentes de batalhas de guerra.

Hu et al. em 2017 (HU et al., 2017) confirmaram que o colágeno extraído de pele de tilápia-do-Nilo obtido por meio de hidrólise enzimática estava composto por polipeptídeos de diferentes pesos molecular, sendo os inferiores a 5kDa a ampla maioria (99,14%), sendo a maioria (mais do que 58%) de natureza hidrofílica. Em coelhos, o uso do material favoreceu a cura das feridas.

Liao et al. 2018 (LIAO et al., 2018) também avaliaram as propriedades físico-químicas e biológicas, micromorfologia e compatibilidade antes e depois da modificação da esponja de colágeno de pele de tilápia-do-Nilo como um material biomédico hemostático. A esponja foi modificada com 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida na presença de N-hidroxissuccinimida (EDC / NHS), genipina mais PBS, genipina mais etanol, polifenol (TP), ácido nordihidroguaiarético (NDGA) e difenilfosforilazida (DPPA). Verificou-se que todos os grupos do estudo foram biocompatíveis pelo ensaio de hemólise in vitro, e o grupo EDC / NHS exibiu a maior higroscopicidade e em comparação com outros. Comparando com os demais ensaios, os autores consideram que a esponja de colágeno modificado melhora as propriedades mecânicas e a resistência à degradação da colagenase de esponjas e

que o EDC/NHS possuem melhores resultados para biomaterial hemostático, confirmando os achados anteriormente descritos.

Dorweiler et al. 2018 (DORWEILER et al., 2018) avaliaram 23 pacientes com 25 lesões associadas ao diabetes mellitus com exposição óssea, que foram tratados com uma matriz acelular derivado de pele de peixe. Ao fim do estudo, todas as lesões cicatrizaram com sucesso, sendo notada também uma redução na administração de analgésicos com a implementação do tratamento.

Ouyang et al. em 2018 (OUYANG et al., 2018) desenvolveram hidrogel de peptídeos marinhos e quitosana para tratamento de feridas de queimadura, mostrando atividade antibacteriana, proliferativa celular e migratória, favorecendo a cura das feridas por meio de re-epitelização e deposição de colágeno mais acelerada (aos 7 dias), com epitélio completamente regenerado aos 14 dias e fechamento completo das feridas aos 21 dias, com sobre-regulação da expressão FGF2 e VEGF.

Song et al., em 2019, investigaram as propriedades físico-químicas, de biossegurança e biocompatibilidade do colágeno extraído de tilápia do Nilo, avaliando também seu potencial uso como biomaterial. Foram utilizados dois métodos de extração do colágeno (ASC e PSC). Os resultados mostraram que a forma molecular obtida através dos dois métodos foi semelhante e constituída basicamente de colágeno tipo 1, arranjados de maneira frouxa e porosa, o que fundamenta seu uso como material biomédico. Resultados negativos foram obtidos com testes de endotoxinas. Houve indução de proliferação de células osteoblásticas e fibroblásticas obtidas, respectivamente, de camundongos e células endoteliais da veia umbilical humana comparativamente ao controle. O teste de toxicidade sistêmico mostrou ausência de sintomas agudas com as esponjas utilizadas.

Woodrow et al. 2019 (WOODROW; CHANT; CHANT, 2019) avaliaram 8 pacientes diabéticos que foram submetidos a cirurgias para lesões decorrentes nos pés durante 6 semanas. Foram avaliados a área da ferida, dor, infecção, odor, secreção e irritação. Nos resultados indicaram que a administração do enxerto pisciano nos primeiros meses do surgimento da lesão está associado à uma cicatrização mais rápida.

Considerando-se a importância de acelerar o processo de cura das feridas na biomedicina, Chen et al. em 2019 (CHEN et al., 2019) avaliaram quatro biomateriais diferentes incluindo esponja de colágeno solúvel de pele de tilápia extraída por pepsina (PCS) ou ácido (ACS), colágeno bovino electrospun I (BCE I) e II (BCE 2) como protetores cirúrgicos. Os materiais foram testados em feridas cirúrgicas criadas em ratos. Observaram que os quatro materiais aumentaram o percentual de contração da ferida, reduziram a infiltração inflamatória e aceleraram a epitelização e cicatrização, além de favorecer os níveis proteicos totais e de hidroxiprolina. Os maiores efeitos proliferativos sobre proliferação e diferenciação de fibroblastos foram observados com as esponjas bovinas, porém o ACS foi superior ao APCS. Esses biomateriais, portanto, poderiam regular a deposição de colágeno, levando ao melhor alinhamento do processo de cicatrização de feridas. Houve efeitos similares na indução de citocinas, incluindo EGF, FGF e marcador endotelial vascular CD31, sugerindo bioatividade dos materiais e proporcionando aceleração do reparo tecidual em modelo animal.

Lau et al. em 2019 (LAU et al., 2019) caracterizaram pele de tilápia decelularizada e avaliaram sua biocompatibilidade biológica *in vitro* e *in vivo*. Os resultados indicaram que o processo de decelularização (DTS) removeu 99,6% do DNA da pele da tilápia, resultando em alta temperatura de desnaturação (68,1%) e módulo de Young de $56,2 \pm 14,4$ Mpa. As propriedades do DTS foram comparável ao da membrana de colágeno de tilápia, promovendo atividade metabólica celular, diferenciação e mineralização de células MC3T3-E1 pré-osteogênicas. Não houve rejeição hiperaguda no modelo *in vivo*. Ainda, houve regeneração óssea de defeitos críticos criados em modelo animal comparativamente ao controle sham, sendo um material para regeneração tecidual.

Ge et al. em 2020 (GE et al., 2020) relataram a forma de preparo do colágeno e hidrogel de colágeno a partir de pele de tilápia e avaliaram seu potencial como protetor de feridas refratárias. O colágeno foi extraído pelos métodos ASC e PSC e caracterizados em gel de eletroforese, DSC, dicroidismo circular (CD) e espectroscopia infra-áerea de transformação de Fourier (FITR), mais uma vez demonstrando que o colágeno obtido é primariamente do tipo 1, em estrutura de tripla hélice, com menor peso molecular e estabilidade térmica para o PSC, além de

baixa antigenicidade. Além disso, a força mecânica dos hidrogéis obtidos por PSC aumentam conforme esta substância também aumenta. Não há citotoxicidade para fibroblastos. Os achados sugeriram que o material pode ser utilizado como protetor cirúrgico para queimaduras de pele de segundo grau profundas, com geração de novos apêndices de pele que também poderiam ser utilizados para o tratamento de outras feridas refratárias.

Segundo Xiong et al., em 2020,(XIONG et al., 2020) produto derivado de pele de tilápia melhorou a deposição de colágeno e hidroxiprolina em ratos diabéticos, aumentando a expressão de IGF-1, bFGF, PDGF, TGF-B1, VEGF, EGF. Houve redução das proteínas pró-inflamatórias IL-1B e IL-8 e aumento da citocina anti-inflamatória IL-10, em conjunto com aumento no superóxido antioxidante dismutase e atividade de catalase. As proteínas séricas reduzidas pelo diabetes também foram recuperadas com o biomaterial, sugerindo que seu efeito na cicatrização das feridas diabéticas se deve pela sinalização de fatores de crescimento e deposição de colágeno na ferida, além de aumento de antioxidantes potentes e fornecimento de suporte nutricional.

Recentemente, grupo de pesquisadores brasileiros (CRUZ et al., 2021) publicaram artigo de revisão sistemática para investigar o processo de cura de feridas empregando colágeno obtido de organismos marinhos em estudos realizados de cicatrização experimental de feridas de pele, adotando-se os critérios do PRISMA. O uso das palavras-chave definidas retornou o total de 42 artigos das bases de dados PubMed e Scopus, tendo sido selecionados 10 estudos, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, para revisão, no período compreendido entre 2011 e 2019. Foram incluídos estudos utilizando colágeno extraído de pele de tubarão, de tilápia, de *Lophius litulon*, cefalópode *D. singhalensis*, pele de Hadock e de salmão. Os resultados se basearam fundamentalmente em análise histológica e demonstraram que o tratamento com colágeno pisciano resultou em maior deposição de tecido de granulação, estímulo de re-epitelização e neoangiogênese, aumento da quantidade de colágeno presente na ferida, resultando em aspecto morfológico mais maduro.

2.6 Pele de tilápia-do-Nilo no Brasil como biomaterial

No Brasil, o estudo de xenoenxertos de origem pisciana originou-se da necessidade de substituto cutâneo temporário para tratamento de queimados. A realidade da rede pública de saúde até então era o tratamento de queimados de segundo grau com banhos diários com clorexidina a 2% e realização de curativos com sulfadiazina de prata a 1%. Nos queimados de terceiro grau, era primeiramente feito várias sessões de desbridamento do tecido necrótico, para depois realizar o curativo de sulfadiazina de prata 1%, conforme descrito por Alves, em 2015. Estes tratamentos provocam muita morbidade para os pacientes, e outros tratamentos, como uso biomateriais como curativos como biossintéticos, peles artificiais e peles de origem porcina ou de rã, tornam-se inviáveis devido ao alto custo. Deste modo, a pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (PTDN) surgiu como biomaterial nacional para uso como curativo biológico oclusivo para queimados, apresentando baixos custos, possuindo grande disponibilidade de material e promovendo excelentes resultados que serão descritos durante a revisão.

2.7 Obtenção e preparo da PTDN

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é originária da África, mais especificamente na bacia do rio Nilo, e é encontrada em regiões tropicais e subtropicais (ALVES et al., 2015). As que são utilizadas para as pesquisas são provenientes da piscicultura de Castanhão (Jaguaribara, CE), sendo cultivadas em tanque rede, até o peso de abate, entre 800 a 1000 g. Os peixes são insensibilizados por choque térmico (caixas isotérmicas com gelo moído e água, proporção 1:1 e, em seguida, realizada a sangria. As peles passam por um processo de esterilização, para garantir a segurança de seu uso, conforme descrição a seguir (ALVES et al., 2015;(ALVES et al., 2018):

- Após o abate do peixe, as peles são removidas e submetidas à lavagem em água corrente, para a remoção de qualquer resquício de sangue e outras impurezas e colocadas em depósitos plásticos estéreis, em caixas isotérmicas, para transporte até o laboratório.
-

- No laboratório, são retirados os excessos de músculos, que ainda permaneceram ligados à pele, feito o recorte em pedaços de 10,0cm x 5,0 cm e lavados com soro fisiológico (SF). As peles passam por várias etapas químicas de esterilização, na clorexidina e no glicerol, em várias etapas e concentrações diferenciadas.
- No banco de pele, na capela de fluxo laminar, é retirado fragmento para exame microbiológico por amostragem e são realizados o duplo envelopamento, a dupla selagem e a etiquetagem. Esta pele fica armazenada na geladeira de tecidos não liberados, aguardando o resultado da microbiologia.
- Após o resultado, e sendo negativo, as peles são encaminhadas para o Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN), para serem irradiadas. Neste momento, as peles ficam armazenadas na geladeira de tecidos liberados, a 4°C.

2.8 Caracterização da PTDN

Alves et al., em 2015 realizou a caracterização da pele de tilápia do Nilo, a partir de suas propriedades histomorfológicas, tipificação do colágeno e características físicas (resistência à tração) no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará. A morfologia da pele de tilapia do Nilo apresentou bastante similaridade com a pele humana, mostrando derme profunda formada por fibras colágenas espessas e organizadas, em arranjo paralelo/horizontal e transversal/vertical. Houve grande quantidade de colágeno I, maior do que aquela observada em extratos de pele humana. A pele suportou carga média de $43,9 \pm 26,2$ N, enquanto que os valores de tração extensível foi de, em média, $4,44 \pm 1,04$ cm. Essas características microscópicas denotam que a pele de tilápia tem estrutura morfológica semelhante à pele humana, com alta resistência e resiliência à quebra, o que dá suporte ao seu uso possível como biomaterial, estando composta predominantemente por colágeno tipo I.

Alves et al. em 2018, considerando que o desenvolvimento da bioengenharia tecidual é uma preocupação global e que os diferentes materiais devem ser estudados e criados para serem seguros, efetivos e de baixo custo, avaliaram o a pele de tilápia usada como curativo de feridas de queimadura quanto às características histológicas, propriedades de colágeno e resistência tensiométrica após o tratamento por dois métodos de esterilização: (1) químico, constituído por dois banhos em clorexidina 2% seguido de banhos sequenciais em concentrações crescentes de glicerol; (2) radiação, quando as amostras glicerolizadas de pele foram submetidas à radiação gama a 25, 30 e 50 kGy. As peles tratadas por glicerol apresentaram discreta desorganização das fibras colágenas na camada profunda da derme, enquanto a pele irradiada não demonstrou alterações. Através dos passos da esterilização química, houve maior proporção de colágeno com birrefringência vermelho/amarela (tipo I) nas peles até o primeiro banho em clorexidina quando comparada com amostras após os dois primeiros banhos de glicerol. No entanto, não houve diferenças em relação ao colágeno total entre os grupos. Na pele irradiada, houve maior preservação do colágeno com doses de até 30 kGy. A análise tensiométrica não mostrou diferenças significantes em relação à carga máxima nos grupos de estudo. Esses achados levaram a concluir que os métodos químicos e de radiação (25 e 30 kGy) são eficientes para esterilização da pele da tilápia-do-Nilo para uso clínico, sem alterar suas características microscópicas ou tensiométricas.

Em 2020, Mendoza Hernandez defendeu uma dissertação de Mestrado na Universidade Federal do Ceará, sob orientação do Prof. Dr. Manoel Oodoroico de Moraes Filho descrevendo o desenvolvimento de matriz extracelular decelularizada a partir de pele de tilápia como biomaterial para uso em medicina regenerativa. Foram estudados diferentes métodos físicos, químicos e enzimáticos para promover a decelularização para obtenção de arcabouço de boa qualidade. Foram testados 12 protocolos distintos, usando surfactantes iônicos e não iônicos, sendo os melhores o Tween 20 por 24 horas, CHAPS 8,0mM por 4 horas e Triton X-100 a 1% por 6h, promovendo decelularização de, respectivamente, 100%, 96,35% e 97,83%. Também não houve reação citotóxica inversa, considerando-se a alta viabilidade celular verificada por os três grupos (respectivamente, 86,71%, 108,3% e 95,63%). A

dose ideal de irradiação para radioesterilização foi obtida pelo protocolo CHAPS 8,0mM, com doses de 15, 25, 30 e 50 kGy, sendo a melhor a dose de 25kGy.

2.9 Aplicações clínicas

Lima-Junior et al. em 2017 avaliaram os resultados do uso de pele de tilápia em queimaduras de segundo grau superficial e profunda em ratos. Os resultados microscópicos demonstraram, aos 21 dias, que o tecido conjuntivo estava livre de qualquer inflamação e os exames de sangue não apresentaram nenhum tipo de alteração ($p < 0,05$), comprovando sua segurança e eficácia de uso como curativo biológico em modelos animais.

Miranda em 2018 avaliou a eficácia da pele de tilápia do Nilo como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras de 2º grau em 30 pacientes aleatoriamente tratados com o biomaterial ($n = 15$) comparativamente a outros quinze tratados com hidrofibra co prata Aquacel Ag. A média de tempo do tratamento com pele de tilápia foi de $9,6 \pm 2,4$ dias, menor do que para o controle ($10,7 \pm 4,5$). Os dois grupos apresentaram dor maior que 5 na escala visual analógica, com diminuição da sintomatologia em 86,7% dos casos tratados com a pele de tilápia após sua troca. Cerca de 60% dos pacientes não tiveram seus curativos de pele de tilápia substituídos em qualquer momento do tratamento, enquanto que 53,3% dos pacientes tratados no grupo controle tiveram mais do que uma troca de curativo. Não houve diferenças significantes entre os grupos nos parâmetros avaliados.

