

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA INTEGRADA

MARCELA SANDY VALENÇA DE BARROS

**HISTOMORFOMETRIA E IMUNOISTOQUÍMICA DA MATRIZ DE COLÁGENO  
XENÓGENA USADA PARA MANIPULAÇÃO DE TECIDO MOLE EM  
HUMANOS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Recife

2020

MARCELA SANDY VALENÇA DE BARROS

**HISTOMORFOMETRIA E IMUNOISTOQUÍMICA DA MATRIZ DE COLÁGENO  
XENÓGENA USADA PARA MANIPULAÇÃO DE TECIDO MOLE EM  
HUMANOS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Odontologia do Centro de Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renata Cimões Jovino Silveira

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Bruna de Carvalho Farias Vajgel.

Recife

2020

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

B277h	<p>Barros, Marcela Sandy Valença de Histomorfometria e imunistoquímica da matriz de colágeno xenógena usada para manipulação de tecido mole em humanos: ensaio clínico randomizado / Marcela Sandy Valença de Barros . – 2020. 64 f.: il.</p> <p>Orientadora: Renata Cimões Jovino Silveira. Coorientadora: Bruna de Carvalho Farias Vajgel. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde - CCS. Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2020.</p> <p>Inclui referências, apêndices e anexos</p> <p>1. Implantes dentários. 2. Colágeno. 3. Transplante de Tecidos . I. Silveira, Renata Cimões Jovino (Orientadora). II. Vajgel, Bruna de Carvalho Farias.(Coorientadora)Título.</p> <p>617.6 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2021-292)</p>
-------	--



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
CEP 50670-901 – AV. PROF. MORAES REGO, 1235 - RECIFE – PE  
TELEFONE: (81) 2126-8817 – EMAIL: ppgodonto2@gmail.com

**MARCELA SANDY VALENÇA DE BARROS – “HISTOMORFOMETRIA E IMUNOISTOQUÍMICA DA MATRIZ DE COLÁGENO XENÓGENA USADA PARA MANIPULAÇÃO DE TECIDO MOLE EM HUMANOS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO”**, Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

**Aprovada em 27 de fevereiro de 2020**

**Orientadora:**

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Renata Cimões Jovino Silveira

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bruna Carvalho de Farias Vajgel  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Roberto Carlos Mourão Pinho  
UNIFACOL



*Dedico esse trabalho a todos  
aqueles que buscam fazer o bem e  
através dele são capazes de  
transformar vidas.*

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a *Deus* por mais uma vitória, a caminhada até aqui não é fácil e sem Ele, nada teria sido possível.

Aos *meus pais Hélio e Girlene*, por não medirem esforços para me oferecer a melhor educação e pelo exemplo de carácter, imensa paciência e amor a mim dedicados. Agradeço, especialmente, a minha mãe, por sua incansável força e por ter acreditado e insistido para que eu e meu irmão nunca parássemos de estudar. Obrigada por sempre fazer o melhor por mim e compreender minha ausência. Os meus maiores professores sempre estiveram ao meu lado desde o berço, a cada passo e a cada novo aprendizado.

Ao *meu anjo, eterno herói e pai*, àquele para quem eu rezo pedindo proteção, orientação e força, que com seu imenso amor capaz de romper barreiras entre o céu e a terra, nunca me desamparou ou me deixou só. Carregar você em meu coração me deixou mais forte e com a certeza de que tudo é possível.

A toda *minha família*, especialmente ao meu irmão, *Marlon*, por tanto ter contribuído e por nunca ter desistido do nosso sonho. E por muitas vezes ter colocado minhas necessidades acima das suas e sempre me mostrar que vale a pena seguir o caminho do bem.

Agradeço à *UFPE*, que nesses últimos 7 anos foi minha casa, principalmente à Pós-Graduação em Odontologia dessa instituição, em nome de todos os professores, pelas oportunidades, direcionamento, em especial a Dona Tânia, pelo carinho e café nos momentos em que o cansaço pareceu mais forte e ao Isaac, que atenciosamente sempre me atendeu.

À *minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Renata Cimões* e *co-orientadora, Prof. Bruna Vajgel*, as quais tive a honra de conhecer ainda na graduação, obrigada por permitirem que eu pudesse aprender sempre um pouco mais e por compartilharem com tanta dedicação seus conhecimentos. Não há palavras para agradecer a confiança e paciência. Agradeço inclusive, pelas duras palavras nos momentos em que sei que errei. Sei que só “puxa” a orelha daqueles que valem a pena e foi para o meu próprio bem.

Ao professor *Gustavo Godoy*, por ter me guiado durante esse trabalho, por todas as dúvidas sanadas e correções. Enfim, pela imensa disponibilidade, amizade e carinho em suas doces palavras nos momentos em

que tudo parecia sem solução. Seu direcionamento foi a luz necessária para encontrar a saída.

*Ao Arthur Clark, Sylvania Paz e Romildo*, por não medirem esforços e recursos para que obtivéssemos sempre o melhor resultado. Foi uma honra poder trabalhar e aprender um pouco da histologia com vocês.

*Aos colegas de turma*, obrigada pela convivência e troca de saberes. Os últimos dois anos foi enriquecedor. Agradeço em especial a *Evair Josino e Eduardo Barbosa*, que estiveram mais próximos e dividiram muitos momentos durante essa caminhada. Obrigada por tudo.

Aos Membros do grupo de Pesquisa Perio-Implante, do qual tive a honra de fazer parte por tantos anos. Dividimos alegrias, angústias e sobretudo muito companheirismo e vontade de vencer, não poderia deixar de citar os nomes daqueles que me acompanharam, me incentivaram e fizeram parte da minha história, em especial ao *Prof. Roberto Mourão, Rayanne Melo, Camila Agra e Felipe Almeida*.

Minha eterna gratidão ao *Prof. Marcelo Nunes*, suas duras palavras nos momentos em que precisei de um puxão de orelha para voltar ao caminho correto, e as doces e gentis, quando precisei de apoio e força para continuar. Seu suporte foi fundamental. Foi uma honra dividir essa pesquisa com você.

Minha gratidão *aos pacientes*, que se disponibilizaram a participar dessa pesquisa e aqueles que colaboraram sem medir esforços para que tudo desse certo! Agradeço em especial a Elisangela e Erika, que sempre estiveram dispostas a ajudar.

A minha *equipe de trabalho*, que sempre compreendeu minha ausência e inúmeras falhas e faltas, para que eu pudesse me dedicar sem maiores preocupações. A minha eterna gratidão, não há dúvidas que juntos somos muito mais fortes.

E por fim, mas não menos importante, obrigada a todos que de alguma forma se fizeram presentes, aos amigos de perto e de longe, cada um foi muito importante para mim e tornou a caminhada mais leve. Obrigada!

## RESUMO

A necessidade de um enxerto autógeno para a modificação do tecido mole ao redor dos implantes traz uma série de limitações ao seu uso, levando ao advento de substitutos de tecido conjuntivo (STC). No entanto, o comportamento dos STC ainda não é totalmente claro do ponto de vista histológico, devido à ausência de estudos em humanos. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar, histomorfometricamente a quantidade de colágeno e imunoistoquimicamente a vascularização do tecido mole ao redor de implantes após o tratamento com a matriz de colágeno acelular xenógena (MCX) comparativamente ao enxerto autógeno, por meio de um ensaio clínico randomizado de boca dividida. Participaram do estudo 9 indivíduos, que foram submetidos de forma simultânea a reabilitação com implantes e enxerto de tecido conjuntivo (ETC) (grupo controle) e da matriz de colágeno xenógena (MCX) (grupo teste) em áreas desdentadas contralaterais. Os pacientes disponibilizaram de 2 a 4 sítios para cada uma das técnicas de enxerto, totalizando 12 amostras para cada enxerto avaliado, que foram alocadas aleatoriamente em 3 grupos de acordo com o tempo de cicatrização de 30 dias (n=4), 90 dias (n=4), 180 dias (n=4), onde foram coletadas amostras para avaliação histológica e imunoistoquímica. As amostras foram coradas em tricrômico de Masson, a fim de analisar a estrutura do colágeno e preparadas imunoistoquimicamente para a detecção do endotélio vascular, com o anticorpo CD34. Os resultados demonstraram uma formação de colágeno crescente de acordo com o período de avaliação, com aumento significativo no período de 180 dias para MCX e ETC ( $p < 0,05$ ), no entanto, sem diferença entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Quanto a densidade de vasos e percentual de vascularização, ambos apresentaram aumento significativo para os grupos MCX e ETC para o período de 90 dias ( $p < 0,05$ ), no entanto, só houve diferença entre os grupos para avaliação com 30 dias ( $p < 0,05$ ). A MCX demonstrou comportamento vascular similar ao ETC e deposição madura e uniforme de colágeno aos 180 dias. Portanto, o estudo verificou que a MCX se comportou histologicamente de maneira bem semelhante ao ETC, demonstrando que essa matriz é uma alternativa viável ao enxerto autógeno do ponto de vista histológico.

Palavras chave: Implantes dentários; Colágeno; Enxerto de tecidos.

## ABSTRACT

The need for an autogenous graft to modify the soft tissue around the implants brings a number of limitations to its use, leading to the advent of connective tissue substitutes (CTS). However, the behavior of CTS is still not entirely clear from a histological point of view, due to the absence of studies in humans. Thus, the present study aimed to evaluate, histomorphometrically the amount of collagen and immunohistochemically the vascularization of the soft tissue around implants after treatment with the xenogenic acellular collagen matrix (MCX) compared to the autogenous graft, using an assay randomized clinical trial of divided mouth. Nine individuals participated in the study, who underwent simultaneous rehabilitation with implants and connective tissue grafts (CTG) (control group) and the xenogen collagen matrix (XCM) (test group) in contralateral edentulous areas. The patients made available from 2 to 4 sites for each graft technique, totaling 12 samples for each evaluated graft, which were randomly allocated in 3 groups according to the healing time of 30 days (n = 4), 90 days (n = 4), 180 days (n = 4), where samples were collected for histological and immunohistochemical evaluation. The samples were stained in Masson's trichrome in order to analyze the collagen structure and prepared immunohistochemically for the detection of the vascular endothelium, with the CD34 antibody. The results showed an increasing collagen formation according to the evaluation period, with a significant increase in the 180-day period for XCM and CTG ( $p < 0.05$ ), however, with no difference between groups ( $p > 0.05$ ). As for vessel density and vascularization percentage, both showed a significant increase for the XCM and CTG groups for the period of 90 days ( $p < 0.05$ ), however, there was only difference between the groups for evaluation at 30 days ( $p < 0.05$ ). XCM demonstrated vascular behavior similar to CTG and mature and uniform collagen deposition at 180 days. Therefore, the study found that XCM behaved histologically in a very similar way to ETC, demonstrating that this matrix is a viable alternative to autologous graft from the histological point of view.

Keywords: Dental implants; Collagen; Tissue graft.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Fluxograma CONSORT do estudo .....	19
Figura 2 - Reabertura para coleta da amostra de tecido e acesso ao implante. .....	23
Figura 3 - Scanner digital automatizado para obtenção das imagens histológicas. .....	24
Figura 4 - Comando Color Threshold (ImageJ 1.47).....	26
Figura 5 - a - ferramenta de seleção em linha reta “Straight Line Selection Tool”; b - ferramenta multipontos “Multi-point Tool (ImageJ 1.47).....	28

### ARTIGO

Figura 1 - Imagem histológica dos espécimes de ETC e MCX nos períodos de 30, 90 e 180 dias .....	44
Figura 2 - Imagem imunistoquímica do anticorpo CD34 nos espécimes de ETC e MCX nos períodos de 30, 90 e 180 dias. ....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Medidas descritivas dos grupos estudados ETC e MCX para a quantidade de colágeno .....	46
Tabela 2 - Medidas descritivas dos grupos estudados ETC e MCX para a quantidade e densidade de colágeno .....	46
Tabela 3 - Medidas descritivas para o grupo ETC e MCX em relação a vascularização.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADM	Alloderm
BLT	Bone Level Tapered Implant
ECR	Ensaio Clínico Randomizado
ETC	Enxerto de tecido conjuntivo
EGL	Enxerto Gengival Livre
HE	Hematoxilina e Eosina
IHQ	Imunoistoquímica
IPV	Índice de Placa Vísivel
MMP	Metaloproteinase de Matriz
µm	Micrometro
MCX	Matriz de Colágeno Acelular Xenógena
ROG	Regeneração Óssea Guiada
RTG	Regeneração Tecidual Guiada
REBEC	Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos
STC	Substitutos de Tecido Conjuntivo
TQ	Tecido Queratinizado
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TM	Tricrômico de Masson
3D	Tridimensional



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
1.1	Objetivos Gerais .....	16
1.2	Objetivos específicos .....	16
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>17</b>
3.1	Desenho do estudo .....	17
3.2	Característica da População.....	17
3.3	Amostra.....	17
3.4	População do estudo .....	18
3.5	Etapa pré-cirúrgica.....	19
3.6	Randomização .....	20
3.7	Etapa cirúrgica .....	20
3.8	Etapa pós-cirúrgica .....	22
3.9	Coleta das amostras .....	22
3.10	Processamento das amostras .....	23
3.10.1	<i>Análise histomorfométrica do colágeno</i> .....	24
3.10.2	<i>Análise imunoistoquímica</i> .....	26
3.11	Análise estatística .....	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>30</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>
	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>49</b>
	<b>APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA</b> .....	<b>51</b>
	<b>APÊNDICE C – CARTA DE ANUÊNCIA</b> .....	<b>57</b>
	<b>APÊNDICE D – RECOMENDAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS</b> .....	<b>58</b>
	<b>APÊNDICE E – PRESCRIÇÃO MEDICAMENTOSA</b> .....	<b>59</b>
	<b>ANEXO A – REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS</b> .....	<b>60</b>

<b>ANEXO B – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXO C - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CLINICAL ORAL INVESTIGATIONS .....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A reabilitação estética e funcional com implantes dentários e a manutenção de uma arquitetura gengival que harmonize com a dentição adjacente consiste em um desafio na odontologia. Sabe-se que após a exodontia, cerca de 2-4 mm de osso vestibular são perdidos, tornando necessário corrigir os defeitos ósseos e reconstruir uma arquitetura dos tecidos moles peri-implantares<sup>1;2</sup>. O enxerto de tecido conjuntivo (ETC) é considerado o padrão ouro para o espessamento de tecidos moles e ganho de volume. Além disso, há evidências que a espessura do tecido mucoso vertical é um importante fator para estabilidade óssea, longevidade de implantes e prevenção da recessão dos tecidos peri-implantares, que geralmente acompanham a perda óssea da crista alveolar<sup>3</sup>.

No entanto, a morbidade adicional causada pela técnica de colheita palatina do ETC é uma grande desvantagem, e representa um ponto crucial do procedimento, pois está correlacionada com a morbidade do paciente, a qualidade do enxerto e o controle do sangramento<sup>4</sup>. Além disso, a necessidade de uma segunda área cirúrgica para a sua coleta, alonga o tempo do procedimento e representa maior susceptibilidade a infecções, além da disponibilidade limitada de tecido conjuntivo, que impossibilita tratar vários leitos peri-implantares.

Para superar as desvantagens associadas ao ETC, materiais xenógenos à base de colágeno foram desenvolvidos nos últimos anos, para promover a regeneração do tecido queratinizado e recobrimento radicular. Um desses materiais é a matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm®, MCX), derivada da derme porcina e constituída por colágeno e elastina, com uma estrutura tridimensional (3D) de colágeno natural que se assemelha ao tecido conjuntivo humano<sup>5</sup>. A MCX sofre um processo de purificação em várias etapas, removendo todos os componentes antigênicos, de forma que deve facilitar a revascularização e subsequente integração dos tecidos moles<sup>6</sup>.

Vários materiais de diferentes tipos de colágeno foram introduzidos com sucesso para aplicação em regeneração tecidual e óssea (RTG e ROG), com muitas características variáveis, como diferentes tecidos precursores, estrutura, espessura e métodos de purificação<sup>7</sup>. O potencial do colágeno é baseado em seu papel como uma molécula biológica praticamente onipresente, com uma importante contribuição para a cicatrização de feridas, manutenção da integridade estrutural e determinação da

função do tecido<sup>8</sup>. Portanto, métodos para detectar, quantificar e analisar o colágeno são valiosos para melhor compreender o comportamento dos enxertos de tecido conjuntivo e seus substitutos, pois são a base para uma aplicação clínica bem-sucedida.

Uma das questões-chave para o sucesso de um enxerto, seja autógeno ou alógeno, é a vascularização suficiente do tecido ou matriz implantada, essencial para a entrega de nutrientes e para a remoção de resíduos metabólicos. Um atraso na vascularização pode causar falha do enxerto, e é um problema comum para os substitutos de ETC artificiais devido à falta de vasculatura intrínseca<sup>9</sup>. Estudos clínicos e histológicos tem sido realizados desde 1970, para explicar os mecanismos relacionados à revascularização e integração do ETC ao leito receptor, bem como fatores que podem influenciar seu sucesso ou contração, como espessura<sup>10</sup>, quantidade de tecido conjuntivo e natureza do local receptor (periósteo ou osso desnudado)<sup>11; 12</sup>.

Um estudo recente<sup>13</sup> sugeriu que a MCX pode fornecer uma alternativa viável ao enxerto autógeno, devido à suas propriedades biomecânicas e bioquímicas únicas. Além disso, a MCX possui vantagens como: evitar uma segunda área cirúrgica para a coleta do enxerto, diminuição do tempo operatório, ausência de doadores humanos e não há limites para o tamanho da área cirúrgica. Torna-se, portanto, essencial comparar os resultados obtidos com a utilização da MCX em relação ao padrão ouro (ETC) e, conseqüentemente, estabelecer a matriz de colágeno como uma alternativa real, previsível e segura.

## 2 OBJETIVOS

### 1.1 Objetivos Gerais

Avaliar histomorfometricamente a formação de colágeno e imunoistoquimicamente a expressão da vascularização do tecido mole ao redor de implantes, após o tratamento com a MCX comparativamente ao ETC, por meio de um ensaio clínico randomizado de boca dividida.

### 1.2 Objetivos específicos

- Avaliar quantitativamente o percentual de fibras colágenas na área de implantação para o grupo controle (ETC) e teste (MCX), nos períodos de 30, 90 e 180 dias;
- Avaliar possíveis diferenças na imunoexpressão do marcador imunoistoquímico CD34 para angiogênese quanto a densidade de vasos, diâmetro de vasos e percentual de vascularização para o controle (ETC) e teste (MCX), nos períodos de 30, 90 e 180 dias;

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Desenho do estudo

O presente estudo foi desenhado como um ensaio clínico randomizado de boca dividida de acordo com as diretrizes do CONSORT GROUP<sup>14</sup>. A pesquisa foi registrada no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) (ID: RBR-4vgzyt) (ANEXO A), e o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) sob número do Parecer: 2.219.548 (ANEXO B).

Após o esclarecimento de todos os procedimentos que seriam realizados na pesquisa, incluindo seus riscos e benefícios, os indivíduos que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), seguindo os preceitos da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

#### 3.2 Característica da População

O estudo foi realizado a partir de uma amostra não probabilística de conveniência de 9 pacientes parcialmente desdentados que necessitavam de tratamento com implantes e enxerto gengival em regiões contralaterais, referidos para tratamento nas clínicas da Pós-Graduação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, entre os meses de Setembro de 2018 e Maio de 2019.

#### 3.3 Amostra

Os 9 pacientes receberam no mesmo tempo cirúrgico a instalação de implantes e realização de enxertos, sendo realizado em um hemiarco o ETC e no sítio contralateral o MCX (Mucoderm®, Botissdental GmbH, Zossen, Alemanha). Dos 9 pacientes, 6 tiveram apenas 1 área teste e 1 área controle, enquanto 3 pacientes obtiveram 2 áreas testes e 2 controles, totalizando 24 leitos enxertados, (MCX = 12 e ETC = 12) (Figura 1).

### 3.4 População do estudo

Para participar do estudo os pacientes deveriam apresentar os seguintes critérios:

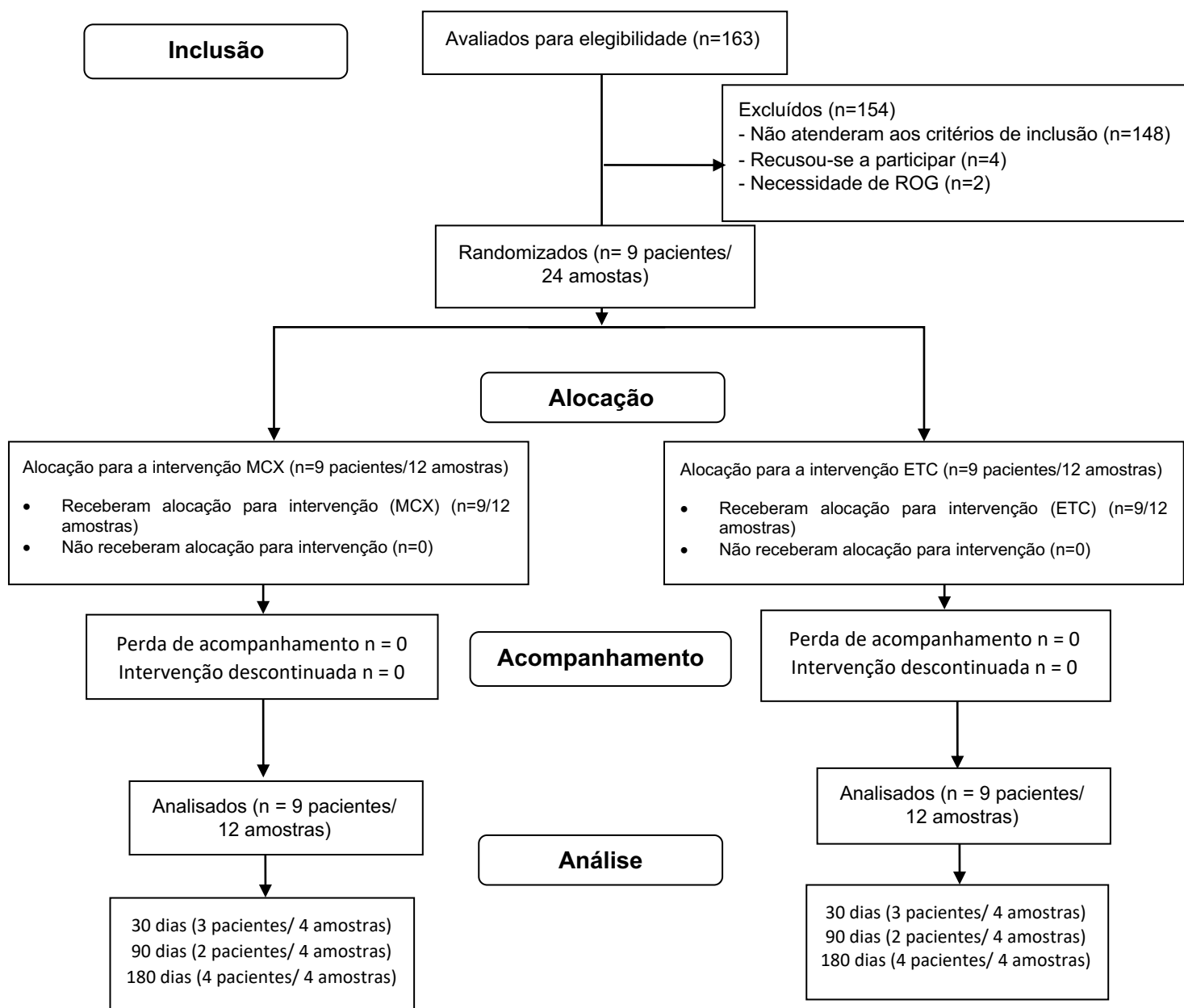
Critérios de inclusão:

- Ter idade  $\geq 18$  anos e  $< 60$  anos;
- Apresentar no mesmo arco, maxila e/ou mandíbula, a perda de pelo menos dois dentes posteriores e contralaterais, com indicação para reabilitação com implantes dentários e necessidade de espessamento de tecidos moles.
- Ter bom controle de higiene bucal (Índice de placa visível (IP)  $< 20\%$  e índice de sangramento a sondagem (SS)  $< 20\%$ ).
- Largura óssea mínima de 6mm;
- Possuir faixa de tecido queratinizado de pelo menos 2mm.

Critérios de exclusão:

- Apresentar periodontite;
- Necessidade de regeneração óssea;
- Possuir desordem sistêmica ou estar em terapia medicamentosa que interfira na cicatrização, como diabetes descontrolada, discrasias sanguíneas (hemofilia, púrpura trombocitopênica), o uso de esteroides ou altas doses de anti-inflamatórios;
- Apresentar alergia ao colágeno;
- Tabagismo;
- Gestação.
- Lactação
- Indisponibilidade de material para realização das análises imunoistoquímicas e histomorfométricas dos espécimes após processamento histológico.

Figura 1 - Fluxograma CONSORT do estudo



Fonte: a autora.

### 3.5 Etapa pré-cirúrgica

Antes do procedimento cirúrgico, foram realizadas tomografias computadorizadas de feixe cônico. Os laudos foram emitidos sempre pelo mesmo examinador para padronização das interpretações, com avaliação radiográfica de patologias periapicais dos dentes adjacentes a região edêntula, afastando a presença de cáries, fraturas e reabsorções radiculares.

Além disso, os pacientes passaram por uma fase de controle e adequação, que incluiu instruções sobre higiene bucal, raspagem e alisamento radicular, profilaxia e



demais procedimentos odontológicos necessários para a manutenção do controle de placa, como remoção de fatores de retenção, substituição de restaurações insatisfatórias e encaminhamento para tratamento endodôntico. Também foram fornecidos kits de higiene bucal, contendo escovas com cerdas macias, fio dental, e dentífrício periodicamente.

Após a fase de adequação, os indivíduos foram reavaliados na clínica do Programa de Pós-Graduação em Odontologia pelo mesmo examinador e só foram incluídos no estudo se obtivessem o nível suficiente de higiene bucal, representado pelo IP  $\leq 20\%$  e SS  $\leq 20\%$ .

Também foram solicitados os exames complementares: hemograma, coagulograma e glicemia pré-prandial. Uma hora antes da cirurgia, em cada paciente foi administrado uma medicação anti-inflamatória corticosteroide (8 mg de Dexametasona, Ache Laboratórios Farmacêuticos SA, Guarulhos, SP).