No relato de caso do estudo Costa et al. em 2019 (COSTA et al., 2019), utilizou-se a pele de tilápia-do-Nilo como xenoenxerto para tratamento de queimadura pediátrica. Menino de 3 anos de idade, foi internado com escaldaduras no lado esquerdo do rosto, pescoço, tórax, abdômen e braço esquerdo, no total de 18% da superfície do corpo. No resultado pós tratamento, notou-se boa aderência do xenoenxerto nas feridas, e o paciente teve alta do hospital após 10 dias necessários para a reepitelização completa, não apresentando nenhum efeito adverso. Na conclusão, os autores apontaram que biomaterial inovador, de baixo custo, com ampla disponibilidade e fácil aplicação é uma opção terapêutica para pacientes

pediátricos com queimaduras, conseqüentemente, trazendo um impacto benéfico no âmbito social e financeiro para o sistema de saúde.

Como já relatado nessa revisão, sobre tratamento de pacientes que sofrem queimaduras no campo de batalha, no estudo de Lima-Junior et al. em 2019 (LIMA-JUNIOR et al., 2019), utilizou a pele de tilápia para queimadura parcial após explosão de pólvora. Paciente com 23 anos, apresentava queimaduras superficiais de espessura parcial no membro superior direito e queimaduras profundas de espessura parcial no seu membro superior esquerdo, devido ao contato das chamas de explosão de pólvora. No resultado do tratamento foi visto a reepitalização completa em 12 e 17 dias, respectivamente, sendo que nenhuma troca do curativo foi necessária e nenhum efeito adverso foi observado.

No estudo de Lima-Junior et al. 2019 (LIMA-JUNIOR et al., 2019), as peles de tilápia foram utilizadas como curativo biológico oclusivo em crianças de 2 a 12 anos com queimaduras. Foram investigados a quantidade de analgésicos utilizados até a cura da lesão e o tempo de cicatrização quando comparado à terapia convencional, com sulfadiazina de prata em 30 pacientes com queimaduras superficiais de 2º grau (área corporal queimada < 15%). Observou-se que o uso de analgésicos de ação central foi menor no grupo teste do que no grupo controle, sugerindo que a pele de tilápia como curativo biológico oclusivo reduz a necessidade de uso de analgésicos e o tempo de cura da ferida de queimados de 2º grau.

Além da utilização para tratamentos em queimados, a PTDN, também está sendo utilizada em procedimentos ginecológicos e de reconstrução vaginal após redesignação sexual. Dias et al. em 2019 (DIAS et al., 2019)descreveu uma técnica de procedimento de McIndoe para tratamento cirúrgico com o uso da PTDN, em uma paciente de 17 anos com síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser. Como resultado, após 180 dias do tratamento cirúrgico, a paciente apresentou uma neovaginal anatômica e funcional. Como conclusão foi visto que o procedimento foi minimamente invasivo por ser mais simples, rápido e eficaz.

Dias et al. em 2020(DIAS et al., 2020), relatou outra neovaginoplastia em uma paciente de 41 anos que possuía oclusão total do canal vaginal após radioterapia de câncer vaginal. Sendo realizado a técnica de neovaginoplastia McIndoe com o uso

da PDTN. Nos resultados, foi observado anatomia e função da neovaginal, mostrando assim, que a reconstrução vaginal com a PDTN parece ser uma excelente escolha devido ampla disponibilidade, fácil execução e alta performance.

Em outro estudo, Lima-Junior et al. 2020 (LIMA JUNIOR et al., 2020a) avaliaram a pele de tilápia liofilizada como um substituto temporário para queimaduras de espessura parcial, comparando com o curativo de carboximetilcelulose sódica impregnado com prata. Foi verificado em 24 pacientes que possuíam queimaduras superfícies de parciais de até 10% da superfície corporal total. Nos resultados foram verificados que a dor relatada no grupo teste foi menor que no grupo controle. E na conclusão, foi visto que a pele liofilizada possuía as mesmas características de curativo demonstradas pela pele glicerolizada nos estudos anteriores e não apresentando inferioridade para o grupo de carboximetilcelulose.

Ainda neste ano, Lima-Junior et al. realizaram um ensaio clínico randomizado de fase II para avaliar a eficácia da pele de tilápia do Nilo como um curativo oclusivo para tratamento de 62 queimados. A amostra foi dividida de acordo com a profundidade e a porcentagem da queimadura da superfície total do corpo, e após isso foram distribuídos entre o grupo teste (tratamento com a pele de tilápia-do-Nilo) e o grupo controle (sulfadiazina de prata 1°). No resultado, verificou-se que em participantes do grupo teste apresentaram reepitelização completa em menos dias e que a intensidade de dor relatada foi menor nos dois braços dos estudos que correspondiam queimaduras mais graves. E também foi visto a diminuição da troca de curativos comparado com o grupo.



3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral ou primário

O objetivo primário deste estudo é avaliar a eficácia da pele de tilápia-do-Nilo no reparo de ferida cirúrgica do palato após a remoção de enxerto autógeno epitelizado comparativamente ao cimento cirúrgico periodontal.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos ou secundários do estudo são:

- a. Avaliar a percepção do paciente quanto à dor e desconforto pós-operatórios por meio de escala analógica visual e consumo de medicamentos (desfechos centrados no paciente ou patient-reported outcomes – PROMs);
 - b. Avaliar qualitativamente a percepção do paciente quanto à dificuldade de mastigação no pós-operatório através da escala visual analógica;
 - c. Comparar a cicatrização do palato por meio do uso de medidas lineares da ferida cirúrgica e do índice de epitelização da ferida;
 - d. Avaliar qualitativamente a percepção do paciente quanto à dificuldade de mastigação no pós-operatório através da escala visual analógica.
 - e. Comparar a mescla de cor do tecido durante a cicatrização nos períodos de tempo pré-determinados.
-



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CAAE 08515519.1.0000.5417, na data de 25/09/2019 (Anexo 1). Todos os participantes foram convidados a participar como voluntários, sendo devidamente explicado de forma verbal e escrita os objetivos, riscos e benefícios relativos à pesquisa, sendo resguardadas as garantias do direito de acordar ou discordar do tratamento, bem como desistir da participação em qualquer momento da pesquisa. Todos os participantes concordaram livremente em participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) previamente à inclusão no estudo (Anexo 2).

4.2 Desenho experimental

Este estudo é um ensaio clínico controlado, randomizado, prospectivo de braços paralelos, realizado para avaliar o tempo de cicatrização e os desfechos centrados no paciente relacionados à cicatrização de ferida de palato após a remoção de enxerto gengival autógeno livre, utilizada como modelo experimental para avaliar o potencial regenerativo de tecido mole na região oral com o uso da pele de tilápia-do-Nilo.

4.3 População do estudo

4.3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo 25 indivíduos de ambos os sexos, de qualquer raça, ≥ 18 anos de idade, com indicação de tratamento cirúrgico periodontal ou peri-

implantar envolvendo a necessidade de coleta de enxerto livre de tecido mole epitelizado (enxerto gengival livre) a partir do palato.

4.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pessoas com presença de quadro infeccioso que comprometesse a realização dos procedimentos, usuários de medicamentos que pudessem agir sobre os tecidos periodontais ou sobre o processo cicatricial (anticonvulsivantes, bloqueadores de canais de cálcio, ciclosporina, bisfosfonatos, contraceptivos à base de hormônios, corticoides), gestantes, tabagistas, pacientes com condições sistêmicas que comprometam o processo cicatricial (ex: diabetes), indivíduos submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço, prontuários que não apresentassem os dados necessários para realização da pesquisa e aqueles que não concordaram em participar do estudo.

4.3.3 Cálculo e poder da amostra.

O cálculo amostral inicial foi embasado em estudo prévio (YILDIRIM et al., 2018), no qual foi utilizado o desfecho primário nos 7 dias, assumindo valor beta > 80% e $\alpha=0.05$. Resultou em 5 pacientes por grupo, e ao considerar a expectativa de perda da amostra, foi indicado 15 pacientes por grupo. Após realização do ensaio clínico foi realizado o poder da performance do teste estatístico determinada pelo desfecho primário, definida pela variável do escores VAS no período de 7 dias entre os grupos. Admitindo-se $\alpha = 0,05$, e o valor de beta >80%, o poder da amostra resultou 96% (GPower 3.1.9.4).

4.3.4 Local e data do recrutamento

Os pacientes foram recrutados no período compreendido entre outubro de 2019 e janeiro de 2020 na clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP.

4.3.5 Alocação

Os participantes foram alocados nos grupos teste ou controle aleatoriamente, definido por programa de computador gerado por indivíduo (IM) diferente do operador e do examinador (GGPM), que não teve contato com o participante. A descrição do procedimento a ser realizado após a alocação foi armazenada em envelope pardo e aberto no momento da cirurgia pelo operador. A intervenção recebida foi a proteção do leito doador de enxerto autógeno livre e desepitelizado de tecido mole por meio de:

- Grupo Controle (C): proteção da área doadora com cimento cirúrgico periodontal Coe-Pak® (n= 12);
- Grupo Teste (T): proteção da área doadora com pele de tilápia-do-Nilo (n= 13).

4.3.6 Preparo inicial

Após a inclusão e alocação e previamente à cirurgia, todos os participantes foram submetidos a preparo prévio periodontal consistindo de raspagem e alisamento radicular, profilaxia profissional e instrução de higiene bucal. No momento da cirurgia, a área deveria estar sem inflamação gengival e sem acúmulo de placa, caracterizada por ausência de sangramento à sondagem e ausência de placa visível na área de interesse, além de índice de sangramento gengival de boca toda e índice de placa de boca toda inferior a 20%.

4.4 Procedimento cirúrgico

Todos os participantes incluídos apresentavam indicação de cirurgia periodontal plástica para recobrimento radicular, aumento da faixa de gengiva ceratinizada ou modificação do fenótipo gengival ao redor de dentes naturais ou implantes osseointegrados por meio de enxerto gengival livre (EGL) ou enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETCS) obtido pela técnica de desepitelização do enxerto pós-remoção (BOSCO, BOSCO 2007; (ZUCHELLI et al., 2010). Todos os

procedimentos cirúrgicos foram executados por operador diferente do examinador, cegado em relação ao tipo de proteção do palato recebida pelo participante.

As cirurgias para remoção do enxerto autógeno foram realizadas utilizando-se anestesia terminal infiltrativa com cloridrato de articaína com vaso-constritor (epinefrina 1:100.000). Após a preparação do leito receptor, foi realizado um mapa com acetato de celulose estéril que foi aparado nas dimensões desejadas do enxerto. O mapa foi posicionado no palato após anestesia infiltrativa na região palatina a 2 mm adjacente as margens dos pré-molares superiores, para não causar defeito periodontal nos mesmos (FEMMINELLA et al., 2016; TAVELLI et al., 2019b), tendo sido escolhido como área doadora o palato lateral, localizado entre pré-molares e distal do 1º molar superior, conforme descrito por Zuhr et al. 2014 (ZUHR; BAUMER; HURZELER, 2014). Depois, quatro incisões foram realizadas de aproximadamente de 1 a 1,5 mm de profundidade com lâmina 15C seguindo o contorno do mapa, que é então removido do palato, para começar a realizar a divisão de espessura parcial, permitindo-se a remoção do enxerto (Figura 1).

Dependendo da indicação clínica, os enxertos obtidos foram preparados na mesa cirúrgica para utilização como enxerto de tecido conjuntivo desepitelizado, conforme proposta por Bosco e Bosco (2007) visando o recobrimento radicular ou sob a forma de enxerto gengival livre visando o aumento da faixa de gengiva ceratinizada ao redor de dentes naturais ou implantes. Neste local, os enxertos eram posicionados no leito receptor e imobilizados por meio de sutura.

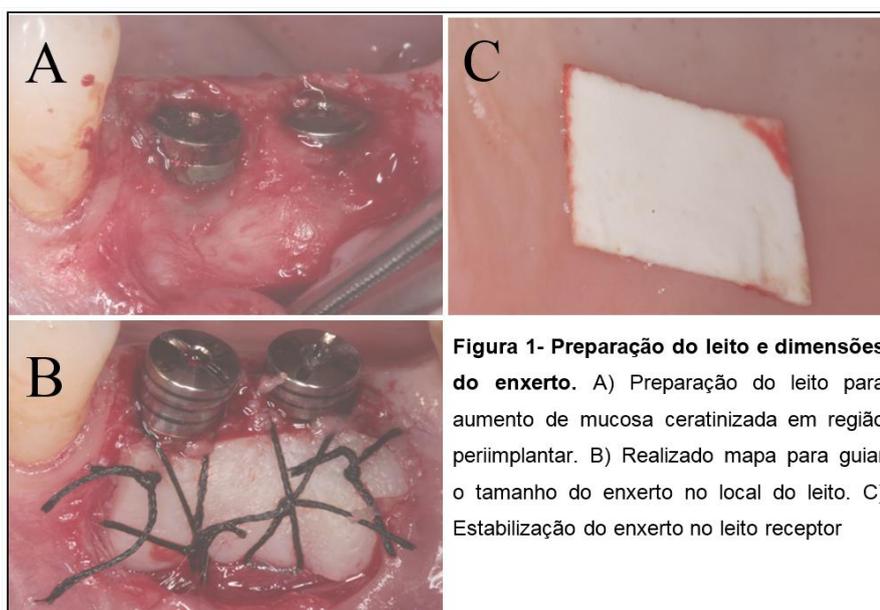


Figura 1- Preparação do leito e dimensões do enxerto. A) Preparação do leito para aumento de mucosa ceratinizada em região periimplantar. B) Realizado mapa para guiar o tamanho do enxerto no local do leito. C) Estabilização do enxerto no leito receptor

4.1.1 Proteção do palato

No grupo C, após a remoção do enxerto, foi realizada sutura para hemostasia e contenção do coágulo com fio de sutura 4-0 seda (ETHICON- - Johnson & Johnson, EUA). Com auxílio de gaze e jato de ar, a área foi seca para adesão do cimento cirúrgico periodontal à ferida. O cimento cirúrgico foi preparado de acordo com as orientações do fabricante (CoePack®, GC America Inc, Alsip, Estados Unidos), em partes iguais (1:1) de pasta base e pasta catalisadora, misturadas em movimentos circulares até a obtenção de pasta homogênea. O cimento foi aplicado à superfície com auxílio de espátula e moldado à superfície, após umedecimento do mesmo com soro fisiológico, sendo ancorado na face palatina dos dentes adjacentes, ultrapassando as bordas da ferida de forma a ocluí-la completamente (Figura 2).



Figura 2 - Foto ilustrativa da proteção do palato com o cimento cirúrgico

No grupo T, a proteção do palato foi feita com membrana de pele de Tilápia do Nilo, doadas pela Universidade Federal do Ceará e preparadas de acordo com a descrição de Costa et al, 2019 (COSTA et al., 2019). Após a abertura dos envelopes pardos e estando definido o uso da pele da tilápia, estas foram lavadas em soro fisiológico abundantemente por 3 vezes seguidas, massageando-se as mesmas

durante 5 minutos para remoção dos remanescentes de glicerol. Em seguida, a pele foi recortada com tesoura cirúrgica estéril e auxílio de pinça Dietrich, permanecendo até o momento do uso sobre a mesa cirúrgica. O mapa cirúrgico foi utilizado para remoção do enxerto, semelhante ao realizado para o grupo controle, e também foi utilizado como guia para recorte das peles para proteção do palato. Para isso, a pele deve ultrapassar as bordas do leito doador em 2mm no comprimento e na altura, permitindo a oclusão completa do leito receptor. A pele de peixe foi suturada ao leito doador por meio de suturas simples, realizada com fio de sutura 4-0 seda (Ethicon, Johnson & Johnson, EUA) (Figura 3).



Figura 3- Preparo da PTDN e estabilização na ferida cirúrgica. A) Lavagem da PTDN, massageando por 5 minutos, sendo realizada 3 vezes com lavagem com soro fisiológico B) Confecção do PTDN utilizando 2 mm além do mapa cirúrgico C) Suturas para estabilização da PTDN na ferida cirúrgica.