### 3.6 Randomização

A alocação do tratamento foi realizada durante o procedimento cirúrgico, após o acesso ao leito receptor, quando um auxiliar sorteou a área que recebeu a MCX (Mucoderm®, Botissdental GmbH, Zossen, Alemanha), correspondente ao número 1 (área teste), ou ETC, correspondente ao número 2 (área controle). As duas opções de técnicas de enxerto foram colocadas separadamente em envelopes pardos e determinou-se por sorteio simples qual região recebeu determinado enxerto. Para mascaramento dos resultados, o paciente e o avaliador não tiveram conhecimento sobre os tratamentos aplicados em cada grupo.

### 3.7 Etapa cirúrgica

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um mesmo cirurgião, experiente e especialista em periodontia e implantodontia. Os pacientes foram reabilitados com implantes BLT (Bone Level Tapered Implant, Straumann Implant System, Basel Switzerland) e após 6 meses receberam restaurações protéticas metalocerâmicas.

Após avaliados os exames pré-operatórios e selecionados os implantes, os pacientes seguiram para a etapa cirúrgica. Em todos os sítios foram realizados retalhos de espessura total para acesso a área receptora, utilizando o mesmo protocolo cirúrgico a seguir para o grupo teste e controle:

- 1) Analgesia pré-operatória com 8mg de Dexametasona 2 horas antes do procedimento;
- 2) Antissepsia extra-oral com solução de digluconato clorexidina a 0,2%;
- 3) Antissepsia intra-oral com solução de digluconato clorexidina a 0,12%;
- 4) Avaliação da faixa de tecido queratinizado com auxílio de uma sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) e registro fotográfico para melhor acurácia;
- 5) Aplicação de anestesia local (Articaína 4% com 1:100.000 epinefrina, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil);
- 6) Incisão no topo da crista óssea com auxílio de uma lâmina de bisturi 15C (Swann-Morton, Sheffield, Inglaterra);
- 7) Em seguida, com o auxílio de tunelizadores, foram realizados os retalhos em espessura total para obter mobilidade passiva dos tecidos moles, proporcionando um leito de tecido conjuntivo vascular para a nutrição do enxerto selecionado;
- 8) Instalação dos implantes BLT (Bone Level Tapered Implant, Straumann Implant System, Basel Switzerland) com diâmetros que variaram de 3.3 a 4.1 e comprimento de 6mm a 12mm, seguindo o protocolo determinado pelo fabricante;
- 9) Para todos os implantes foram colocados tampa de implantes com 0,5mm de altura;
- 10) Alocação das áreas receptoras em um dos dois grupos MCX ou ETC;
  - a) Protocolo para MCX:
    - 1) A matriz MCX (1.5 – 1.9mm de espessura) com dimensões padrão (15 × 20 mm) foi imersa durante 20 minutos para hidratação no sangue coletado do próprio paciente oriundo do leito receptor<sup>6</sup>;
    - 2) A MCX foi modelada individualmente para se ajustar ao local do implante nos sítios receptores da MCX, se estendendo até os dentes adjacentes e posicionada sobre o implante recém instalado. A matriz foi estendida a nível da face vestibular por cerca de 10 mm e da face lingual por 5 mm além da margem do implante, para cobrir completamente o local do implante e alcançar melhor estabilidade;

3) O retalho foi suturado de modo a cobrir completamente o implante e o enxerto com suturas tipo colchoeiro horizontal e simples com fio poligalactina 5-0 (PGA Resolon®, Resorba, Nürnberg, Germany);

b) Protocolo para ETC:

1) O enxerto ETC foi removido do palato utilizando-se a técnica do Enxerto Gengival Livre (EGL) e posterior desepitelização na bancada para os leitos receptores do ETC;

2) O retalho foi suturado de modo a cobrir completamente o implante e o enxerto com suturas tipo colchoeiro horizontal e simples com fio poligalactina 5-0 (PGA Resolon®, Resorba, Nürnberg, Germany);

3) Analgesia com Dipirona 1g ou Paracetamol 750mg.

### 3.8 Etapa pós-cirúrgica

Todos os pacientes receberam recomendações pós-operatórias (Apêndice D). Também foram orientados a não fazer a escovação nas áreas cirúrgicas por 15 dias, estendendo a recomendação aos dentes adjacentes, contudo a realizar bochechos suaves com Digluconato de Clorexidina a 0,12% por um minuto, duas vezes ao dia, pelas primeiras duas semanas, iniciando 24 horas após o procedimento. Para o controle da dor, analgésicos foram prescritos quatro vezes ao dia por três dias, 500 mg de Dipirona Sódica ou 500mg de Paracetamol (Ache Laboratórios Farmacêuticos SA, Guarulhos, SP). Corticosteroide, 4 mg de Dexametasona (Ache Laboratórios Farmacêuticos SA, Guarulhos, SP) foram prescritos para controle da dor e edema, além de antibiótico, Amoxicilina 500mg (Apêndice E). A remoção da sutura das áreas que receberam os implantes e enxertos ocorreu quinze dias após a cirurgia e, nesse momento, os pacientes foram instruídos a retomar a higienização dentária atraumática das regiões tratadas usando escova dentária de cerdas macias.

### 3.9 Coleta das amostras

Após as cirurgias, os pacientes foram alocados em 3 periodos de cicatrização: 30 (n=3 pacientes – 4 MCX/ 4 ETC), 90 (n=2 pacientes - 4MCX/4ETC), 180 dias (n=4 - 4MCX/4ETC) para obtenção da amostra de tecido gengival para análise histomorfométrica e imunoistoquímica (IHQ).

Em ambos os períodos, as amostras foram colhidas com um *Punch* descartável de 4 milímetros (Kolplast, Itupeva, SP, Brasil) sob anestesia local, e envolveu tanto a área teste (MCX) quanto a área controle (ETC). A incisão foi realizada posicionando o *Punch* descartável paralelo ao dente, realizando movimentos rotacionais simultâneos sob pressão suave. Os espécimes coletados foram imediatamente fixados em formol 10% neutro tamponado. Após a remoção do tecido para avaliação histológica, em cada implante foi instalado um cicatrizador correspondente ao diâmetro do implante e altura do tecido transmucoso, até o período da reabilitação com restaurações protéticas metalocerâmicas (Figura 2).

Figura 2 - Reabertura para coleta da amostra de tecido e acesso ao implante. a) *Punch* descartável para coleta; b) demarcação da área biopsiada; c) amostra para processamento histológico; d) exposição do implante para instação do cicatrizador; e) cicatrizador em posição; f) remoção do cicatrizador para moldagem e posterior reabilitação.



Fonte: a autora.

### 3.10 Processamento das amostras

O processamento das amostras foi realizado no laboratório de Patologia Translacional do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional da Universidade Federal de Pernambuco sempre pelo mesmo técnico. Após a fixação, foi realizada a desidratação em cadeia crescente de etanóis, diafanização em xilol e em seguida as amostras foram impregnadas em parafina na direção cervico-apical, orientado para seccionar o mais paralelo ao plano de superfície possível.

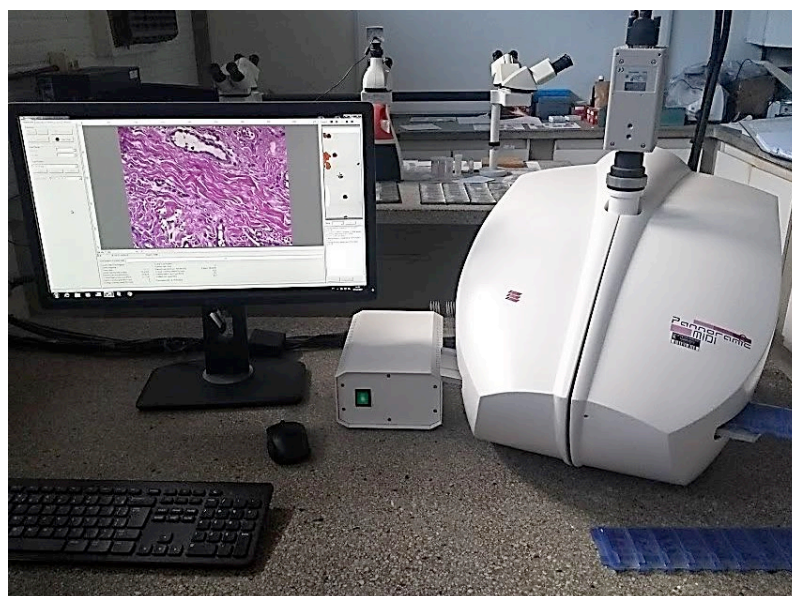
Os tecidos inclusos em blocos de parafina passaram por secções de forma seriada em micrótomo (RM 2125 RTS Leica) e coletadas em lâmina histológica. Foram realizadas secções de 5µm de espessura para coloração com Tricrômico de Masson (TM) e de 4µm de espessura para imunohistoquímica. Após a limpeza, foi aplicada uma fina camada de resina extraída das folhas de Babosa (Aloe vera), garantindo a aderência e evitando o desprendimento do tecido durante os procedimentos de coloração.

### 3.10.1 Análise histomorfométrica do colágeno

Os cortes histológicos foram em seguida desparafinizados, hidratados e submetidos à técnica de coloração histológica com TM. Em seguida, as lâminas foram desidratadas em cadeias de concentração crescentes de etanol, diafanizadas em xilol e montadas com lamínula e Entellan®.

As imagens analisadas foram obtidas através do escaneamento total das lâminas histológicas em um scanner digital automatizado (Pannoramic MIDI II®, 3DHISTECH, Budapeste, Hungria) (Figura 3).

Figura 3 - Scanner digital automatizado para obtenção das imagens histológicas.



Fonte: a autora.

Após a etapa de digitalização, as lâminas foram avaliadas por um investigador cego, com o auxílio de um software de análise de imagens (Pannoramic Viewer® 1.15.4 RTM, 3DHISTECH, Budapeste, Hungria). A partir das imagens escaneadas,

foram selecionados aleatoriamente cinco campos em cada amostra, com magnificação final de 200x. Foram avaliados a quantidade, e em seguida a densidade do colágeno foi avaliada por um examinador especialista em patologia oral, através da distribuição das fibras de colágeno na área total, classificando-o em denso ou frouxo.

Para avaliação da quantidade de colágeno, o parâmetro morfométrico adotado foi a distribuição da área média de colágeno por campo captado na lâmina histológica (área total do campo =  $683,00 \times 352,5 = 240757,5 \mu\text{m}^2$  ou  $240,75 \text{ mm}^2$ ). Foram eleitos 05 campos em cada enxerto, totalizando 60 campos para ambos os grupos MCX e ETC.

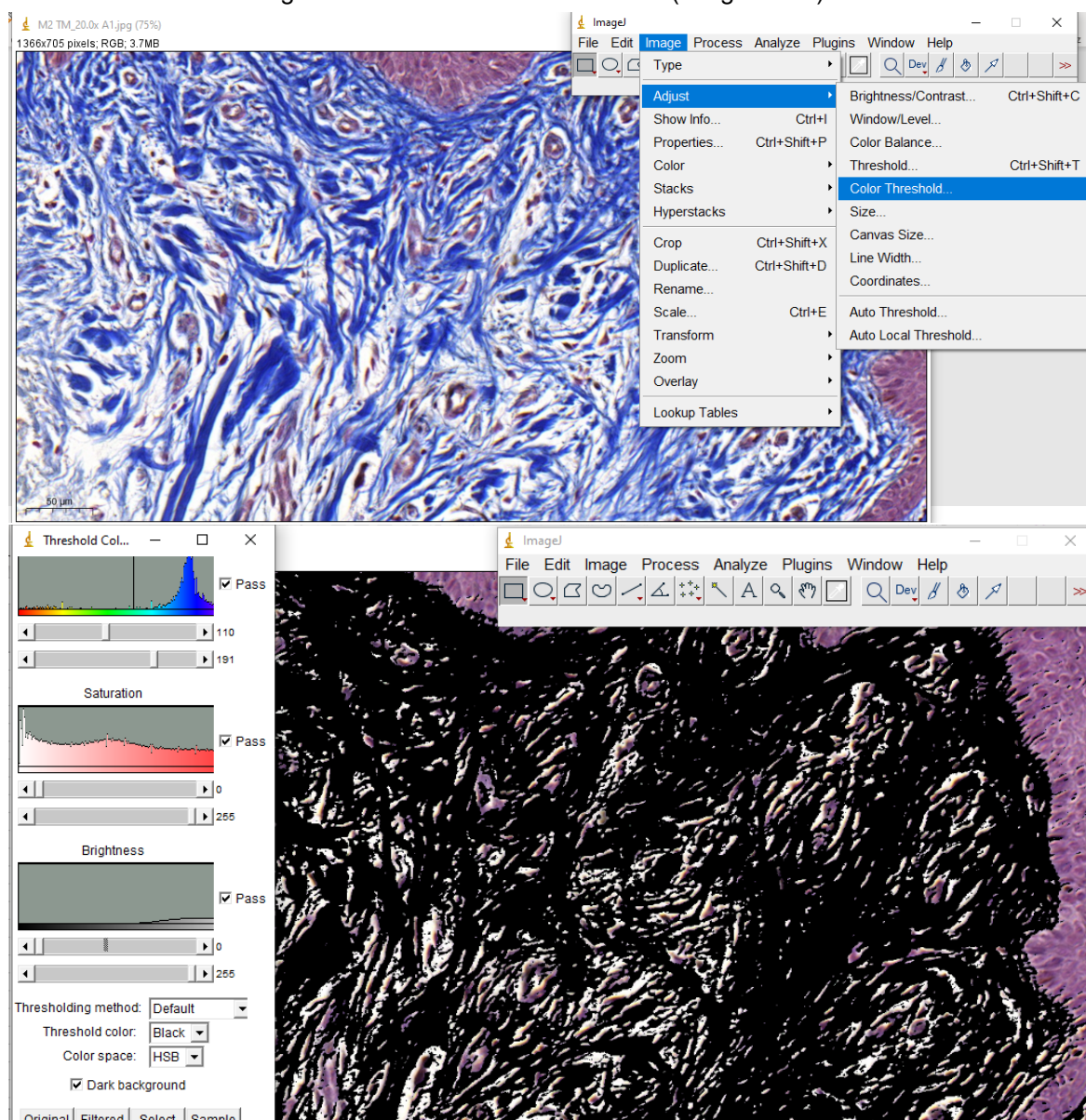
O cálculo do percentual da área de colágeno por campo foi determinado com o auxílio do software *ImageJ® 1.47 (Imaging Processing and Analysis in Java*, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) por meio da análise dos campos captados para cada grupo. Sabendo que a coloração especial TM confere cor azul às fibras colágenas, foi utilizada a ferramenta Color Threshold do software *ImageJ® 1.47* para medição da área percentual de colágeno das imagens captadas. As fotomicrografias foram avaliadas pelo software após a calibração das imagens pelo comando Color threshold (Image > Adjust > Color threshold) na função RGB color para a cor azul (Mínimo de 110 e Máximo de 191), saturação (Mínimo de 0 e Máximo de 255) e brilho (Mínimo de 0 e Máximo de 255). Após a calibração e seleção das áreas de colágeno da imagem, foi utilizado o comando Analyze (Analyze > Measure), efetuando assim a medição da área de colágeno em cada um dos campos analisados (Figura 4)

Os dados obtidos foram anotados em planilhas e expressos em percentual a partir do produto da soma da área total de colágeno dividida pelo número de campos por paciente, dividido pela área total da imagem ( $\mu\text{m}^2$ ). Posteriormente, as medias dos dados foram enviadas para análise estatística.

O percentual de colágeno obtido foi comparado entre: (I) pacientes do mesmo grupo do intervalo de tempo estudado, (II) os três períodos de avaliação (30, 90 e 180 dias), e ainda, entre os (III) enxertos MCX e o ETC para todos os períodos avaliados.



Figura 4 - Comando Color Threshold (ImageJ 1.47).



Fonte: a autora.

### 3.10.2 Análise imunoistoquímica

As amostras foram estendidas em lâminas de vidro silanizadas (Star Frost adhesive slides, Knittelgläser, Braunschweig, Germany). Para a detecção de vasos sanguíneos na área de implantação, foi realizada a coloração imunoistoquímica por meio de um anticorpo monoclonal anti-CD34 produzido em rato (Clone QBEnd-10) e para a visualização do anticorpo, foi utilizado o sistema de detecção Dako EnVision™ (K4061), ambos da Dako (Agilent).

Os cortes de 4 µm foram desparafinizados em xilol, hidratados em etanol (100%-70%) e submetidos a recuperação antigênica induzida por calor em tampão

citrato 10mM (pH 6,0). Em seguida, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena utilizando uma solução de metanol-peróxido de hidrogênio a 3% (v/v) por 30 minutos, a 25°C. Também foi aplicada a solução de soro de cabra para bloqueio de marcação inespecífica a 1,5%, a 25°C.

Para detecção do antígeno, a incubação do anticorpo primário anti-CD34, diluído na solução de bloqueio de marcação inespecífica (1:25), foi realizada por 12 a 16 horas (overnight), a 4°C. A revelação, feita com o kit Dako EnVision™ (Agilent), foi realizada de acordo com o fabricante, a 25°C, seguida de contra coloração com hematoxilina, desidratação em etanol, diafanização em xilol e montagem da lâmina com Entellan (Merck). Entre cada etapa, as amostras foram lavadas duas vezes (5 min cada) com tampão fosfato de sódio (PBS) 100mM, pH 7,2, contendo 150 mM de NaCl. O controle positivo da marcação foi realizado utilizando amostra positiva, enquanto o controle negativo foi realizado substituindo o anticorpo primário pela solução de bloqueio do kit de revelação.

Para avaliação da vascularização nas lâminas que foram coradas pelo anticorpo CD34, foram selecionados aleatoriamente 5 campos para cada caso de enxerto MCX e ETC, totalizando 60 campos para cada grupo. Todas as análises foram realizadas na magnificação de 200x. A captura das imagens dos cortes histológicos foi realizada através de uma estação de trabalho composta por sistema de vídeo-câmera Moticam 1000 1.3 MP, resolução de 1280 x 1024 (Moticam®) acoplado à um microscópio óptico (Labomed Lx 400) e computador contendo o software *Motic Image Plus*® 2.0.

Posteriormente, o software *ImageJ*® 1.47 (*Imaging Processing and Analysis in Java*, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) foi utilizado para medir os parâmetros de vascularização. O parâmetro morfométrico adotado foi a distribuição da área média por campo captado na lâmina histológica (área total do campo =  $481,88 \times 361,41 = 74156,2508 \mu\text{m}^2$  ou  $174,16 \text{ mm}^2$ ). Com base nesses dados, a densidade de vasos e o percentual de vascularização foram calculados<sup>13</sup>. O software foi previamente calibrado utilizando a ferramenta de seleção em linha reta "Straight Line Selection Tool" e calibrado a partir da barra de escala da imagem em 10 $\mu\text{m}$ , utilizando a ferramenta "Calibration Bar > Set Scale" e o mesmo padrão foi definido para todas as imagens. Para cada momento (30, 90 e 180 dias) foram determinados o diâmetro, a densidade e percentual de vascularização.



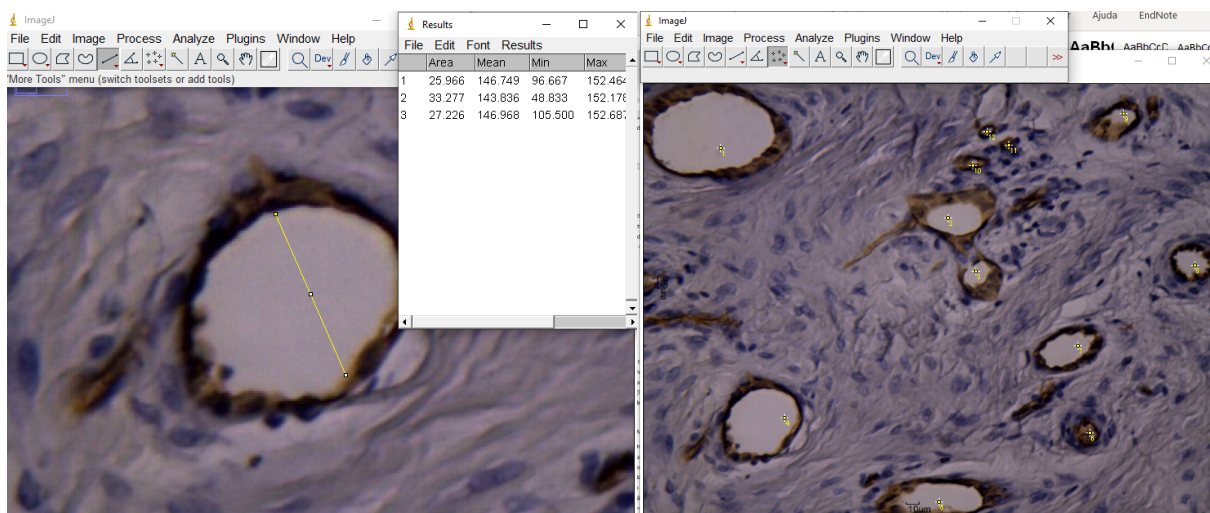
O percentual de vascularização foi analisado marcando separadamente os vasos sanguíneos usando a ferramenta de seleção de pincel “*Brush Selection Tool*” do *ImageJ*, podendo ajustar-se a forma de qualquer seleção de área usando um 'pincel' circular, determinando assim a área de cada um dos vasos presentes na imagem, por meio da ferramenta “*Annotations and Measurements*” no campo analisado. A partir da soma da área total de todos os vasos dispostos no campo analisado, o percentual foi expresso como o produto da área total dos vasos dividido pelo número de campos, dividido pela área total da imagem ( $\mu\text{m}^2$ ).

O diâmetro médio dos vasos foi determinado utilizando a ferramenta de seleção em linha reta “*Straight Line Selection Tool*” a partir de três medidas aleatórias realizadas no lúmen dos vasos visíveis, excluindo-se o maior eixo quando o vaso apareceu seccionado no eixo longitudinal. Posteriormente, a partir da média de cada campo, foi obtido o diâmetro médio por região analisada, em  $\mu\text{m}$  (Figura 5.a).

A respectiva densidade de vasos, aconteceu por meio da contagem por campo analisado, utilizando a ferramenta multipontos “*Multi-point Tool*”. Dessa forma, o número médio de vasos sanguíneos e sua relação com a área média, foi estabelecida como número médio de vasos dividido por campo, em  $\text{mm}^2$  (Figura 5.b).

Para os casos onde os espécimes não apresentavam material disponível para obtenção de cinco campos aleatoriamente escolhidos foi considerado apenas o número de campos disponibilizados. Uma amostra do grupo MCX foi excluída no período de 30 dias, em função da indisponibilidade de material para realização das análises.

Figura 5 - a - ferramenta de seleção em linha reta “*Straight Line Selection Tool*”; b - ferramenta multipontos “*Multi-point Tool (ImageJ 1.47)*”.



Fonte: a autora.

### 3.11 Análise estatística

Os valores médios para ambos os grupos foram determinados usando as médias individuais dos sujeitos. Os dados obtidos para cada variável avaliada foram registrados, tabulados e calculados em planilha no software SPSS versão 20.0 para Windows. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para escolha do tipo do teste, e como não foi possível verificar a normalidade, o teste escolhido foi não paramétrico. Para verificar a hipótese de não haver diferença em cada grupo em relação aos parâmetros avaliados foi utilizado o teste de Kruskal Wallis para amostras independentes e para a verificação Pos-hoc o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparações pareadas foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon e para comparação entre o grupo controle (ETC) e teste (MCX) foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Foi adotado o nível de significância de 5%, ou seja,  $p < 0,05$  e os dados foram apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão para verificar a variação.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ARTIGO: Histomorfometria e imunoistoquímica da matriz de colágeno xenógena usada para manipulação de tecido mole em humanos: Ensaio clínico randomizado

Marcela Sandy Valença de Barros<sup>a</sup>

Marcelo Pereira Nunes<sup>b</sup>

Arthur Tenório Ribeiro Clark<sup>c</sup>

Roberto Carlos Mourão Pinho<sup>d</sup>

Gustavo Pina Godoy<sup>e</sup>

Bruna Carvalho de Farias Vajgel<sup>f</sup>

Renata Cimões<sup>g\*</sup>

---

<sup>a</sup> Mestre em Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: marcelavalencab@gmail.com

<sup>b</sup> Doutor em Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: mpn73@terra.com.br

<sup>c</sup> Doutor em Biologia Aplicada à Saúde, Técnico em anatomia patológica do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: arthurclark@hotmail.com

<sup>d</sup> Doutor em Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: robertomouraopinho@yahoo.com.br

<sup>e</sup> Professor Adjunto do Departamento de Patologia e membro permanente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: gruiga@hotmail.com

<sup>f</sup> Professora Adjunta e membro permanente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: bruna\_farias@hotmail.com

<sup>g</sup> Professora Associada nível IV e membro permanente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brasil. E-mail: renata.cimoes@globo.com

\*Autor Correspondente

### Resumo

*Objetivo:* Avaliar histomorfometricamente a quantidade e densidade de colágeno e imunoistoquimicamente a vascularização do tecido mole ao redor de implantes, após o tratamento com a matriz de colágeno acelular xenógena (MCX) comparativamente ao enxerto autógeno de tecido conjuntivo (ETC), através de um ensaio clínico randomizado de boca dividida.

*Materiais e métodos:* Participaram do estudo 9 pacientes, que foram submetidos de forma simultânea a reabilitação com implantes e enxerto de ETC e MCX em áreas desdentadas contralaterais de um ou mais arco. Foram realizados um total de 24 sítios enxertados (ETC = 12 e MCX = 12). Os enxertos de ambos os grupos foram alocados de acordo com o tempo de cicatrização de 30 (n=4), 90 (n=4) e 180 dias (n=4), onde foram obtidas as amostras para avaliação histológica e imunoistoquímica. Na avaliação histológica foram avaliados a qualidade e densidade do colágeno e na imunoistoquímica o percentual de vascularização, densidade e diâmetro dos vasos. As amostras foram coradas em tricrômico de Masson, a fim de analisar a estrutura do colágeno e preparadas imunoistoquimicamente com o anticorpo CD34 para a detecção do endotélio vascular.

*Resultados:* A formação de colágeno foi crescente em todos os períodos avaliados, com aumento significativo aos 180 dias para o grupo MCX e ETC ( $p < 0,05$ ), no entanto, sem diferença entre eles ( $p > 0,05$ ). A MCX demonstrou comportamento vascular similar ao ETC, ambos apresentaram aumento significativo para a densidade de vasos e percentual de vascularização no período de 90 dias ( $p < 0,05$ ), no entanto, só houve diferença entre os grupos para avaliação com 30 dias ( $p < 0,05$ ).