4.4.2 Cuidados pós-operatórios

Em todos os casos, a prescrição medicamentosa pós-operatória consistiu de anti-inflamatórios não esteroidais (Nimesulida 100 mg, de 12 em 12 h por 4 dias), podendo ser complementado pelo uso de dipirona sódica 500 mg, até 6 em 6 horas, se houvesse necessidade por persistência do sintoma de dor. Os participantes foram orientados a realizar bochecho com solução de digluconato de clorexidina 0,12%, duas vezes ao dia, por 7 dias e a não utilizar fio dental até a remoção da sutura. A

proteção da área doadora foi removida após 7 dias, bem como a sutura da área. Nesta visita, os participantes responderam ao questionário para avaliação da escala de dor e foram realizadas as medidas da ferida cirúrgica remanescente do palato. Os participantes retornaram para controles pós-operatórios novamente aos 14 e 30 dias pós-operatórios (Figura 4).

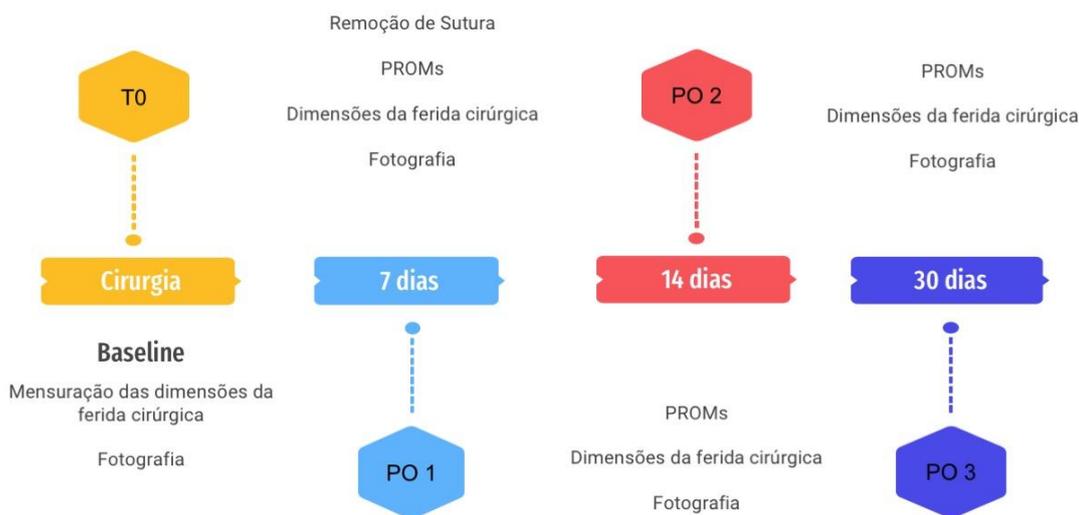


Figura 4 – Desenho do estudo

4.5 Desfechos centrados no paciente (“patient-reported outcome measures” – PROMs)

Nas visitas pós-operatórias de 7, 14 e 30 dias, os participantes responderam a questionário apresentando a escala analógica visual (VAS – “visual analogue scale”) para avaliação da dor pós-operatória relacionada ao leito doador. As respostas foram dadas em escala numérica de dez pontos, sendo 0 correspondente à nenhuma dor e 10 correspondendo à pior dor possível, conforme descrito por Shanmugam 2010, Griffin 2006, Yildiz 2018, (FEMMINELLA et al., 2016).

No período de 7 dias, eram realizados questionários que abordavam a dificuldade de fala do paciente no pós-operatório e mastigação, sendo que o mesmo deveria apontar nenhuma dificuldade de fala pelo número 0 e máxima dificuldade de fala pelo número 2 (Questionário modificado - Zucchelli et al 2010). Também, outra

preocupação é desconforto do material de proteção, sendo realizados nos mesmos critérios de ausência (0) ou máxima presença (2).

Os participantes responderam o número de analgésicos consumidos em durante os períodos do estudo, e se haviam sentido ou não ardência da mucosa na área doadora em escala de 0 (ausente) a 1 (presente ao máximo)

4.6 Avaliação da dimensão da ferida cirúrgica

A dimensão das feridas cirúrgicas foi determinada, em todos os períodos de avaliação, com o uso de sonda milimetrada periodontal da Universidade da Carolina do Norte (UNC-15, HuFriedy, Estados Unidos). No momento da cirurgia (baseline), as medidas foram tomadas para confecção do mapa cirúrgico e depois conferidas após a remoção do enxerto. A altura da ferida foi mensurada no ponto mediano da linha horizontal mais próximo da margem cervical até o ponto mais próximo da rafe palatina apical. A largura foi medida do ponto mais mesial até o ponto mais distal. Essas duas medidas foram obtidas aos 7, 14 e 30 dias, enquanto que a espessura do tecido conjuntivo remanescente no palato foi determinada posicionando-se a sonda perpendicularmente ao osso palatino no centro da ferida, no momento da cirurgia apenas (Figura 5).

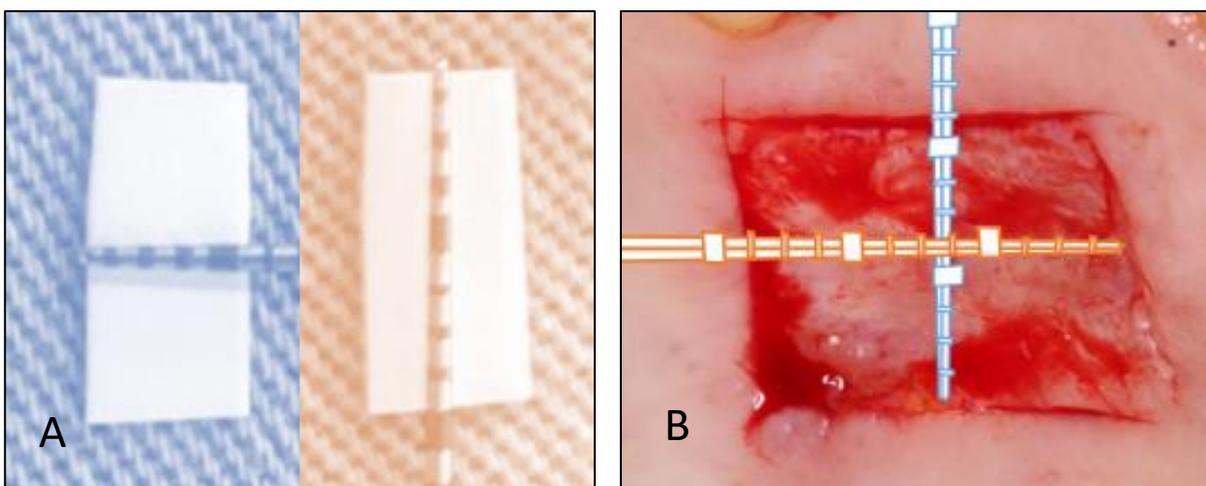


Figura 5- Esquema representativo da mensuração da altura e largura da ferida. A) Medida da altura (azul) e largura (marrom) do mapa cirúrgico utilizado como guia para obtenção do enxerto. B) Esquema representativo da medida da altura (azul) e largura (laranja) do leito receptor após a remoção do enxerto.

4.7 Similaridade de cor da área da ferida em cicatrização nos 30 dias

Durante a cirurgia e nos diferentes períodos pós-operatórios foram obtidas fotografias intra-bucais com máquina fotográfica semi-profissional (Canon, EOS Rebel T3i, Japão), com flash circular (Fc100 – Nikon Canon Olympus, Japão).

A similaridade de cor da área da ferida em cicatrização foi realizada apenas com as fotos de 30 dias após a cirurgia, comparada com aquela dos tecidos adjacentes em imagens fotográficas projetadas 3 vezes, com intervalo de 1 semana entre as apresentações, para um especialista em Periodontia (RCM) cegada em relação ao grupo de estudo e calibrada previamente. Para isso, o examinador realizou análise de 10 imagens fotográficas não incluídas no estudo. O coeficiente kappa determinado foi de 0,71, considerado como satisfatório.

O grau de similaridade de cor da área da ferida cirúrgica com os tecidos adjacentes foi determinado por meio de escala VAS, com escores variáveis de 0 a 100 representados por uma linha contínua de 10 cm de comprimento, sendo 0 representativo de nenhuma similaridade de cor e 100 representativo de ótima similaridade de cor. (USTAOGLU; ERCAN; TUNALI, 2017).

4.8 Análise estatística

As avaliações não paramétricas foram realizadas teste Mann-Whitney U entre os grupos, e quando comparados com tempo do estudo foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. Para a avaliações paramétricas, foi realizado o teste t e ANOVA. Nas análises para verificação da homogeneidade dos grupos foi realizado o teste Chi-quadrado. Foi estabelecido a significância estatística de $P \leq 0,05$.



5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Características gerais

Foram incluídos neste ensaio clínico randomizado controlado 25 pacientes de ambos os sexos, sendo 11 homens e 14 mulheres, com idade média de $42 \pm 11,18$ anos (tabela 2). Um paciente do grupo teste foi excluído da análise final, visto que o material de proteção caiu nos primeiros dias devido à queda de um dos pontos, optando-se então pela proteção da área da ferida com cimento cirúrgico, conforme ilustrado pelo diagrama de fluxo, a seguir (Figura 6).

Tabela 2 - Característica demográfica do estudo

	Grupo C (n=12)	Grupo T (n=13)
Idade	41,5±8,9	45,5±12,2
Feminino	7	7
Masculino	5	6



Figura 6 – Diagrama de fluxo

Foi observada padronização das amostras em relação à área da ferida cirúrgica no baseline (T0), espessura inicial do palato e espessura do enxerto, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Características da amostra em relação à área da ferida cirúrgica, espessura do palato remanescente e espessura do enxerto no T0

	Área da Ferida	Espessura do Palato	Espessura do Enxerto
C(n=12)	78,16 ± 22,96 mm ²	2,71 ± 0,55 mm	1,41 ± 0,19 mm
T(n=12)	85,25 ± 28,33 mm ²	2,35 ± 0,45 mm	1,45 ± 0,14 mm
P*	P = 0.508	P = 0.072	P = 0.580

***significante se p < 0,05; teste t**

5.2 Desfechos centrados no paciente

5.2.1 Escala de Dor

Os escores do VAS aos 7 dias pós-operatórios foram maiores no grupo C (5,91 ± 2,15) do que no grupo T (2,5 ± 2,31), com diferenças significantes entre os grupos (P = 0.001; Mann Whitney), indicando que o uso da PTDN apresentou menor morbidade pós-operatória comparativamente ao grupo controle. Aos 14 dias pós-operatórios, houve redução significativa nos escores reportados pelos participantes nos dois grupos, não existindo diferenças entre os mesmos, conforme demonstrado na Tabela 3. E nos 30 dias, em ambos grupos, os pacientes não apresentaram nenhum dor.

Tabela 4 – Escala analógica de dor (VAS) pós-operatório referida pelo paciente.

	7 dias			14 dias			30 dias		
	Média/Desvio Padrão	Mediana	Min-Max	Média/Desvio Padrão	Mediana	Min-Max	Média/Desvio Padrão	Mediana	Min-Max
C(n=12)	5,91 ± 2,15	6	1 – 8	0,16 ± 0,57	0	0 – 2	0	0	0
T(n=12)	2,50 ± 2,31	3	0 – 7	0	0	0	0	0	0
P		*P = 0,002			P = 0,359			P = 1,000	

*significante se $p < 0,05$; Mann-Whitney U

5.2.2 Dificuldade de fala, mastigação e desconforto em relação ao material

As análises da dificuldade de fala, mastigação e desconforto em relação ao material usado para proteção mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para os três parâmetros investigados ($P = 0.001$; Mann-Whitney U) apenas nos 7 dias, conforme ilustrado pelo gráfico (Figura 7). Nos 14 e 30 dias, os parâmetros em ambos os grupos apresentaram escore 0.

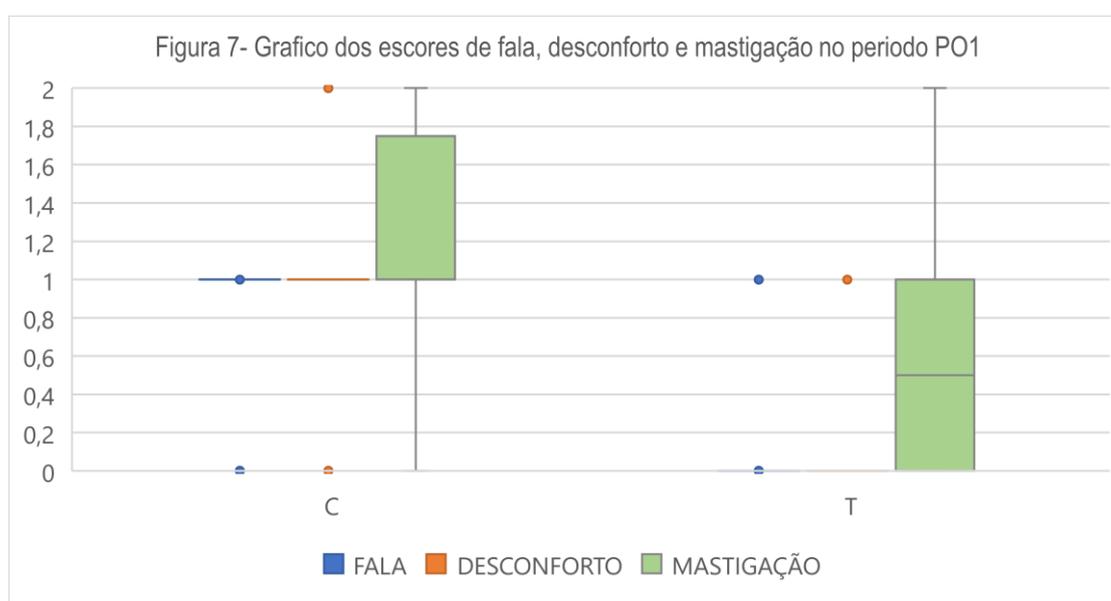


Figura 7- Gráfico dos escores da dificuldade de fala e mastigação, e desconforto do material no período apenas nos 7 dias. 0 representa nenhuma dificuldade ou desconforto e 2, muita dificuldade e desconforto. Foi realizado o teste não paramétrico Mann-Whitney U apenas no período de 7 dias, já que no 14 e 30 dias os resultados de ambos os grupos eram 0.

5.3 Consumo de analgésicos

Relativamente ao consumo de analgésicos, observou-se redução significativa do consumo dos mesmos dos 7 aos 14 dias. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p= 0,33$), embora o grupo T tenha relatado menor consumo de analgésicos do que o grupo C no mesmo período ($8,75 \pm 7,75$ vs. $12,08 \pm 8,71$), conforme apresentado na Tabela 5. Essa diferença se equipara entre os grupos aos 30 dias, quando nos dois grupos não apresentaram consumo de analgésicos.

Tabela 5 – Consumo total de analgésico (unidade) relatados na primeira e segunda semana de pós-operatórios.

	7 dias	14 dias	30 dias
	Media \pm desvio-padrão	Media \pm desvio-padrão	Media \pm desvio-padrão
C(n=12)	12,08 \pm 8,71 ^a	1,33 \pm 1,96 ^b	0 ^b
T(n=12)	8,75 \pm 7,78 ^a	1,25 \pm 2,30 ^b	0 ^b
P	P = 0.334	P = 0.914	P = 1,000

Letras diferentes indica diferença estatística significante; testet

5.4 Ardência da mucosa do palato

Em outro ponto voltado para a percepção de paciente durante o período de cicatrização, o foi realizado a sensação de ardência, que é algo mencionado pelos pacientes, que começa na fase inicial (0-3 dias) e que desaparece no período final da cicatrização (YILDIRIM et al., 2018). Neste estudo, no período PO1 e PO2, apesar do grupo T (46,15% e 16,66%, respectivamente) apresentar menor número de pacientes com ardência que o grupo C (53,84% e 33,33%, respectivamente) não apresentou diferença estatística entre os períodos ($p=1,000$ e

p=0,637, respectivamente). No período PO3, em ambos os grupos, a ardência chegou a zero (p=,1,000) (Figura 8).