*Conclusão:* A MCX resulta em uma deposição madura e uniforme de colágeno e apresenta um padrão de vascularização semelhante ao ETC.

*Relevância clínica:* Os resultados fornecidos pela MCX, com deposição de colágeno uniforme e resposta vascular similar ao ETC, demonstram que essa matriz é uma alternativa viável ao enxerto autógeno do ponto de vista histológico.

*Palavras chave:* Implantes dentários. Matriz de colágeno. Aumento de tecidos moles. Enxerto de tecido conjuntivo subepitelial.

## **Introdução**

A reabilitação estética e funcional com implantes dentários e a manutenção de uma arquitetura gengival que harmonize com a dentição adjacente consiste em um desafio na odontologia. Sabe-se que após a exodontia, cerca de 2-4 mm de osso vestibular são perdidos, tornando necessário corrigir os defeitos ósseos e reconstruir uma arquitetura dos tecidos moles peri-implantares[1, 2]. O enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) é considerado o padrão ouro para o espessamento de tecidos moles e ganho de volume. Além disso, há evidências que a espessura do tecido mucoso vertical é um importante fator para estabilidade óssea, longevidade de

implantes e prevenção da recessão dos tecidos peri-implantares, que geralmente acompanham a perda óssea da crista alveolar[3].

No entanto, a morbidade adicional causada pela técnica de colheita palatina do ETC é uma grande desvantagem, e representa um ponto crucial do procedimento, pois está correlacionada com a morbidade do paciente, a qualidade do enxerto e o controle do sangramento[4]. Além disso, a necessidade de uma segunda área cirúrgica para a sua coleta, alonga o tempo do procedimento e representa maior susceptibilidade a infecções, além da disponibilidade limitada de tecido conjuntivo, que impossibilita tratar vários leitos peri-implantares.

Conseqüentemente, várias alternativas de aloenxertos foram introduzidas no mercado, incluindo a matriz dérmica acelular (do inglês *acellular dermal matrix*) (ADM), à base de tecidos humanos e com um risco potencial para transmissão de doenças. Assim, a maioria dos países tem restrições aos aloenxertos e o seu uso tem sido limitado pelos clínicos[5].

Para superar as desvantagens associadas ao ETC e ADM, materiais xenógenos à base de colágeno foram desenvolvidos nos últimos anos, para promover a regeneração do tecido queratinizado e para procedimentos de recobrimento radicular. Um desses materiais é a matriz de colágeno acelular xenógena (MCX), derivada da derme porcina e constituída por colágeno e elastina, com uma estrutura tridimensional (3D) de colágeno natural que se assemelha ao tecido conjuntivo humano[6]. A MCX sofre um processo de purificação em várias etapas, removendo todos os componentes antigênicos, de forma que, a matriz 3D promove a proliferação de fibroblastos e células endoteliais, facilitando a rápida revascularização de sua estrutura[7] e subsequente integração dos tecidos moles[8].

Uma das questões-chave para o sucesso de um enxerto, seja autógeno ou alógeno, é a vascularização suficiente do tecido ou matriz implantada, essencial para a entrega de nutrientes e para a remoção de resíduos metabólicos. Um atraso na vascularização pode causar falha do enxerto, e é um problema comum para os substitutos de ETC artificiais devido à falta de vasculatura intrínseca[9]. Estudos clínicos e histológicos tem sido realizados desde 1970, para explicar os mecanismos relacionados à revascularização e integração do ETC ao leito receptor, bem como fatores que podem influenciar seu sucesso ou contração, como espessura[10], quantidade de tecido conjuntivo e natureza do local receptor (periósteo ou osso desnudado)[11, 12].

Um estudo recente[13] sugere que a MCX podem ser uma alternativa viável ao ETC, devido à suas propriedades biomecânicas e bioquímicas únicas. Os dados histológicos confirmaram a boa integração da MCX nos tecidos do hospedeiro, sem sinais de reação adversa ou evidência de resposta inflamatória significativa. Além disso, a MCX possui vantagens como evitar uma segunda área cirúrgica para a coleta do enxerto, diminuição do tempo operatório, ausência de doadores humanos e não há limites para o tamanho da área cirúrgica [8, 14]. Embora a MCX já tenha sido proposta como alternativa a um enxerto autógeno, considerações histológicas sobre suas características em comparação com CTG estão ausentes na literatura[4]. Torna-se, portanto, essencial comparar os resultados obtidos com a utilização da MCX em relação ao ETC e, conseqüentemente, estabelecer a matriz de colágeno como uma alternativa real, previsível e segura. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar histomorfometricamente a formação de colágeno e imunoistoquimicamente a expressão da vascularização do tecido mole ao redor de implantes, após o tratamento com a MCX comparativamente ao ETC, por meio de um ensaio clínico randomizado de boca dividida.

## **Materiais e Métodos**

### *Amostra e desenho do estudo*

Esse ensaio clínico randomizado de boca dividida seguiu as diretrizes do Consort Group[15]. e foi registrado no site de Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC) (ID: RBR-4vgzyt) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (nº 2.219.548).

Participaram do estudo pacientes parcialmente desdentados que necessitavam de implantes dentários e enxerto de tecido gengival em regiões contralaterais, referidos para tratamento na Clínica de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil, no período de Setembro de 2018 e Maio de 2019.

Participaram do estudo os indivíduos que obedeceram os seguintes critérios de inclusão: ausência de dentes na região posterior no mesmo arco em regiões contralaterais; largura óssea mínima de 6 mm; mínimo de 2 mm de gengiva queratinizada; não ter necessidade de regeneração óssea; tecido mole saudável; bom controle de higiene bucal (Índice de placa visível < 20% e índice de sangramento a sondagem <20%); idade entre 18 e 59 anos; não apresentar alergia ao colágeno; não

fazer uso de tabaco; não estar gestante ou lactante e não apresentar desordens sistêmicas. Todos os pacientes que concordaram em participar assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) após a explicação clara dos procedimentos.

Participaram do estudo 9 pacientes que receberam no mesmo tempo cirúrgico, a instalação de implantes e enxertos de ETC (controle) e MCX (teste) em áreas desdentadas contralaterais em um ou mais arcos. Dos 9 pacientes, 6 tiveram apenas 1 área teste e 1 área controle, enquanto 3 indivíduos obtiveram 2 áreas testes e 2 áreas controles, totalizando 24 leitos enxertados (ETC=12; MCX=12). Na etapa pré-cirúrgica, todos os pacientes passaram por uma fase de controle e adequação bucal, e em seguida encaminhados para a etapa cirúrgica.

A cirurgia foi realizada em ambos os grupos sob anestesia local (Articaína 4% com 1:100.000 epinefrina, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Em seguida, uma incisão foi realizada no topo da crista óssea e retalho de espessura total para acesso a área receptora. Todos os pacientes foram reabilitados com implantes BLT (Bone Level Tapered Implant, Straumann Implant System, Basel Switzerland) de diâmetros que variaram de 3.3 a 4.1mm em comprimentos de 6 a 12mm e para todos os implantes foram colocados tampa de implantes com 0,5mm de altura. Após a instalação dos implantes, foi realizada a alocação das áreas receptoras para o grupo teste (MCX) e controle (ETC), através do sorteio de envelopes opacos e selados.

Nas áreas testes, uma MCX (1.5-1.9mm de espessura) e dimensão padrão (15x20mm) foi hidratada com sangue do paciente por 20 minutos e modelada individualmente para se ajustar no local do implante. A matriz foi posicionada cobrindo 10mm da face vestibular e 5mm por lingual além da margem do implante, e estendendo-se até os dentes adjacentes.

Nas áreas controles (ETC), foi removido o enxerto do palato através da técnica do enxerto gengival livre (EGL) e posterior desepetilização. Após adaptação de ambos os enxertos, os sítios foram suturados de modo a cobrir completamente o implante e enxerto com suturas do tipo colchoeiro horizontal e simples com fio 5-0 (PGA Resolon®, Resorba, Nürnberg, Germany).

Os pacientes foram instruídos a não escovar as áreas cirúrgicas por 2 semanas orientados a realizar bochechos com digluconato de clorexidina 0,12% (Colgate, Brasil) 2 vezes ao dia durante 2 semanas. Foram prescritas as seguintes medicações: Amoxicilina 500mg; 8 mg de Dexametasona; Dipirona 1g ou Paracetamol 750mg

(Ache Laboratórios Farmacêuticos SA, Guarulhos, SP). As suturas foram removidas 15 dias após a cirurgia.

Após a cirurgia, os pacientes foram alocados em 3 períodos de cicatrização: 30 (n=3 pacientes – 4 MCX/ 4 ETC), 90 (n=2 pacientes - 4 MCX/ 4 ETC), 180 dias (4 MCX/ 4 ETC) para obtenção da amostra de tecido gengival para análise histomorfométrica e imunoistoquímica (IHQ). As amostras foram colhidas de ambos os grupos através de um Punch descartável de 4mm (Kolplast, Itupeva, SP, Brasil) sob anestesia local. Os espécimes coletados foram fixados em formol 10% neutro tamponado.

Após a remoção do tecido, todos os implantes receberam um cicatrizador correspondente e após 6 meses foram reabilitados com coroas metalocerâmicas.

#### *Análise Histomorfométrica*

As amostras de tecido foram incorporadas em parafina na direção cervico-apical, orientado para seccionar o mais paralelo ao plano de superfície possível. Seções de 5µm de espessura foram submetidos à técnica de coloração histológica com Tricrômico de Masson (TM) para observação da estrutura do colágeno.

As imagens analisadas foram obtidas através do escaneamento total das lâminas histológicas em um scanner digital automatizado (Pannoramic MIDI II®, 3DHISTECH, Budapeste, Hungria). Após a etapa de digitalização, as lâminas foram avaliadas com o auxílio de um software de análise de imagens (Pannoramic Viewer® 1.15.4 RTM, 3DHISTECH, Budapeste, Hungria). A partir das imagens escaneadas, foram selecionados aleatoriamente 5 campos em cada amostra, com magnificação final de 200x. A densidade do colágeno foi avaliada, por um examinador experiente através da distribuição das fibras de colágeno na área total, classificando-o em denso ou frouxo. Para quantificação da área de colágeno, foi adotada a distribuição da área média de colágeno por campo captado na lâmina histológica (área total do campo =  $683,00 \times 352,5 = 240757,5 \mu\text{m}^2$  ou  $240,75 \text{ mm}^2$ ). O cálculo do percentual da área de colágeno por campo foi determinado com o auxílio do software ImageJ® 1.47 (Imaging Processing and Analysis in Java, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) através da ferramenta Color Threshold na função RGB color para a cor azul (Mínimo de 110 e Máximo de 191), saturação (Mínimo de 0 e Máximo de 255) e brilho (Mínimo de 0 e Máximo de 255), efetuando assim a medição da área de colágeno em cada um dos campos analisados. Os dados obtidos foram expressos em



percentual a partir do produto da área total de colágeno dividido pela área total da imagem ( $\mu\text{m}^2$ ).

#### *Análise imunoistoquímica*

Para a detecção de vasos sanguíneos na matriz e no tecido conjuntivo circundante, as amostras foram submetidas a cortes com  $4\mu\text{m}$  de espessura, os quais foram estendidos em lâminas de vidro sinalizadas (Star Frost adhesive slides, Knittelgläser, Braunschweig, Germany). Posteriormente, foi realizada a coloração imunoistoquímica por meio de um anticorpo monoclonal anti-CD34 (Dako, Agilent). Para visualização do anticorpo, foi utilizado o sistema de detecção Dako REAL EnVision (Agilent).

Para avaliação da vascularização foram selecionados aleatoriamente 5 campos para cada amostra de MCX e ETC com magnificação de 200x. A captura das imagens dos cortes histológicos foi realizada através de uma estação de trabalho composta por sistema de vídeo-câmera Moticam 1000 1.3 MP, resolução de  $1280 \times 1024$  (Moticam®) acoplado à um microscópio óptico (Labomed Lx 400) e computador contendo o software Motic Image Plus ® 2.0. Posteriormente, o software ImageJ® 1.47 (Imaging Processing and Analysis in Java, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) foi utilizado para medir os parâmetros de vascularização na área de implantação.

O parâmetro morfométrico adotado foi a distribuição da área média por campo captado na lâmina histológica (área total do campo =  $481,88 \times 361,41 = 74156,2508 \mu\text{m}^2$  ou  $174,16 \text{ mm}^2$ ). Com base nesses dados, o diâmetro dos vasos, a sua densidade e percentual de vascularização foram calculados em cada período de cicatrização (30, 90 e 180 dias). O percentual de vascularização foi calculado a partir da soma da área total de todos os vasos dispostos no campo analisado, expressos como área total de vasos dividido pela área total da imagem ( $\mu\text{m}^2$ ). O diâmetro médio dos vasos foi determinado a partir de três medidas aleatórias realizadas no lúmen dos vasos visíveis, excluindo-se o maior eixo quando o vaso apareceu seccionado no eixo longitudinal. A respectiva densidade de vasos, aconteceu por meio de contagem, expressa como número de vasos por milímetro quadrado (vasos/ $\text{mm}^2$ ).

### *Análise estatística*

Os valores médios para ambos os grupos foram determinados usando as médias individuais dos indivíduos. Os dados obtidos para cada variável avaliada foram registrados, tabulados e calculados em planilha no software SPSS versão 20.0 para Windows. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para escolha do tipo do teste e como não foi possível verificar a normalidade, o teste escolhido foi não paramétrico. Foi adotado o nível de significância de 5%, ou seja,  $p < 0,05$  e os dados foram apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão.

### **Resultados**

Os resultados demonstraram uma formação de colágeno crescente de acordo com o período de avaliação, com aumento significativo no período de 180 dias para o MCX ( $83,85 \pm 9,00\%$ ) e ETC ( $86,71 \pm 5,53\%$ ) ( $p < 0,05$ ). No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1).

O grupo MCX apresentou padrão de tecido conjuntivo frouxo no primeiro período de 30 dias. No intervalo de 90 e 180 dias, foram identificadas características histológicas similares entre os grupos MCX e ETC. O tecido conjuntivo exibiu densos feixes de fibras colágenas, com distribuição uniforme em todos os locais dos tecidos no período de 180 dias, o que revela a maturação do colágeno em ambos os grupos, não havendo diferença entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2) (Figura 1).

Uma amostra do grupo MCX foi excluída no período de 30 dias, em função da indisponibilidade de material para realização da análise IHQ. Quanto a vascularização, os espécimes exibiram vasos sanguíneos com diâmetro variado dentro do mesmo período de cicatrização para ambos os grupos. Contudo, os achados foram similares para o grupo ETC ( $94,88 \pm 20,16$ ) e MCX ( $94,61 \pm 5,04$ ) no período de 30 dias. No período de 180 dias, comportamento também semelhante com o ETC ( $96,00 \pm 27,90$ ) e MCX ( $90,08 \pm 27,90$ ). E por fim, os maiores vasos foram observados no período de 90 dias para ambos os grupos, ETC ( $118,5 \pm 19,01$ ) e MCX ( $171,1 \pm 108,06$ ) (Tabela 3).

A localização dos vasos positivos para a IHQ demonstrou maior densidade de vasos no período de 90 dias do grupo MCX ( $10,14 \pm 1,52$  vasos/mm<sup>2</sup>) ( $p < 0,05$ ) e ETC ( $7,12 \pm 3,96$  vasos/mm<sup>2</sup>) ( $p > 0,05$ ), e sem diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3). As áreas sugestivas de vestígios da MCX exibiram um tecido conjuntivo

permeado por muitos capilares sanguíneos em seu íntimo, indicativo de uma maior neoformação de vasos sanguíneos e integração do enxerto ao tecido (Figura 2).

De forma geral, as mudanças observadas nos parâmetros vasculares seguiram o mesmo padrão para ambos os grupos, com importante aumento na expressão IHQ aos 90 dias. Contudo, a MCX apresentou alterações maiores e com significância estatística ( $p > 0,05$ ) em todos os períodos avaliados, 30, 90 e 180 dias para o percentual de vascularização. Quando comparados os grupos MCX e ETC, só houve diferenças no percentual de vascularização para o período de 30 dias ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

## **Discussão**

Para o conhecimento, há apenas um estudo histológico em humanos avaliando a vascularização da MCX. Contudo, esse é o primeiro ensaio clínico randomizado (ECR) de boca dividida realizado em humanos para avaliar a formação de colágeno e a vascularização ao redor de implantes após a utilização da MCX quando comparada com ETC em três estágios de cicatrização. Basicamente, não ocorreram reações clínicas adversas e a MCX foi bem tolerada pelos pacientes. O presente estudo revelou que, após 30, 90 e 180 dias de cicatrização, a MCX exibiu crescente formação de colágeno e assim como o ETC, ambos demonstraram boa integração aos tecidos do hospedeiro, corroborando com o estudo de Thoma et al.(2016)[16], que por meio de um ECR avaliaram o comportamento clínico e histológico de uma matriz colágena reticulada comparativamente ao ETC em pacientes que precisavam de aumento de tecido mole após realização de implante unitário. Entretanto, foram realizadas biopsias apenas no período único de 90 dias, que exibiram fibras colágenas densas sem uma distinção clara entre ETC e conjuntivo recém-formado.

O único estudo histológico que avaliou o comportamento da MCX em humanos foi conduzido por Puisys et al.(2019)[13], em 20 pacientes, com apenas 60 dias de cicatrização. Assim como no presente estudo, todos os enxertos estavam completamente integrados. Tal comportamento pode ser justificado pelos métodos de processamento da MCX. A derme porcina sofre um processo de purificação em várias etapas, que remove todos os componentes antigênicos. Esse processamento resulta em uma matriz tridimensional estável, que consiste em colágeno e elastina com uma estrutura de colágeno natural que se assemelha ao tecido conjuntivo humano. Após a implantação, esta rede de colágeno serve como um arcabouço para o crescimento de

vasos sanguíneos e células, apoiando assim uma revascularização rápida e integração de tecido. A degradação simultânea da matriz e a produção de colágeno de fibroblastos aderentes conduzem a uma substituição completa da matriz pelo tecido hospedeiro recém-formado e a ausência de reticulação oferece vantagens em relação à integração tecidual[7].

A padronização do procedimento cirúrgico aplicado e a alocação aleatória dos enxertos garantiram a maior comparabilidade possível entre os grupos. Nenhuma complicação de cicatrização ocorreu em todos os períodos avaliados em ambos os grupos, demonstrando boa integração tecidual da MCX utilizada. Achados consistentes com os resultados de outros estudos, que buscaram desvendar o processo de integração das matrizes de colágeno usadas para espessamento de tecidos moles, procedimentos de cobertura radicular e para a regeneração da mucosa queratinizada [17, 18].

Diferente do observado no estudo de Thoma *et al.*, (2016) [16], as amostras de MCX exibiram similar distribuição dos componentes do tecido nas áreas de implantação da matriz e no tecido conjuntivo circundante. Além disso, foram observadas no presente estudo ilhas ricas em vasos sanguíneos permeando o interior da matriz e distribuídas também na lâmina própria, importante fator relacionado a perfusão e nutrição do enxerto, sua integração e manutenção da viabilidade do retalho. Além disso, o MCX exibiu densidade e percentual de vascularização similar ao ETC, com diferenças apenas no período de cicatrização de 30 dias. Para alcançar resultados comparáveis aos enxertos de ETC, a MCX deve ser ocupada por células progenitoras, para que os tecidos recém-formados possam se misturar às fibras de colágeno da matriz antes que a sua degradação seja concluída, em função do aumento da demandada energética para prover o crescimento de novas células no local da regeneração tecidual, que é suprida através dos vasos sanguíneos na forma de oxigênio e metabólitos[19].

Outro fator importante relacionado a eficácia da MCX e dos demais enxertos xenógenos é sua manutenção por tempo suficiente a fim de permitir que as células invadam a matriz de colágeno e novos tecidos sejam formados[7], e neste aspecto a MCX se mostrou eficiente, uma vez que as amostras exibiram após 180 dias da realização do procedimento, feixes de fibras colágenas densas características da matriz, o que sugere a sua permanência mesmo em período de cicatrização prolongados. Fato que foi observado também no estudo de Puisys *et al.* (2019) [13]

com apenas 60 dias de avaliação. Além disso, as amostras exibiram frouxas fibras colágenas permeando as densas fibras da matriz, indicativo de tecido conjuntivo recém-formado, o que demonstra a excelente integração do enxerto aos tecidos moles circundantes, permitindo processos de remodelação e melhorando a formação de novo tecido conjuntivo. Esta conclusão é ainda substanciada pelo aumento progressivo com o passar do tempo, não só da quantidade de colágeno formado, mas da integração das fibras à lâmina própria. Além disso, as amostras de ETC também exibiram formação progressiva de colágeno denso e no estágio mais avançado de cura dos enxertos, o percentual de colágeno para ETC e MCX foram similares. Tal fato não corrobora com o estudo de Thoma et al. (2016) [16], onde as biópsias de ETC revelaram uma rede de tecido conjuntivo relativamente frouxo, atingindo 78% no período de 90 dias.

Ainda no estudo de Thoma et al. (2016) [16], as amostras de ETC exibiram alto número alto de vasos sanguíneos de pequeno calibre no período de 90 dias. Contudo, as amostras foram avaliadas por inspeção visual e não por critérios objetivos como neste estudo. Além disso, os achados foram parcialmente divergentes. No período de 90 dias, a avaliação imunoistoquímica da MCX exibiu aumento exuberante em relação ao diâmetro, densidade e percentual de vascularização, sugerindo uma angiogênese exuberante em relação aos três períodos avaliados, com aumento em relação ao período de 30 dias e redução nos estágios mais avançados de cicatrização aos 180 dias. Fato que é compatível com o estágio de cura em que o enxerto se encontra e coerente com o processo natural de reparo com a regressão da atividade inflamatória, pois à medida que o tecido amadurece, as células endoteliais sofrem morte celular programada (apoptose) e o número de unidades vasculares é reduzido [20]. Além disso, os espécimes de ETC exibiram o mesmo padrão de mudanças nos parâmetros vasculares que foi observado na MCX.

As principais limitações deste estudo incluem o pequeno tamanho da amostra e ausência de avaliações nas diferentes porções do tecido, a fim de melhor esclarecer o comportamento vascular da MCX. O estudo avaliou histomorfometricamente o colágeno e a vascularização favorecida pela MCX comparativamente ao ETC para modificação do tecido peri-implantar em casos especificamente selecionados: região posterior, em periodonto saudável de pacientes sistemicamente saudáveis e não fumantes. Os potenciais resultados clínicos e radiográficos dos enxertos não fazem parte deste estudo e, portanto, não foram relatados, tornando necessário a realização

de estudos futuros com desenhos mais amplos, maior amostra e tempo de acompanhamento.

### **Conclusões**

Pode-se concluir, portanto, que do ponto de vista histomorfométrico e imunoistoquímico, a matriz de colágeno xenógena, pode ser considerada uma opção viável para espessamento da mucosa peri-implantar, pois apresentou uma deposição madura e uniforme de colágeno, assim como um padrão de vascularização semelhante ao ETC.

### **Referências**

- [1] Lekovic V, Kenney EB, Weinlaender M, et al. (1997) A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol* 68(6): 563-570. 10.1902/jop.1997.68.6.563
- [2] Buser D, Wittneben J, Bornstein MM, Grutter L, Chappuis V, Belser UC (2011) Stability of contour augmentation and esthetic outcomes of implant-supported single crowns in the esthetic zone: 3-year results of a prospective study with early implant placement postextraction. *J Periodontol* 82(3): 342-349. 10.1902/jop.2010.100408
- [3] Puisys A, Linkevicius T (2015) The influence of mucosal tissue thickening on crestal bone stability around bone-level implants. A prospective controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 26(2): 123-129. 10.1111/clr.12301
- [4] Tavelli L, McGuire MK, Zucchelli G, et al. (2019) Extracellular matrix-based scaffolding technologies for periodontal and peri-implant soft tissue regeneration. *J Periodontol*. 10.1002/jper.19-0351
- [5] Pabst AM, Happe A, Callaway A, et al. (2014) In vitro and in vivo characterization of porcine acellular dermal matrix for gingival augmentation procedures. *J Periodontal Res* 49(3): 371-381. 10.1111/jre.12115
- [6] Ramachandra SS, Rana R, Reetika S, Jithendra KD (2014) Options to avoid the second surgical site: a review of literature. *Cell Tissue Bank* 15(3): 297-305. 10.1007/s10561-013-9395-8
- [7] Rothamel D, Benner M, Fienitz T, et al. (2014) Biodegradation pattern and tissue integration of native and cross-linked porcine collagen soft tissue augmentation matrices - an experimental study in the rat. *Head Face Med* 10: 10. 10.1186/1746-160x-10-10

- [8] Kasaj A, Levin L, Stratul SI, et al. (2016) The influence of various rehydration protocols on biomechanical properties of different acellular tissue matrices. *Clin Oral Investig* 20(6): 1303-1315. 10.1007/s00784-015-1614-1
- [9] Supp DM, Supp AP, Bell SM, Boyce ST (2000) Enhanced vascularization of cultured skin substitutes genetically modified to overexpress vascular endothelial growth factor. *J Invest Dermatol* 114(1): 5-13. 10.1046/j.1523-1747.2000.00824.x
- [10] Seibert SESALADCEJS (1973) Clinical and Histologic Studies of Donor Tissues Utilized for Free Grafts of Masticatory Mucosa - Soehren - 1973 - *Journal of Periodontology* - Wiley Online Library. *Journal of Periodontology* 44. 10.1902/jop.1973.44.12.727
- [11] Jr. WCJWTM (1978) Placement of Free Gingival Grafts on Denuded Alveolar Bone—Part I: Clinical Evaluations - James - 1978 - *Journal of Periodontology* - Wiley Online Library. *Journal of Periodontology* 44(283). 10.1902/jop.1978.49.6.283
- [12] Firestone WMFSAR (1981) The Relationship Between Success of Free Gingival Grafts and Transplant Thickness: Revascularization and Shrinkage—A One Year Clinical Study - Mörmann - 1981 - *Journal of Periodontology* - Wiley Online Library. *Journal of Periodontology* 52(74). 10.1902/jop.1981.52.2.74
- [13] Puisys A, Zukauskas S, Kubilius R, et al. (2019) Clinical and Histologic Evaluations of Porcine-Derived Collagen Matrix Membrane Used for Vertical Soft Tissue Augmentation: A Case Series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 39(3): 341-347. 10.11607/prd.4097
- [14] Bottino MC, Jose MV, Thomas V, Dean DR, Janowski GM (2009) Freeze-dried acellular dermal matrix graft: effects of rehydration on physical, chemical, and mechanical properties. *Dent Mater* 25(9): 1109-1115. 10.1016/j.dental.2009.03.007
- [15] Schulz KF, Altman DG, Moher D (2010) CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMC Medicine* 8(1): 18. doi:10.1186/1741-7015-8-18
- [16] Thoma DS, Zeltner M, Hilbe M, Hammerle CH, Husler J, Jung RE (2016) Randomized controlled clinical study evaluating effectiveness and safety of a volume-stable collagen matrix compared to autogenous connective tissue grafts for soft tissue augmentation at implant sites. *J Clin Periodontol* 43(10): 874-885. 10.1111/jcpe.12588
- [17] McGuire MK, Scheyer ET (2010) Xenogeneic collagen matrix with coronally advanced flap compared to connective tissue with coronally advanced flap for the treatment of dehiscence-type recession defects. *J Periodontol* 81(8): 1108-1117. 10.1902/jop.2010.090698
- [18] Thoma DS, Hammerle CH, Cochran DL, et al. (2011) Soft tissue volume augmentation by the use of collagen-based matrices in the dog mandible -- a