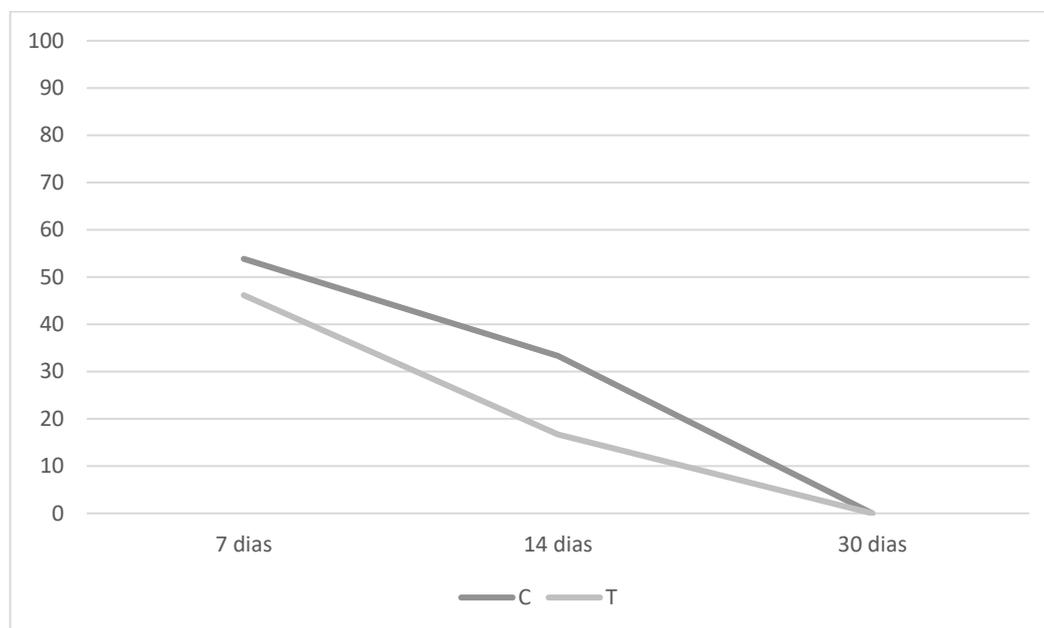


Figura 8 - Gráfico da porcentagem de pacientes com sensação de ardência no período de acompanhamento do estudo

5.5 Análise descritiva dos relatos dos pacientes

Após coletados os relatos dos pacientes, foi realizada análise descritiva em âmbito geral da amostra, baseado na perspectiva dos comentários mencionados pelos pacientes de ambos grupos.

Pacientes do grupo C relataram sobre os benefícios de se ter um material protegendo a ferida, trazendo segurança durante a alimentação e a fala. Os aspectos negativos mencionados foram o espaço que ficava entre o palato e o cimento cirúrgico, pois o material possui melhor aderência mecânica aos dentes adjacentes do que ao tecido. Essa foi outra queixa dos pacientes, já que o posicionamento do cimento cirúrgico causou desconforto relacionado à movimentação durante a fala ou mastigação.

No grupo T, os pacientes relataram que o biomaterial apresentava textura similar ao do próprio palato e, pela sua espessura, não sentiam a diferença. Um ponto comum de queixa foi o desconforto gerado pelos fios de sutura sobressalentes. Outro ponto, é que os pacientes relataram que PTDN caiu depois do quinto, e teve alguns que não perceberam a queda (n=5). Embora isso, os pacientes relataram que não houve interferência na questão da ardência ou dor no palato.

5.6 Contração da ferida cirúrgica

Para melhor compreensão sobre a taxa cicatrização das feridas cirúrgicas, os dados relativos às dimensões da região de interesse nos diferentes períodos de avaliação foram convertidos em porcentagem, tomando-se como ponto de referência a área da ferida cirúrgica no momento T0 (100%) para cada participante. Aos 7 dias após a cirurgia, percebeu-se um ligeiro aumento das dimensões da ferida em relação às medidas iniciais em ambos grupos, porém sem diferenças estatisticamente significantes entre os mesmos (P = 0.412). Aos 14 dias (PO2), houve redução significativa da área da ferida nos dois grupos, sendo significativamente maior para o grupo T (p= 0,025; teste t) (Figura 9). Essa diferença se equipara entre os grupos aos 30 dias, quando nos dois grupos houve fechamento completo da ferida.

Além de diferença estatística significativa no período de 14 dias, no aspecto clínico, é perceptível a diferença da qualidade do tecido de granulação entre os grupos T e C aos 7 dias (PO1) em favor do grupo T, cujo aspecto é mais homogêneo do que no grupo C. Tal característica justificaria a diferença da área cicatrizada entre os dois grupos no período de 14 dias (Figura 10).

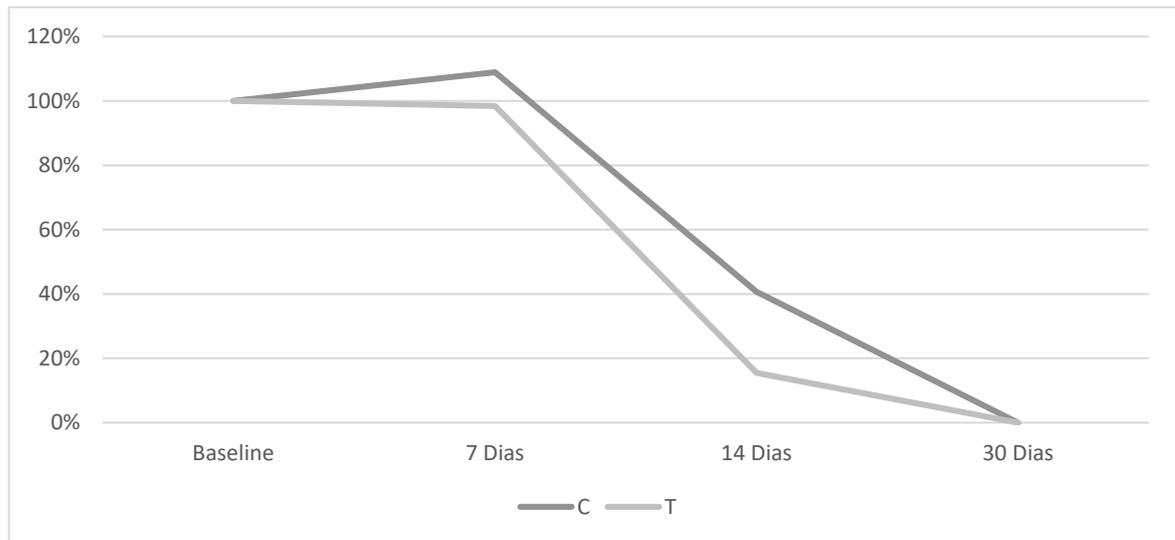


Figura 9 - Gráfico da porcentagem da area da ferida durante 30 dias em comparação a medida ferida inicial

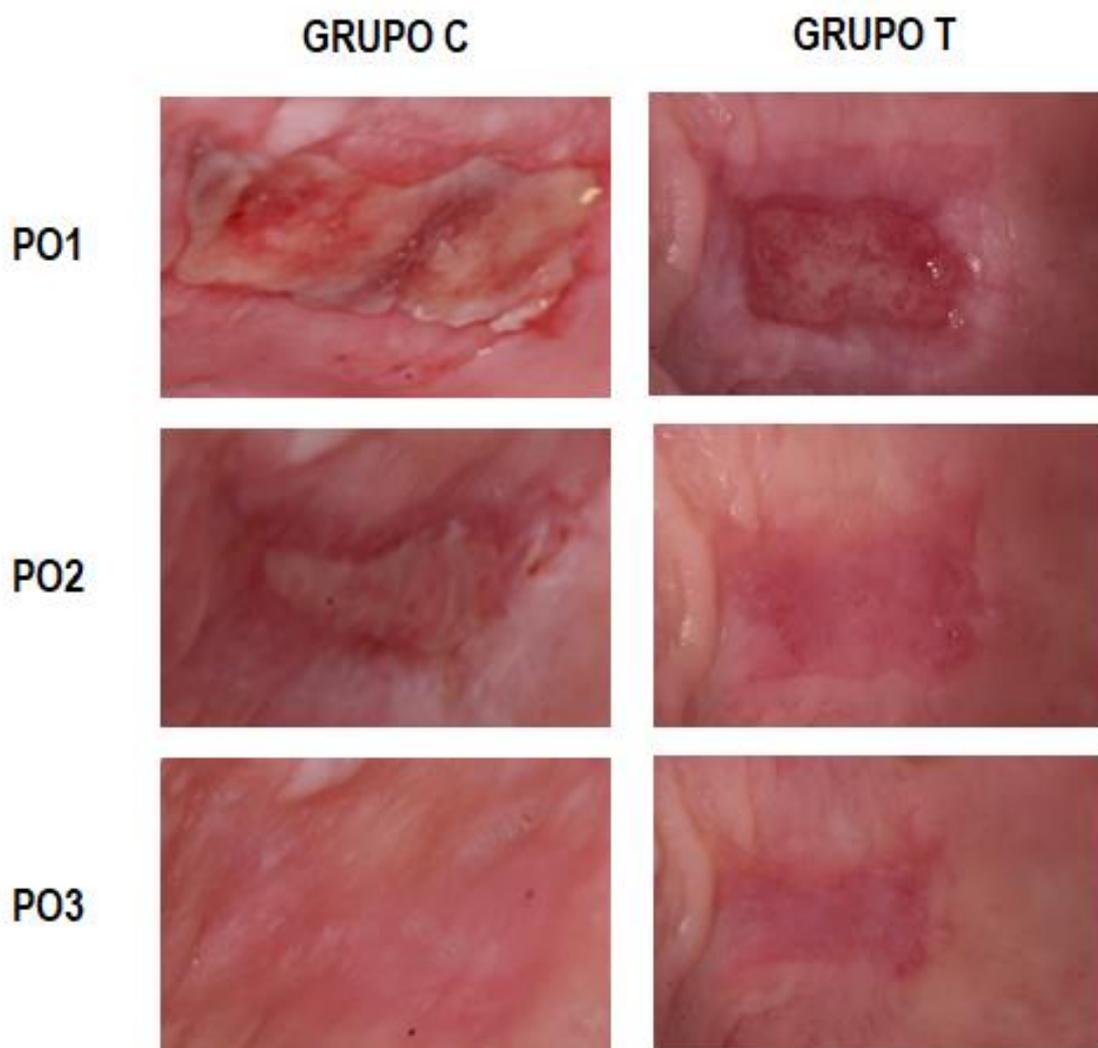


Figura 10- Fotografias representativas das amostras dos grupos teste e controle obtidas nos pós-operatórios.

5.7 Grau de similaridade de cor com os tecidos adjacentes

Ao fazer a à similaridade de cor aos 30 dias, observou-se diferença estatisticamente significativa ($p= 0.020$; teste t) entre os grupos C ($96,08 \pm 1,83$) e T ($97,83 \pm 1,58$) (Figura11).

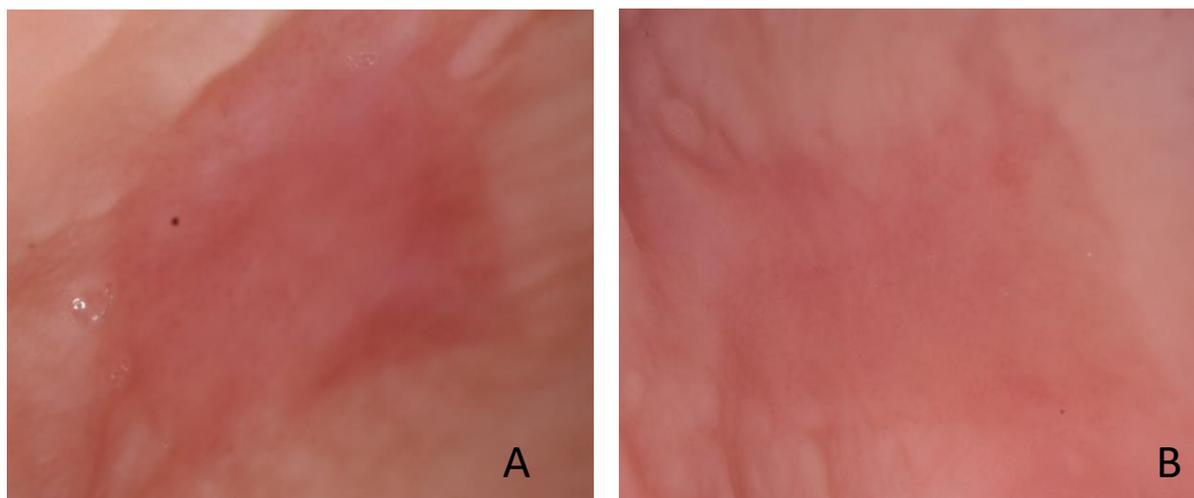
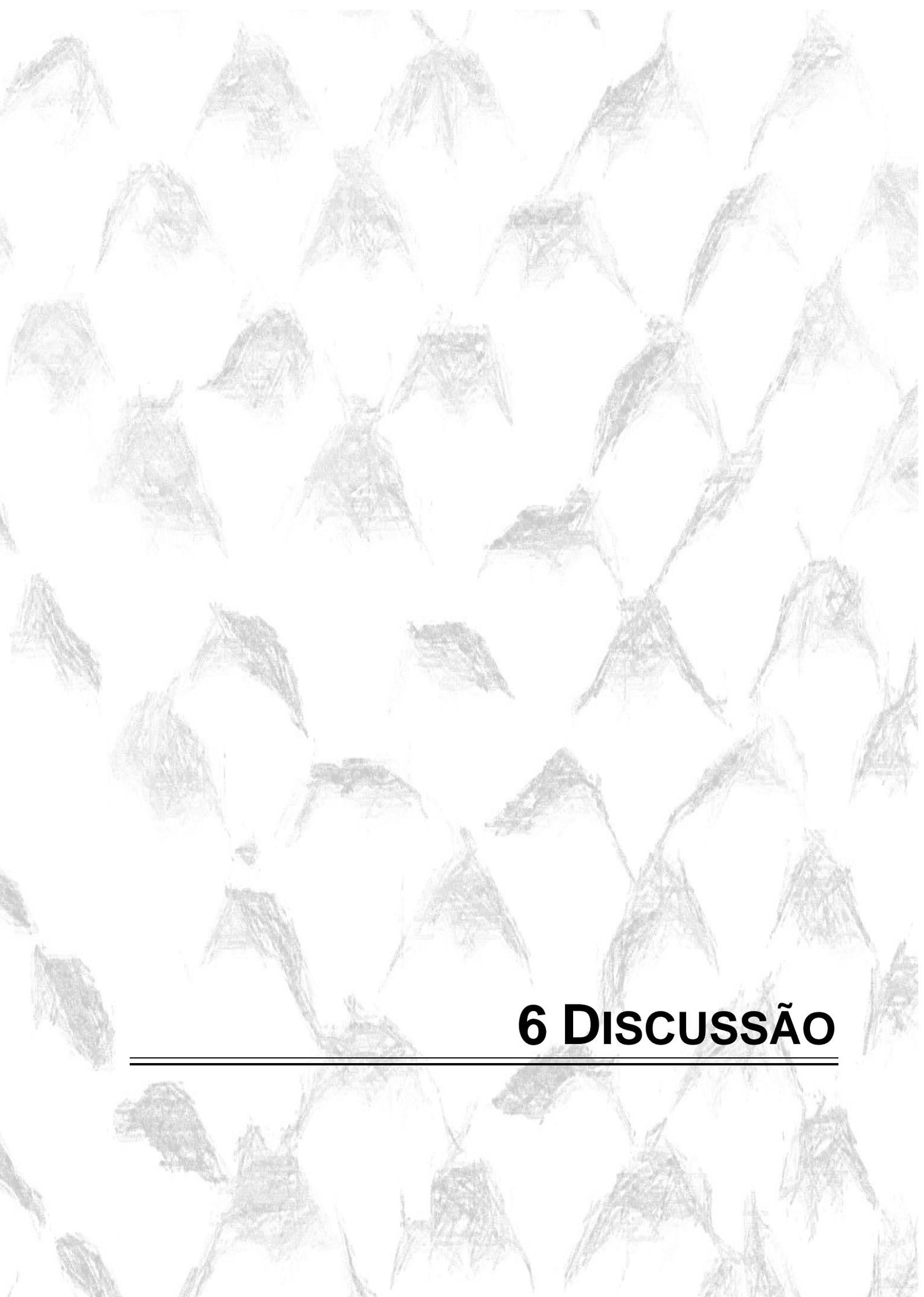


Figura 11- Fotografias de amostras representativas no período de 30 dias de cada grupo de estudo, que foram utilizados analisa de similaridade da cor. A) pós-operatório de 30 dias do grupo C. B) pós-operatório de 30 dias do grupo T.