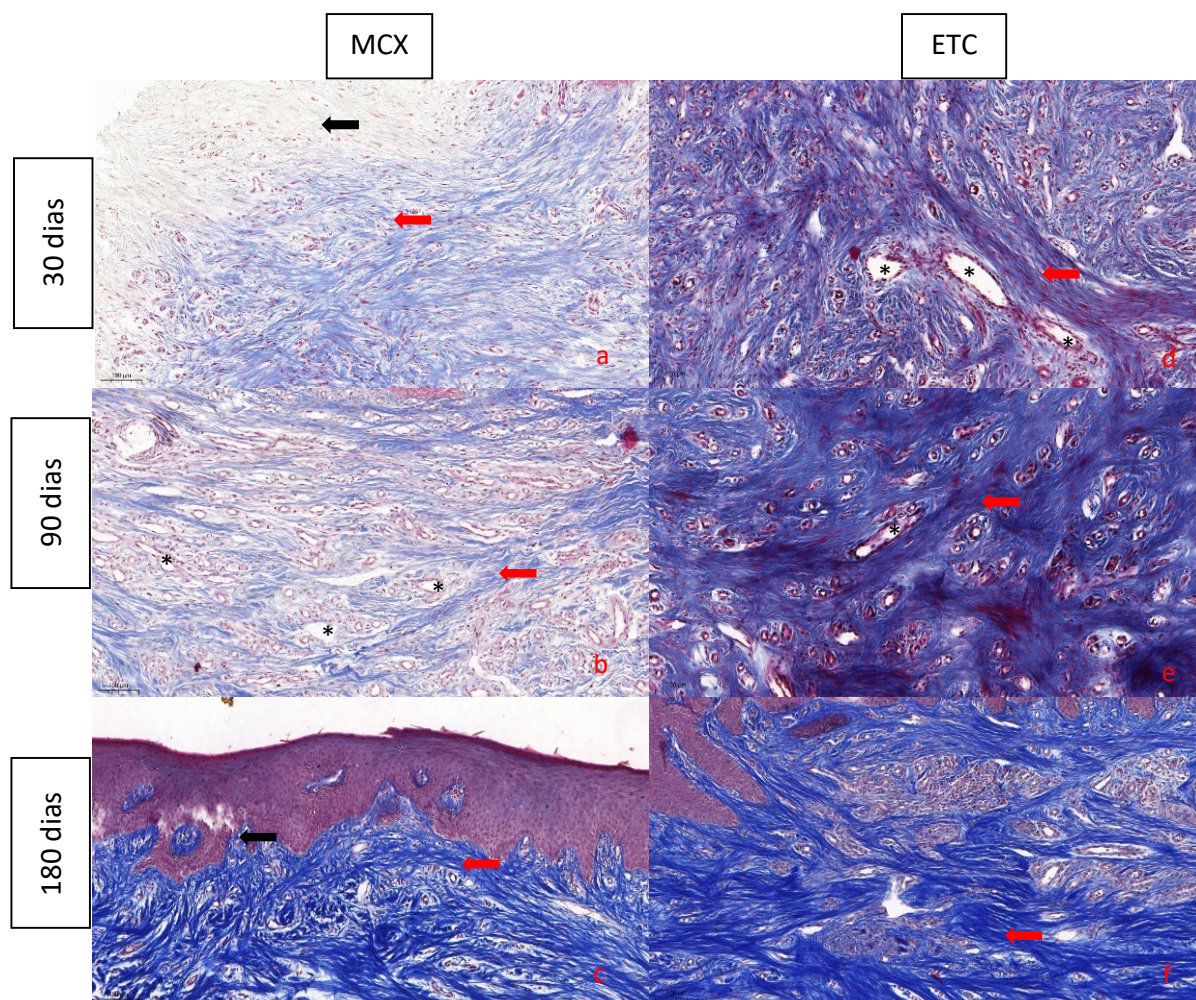
histological analysis. *J Clin Periodontol* 38(11): 1063-1070. 10.1111/j.1600-051X.2011.01786.x

[19] Park JS, Pabst AM, Ackermann M, Moergel M, Jung J, Kasaj A (2018) Biofunctionalization of porcine-derived collagen matrix using enamel matrix derivative and platelet-rich fibrin: influence on mature endothelial cell characteristics in vitro. *Clin Oral Investig* 22(2): 909-917. 10.1007/s00784-017-2170-7

[20] Niklaus P. Lang JL (2015) *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*



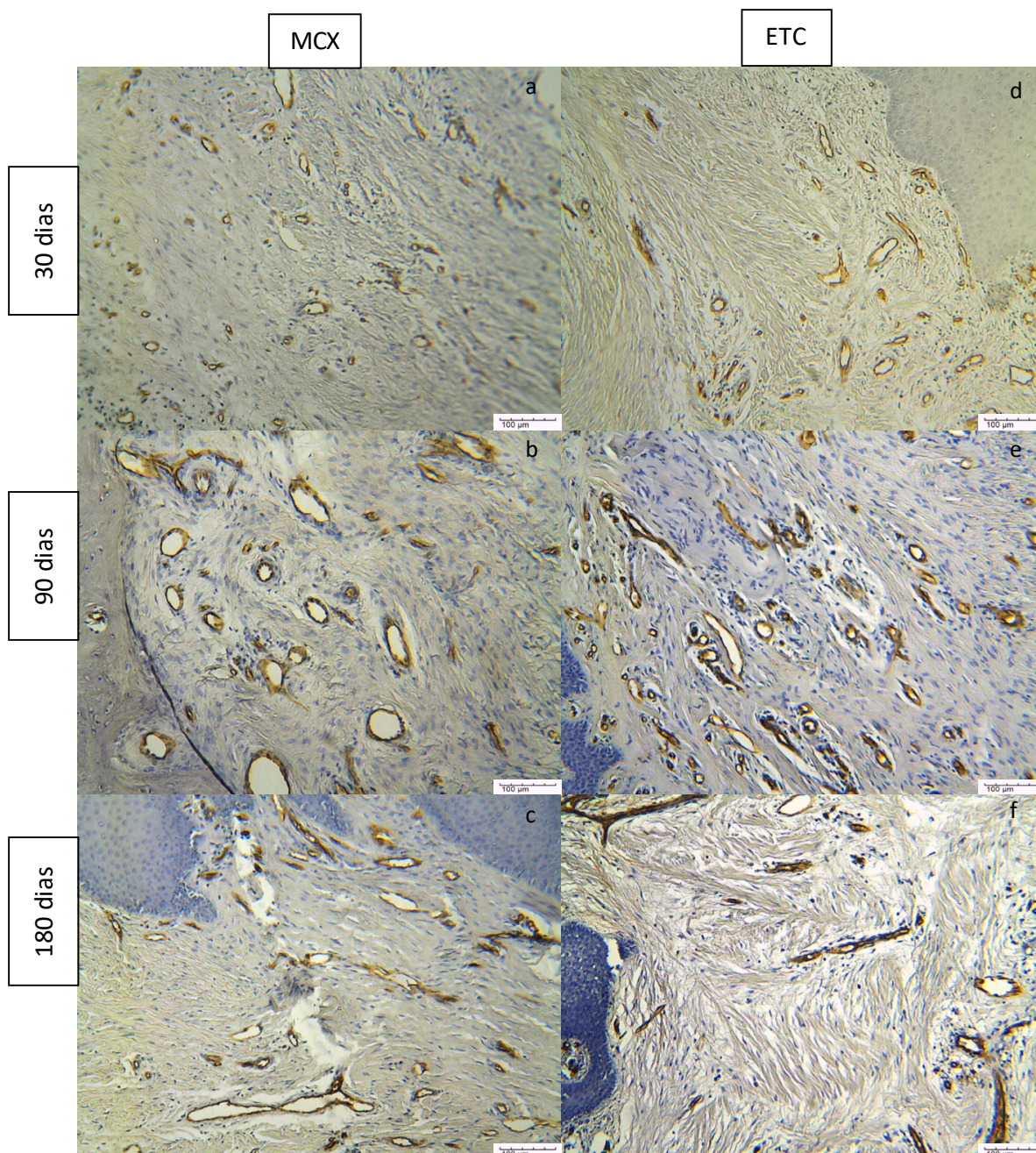
## Figuras



**Figura 6 - Imagem histológica dos espécimes de ETC e MCX nos períodos de 30, 90 e 180 dias**

(a) visão geral de um lado da MCX implantada no período de 30 dias. (seta preta = lâmina própria); (seta vermelha – MCX). (b) densas fibras colágenas na área sugestiva da MCX no período de 90 dias. (\*vasos). (c) Integração completa da MCX a lâmina própria no período de 180 dias (seta vermelha – densos feixes de fibras colágenas); (\*vasos). (d,e,f) densas fibras colágenas no período de 30, 90 e 180 dias para o ETC, exibindo crescente formação de colágeno. (Coloração TM, ampliação  $\times 10$ , barra de escala = 100  $\mu\text{m}$ ).





**Figura 7 - Imagem imunohistoquímica do anticorpo CD34 nos espécimes de ETC e MCX nos períodos de 30, 90 e 180 dias.**

(a) Visão geral de um lado da MCX exibindo a vascularização no enxerto no período de 30 dias. (b) visão geral de um lado da MCX no período de 90 dias exibindo o tecido ricamente vascularizado e seu aumento em relação ao primeiro período de avaliação. (c) corte histológico no período de 180 dias do enxerto MCX, exibindo a maturação do endotélio vascular; (d) Imagem imunohistoquímica representativa de um lado do enxerto ETC exibindo a vascularização no período de 30 dias, permeando densos feixes de fibras colágenas; (e) visão geral de um lado do enxerto ETC no período de 90 dias exibindo o tecido ricamente vascularizado, exibindo o aumento da vascularização e vasos variando em calibre; (f) período de 180 dias do enxerto ETC, exibindo vasos sanguíneos maduros; (ampliação de  $\times 10$ , barra de escala = 100  $\mu\text{m}$ ) (imunocoloração CD34).

Tabela 1- Medidas descritivas dos grupos estudados ETC e MCX para a quantidade de colágeno.

Grupo	Período	N	Pos-hoc	Média ± Desvio-padrão	p-valor <sup>1</sup>
<b>ETC</b>	30 dias	4	A	59,41 ± 16,68	0,021*
	90 dias	4	A	64,75 ± 16,31	
	180 dias	4	B	86,71 ± 5,53	
<b>MCX</b>	30 dias	4	A	52,95 ± 13,30	0,037*
	90 dias	4	A	55,73 ± 13,98	
	180 dias	4	B	83,85 ± 9,00	

1 –Teste Não Paramétrico de Kruskal Wallis; Letras iguais não diferem com significância estatística.

Tabela 2 - Medidas descritivas dos grupos estudados ETC e MCX para a quantidade e densidade de colágeno.