6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os enxertos autógenos de tecido mole são o padrão-ouro para o tratamento de defeitos e condições mucogengivais ao redor de dentes e implantes osseointegrados, apresentando resultados com maior estabilidade clínica, modificação do fenótipo gengival (AGUDIO et al. 2009; CHAMBRONE et al., 2008; CHAMBRONE et al. 2018; ZUCCHELLI et al 2020), e são utilizados para criação ou aumento da faixa de gengiva ceratinizada (EDEL, 1974, SULLIVAN; ATKINS 1969; ROCCUZZO et al. 2002; THOMA et al 2018).

Para obtenção dos enxertos autógenos, é necessário de uma segunda área cirúrgica, que podem ser retiradas nas áreas anterior, lateral e posterior do palato e na tuberosidade da maxila (ZUHR; BAUMER; HURZELER, 2014). Além do local, existem técnicas para remoção como porta de alçapão (EDEL, 1974), incisão única (HURZELER; WENG, 1999), lâmina dupla (HARRIS, 1992) (HARRIS 1992), e as técnicas abordadas nesse estudo, que são a do enxerto livre desepitelizado (BOSCO; BOSCO, 2007) e do enxerto gengival livre (SULLIVAN; ATKINS, 1969). Sendo o palato lateral o local de escolha para realização esses procedimentos.

A maioria das técnicas mencionadas envolvem a perda de partes do epitélio palatal, impedindo o fechamento primário da ferida, que ocasiona a cicatrização de forma secundária. Como consequência da exposição do tecido conjuntivo e o processo de cicatrização de segunda intenção gera maior morbidade pós-operatória para os pacientes (BAHAMMAM, 2018; YILDIRIM et al., 2018; AL-SHIBANI, 2019). Por isso, é de extrema importância materiais curativos para proteção desse tipo de ferida, para que acelere as fases da cicatrização e auxilia no desconforto e dor dos pacientes. Sendo assim, o material de escolha deve apresentar a capacidade de criar o ambiente favorável para proliferação celular, impedir infecção bacteriana, absorver exsudato, redução da dor e desconforto, possuir fácil aplicação clínica e apresentar um menor custo. (DEMIRTAS et al., 2010).

Para proteção do palato nas fases iniciais de cicatrização após a remoção de enxertos autógenos livres, foram propostos diferentes métodos, incluindo o uso de cimento cirúrgico periodontal (BAGHANI; KADKHODAZADEH, 2013; KATHARIYA;

JAIN; JADHAV, 2015), placa de Hawley modificada (FARNOUSH, 1978) plasma rico em fibrina (SHAYESTEH et al., 2012), esponja de colágeno com cianoacrilato (TAVELLI et al., 2019b), fotobioestimulação com laser de baixa potência (WANG et al., 2015), ácido hialurônico (YILDIRIM et al., 2018), por exemplo.

Os cimentos cirúrgicos periodontais são os materiais mais utilizados para proteção mecânica do palato após a remoção de enxertos livres. Os melhores cimentos são aqueles não eugenol, oferecendo uma proteção mecânica à contaminação bacteriana e agressão da área, resultando também em homeostasia. Entretanto, apesar de fácil manipulação e trazer proteção na ferida cirúrgica, os cimentos cirúrgicos tem pouco efeito na cicatrização, maior acúmulo de placa, alteração do paladar, maior sintomatologia dolorosa, mau hálito e desconforto na fala e mastigação (KATHARIYA; JAIN; JADHAV, 2015). Tais ocorrências, também foram encontrados no nosso estudo.

Devido a esses aspectos, diferentes materiais biológicos e bioativos foram propostos para proteção do palato após a remoção dos enxertos, apresentando menor taxa de infecção e grau de contração induzido pela cicatrização das feridas em comparação com aquelas protegidas com materiais sintéticos (KADKHODA et al., 2020).

Em estudos recentes, foi proposto o uso de biomateriais oclusivos de origem marinha para o tratamento de feridas de pele refratárias ao tratamento, como queimaduras Lima-Junior (MAGNUSSON et al., 2017; COSTA et al., 2019; LIMA-JUNIOR et al., 2019; LIMA JUNIOR et al., 2020c) e úlceras diabéticas (DORWEILER et al., 2018). Esses materiais são utilizados como barreira temporária, evitando a contaminação da área por vírus e bactérias. Apresentam como principal constituinte o colágeno tipo I, fraca antigenicidade e toxicidade, e induzindo a proliferação e diferenciação de fibroblastos e osteoblastos em ensaios in vitro e pré-clínicos, favorecendo o fechamento completo da ferida cirúrgica em período reduzido de tempo quando comparados com materiais oclusivos (YAMAMOTO et al., 2014).

O colágeno tipo I da pele da tilápia do Nilo tem conformação estrutural ao colágeno tipo I humano, sendo abundantemente presente e favorecendo a adesão, migração e proliferação celular. O colágeno é uma proteína que é bastante utilizada

para procedimentos regenerativos e reconstrutivos, por apresentar fraca antigenicidade, baixa reação inflamatória, boa biodegradabilidade, ação hemostática, altas taxas de adesão e proliferação celular (SUN et al., 2020).

Outra vantagem desses biomateriais piscianos, é que ao contrário dos de origem animal material de mamíferos, o písceo apresenta um risco muito reduzido de contaminação interespecie, como ocorre no caso da encefalopatia espongiiforme bovina (TERADA et al., 2012; TANG; SAITO, 2015), HASSANBHAI, LAU et al. 2017, SUN, HOU et al. 2017). Além disto, apresenta menor risco de reação imunogênica, é abundantemente encontrado, apresenta baixo custo e não estão sujeitos a barreiras religiosas do judaísmo, islamismo e hinduísmo quanto ao uso de vacas ou porcos (TERADA et al. 2012, TANG; SAITO 2015, HASSANBHAI, LAU et al. 2017, SUN, HOU et al. 2017). Além disso, a criação desses animais para fins biomédicos é também mais dispendiosa e tem maior impacto na degradação ambiental.

Por esse motivo, o colágeno presente em diferentes animais aquíferos, como tubarão, salmão, cefalópodes e, mais recentemente, em tilápias do Nilo poderia servir como uma fonte barata e abundante de colágeno para uso em seres humanos.

Diferentes estudos demonstraram os efeitos positivos de matrizes confeccionadas a partir de colágeno de tilápia no fechamento de feridas de pele refratárias, como úlceras decorrentes de ferimentos em campos de batalha (LIMA-JUNIOR et al., 2019), queimaduras (COSTA et al., 2019; LIMA JUNIOR et al., 2020c; LIMA JUNIOR et al., 2020a) e mucosa (Dias (DIAS et al., 2019; PINTO MEDEIROS DIAS et al., 2019; DIAS et al., 2020).

Assim, o uso da PTDN se mostrou seguro e eficaz, contribuindo para recuperação mais rápida e menos sintomática dos pacientes. Não existem estudos que tenham investigado as propriedades dos enxertos obtidos de tilápia do Nilo na regeneração dos tecidos moles periodontais.

Alguns estudos investigaram o potencial terapêutico de colágeno derivado de tilápia do Nilo na regeneração tecidual. Em Odontologia, observou-se que o colágeno tipo I de tilápia marinha estimulou a proliferação, diferenciação e atividade de mineralização de odontoblastos derivados de ratos em cultura, com atividade de

fosfatase alcalina, expressão de sialoproteína óssea e formação de nódulos mineralizados, indicando seu potencial regenerativo (Tang e Saito). Além disso, fibroblastos de ligamento periodontal co-cultivados com colágeno de tilápia aumentaram a expressão de ALP, colágeno tipo I, osteocalcina e Runx-2 e produção de proteínas osteogênicas, especialmente ALP e OCN, mediada por mecanismos de sinalização ERK (LIU; SUN, 2015). Além destes, outros estudos mostraram estímulo à proliferação de células pré-osteoblásticas (SONG et al., 2019; LAU et al. 2019).

Em tecido mole, foi observado que biomaterial confeccionado de colágeno tipo I de tilápia resultou em formação de epitélio pavimentoso estratificado ceratinizado na presença de queratinócitos derivados de mucosa oral humana de forma estruturalmente mais organizada do que quando foi utilizado como substrato matriz dérmica acelular humana ou membrana de córion-amnion, porém de forma menos madura do que a mucosa nativa (TERADA et al., 2012).

O uso de feridas palatinas criadas cirurgicamente para remoção de enxertos gengivais autógenos livres representa um modelo para avaliação não apenas dos efeitos da PTDN como protetor biológico de feridas cirúrgicas como também um modelo que permite sua investigação na regeneração de tecidos moles periodontais (USTAOGLU et al., 2016), fator esse que deve ser estudado especificamente em estudos futuros.

Os resultados obtidos mostraram algumas importantes vantagens do uso da PTDN para a proteção das feridas palatinas. Relativamente aos desfechos primários, centrados no paciente, observou-se significativa menor intensidade da sintomatologia dolorosa na primeira semana de pós-operatório no grupo teste do que no grupo controle. Apesar disso, não houve diferenças significativas no consumo de analgésicos nos dois grupos no mesmo período, Tal achado, corrobora com o estudo de Lima-Junior et al. em 2020, que o braço do estudo com profundidade e porcentagem da queimadura superficial total menores, o grupo com PTDN apresentou menor dor comparado convencional, mas não houve estatisticamente significância em relação ao consumo de analgésicos. A hipótese para nossos achados, pode estar relacionado a uma variação individual da sensibilidade à dor, ou ao fato de que todos os participantes receberam prescrição de uso de anti-inflamatórios nos quatro primeiros, o que já é suficiente para reduzir a

sintomatologia dolorosa a ponto de não ser necessário o uso de medicamentos analgésicos complementares. Esses aspectos também foram descritos por Tavelli et al. em 2018, quando apontaram que até 50% dos pacientes que receberam diferentes formas de proteção do palato após a remoção de EGL precisaram fazer uso complementar de analgésicos.

Dentre outras vantagens citadas pelos pacientes, destaca-se a sensação de conforto proporcionada pela textura e espessura da pele de tilápia, parecida com a dos tecidos gengivais. Já o cimento cirúrgico convencional traz conforto e segurança ao paciente por proteger mecanicamente a área operada, mas também tem como desvantagens alteração do odor e sabor, além de ficar um espaço entre o cimento e o palato, visto que sua retenção é apenas mecânica.

Um dos fatores que poderiam estar associados à dor pós-operatória seria o tamanho dos enxertos. De Santis et al. (2019) sugeriram que a obtenção de enxertos menores (< 0,8 mm de espessura e < 5 mm de altura) estariam relacionados com menor morbidade pós-operatória. No entanto, outros não encontraram relação entre sintomatologia dolorosa e tamanho do enxerto (KHADKODAH et al., 2021; ESFAHANI et al. 2020) ou técnica de obtenção (ZUCHELLI et al., 2010). O efeito na sintomatologia dolorosa é diminuído quando o leito doador é protegido durante o período de cicatrização com agentes hemostáticos (ZUCHELLI et al. 2010) ou outros métodos, como cianoacrilato (TAVELLI et al., 2018) e membrana de PRF (USTAOGLU et al. 2016; SOUZA et al. 2020;).

Relativamente ao fechamento das feridas, observou-se que a PDNT acelerou o tempo total de cicatrização, com fechamento completo das mesmas em 33,3% dos casos do grupo teste aos 14 dias comparativamente a 16,6% do grupo controle no mesmo período de avaliação ($p < 0,05$; teste Chi-quadrado). Ao final de 30 dias, todas as feridas estavam completamente reparadas, tanto no grupo teste quanto no grupo controle. Outros estudos demonstraram que o tempo total de cicatrização da ferida palatina é de 14 a 30 dias (FEMMINELLA et al., 2016; TAVELLI et al., 2018; KHADKODAH et al., 2021). A maioria dos estudos de cicatrização do palato relata fechamento completo das feridas em até 30 dias (FEMMINELLA et al., 2016; TAVELLI et al., 2018; FASHOU).

A PDNT no Brasil tem sido utilizada especialmente para tratamento de feridas de queimaduras de 2º e 3º grau (MIRANDA, 2018; COSTA et al., 2019; LIMA Jr et al., 2019), reconstrução de feridas causadas por explosivos (LIMA Jr. et al., 2019) e reconstruções vaginais (DIAS et al., 2019). Em todos os casos, observou-se diminuição significativa do tempo necessário para o fechamento das feridas comparativamente aos controles convencionais, bem como diminuição da sintomatologia dolorosa.

Esses achados também foram observados em nosso estudo, visto que houve maior proporção de feridas completamente cicatrizadas aos 14 dias de pós-operatório no grupo teste do que no grupo controle. Da mesma forma, a sintomatologia dolorosa relatada na primeira semana foi significativamente menor no grupo teste do que no controle.

Diferentes propriedades descritas na literatura podem explicar os achados clínicos observados em nosso estudo. O colágeno presente na PTDN tem papel essencial no processo de cicatrização, com propriedades quimiotáticas, angiogênicas, anti-bacterianas, anti-inflamatórias, hemostáticas e analgésicas (SUN et al., 2018; ROBSON 2019).

O colágeno obtido das escamas e pele de tilápia é composto majoritariamente por colágeno tipo I (RODRIGUES et al., 2011; TERADA et al. 2012; ALVES et al. 2015; EL-RASHIDY et al. 2015; HU et al. 2017; SONG et al., 2019; GE et al. 2020) , contendo especialmente dois peptídeos principais (RODRIGUES et al. ZHOU et al. 2016) em fita de tripla hélice (EL-RASHIDY et al., 2015; GE et al., 2020). O colágeno é um importante fator indutor da adesão, proliferação e diferenciação celular, resultando em aumento do conteúdo de colágeno e hidroxiprolina em feridas criadas em modelos animais (BALDURSSON et al. 2015; CHEN et al., 2019; XIONG et al. 2020).

Além disso, o colágeno derivado de tilápia marinha apresenta importantes atividades anti-bacterianas e anti-virais, impedindo o crescimento de vírus e bactérias em testes realizados in vitro e em modelos animais (YAMAMOTO et al., 2014; ZHOU et al., 2017; OUYANG et al. 2018; SONG et al., 2019), protegendo

áreas cruentas contra a contaminação bacteriana nas primeiras 24 a 48 horas em pacientes com feridas causadas por explosivos (MAGNUSSON et al. 2017).

A aceleração no processo de reparo das feridas observado com o colágeno derivado de tilápia também pode ser explicado por mecanismos de sinalização molecular, com expressão de diferentes marcadores, especialmente VEGF, acelerando o processo de reparo das feridas cirúrgicas e promovendo hemostasia (ZHOU et al., 2017; SUN et al., 2017; XIONG et al., 2020). Além desta molécula, observou-se também expressão aumentada de IGF-1, bFGF, PDGF, TGF-B1 e IGF (CHEN et al., 2019; XIONG et al., 2020), diminuição da secreção de citocinas pró-inflamatórias IL-1B e IL-8 e aumento das citocinas anti-inflamatórias IL-10 (XIONG et al., 2020), reduzindo o infiltrado inflamatório (CHEN et al. 2019), acelerando a cicatrização e epitelização completa das feridas em modelos animais (OUYANG et al., 2018; CHEN et al. 2019; XIONG et al., 2020) e em seres humanos (YANG et al., 2016; LIMA Jr. 2017; MAGNUSSON et al., 2017; MIRANDA et al. 2018).

Outro aspecto importante é que o material apresenta baixa ou nenhuma antigenicidade (ZHOU et al., 2016, 2017; GE et al., 2020), dando suporte à proliferação de ceratinócitos, fibroblastos e células endoteliais humanas (ZHOU et al. 2016, 2017), favorecendo a formação de tecido de granulação (RODRIGUES et al., 2011) e a contração das feridas (CHEN et al., 2019)

Como demonstrado, o uso da PTDN é seguro e está associado a resultados que contribui para uma melhor recuperação pós-operatória do paciente. Este projeto de pesquisa foi realizado em parceria com o grupo de pesquisa do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), na Universidade Federal do Ceará (UFC), que apresenta uma sólida linha de pesquisa no uso da pele de tilápia como um biomaterial promissor na área de queimados, cirurgia plástica e ginecológico tendo amplo reconhecimento nacional e internacional (Alves et al. 2015, Alves (ALVES et al., 2018; COSTA et al., 2019; DIAS et al., 2019; DIAS et al., 2020; LIMA JUNIOR et al., 2020c; LIMA JUNIOR et al., 2020a), Rodriguez, Lima Junior et al. 2020).

Os benefícios mencionados, levaram esse grupo de pesquisa a estudar as propriedades de curativo oclusivo do PTDN em pacientes que foram submetidos a

remoção de enxerto do palato, já que há uma crescente demanda por cirurgias plásticas periodontais e periimplantares por apresentar os melhores resultados clínicos (CHAMBRONE et al., 2008). Sendo que, esse procedimento traz bastante injúrias no pós-operatório, como dor durante o período de cicatrização, a possibilidade de ocorrência de sangramento pós-cirúrgico, o aumento do consumo de medicamentos e, muitas vezes, comprometimento da execução das atividades diárias dos pacientes, tais situações encontrados em outros estudos (OZCELIK; SEYDAOGLU; HAYTAC, 2016; AL-SHIBANI, 2019; TAVELLI et al., 2019b).

Em relação ao processo cicatricial, após 7 dias da cirurgia, todas as feridas foram preenchidas por tecido de granulação. No grupo T foi perceptível que apresentava um tecido mais homogêneo e regular, comparado com o grupo C. Essa característica demonstra que o processo de remodelação desse tecido está em estágio mais avançado, sendo que a formação do tecido de granulação é essencial para a restauração da integridade estrutural e funcional do tecido de competência, para isso é necessário a proliferação celular, deposição de colágenos e angiogênese, que vai remodelando até a cicatrização completa (Li et al 2006). Tal condição no período de 7 dias, justificaria o fato que nos 14 dias, o grupo T apresentar uma porcentagem de ferida menor do que o grupo C.

Neste período, também foi observado que a PTDN já não estava no local da ferida, sendo que alguns pacientes (n=5) relataram não saber se a mesma havia caído. A queda da pele de proteção era esperada em um período anterior a 7 dias, devido ao meio intra-oral ser dinâmico e úmido, sofrendo constantes traumas e interações químicas com o material. Dessa forma, o material tem uma reabsorção mais rápida do que seu uso em área externa ao meio bucal, como por exemplo, o uso da pele em queimaduras da derme, as quais devem receber a troca do material a cada 12 dias (LIMA JUNIOR et al., 2020b).

As principais limitações do estudo estão na impossibilidade de cegamento do participante e do operador, já que a diferença entre os materiais é visualmente e texturalmente perceptível. Portanto, nesse estudo, apenas o examinador foi cegado. Outra dificuldade foi imposta pela decorrência da pandemia COVID-19, já que não foi possível a inclusão de maior número de participantes e grupos de estudo devido à suspensão de todas as atividades de pesquisa clínica desde março de 2020. Além

disso, pelo fato de ser um estudo que tem como desfecho primário o relato do participante, existe uma variação individual à dor que pode ter influenciado o consumo adicional de analgésicos, devendo este ser monitorado pelo profissional por intermédio de aplicativos de celular para melhor interpretação dos resultados.

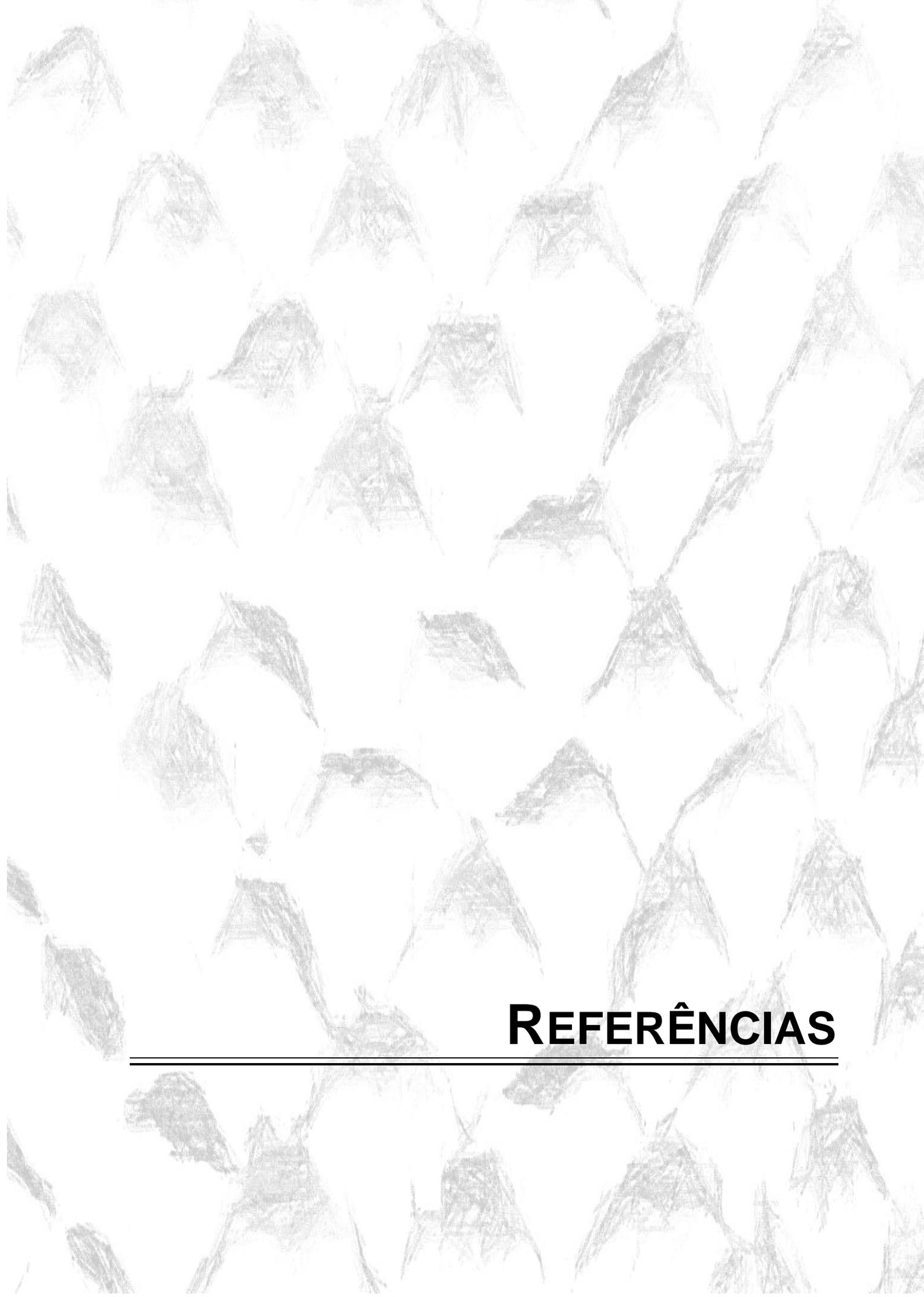
De forma geral, embora outros estudos sejam necessários para comprovação dos resultados, pode-se sugerir que a pele de tilápia do Nilo pode ser uma alternativa para a proteção da ferida cirúrgica após a remoção de enxertos autógenos livres e para a regeneração de tecidos moles periodontais para aceleração do fechamento da ferida cirúrgica e redução da sintomatologia dolorosa associada à técnica de obtenção do enxerto.



7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites da metodologia empregada neste estudo, pode-se concluir que a pele de tilápia do Nilo favorece o reparo da ferida cirúrgica do palato de seres humanos após a remoção de enxerto autógeno livre de tecido mole comparativamente ao cimento cirúrgico periodontal não eugenol, reduzindo significativamente a sintomatologia dolorosa na primeira semana após a cirurgia e causando menor impacto negativo na fala, mastigação e desconforto associado ao material protetor. As feridas cirúrgicas tratadas com o material oclusivo apresentaram sinais clínicos de cicatrização mais acelerada, com melhor similaridade de cor em relação aos tecidos adjacentes e fechamento completo da ferida cirúrgica mais precoce.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AL-SHIBANI, N. Low-intensity laser for harvesting palatal graft for the treatment of gingival recession: A systematic review. **J Investig Clin Dent**, v. 10, n. 1, p. e12368, 2019.

ALVES, A.; LIMA JUNIOR, E. M.; PICCOLO, N. S.; DE MIRANDA, M. J. B.; LIMA VERDE, M. E. Q.; FERREIRA JUNIOR, A. E. C.; DE BARROS SILVA, P. G.; FEITOSA, V. P.; DE BANDEIRA, T.; MATHOR, M. B.; DE MORAES, M. O. Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. **Cell Tissue Bank**, v. 19, n. 3, p. 373-382, 2018.

BAGHANI, Z.; KADKHODAZADEH, M. Periodontal dressing: a review article. **J Dent Res Dent Clin Dent Prospects**, v. 7, n. 4, p. 183-191, 2013.

BAHAMMAM, M. A. Effect of platelet-rich fibrin palatal bandage on pain scores and wound healing after free gingival graft: a randomized controlled clinical trial. **Clin Oral Investig**, v. 22, n. 9, p. 3179-3188, 2018.

BALDURSSON, B. T.; KJARTANSSON, H.; KONRADSDOTTIR, F.; GUDNASON, P.; SIGURJONSSON, G. F.; LUND, S. H. Healing rate and autoimmune safety of full-thickness wounds treated with fish skin acellular dermal matrix versus porcine small-intestine submucosa: a noninferiority study. **Int J Low Extrem Wounds**, v. 14, n. 1, p. 37-43, 2015.

BOSCO, A. F.; BOSCO, J. M. An alternative technique to the harvesting of a connective tissue graft from a thin palate: enhanced wound healing. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 27, n. 2, p. 133-139, 2007.

CHAMBRONE, L.; CHAMBRONE, D.; PUSTIGLIONI, F. E.; CHAMBRONE, L. A.; LIMA, L. A. Can subepithelial connective tissue grafts be considered the gold standard procedure in the treatment of Miller Class I and II recession-type defects? **J Dent**, v. 36, n. 9, p. 659-671, 2008.

CHAMBRONE, L.; SUKEKAVA, F.; ARAUJO, M. G.; PUSTIGLIONI, F. E.; CHAMBRONE, L. A.; LIMA, L. A. Root-coverage procedures for the treatment of localized recession-type defects: a Cochrane systematic review. **J Periodontol**, v. 81, n. 4, p. 452-478, 2010.

CHEN, J.; GAO, K.; LIU, S.; WANG, S.; ELANGO, J.; BAO, B.; DONG, J.; LIU, N.; WU, W. Fish Collagen Surgical Compress Repairing Characteristics on Wound Healing Process In Vivo. **Mar Drugs**, v. 17, n. 1, p., 2019.

CORTELLINI, P.; BISSADA, N. F. Mucogingival conditions in the natural dentition: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. **J Periodontol**, v. 89 Suppl 1, n., p. S204-S213, 2018.

COSTA, B. A.; LIMA JUNIOR, E. M.; DE MORAES FILHO, M. O.; FECHINE, F. V.; DE MORAES, M. E. A.; SILVA JUNIOR, F. R.; DO NASCIMENTO SOARES, M. F. A.; ROCHA, M. B. S. Use of Tilapia Skin as a Xenograft for Pediatric Burn Treatment: A Case Report. **J Burn Care Res**, v. 40, n. 5, p. 714-717, 2019.

CRUZ, M. A.; ARAUJO, T. A.; AVANZI, I. R.; PARISI, J. R.; DE ANDRADE, A. L. M.; RENNO, A. C. M. Collagen from Marine Sources and Skin Wound Healing in Animal Experimental Studies: a Systematic Review. **Mar Biotechnol (NY)**, v., n., p., 2021.

DEMIRTAS, Y.; YAGMUR, C.; SOYLEMEZ, F.; OZTURK, N.; DEMIR, A. Management of split-thickness skin graft donor site: a prospective clinical trial for comparison of five different dressing materials. **Burns**, v. 36, n. 7, p. 999-1005, 2010.

DIAS, M.; BILHAR, A. P. M.; RIOS, L. C.; COSTA, B. A.; DUETE, U. R.; LIMA JUNIOR, E. M.; ALVES, A.; BRUNO, Z. V.; DE MORAES FILHO, M. O.; BEZERRA, L. Neovaginoplasty for radiation-induced vaginal stenosis using Nile Tilapia Fish Skin as a biological graft. **J Surg Case Rep**, v. 2019, n. 11, p. rjz311, 2019.

DIAS, M.; BILHAR, A. P. M.; RIOS, L. C.; COSTA, B. A.; LIMA JUNIOR, E. M.; ALVES, A.; BRUNO, Z. V.; MORAES FILHO, M. O.; BEZERRA, L. Neovaginoplasty Using Nile Tilapia Fish Skin as a New Biologic Graft in Patients with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser Syndrome. **J Minim Invasive Gynecol**, v. 27, n. 4, p. 966-972, 2020.

DORWEILER, B.; TRINH, T. T.; DUNSCHEDER, F.; VAHL, C. F.; DEBUS, E. S.; STORCK, M.; DIENER, H. The marine Omega3 wound matrix for treatment of complicated wounds: A multicenter experience report. **Gefasschirurgie**, v. 23, n. Suppl 2, p. 46-55, 2018.

EDEL, A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. **J Clin Periodontol**, v. 1, n. 4, p. 185-196, 1974.

EL-RASHIDY, A. A.; GAD, A.; ABU-HUSSEIN AEL, H.; HABIB, S. I.; BADR, N. A.; HASHEM, A. A. Chemical and biological evaluation of Egyptian Nile Tilapia

(*Oreochromis niloticas*) fish scale collagen. **Int J Biol Macromol**, v. 79, n., p. 618-626, 2015.

ETTLIN, D. A.; HITZ, T.; RAMEL, C.; MEIER, M. L.; ROOS, M.; GALLO, L. M.; SVENSSON, P.; HAMMERLE, C. H. Quantitative sensory testing of intraoral open wounds. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 42, n. 3, p. 401-405, 2013.

FARNOUSH, A. Techniques for the protection and coverage of the donor sites in free soft tissue grafts. **J Periodontol**, v. 49, n. 8, p. 403-405, 1978.

FEMMINELLA, B.; IACONI, M. C.; DI TULLIO, M.; ROMANO, L.; SINJARI, B.; D'ARCANGELO, C.; DE NINIS, P.; PAOLANTONIO, M. Clinical Comparison of Platelet-Rich Fibrin and a Gelatin Sponge in the Management of Palatal Wounds After Epithelialized Free Gingival Graft Harvest: A Randomized Clinical Trial. **J Periodontol**, v. 87, n. 2, p. 103-113, 2016.

GE, B.; WANG, H.; LI, J.; LIU, H.; YIN, Y.; ZHANG, N.; QIN, S. Comprehensive Assessment of Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*) Collagen Hydrogels for Wound Dressings. **Mar Drugs**, v. 18, n. 4, p., 2020.

GRIFFIN, T. J.; CHEUNG, W. S.; ZAVRAS, A. I.; DAMOULIS, P. D. Postoperative complications following gingival augmentation procedures. **J Periodontol**, v. 77, n. 12, p. 2070-2079, 2006.

GRZESIK, W. J.; NARAYANAN, A. S. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 13, n. 6, p. 474-484, 2002.

HARRIS, R. J. The connective tissue and partial thickness double pedicle graft: a predictable method of obtaining root coverage. **J Periodontol**, v. 63, n. 5, p. 477-486, 1992.

HASSANBHAI, A. M.; LAU, C. S.; WEN, F.; JAYARAMAN, P.; GOH, B. T.; YU, N.; TEOH, S. H. In Vivo Immune Responses of Cross-Linked Electrospun Tilapia Collagen Membrane. **Tissue Eng Part A**, v. 23, n. 19-20, p. 1110-1119, 2017.

HAUGEN, E. The effect of periodontal dressings on intact mucous membrane and on wound healing. A methodological study. **Acta Odontol Scand**, v. 38, n. 6, p. 363-370, 1980.

HEIDARI, M.; PAKNEJAD, M.; JAMALI, R.; NOKHBATOLFOGHAEI, H.; FEKRAZAD, R.; MOSLEMI, N. Effect of laser photobiomodulation on wound healing and postoperative pain following free gingival graft: A split-mouth triple-blind

randomized controlled clinical trial. **J Photochem Photobiol B**, v. 172, n., p. 109-114, 2017.

HU, Z.; YANG, P.; ZHOU, C.; LI, S.; HONG, P. Marine Collagen Peptides from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Characterization and Wound Healing Evaluation. **Mar Drugs**, v. 15, n. 4, p., 2017.

HURZELER, M. B.; WENG, D. A single-incision technique to harvest subepithelial connective tissue grafts from the palate. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 19, n. 3, p. 279-287, 1999.

KADKHODA, Z.; TAVAKOLI, A.; CHOKAMI RAFIEI, S.; ZOLFAGHARI, F.; AKBARI, S. Effect of Amniotic Membrane Dressing on Pain and Healing of Palatal Donor Site: A Randomized Controlled Trial. **Int J Organ Transplant Med**, v. 11, n. 2, p. 55-62, 2020.

KATHARIYA, R.; JAIN, H.; JADHAV, T. To pack or not to pack: the current status of periodontal dressings. **J Appl Biomater Funct Mater**, v. 13, n. 2, p. e73-86, 2015.

KECELI, H. G.; AYLIKCI, B. U.; KOSEOGLU, S.; DOLGUN, A. Evaluation of palatal donor site haemostasis and wound healing after free gingival graft surgery. **J Clin Periodontol**, v. 42, n. 6, p. 582-589, 2015.

KESKINER, I.; AYDOGDU, A.; BALLI, U.; KALELI, A. E. Quantitative changes in palatal donor site thickness after free gingival graft harvesting: a pilot study. **J Clin Periodontol**, v. 43, n. 11, p. 976-984, 2016.

KIERSZENBAUM, A . L . *Histologia e Biologia Celular* . 4^a ed . Elsevier, Rio de Janeiro, 2016 .

LANGER, B.; CALAGNA, L. J. The subepithelial connective tissue graft. A new approach to the enhancement of anterior cosmetics. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 2, n. 2, p. 22-33, 1982.

LAU, C. S.; HASSANBHAI, A.; WEN, F.; WANG, D.; CHANCHAREONSOOK, N.; GOH, B. T.; YU, N.; TEOH, S. H. Evaluation of decellularized tilapia skin as a tissue engineering scaffold. **J Tissue Eng Regen Med**, v. 13, n. 10, p. 1779-1791, 2019.

LIAO, W.; GUANGHUA, X.; LI, Y.; SHEN, X. R.; LI, C. Comparison of characteristics and fibril-forming ability of skin collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Int J Biol Macromol**, v. 107, n. Pt A, p. 549-559, 2018.

LIMA-JUNIOR, E. M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; FECHINE, F. V.; DE MORAES, M. E. A.; SILVA-JUNIOR, F. R.; SOARES, M.; ROCHA, M. B. S.; LEONTSINIS, C. M. P. Innovative treatment using tilapia skin as a xenograft for partial thickness burns after a gunpowder explosion. **J Surg Case Rep**, v. 2019, n. 6, p. rjz181, 2019.

LIMA JUNIOR, E. M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; ROHLER, A. V. P.; SALES ROCHA, M. B.; FECHINE, F. V.; FORTE, A. J.; ALVES, A.; SILVA JUNIOR, F. R.; MARTINS, C. B.; MATHOR, M. B.; MORAES, M. E. A. Innovative Burn Treatment Using Tilapia Skin as a Xenograft: A Phase II Randomized Controlled Trial. **J Burn Care Res**, v. 41, n. 3, p. 585-592, 2020a.

LIMA JUNIOR, E. M.; MORAES FILHO, M. O.; FORTE, A. J.; COSTA, B. A.; FECHINE, F. V.; ALVES, A.; MORAES, M. E. A.; ROCHA, M. B. S.; SILVA JUNIOR, F. R.; SOARES, M.; BEZERRA, A. N.; MARTINS, C. B.; MATHOR, M. B. Pediatric Burn Treatment Using Tilapia Skin as a Xenograft for Superficial Partial-Thickness Wounds: A Pilot Study. **J Burn Care Res**, v. 41, n. 2, p. 241-247, 2020b.

LIMA JUNIOR, E. M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; FECHINE, F. V.; ROCHA, M. B. S.; VALE, M. L.; DIOGENES, A. K. L.; UCHOA, A.; SILVA JUNIOR, F. R.; MARTINS, C. B.; BANDEIRA, T.; ROCHA RODRIGUES, F. A.; PAIER, C. R. K.; DE MORAES, M. E. A. A Randomized Comparison Study of Lyophilized Nile Tilapia Skin and Silver-Impregnated Sodium Carboxymethylcellulose for the Treatment of Superficial Partial-Thickness Burns. **J Burn Care Res**, v., n., p., 2020c.

LIU, C.; SUN, J. Potential application of hydrolyzed fish collagen for inducing the multidirectional differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 1, p. 436-443, 2014.

LIU, C. L.; WEISGOLD, A. S. Connective tissue graft: a classification for incision design from the palatal site and clinical case reports. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 22, n. 4, p. 373-379, 2002.

MADI, M.; KASSEM, A. Topical simvastatin gel as a novel therapeutic modality for palatal donor site wound healing following free gingival graft procedure. **Acta Odontol Scand**, v. 76, n. 3, p. 212-219, 2018.

MAGNUSSON, S.; BALDURSSON, B. T.; KJARTANSSON, H.; ROLFSSON, O.; SIGURJONSSON, G. F. Regenerative and Antibacterial Properties of Acellular Fish Skin Grafts and Human Amnion/Chorion Membrane: Implications for Tissue Preservation in Combat Casualty Care. **Mil Med**, v. 182, n. S1, p. 383-388, 2017.

MAZZOTTI, C.; STEFANINI, M.; FELICE, P.; BENTIVOGLI, V.; MOUNSSIF, I.; ZUCHELLI, G. Soft-tissue dehiscence coverage at peri-implant sites. **Periodontol** **2000**, v. 77, n. 1, p. 256-272, 2018.

MILLER, P. D., JR. Ridge augmentation under existing fixed prosthesis. Simplified technique. **J Periodontol**, v. 57, n. 12, p. 742-745, 1986.

NAMADMALIAN ESFAHANI, N.; KHORSAND, A.; MOHSENI SALEHIMONFARED, S. The influence of harvesting free gingival graft on self-reported pain perception: A randomized two-arm parallel clinical trial. **J Dent Sci**, v. 16, n. 1, p. 410-416, 2021.

OUYANG, Q. Q.; HU, Z.; LIN, Z. P.; QUAN, W. Y.; DENG, Y. F.; LI, S. D.; LI, P. W.; CHEN, Y. Chitosan hydrogel in combination with marine peptides from tilapia for burns healing. **Int J Biol Macromol**, v. 112, n., p. 1191-1198, 2018.

OZCELIK, O.; SEYDAOGLU, G.; HAYTAC, C. M. Diode laser for harvesting de-epithelialized palatal graft in the treatment of gingival recession defects: a randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 43, n. 1, p. 63-71, 2016.

PINI-PRATO, G.; BALDI, C.; PAGLIARO, U.; NIERI, M.; SALETTA, D.; ROTUNDO, R.; CORTELLINI, P. Coronally advanced flap procedure for root coverage. Treatment of root surface: root planning versus polishing. **J Periodontol**, v. 70, n. 9, p. 1064-1076, 1999.

PINTO MEDEIROS DIAS, M. T.; LIMA JUNIOR, E. M.; NEGREIROS NUNES ALVES, A. P.; MONTEIRO BILHAR, A. P.; RIOS, L. C.; COSTA, B. A.; ROCHA MATOS, E. S.; VENANCIO, A. C.; BRUNO, Z. V.; ODORICO DE MORAES FILHO, M.; PINHEIRO SOBREIRA BEZERRA, L. R. Tilapia fish skin as a new biologic graft for neovaginoplasty in Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: a video case report. **Fertil Steril**, v. 112, n. 1, p. 174-176, 2019.

RODRIGUEZ, A. H.; LIMA JUNIOR, E. M.; DE MORAES FILHO, M. O.; COSTA, B. A.; BRUNO, Z. V.; FILHO, M. P. M.; AMARAL DE MORAES, M. E.; RODRIGUES, F. A. R.; PAIER, C. R. K.; BEZERRA, L. Male-to-Female Gender-Affirming Surgery Using Nile Tilapia Fish Skin as a Biocompatible Graft. **J Minim Invasive Gynecol**, v. 27, n. 7, p. 1474-1475, 2020.

SACHS, H. A.; FARNOUSH, A.; CHECCHI, L.; JOSEPH, C. E. Current status of periodontal dressings. **J Periodontol**, v. 55, n. 12, p. 689-696, 1984.

SAMANI, M. K.; SABERI, B. V.; ALI TABATABAEI, S. M.; MOGHADAM, M. G. The clinical evaluation of platelet-rich plasma on free gingival graft's donor site wound healing. **Eur J Dent**, v. 11, n. 4, p. 447-454, 2017.

SANZ, I.; GARCIA-GARGALLO, M.; HERRERA, D.; MARTIN, C.; FIGUERO, E.; SANZ, M. Surgical protocols for early implant placement in post-extraction sockets: a systematic review. **Clin Oral Implants Res**, v. 23 Suppl 5, n., p. 67-79, 2012.

SHAYESTEH, Y. S.; ESHGHYAR, N.; MOSLEMI, N.; DEHGHAN, M. M.; MOTAHHARY, P.; GHOBADI, Z.; GOLESTAN, B. The effect of platelet-rich plasma on healing of palatal donor site following connective tissue harvesting: a pilot study in dogs. **Clin Implant Dent Relat Res**, v. 14, n. 3, p. 428-433, 2012.

SIRITIENTONG, T.; ANGSPATT, A.; RATANAVARAPORN, J.; ARAMWIT, P. Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. **Pharm Res**, v. 31, n. 1, p. 104-116, 2014.

SKOPIN, M. D.; MOLITOR, S. C. Effects of near-infrared laser exposure in a cellular model of wound healing. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 25, n. 2, p. 75-80, 2009.

SOUSA, F.; MACHADO, V.; BOTELHO, J.; PROENCA, L.; MENDES, J. J.; ALVES, R. Effect of A-PRF Application on Palatal Wound Healing after Free Gingival Graft Harvesting: A Prospective Randomized Study. **Eur J Dent**, v. 14, n. 1, p. 63-69, 2020.

SULLIVAN, H. C.; ATKINS, J. H. The role of free gingival grafts in periodontal therapy. **Dent Clin North Am**, v. 13, n. 1, p. 133-148, 1969.

SUN, L.; LI, B.; JIANG, D.; HOU, H. Nile tilapia skin collagen sponge modified with chemical cross-linkers as a biomedical hemostatic material. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 159, n., p. 89-96, 2017.

SUN, L.; LI, B.; SONG, W.; ZHANG, K.; FAN, Y.; HOU, H. Comprehensive assessment of Nile tilapia skin collagen sponges as hemostatic dressings. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 109, n., p. 110532, 2020.

TANG, J.; SAITO, T. Biocompatibility of Novel Type I Collagen Purified from Tilapia Fish Scale: An In Vitro Comparative Study. **Biomed Res Int**, v. 2015, n., p. 139476, 2015.

TAVELLI, L.; BAROOTCHI, S.; DI GIANFILIPPO, R.; MODARRESSI, M.; CAIRO, F.; RASPERINI, G.; WANG, H. L. Acellular dermal matrix and coronally advanced flap or tunnel technique in the treatment of multiple adjacent gingival recessions. A 12-year follow-up from a randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 46, n. 9, p. 937-948, 2019a.

TAVELLI, L.; RAVIDA, A.; SALEH, M. H. A.; MASKA, B.; DEL AMO, F. S.; RASPERINI, G.; WANG, H. L. Pain perception following epithelialized gingival graft harvesting: a randomized clinical trial. **Clin Oral Investig**, v. 23, n. 1, p. 459-468, 2019b.

TAVELLI, L.; RAVIDA, A.; LIN, G. H.; DEL AMO, F. S.; TATTAN, M.; WANG, H. L. Comparison between Subepithelial Connective Tissue Graft and De-epithelialized Gingival Graft: A systematic review and a meta-analysis. **J Int Acad Periodontol**, v. 21, n. 2, p. 82-96, 2019c.

TERADA, M.; IZUMI, K.; OHNUKI, H.; SAITO, T.; KATO, H.; YAMAMOTO, M.; KAWANO, Y.; NOZAWA-INOUE, K.; KASHIWAZAKI, H.; IKOMA, T.; TANAKA, J.; MAEDA, T. Construction and characterization of a tissue-engineered oral mucosa equivalent based on a chitosan-fish scale collagen composite. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 100, n. 7, p. 1792-1802, 2012.

THOMA, D. S.; SANCHO-PUCHADES, M.; ETTLIN, D. A.; HAMMERLE, C. H.; JUNG, R. E. Impact of a collagen matrix on early healing, aesthetics and patient morbidity in oral mucosal wounds - a randomized study in humans. **J Clin Periodontol**, v. 39, n. 2, p. 157-165, 2012.

THOMA, D. S.; HILBE, M.; BIENZ, S. P.; SANCHO-PUCHADES, M.; HAMMERLE, C. H.; JUNG, R. E. Palatal wound healing using a xenogeneic collagen matrix - histological outcomes of a randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 43, n. 12, p. 1124-1131, 2016.

THOMA, D. S.; NAENNI, N.; FIGUERO, E.; HAMMERLE, C. H. F.; SCHWARZ, F.; JUNG, R. E.; SANZ-SANCHEZ, I. Effects of soft tissue augmentation procedures on peri-implant health or disease: A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Implants Res**, v. 29 Suppl 15, n., p. 32-49, 2018.

USTAOGU, G.; ERCAN, E.; TUNALI, M. Low-Level Laser Therapy in Enhancing Wound Healing and Preserving Tissue Thickness at Free Gingival Graft Donor Sites: A Randomized, Controlled Clinical Study. **Photomed Laser Surg**, v. 35, n. 4, p. 223-230, 2017.

WANG, C. Y.; TSAI, S. C.; YU, M. C.; LIN, Y. F.; CHEN, C. C.; CHANG, P. C. Light-emitting diode irradiation promotes donor site wound healing of the free gingival graft. **J Periodontol**, v. 86, n. 5, p. 674-681, 2015.

WIRTHLIN, M. R.; YEAGER, J. E.; HANCOCK, E. B.; GAUGLER, R. W. The healing of gingival wounds in miniature swine. **J Periodontol**, v. 51, n. 6, p. 318-327, 1980.

WOODROW, T.; CHANT, T.; CHANT, H. Treatment of diabetic foot wounds with acellular fish skin graft rich in omega-3: a prospective evaluation. **J Wound Care**, v. 28, n. 2, p. 76-80, 2019.

XIONG, X.; LIANG, J.; XU, Y.; LIU, J.; LIU, Y. The wound healing effects of the Tilapia collagen peptide mixture TY001 in streptozotocin diabetic mice. **J Sci Food Agric**, v. 100, n. 7, p. 2848-2858, 2020.

YAGHOBE, S.; ROUZMEH, N.; ASLROOSTA, H.; MAHMOODI, S.; KHORSAND, A.; KHARRAZIFARD, M. J. Effect of Topical Erythropoietin (EPO) on palatal wound healing subsequent to Free Gingival Grafting (FGG). **Braz Oral Res**, v. 32, n., p. e55, 2018.

YAMAMOTO, K.; IGAWA, K.; SUGIMOTO, K.; YOSHIZAWA, Y.; YANAGIGUCHI, K.; IKEDA, T.; YAMADA, S.; HAYASHI, Y. Biological safety of fish (tilapia) collagen. **Biomed Res Int**, v. 2014, n., p. 630757, 2014.

YANG, C. K.; POLANCO, T. O.; LANTIS, J. C., 2ND. A Prospective, Postmarket, Compassionate Clinical Evaluation of a Novel Acellular Fish-skin Graft Which Contains Omega-3 Fatty Acids for the Closure of Hard-to-heal Lower Extremity Chronic Ulcers. **Wounds**, v. 28, n. 4, p. 112-118, 2016.

YILDIRIM, S.; OZENER, H. O.; DOGAN, B.; KURU, B. Effect of topically applied hyaluronic acid on pain and palatal epithelial wound healing: An examiner-masked, randomized, controlled clinical trial. **J Periodontol**, v. 89, n. 1, p. 36-45, 2018.

ZHOU, T.; WANG, N.; XUE, Y.; DING, T.; LIU, X.; MO, X.; SUN, J. Electrospun tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 143, n., p. 415-422, 2016.

ZHOU, T.; SUI, B.; MO, X.; SUN, J. Multifunctional and biomimetic fish collagen/bioactive glass nanofibers: fabrication, antibacterial activity and inducing skin regeneration in vitro and in vivo. **Int J Nanomedicine**, v. 12, n., p. 3495-3507, 2017.

ZUCCHELLI, G.; MELE, M.; STEFANINI, M.; MAZZOTTI, C.; MARZADORI, M.; MONTEBUGNOLI, L.; DE SANCTIS, M. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 37, n. 8, p. 728-738, 2010.

ZUCCHELLI, G.; MOUNSSIF, I. Periodontal plastic surgery. **Periodontol 2000**, v. 68, n. 1, p. 333-368, 2015.

ZUCCHELLI, G.; FELICE, P.; MAZZOTTI, C.; MARZADORI, M.; MOUNSSIF, I.; MONACO, C.; STEFANINI, M. 5-year outcomes after coverage of soft tissue dehiscence around single implants: A prospective cohort study. **Eur J Oral Implantol**, v. 11, n. 2, p. 215-224, 2018.

ZUHR, O.; BAUMER, D.; HURZELER, M. The addition of soft tissue replacement grafts in plastic periodontal and implant surgery: critical elements in design and execution. **J Clin Periodontol**, v. 41 Suppl 15, n., p. S123-142, 2014.

ANEXOS

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: UTILIZAÇÃO DE PELE DE TILÁPIA PARA O REPARO E PROTEÇÃO DO PALATO APÓS REMOÇÃO DE ENXERTOS

Pesquisador: GUSTAVO GONCALVES DO PRADO MANFREDI

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 6

CAAE: 08515519.1.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia de Bauru

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Não houve alterações nos protocolos da pesquisa. As mudanças foram na diminuição

Data do Envio: 26/11/2020

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.552.099

Apresentação da Notificação:

Notificação para apresentação de relatório parcial da pesquisa que tem por objetivo avaliar os efeitos de diferentes tipos de curativos na cicatrização do palato após coleta de enxerto gengival livre.

Objetivo da Notificação:

Apresentação de relatório parcial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estão adequados.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Relatório parcial adequado, de acordo com as normas deste CEP. Os pesquisadores justificam redução no número de participantes devido ao tempo reduzido para execução do Projeto.

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE BAURU DA
USP



Continuação do Parecer: 4.552.099

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os TCLEs foram apresentados, devidamente preenchidos, com rubrica e assinatura.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório parcial aprovado, sem restrições de ordem ética.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP reunido ordinariamente no dia 03/02/2021, via Google Meet, devido à pandemia da COVID-19 e por orientações da CONEP, acata por unanimidade o parecer APROVADO, emitido pelo relator, sobre o relatório final da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	RelatorioParcial.pdf	26/11/2020 18:56:01	GUSTAVO GONCALVES DO PRADO MANFREDI	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 23 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Juliana Fraga Soares Bombonatti
(Coordenador(a))

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



Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese e Periodontia

Página 1 de 4

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa "*Utilização de pele de tilápia para o reparo e proteção do palato após remoção de enxertos*", de responsabilidade do pesquisador Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi. Ao assinar este termo, o(a) senhor(a) participará como voluntário(a) na pesquisa que tem por objetivo avaliar a efetividade do uso de um novo material biológico para proteção da ferida do palato após a remoção do enxerto, feita de pele de tilápia-do-Nilo. Esse material tem sido usado na Medicina para o tratamento de lesões de queimadura de 2º e 3º graus, com resultados promissores. A pele da tilápia-do-Nilo como material biológico foi desenvolvida no Brasil e apresenta comportamento mecânico e biológico parecido com a pele humana, e nos resultados obtidos pelas pesquisas foram aceleração da cicatrização e na diminuição da dor, mas ainda não sabemos seus resultados no tratamento de feridas cirúrgicas na boca. Por isso, faremos essa avaliação. Iremos comparar os resultados obtidos com a pele do peixe com outros tipos de proteção do palato, como o cimento cirúrgico (um curativo que gruda no céu da boca, cor-de-rosa), uma placa de Hawley (aparelho feito de resina acrílica que cobre o céu da boca) e uma substância chamada L-PRF, que é um tipo de membrana feito a partir do seu próprio sangue. Você só irá receber um desses tratamentos, definido por sorteio aleatório, que será feito por um software, que por processo de randomização que terá 25% de chances em cair em um dos grupos de estudo. Se você tiver alergia a algum deles, nos avise que mudaremos a forma de proteção. Se não quiser receber o tipo de proteção sorteado também nos avise que utilizaremos outro tipo. É garantido a todos os participantes que todos os dados que permitam sua identificação serão mantidos sob sigilo. Você poderá retirar seu Consentimento, se assim o desejar, em qualquer momento, sem que o seu tratamento seja prejudicado.

O seu tratamento todo será realizado na clínica de Periodontia da FOB-USP. Você deverá realizar seu tratamento normalmente, não precisando de mais consultas por estar participando dessa pesquisa, porque ela será feita somente nos dias que você vier aqui para dar continuidade ao seu tratamento. Depois da cirurgia de enxerto gengival, você deverá retornar para os cuidados pós-operatórios em três momentos diferentes: aos 7 dias, quando o material de proteção e as suturas do palato serão removidas; aos 14 dias, quando serão removidas as suturas do enxerto; aos 30 dias, quando é realizado o controle de placa supragengival. Em cada uma dessas visitas, serão obtidas fotografias da área operada com auxílio de retrator dos lábios e, às vezes, espelho colocado dentro da boca. Essas fotografias são rápidas, devendo durar 1-2 minutos. As fotografias, que não mostram seu rosto, mas apenas a área da cirurgia, serão utilizadas para avaliar a evolução da cicatrização. Nessas visitas, também será medida as dimensões da ferida do palato e você deverá responder um questionário para avaliação da dor, do consumo de remédios, da dificuldade de fala e de mastigação. Esse questionário pode ser respondido rapidamente, em torno de 5 minutos. Você será informado sobre os resultados da pesquisa antes da sua divulgação ao público.

Os **riscos** neste estudo são pequenos e, na maioria das vezes, inerentes ao procedimento cirúrgico em si. Se situações adversas ocorrerem, serão resolvidas pelos pesquisadores responsáveis. Para evitar ou minimizar essas situações, será realizado previamente um planejamento adequado da cirurgia, bem como os cuidados pertinentes aos casos serão tomados durante a cirurgia, tais como: anestesia adequada da área para tirar a dor e evitar

Rubrica do Pesquisador Responsável

Rubrica do Participante da Pesquisa



Faculdade de Odontologia
Departamento de Prótese e Periodontia

sangramento, compressão com gaze molhada no soro fisiológico para controle do sangramento e limpeza da região. Você também será instruído quanto aos cuidados pós-operatórios a serem tomados para evitar ter dor, inchaço ou inflamação, incluindo instruções quanto às formas de higienização da boca, quais medicamentos pode e não pode usar, repouso e cuidados com a alimentação. Os eventos adversos que podem ocorrer incluem: sensibilidade dolorosa, hemorragia do palato e inchaço. Esses eventos são eventualidades que podem ocorrer em qualquer paciente saudável, sendo usualmente resolvidos com simples abordagem clínica ou pelo sistema imune e cicatricial do próprio paciente. A estimativa de alto risco será investigada durante a anamnese e, caso seja detectado, procedimentos profiláticos serão adotados, incluindo profilaxia antibiótica. Também pode ocorrer alergia a algum dos curativos; caso isso aconteça, o curativo será removido e o participante será excluído da amostra final analisada, sem prejuízo ao restante do seu tratamento. Para os participantes que receberão o curativo de L-PRF, é necessário retirar sangue um pouco antes da cirurgia começar. O sangue será coletado por profissional capacitado para este fim, porém há risco de dor e desconforto durante a coleta, a quantidade retirada será aproximadamente de um "copinho" de café. Esses serão minimizados, dentro do possível, pela agilidade e delicadeza do profissional durante sua obtenção. A parte vermelha do material será descartada (sugada) após a cirurgia. Serão aplicados questionários para avaliar a sintomatologia dolorosa após a cirurgia, bem como dificuldade na fala e mastigação, e ainda consumo de analgésicos. Esses questionários devem ser respondidos em aproximadamente 5 minutos. Durante as visitas de retorno para os cuidados pós-operatórios, além da aplicação dos questionários, serão obtidas fotografias da área operada para avaliação da cicatrização. Para isso, são utilizados retratores labiais e espelho fotográfico, o que pode causar algum desconforto. O procedimento é geralmente rápido, levando aproximadamente 1-2 minutos para realização. Além disso, nessas visitas, serão realizados: remoção da sutura e do curativo, limpeza da área da ferida cirúrgica com água oxigenada a 10% e controle de placa supragengival, quando necessário. Portanto, as visitas de retorno tem duração estimada de aproximadamente 30 minutos, podendo variar para mais ou para menos de acordo com os procedimentos que deverão ser realizados.

Os **benefícios** diretos para os participantes do estudo será o controle da dor, hemorragia e do trauma mecânico às feridas cirúrgicas com o uso dos curativos, conforme amplamente discutido em literatura. Os resultados obtidos com este estudo poderão beneficiar outras pessoas futuramente, visto que será investigado qual é o melhor curativo para proteção das áreas cruentas do palato após coleta de enxerto epitelizado de tecido mole, com resultados centrados no paciente.

Você tem direito de pedir ressarcimento ou indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa. As despesas relacionadas exclusivamente ao desenvolvimento da pesquisa são de responsabilidade do pesquisador.

Você tem plena liberdade de se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma. Caso você desista de participar da pesquisa, seu tratamento periodontal não sofrerá modificações e continuará sendo realizado conforme previsto anteriormente, sem quaisquer prejuízos a você. Em nenhum momento sua identidade será revelada. Você tem a garantia de manutenção do sigilo e da privacidade dos seus dados e resultados durante todas as fases da pesquisa. Você receberá uma via assinada do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.



Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese e Periodontia

Em caso de dúvidas sobre sua participação na pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi por meio do endereço institucional Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, n. 9-75, Bauru/SP (Departamento de Periodontia), telefone celular (14) 99806-3100 e e-mail gustavo.manfredi@usp.br e, para denúncias e/ou reclamações entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa-FOB/USP, à Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75, Vila Universitária, Bauru/SP, CEP 17012-901, Prédio da Pós-Graduação (Bloco E - pavimento superior), ou pelo telefone (14) 3235-8356, de segunda à sexta-feira, das 14 às 17:30 horas, em dias úteis, ou pelo e-mail: cep@fob.usp.br, ou entrar em contato com o Conselho Nacional de Saúde, que é uma comissão do Conselho Nacional de Saúde - CNS, criada com a função de implementar as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, aprovadas pelo Conselho, que se encontra SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar - Asa Norte, CEP: 70719-040, Brasília-DF, ou pelo telefone: (61) 3315-5877 ou email para conep@saude.gov.br, das 08h às 18h.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a)

_____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, DECLARA e FIRMA seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Cap. III, Art. 9º do Código de Ética Odontológica (Res. CFO-118/2012).

Por fim, como pesquisadora responsável pela pesquisa, DECLARO o cumprimento do disposto na Resolução CNS nº 466 de 2012, contidos nos itens IV.3, item IV.5.a e na íntegra com a resolução CNS nº 466 de dezembro de 2012.

Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, conforme o disposto pela Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Gustavo Gonçalves do Prado Manfredi
Pesquisador Principal

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, organizado e criado pela FOB-USP, em 29/06/98 (Portaria GD/0698/FOB), previsto no item VII da Resolução CNS nº 466/12 do Conselho



Faculdade de Odontologia de Bauru

Departamento de Prótese e Periodontia

Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (publicada no DOU de 13/06/2013), é um Colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada a este CEP:

Horário e local de funcionamento:

Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira (em dias úteis), no horário das **14hs às 17h30**.
Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75
Vila Universitária - Bauru - SP - CEP 17012-901
Telefone/FAX(14)3235-8356

A **Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP** - é uma comissão do Conselho Nacional de Saúde - CNS, criada pela Resolução 196/96 e com constituição designada pela Resolução 246/97, com a função de implementar as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, aprovadas pelo Conselho. Tem função consultiva, deliberativa, normativa e educativa, atuando conjuntamente com uma rede de Comitês de Ética em Pesquisa - CEP- organizados nas instituições onde as pesquisas se realizam.

Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada:

Horário e local de funcionamento:

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP
SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar, de segunda à sexta-feira (em dias úteis), no horário das **8hs às 18h**.
Asa Norte- Brasília-DF-CEP: 70719-040
Telefone/FAX(61) 3315-5877

NOME: _____ DATA: __/__/__

CIRURGIA: _____ → DATA: __/__/__

GRUPO: _____

QUESTIONÁRIO

- 1- Em relação a dor pós-cirúrgico, numa escala de 0 a 10, na qual 0 representa nenhuma dor e 10 a pior dor que sentiu, durante ___ dias, qual número seria o melhor que representaria a dor?



- 2- Em relação dificuldade de fala, numa escala de 0 a 2, na qual 0 representa nenhuma dificuldade e 2 não conseguiu conversar, qual número seria o melhor que representaria?
OBS: _____
- 3- Em relação ao desconforto no palato pelo material, numa escala de 0 a 2, na qual 0 representa nenhum desconforto e 2 o maior desconforto possível, qual número seria o melhor que representaria?
OBS: _____
- 4- Em relação a mastigação, numa escala de 0 a 2, na qual 0 representa mastigação normal e 2 não conseguiu alimentar, qual número seria o melhor que representaria?
OBS: _____
- 5- Uso de analgésicos:
- | | | |
|---------|---------|--------------|
| 1º dia- | 5º dia- | TOTAL: _____ |
| 2º dia- | 6º dia- | |
| 3º dia- | 7º dia- | |
| 4º dia- | | |
- 6- Em relação ardência, numa escala de 0 a 1, na qual 0 representa nenhuma ardência e 1 ardência, qual número seria o melhor que representaria?

- 7- CICATRIZAÇÃO.

7 dia () 14 dia () 30 dia