ETC					MCX				p-valor <sup>1</sup>
Período	N	Quant. de colágeno (Média ± Dp)	Frouxo	Denso	N	Quant. de colágeno (Média ± Dp)	Frouxo	Denso	
30 dias	4	59,41 ± 16,68	25%	75%	4	52,95 ± 13,30	100%	0%	0,564
90 dias	4	64,75 ± 16,31	0%	100%	4	55,73 ± 13,98	25%	75%	0,386
180 dias	4	86,71 ± 5,53	0%	100%	4	83,85 ± 9,00	0	100%	0,773

1-Teste não paramétrico de Mann-Whitney

Tabela 3 - Medidas descritivas para o grupo ETC e MCX em relação a vascularização

	ETC					MCX				p-valor <sup>3</sup>
	Período	N	Pos-hoc	Média ± Desvio-padrão	p-valor <sup>1</sup>	N	Pos-hoc	Média ± Desvio-padrão	p-valor <sup>2</sup>	
<b>Diâmetro</b>	30 dias	4	A	94,89 ± 20,17	0,390	3	A	94,61 ± 5,03	0,110	1,000
	90 dias	4	A	118,51 ± 19,01		4	A	171,09 ± 108,07		0,773
	180 dias	4	A	96,01 ± 27,98		4	A	91,08 ± 30,44		0,564
<b>Densidade</b>	30 dias	4	A	6,34 ± 5,01	0,138	3	A	5,32 ± 0,76	0,026*	0,372
	90 dias	4	A	7,12 ± 3,96		4	B	10,14 ± 1,52		0,248
	180 dias	4	A	2,93 ± 1,76		4	A	4,69 ± 1,31		0,248
<b>Percentual de vascularização (%)</b>	30 dias	4	A	8,46 ± 1,18	0,309	3	A	11,17 ± 0,24	0,012*	0,034*
	90 dias	4	A	18,71 ± 18,97		4	B	27,13 ± 10,26		0,248
	180 dias	4	A	8,22 ± 11,89		4	C	4,62 ± 1,26		0,248

1 e 2 –Teste Não Paramétrico de Kruskal Wallis; Letras iguais não diferem com significância estatística

3 - Teste não paramétrico de Mann-Whitney

## REFERÊNCIAS

- 1 LEKOVIC, V. et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. **J Periodontol**, v. 68, n. 6, p. 563-70, Jun 1997. ISSN 0022-3492 (Print)0022-3492. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1997.68.6.563> >.
- 2 BUSER, D. et al. Stability of contour augmentation and esthetic outcomes of implant-supported single crowns in the esthetic zone: 3-year results of a prospective study with early implant placement postextraction. **J Periodontol**, v. 82, n. 3, p. 342-9, Mar 2011. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2010.100408> >.
- 3 PUISYS, A.; LINKEVICIUS, T. The influence of mucosal tissue thickening on crestal bone stability around bone-level implants. A prospective controlled clinical trial. **Clin Oral Implants Res**, v. 26, n. 2, p. 123-9, Feb 2015. ISSN 0905-7161. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/clr.12301> >.
- 4 TAVELLI, L. et al. Extracellular matrix-based scaffolding technologies for periodontal and peri-implant soft tissue regeneration. **J Periodontol**, Sep 1 2019. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/jper.19-0351> >.
- 5 RAMACHANDRA, S. S. et al. Options to avoid the second surgical site: a review of literature. **Cell Tissue Bank**, v. 15, n. 3, p. 297-305, Sep 2014. ISSN 1389-9333. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s10561-013-9395-8> >.
- 6 KASAJ, A. et al. The influence of various rehydration protocols on biomechanical properties of different acellular tissue matrices. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 6, p. 1303-15, Jul 2016. ISSN 1432-6981. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-015-1614-1> >.
- 7 ROTHAMEL, D. et al. Biocompatibility and biodegradation of a native porcine pericardium membrane: results of in vitro and in vivo examinations. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 27, n. 1, p. 146-54, Jan-Feb 2012. ISSN 0882-2786. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
- 8 SINGH, H. P. et al. A quantitative and qualitative comparative analysis of collagen fibers to determine the role of connective tissue stroma on biological behavior of odontogenic cysts: A histochemical study. In: (Ed.). **Natl J Maxillofac Surg**, v.3, 2012. p.15-20. ISBN 0975-5950 (Print)2229-3418 (Electronic).
- 9 SUPP, D. M. et al. Enhanced vascularization of cultured skin substitutes genetically modified to overexpress vascular endothelial growth factor. **J Invest**

**Dermatol**, v. 114, n. 1, p. 5-13, Jan 2000. ISSN 0022-202X (Print)0022-202x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00824.x> >.

- 10 SEIBERT, S. E. S. A. L. A. D. E. C. J. S. Clinical and Histologic Studies of Donor Tissues Utilized for Free Grafts of Masticatory Mucosa - Soehren - 1973 - Journal of Periodontology - Wiley Online Library. **Journal of Periodontology**, v. 44, 1973. Disponível em: < <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.1973.44.12.727> >.
- 11 JR., W. C. J. W. T. M. Placement of Free Gingival Grafts on Denuded Alveolar Bone—Part I: Clinical Evaluations - James - 1978 - Journal of Periodontology - Wiley Online Library. **Journal of Periodontology**, v. 44, n. 283, 1978. Disponível em: < <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.1978.49.6.283> >.
- 12 FIRESTONE, W. M. F. S. A. R. The Relationship Between Success of Free Gingival Grafts and Transplant Thickness: Revascularization and Shrinkage—A One Year Clinical Study - Mörmann - 1981 - Journal of Periodontology - Wiley Online Library. **Journal of Periodontology**, v. 52, n. 74, 1981. Disponível em: < <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.1981.52.2.74> >.
- 13 PUISYS, A. et al. Clinical and Histologic Evaluations of Porcine-Derived Collagen Matrix Membrane Used for Vertical Soft Tissue Augmentation: A Case Series. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 39, n. 3, p. 341-347, May/Jun 2019. ISSN 0198-7569. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.11607/prd.4097> >.
- 14 SCHULZ, K. F.; ALTMAN, D. G.; MOHER, D. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **BMC Medicine**, v. 8, n. 1, p. 18, 2010-03-24 2010. ISSN 1741-7015. Disponível em: < <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-8-18?report=reader> >.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o(a) sr.(a) para participar como voluntário(a) da pesquisa intitulada “**Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm®) – ensaio clínico randomizado de boca dividida**”, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Renata Cimões Jovino Silveira: Av. Prof. Moraes Rêgo, nº. 1235, 1º andar, Cidade Universitária, CEP: 50670-901; telefone para contato: (81) 2126-8817, e-mail: ([renata.cimoes@globocom.com](mailto:renata.cimoes@globocom.com)), e como pesquisadores assistentes Camila Agra Souza ([camila.agra@gmail.com](mailto:camila.agra@gmail.com)) e Marcelo Pereira Nunes ([mpn73@terra.com.br](mailto:mpn73@terra.com.br)).

Este termo de consentimento pode conter alguns tópicos que o(a) senhor(a) não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa que está lhe entrevistando, para que o(a) senhor(a) esteja bem esclarecido(a) sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubriche as folhas e assine ao final deste documento que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, o(a) sr.(a) não será penalizado(a) de forma alguma. Também garantimos que o(a) senhor(a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade.

#### 1 Justificativa e objetivos da pesquisa:

O nosso objetivo será avaliar clínica e histologicamente (à nível celular) o aumento da espessura do tecido mole ao redor dos implantes, utilizando a matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm®, Botiss, Germany), caracterizada por uma membrana modificada proveniente de tecido de porcos, comparativamente ao enxerto de tecido conjuntivo do próprio indivíduo. Através deste estudo, poderemos verificar quais as vantagens e desvantagens do uso deste biomaterial quando comparado à técnica de enxerto convencional, diminuindo a morbidade dos pacientes e o tempo do tratamento.

#### 2 Informações:

Procedimentos: O(a) sr.(a) passará por um exame clínico bucal para confirmar a ausência de dentes com necessidade de reposição com implantes. Será realizado um questionário pré-cirúrgico para a obtenção dos dados sócio-demográficos relativos ao seu nome, idade, endereço, telefone e história clínica odontológica.

O(a) sr.(a) passará pelo procedimento cirúrgico da instalação dos implantes e das membranas em dia e horário previamente agendado. O(a) sr.(a) receberá informações e orientações pós-operatórias, bem como uma prescrição de analgésicos ou anti-inflamatórios em caso de desconforto relativo ao procedimento cirúrgico. Após a cirurgia, serão realizadas sessões de acompanhamento para a avaliação dos resultados clínicos nos períodos de 30, 60, 90 e 120 dias. Será realizada uma biópsia, apenas durante uma das avaliações, onde uma pequena amostra de tecido gengival será removida das áreas tratadas para a análise histológica. O(a) senhor(a) será submetido a apenas uma biópsia durante esta pesquisa e isto não prejudicará o resultado final do tratamento.

O indivíduo submetido à pesquisa poderá correr riscos durante e após o procedimento cirúrgico, tais como: alergia ao anestésico ou à membrana enxertada, complicações hemorrágicas e dor/desconforto durante a fase inicial de cicatrização. Porém, os pesquisadores trabalharão com o intuito de minimizar os possíveis riscos.

Benefícios diretos como a melhoria na estética do sorriso, a otimização da higiene oral e a redução da morbidade dos pacientes e do tempo do tratamento poderão ser observadas nos voluntários participantes.

#### 3 Garantias:

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em pastas de arquivo e computador pessoal, sob a responsabilidade da



pesquisadora Renata Cimões Jovino Silveira, no endereço acima informado, pelo período de 05 anos. O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: [cepccs@ufpe.br](mailto:cepccs@ufpe.br)).

---

Pesquisador: Renata Cimões Jovino Silveira

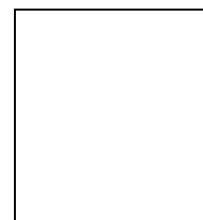
### CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO(A)

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **“Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelar xenógena (Mucoderm®) – ensaio clínico randomizado de boca dividida”** como voluntário(a). Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisador(a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/ tratamento.

Local e data \_\_\_\_\_

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

**Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.** (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):



Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

## APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA



### PRONTUÁRIO ODONTOLÓGICO

*Extensão em Periodontia*

#### IDENTIFICAÇÃO

---

1. Nome: \_\_\_\_\_
  2. Nacionalidade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  3. Estado civil: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_
  4. Endereço Residencial: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_  
Cidade: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_ CEP.: \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_  
E-mail: \_\_\_\_\_
  5. Indicado por \_\_\_\_\_ Os itens **6,7,8e9** dizem respeito ( ) ao paciente ( ) ao responsável
  6. Endereço comercial: \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_
  7. Fone Celular: \_\_\_\_\_ 8.RG: \_\_\_\_\_ 9.CPF: \_\_\_\_\_
  10. Nome do responsável (se houver): \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_
  11. Em caso de emergência, avisar \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_
  12. Cirurgiões-Dentistas anteriores e época de atuação: \_\_\_\_\_
- 

#### SAÚDE GERAL

- |   |                              |                              |   |
|---|------------------------------|------------------------------|---|
| 1 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Está ou esteve recentemente em tratamento médico?     |
| 2 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Está tomando algum remédio?                           |
| 3 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Está grávida? Se sim, de quantos meses?               |
| 4 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Está tomando anticoncepcional?                        |
| 5 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Alguma vez teve que suspender o uso de algum remédio? |
| 6 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Tem alergia?  |
| 7 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | É sensível a metais ou ao látex?                      |
| 8 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | É diabético, com diabetes controlada?                 |
| 9 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Tem anemia?   |
| 0 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Tem asma?   |
| 1 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | É HIV positivo?                                       |
| 2 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | É sujeito a infecções?                                |
| 3 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Tem epilepsia ou ataques nervosos?                    |
| 4 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Já teve convulsões alguma vez?                        |
| 5 | <input type="checkbox"/> SIM | <input type="checkbox"/> NÃO | Costuma desmaiar ou sentir tonturas com freqüência?   |



6	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem pressão normal? Se não, tem pressão alta ou baixa?
7	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Usa marcapasso ou válvula cardíaca artificial?_
8	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem articulações artificiais ou usa prótese?
9	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem formigamento ou inchaço nas extremidades?
0	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Quando se fere, sangra muito? / Demora para cicatrizar?
1	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Fuma ou consome qualquer variedade de tabaco? Desde quando?
2	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Quantos por dia Já foi operado?
3	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Já teve alguma outra doença grave?
4	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem problemas cardíacos ou circulatório?
5	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem problemas gástrico-intestinais?
6	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem problemas renais?
7	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem problemas hepáticos?
8	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sofre distúrbios na gravidez, menstruação e menopausa (mulheres) o próstata (homens)
9	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Há alguma outra informação importante sobre sua saúde que não tenhamos perguntado aqui?
0	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Alguém na sua família apresenta algum dos problemas descritos?

### SAÚDE BUCAL

1	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Respira bem pelo nariz?
2	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sente alguma dificuldade ou barulho ao abrir a boca?
3	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sente dores na articulação da mandíbula, no ouvido ou na face?
4	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Range os dentes?
5	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Mastiga dos dois lados da boca?
6	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Acha que consegue mastigar bem os alimentos?
7	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sente retenção de comida entre os dentes?
8	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Tem hábito de mascar chiclete ou bala?
9	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Ingere muito doce?
0	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Toma café ou outros líquidos escuros com muita frequência?
1	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Costuma comer fora de hora?
2	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Escova depois?
3	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sente sua gengiva inchada ou dolorida?
4	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Sua gengiva sangra freqüentemente ou quando escova os dentes?
5	<input type="checkbox"/> SIM	<input type="checkbox"/> NÃO	Já teve instrução de higiene bucal? Escova os dentes? Quantas vezes ao dia?

- 6  SIM  NÃO Qual creme dental utiliza  
Demora escovando? Quanto tempo dispende a cada vez?
- 7  SIM  NÃO Usa fio dental? Quantas vezes ao dia?
- 8  SIM  NÃO Faz regularmente gargarejo com algum produto próprio para  
9  SIM  NÃO isso? Vai com frequência vai ao dentista? Quando foi seu último  
0  SIM  NÃO tratamento? Concluiu? Se não, por quê?
- 1  SIM  NÃO Já tomou anestesia local para tratar ou extrair dentes? Foi  
2  SIM  NÃO tudo bem?
- 

Certifico que as informações aqui prestadas são verdadeiras.

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura do ( ) paciente ou ( ) responsável:

#### DADOS PERIODONTAIS

Qualidade de higiene bucal: \_\_\_\_\_

Frequência e meios utilizados na limpeza dos dentes \_\_\_\_\_

Condição clínica gengival: \_\_\_\_\_

Posição gengival (recessão) SIM ( ) NÃO ( )

Identifique: \_\_\_\_\_

Dentes com aparelho ortodôntico: SIM ( ) NÃO ( )

#### EXAMES COMPLEMENTARES:

Radiográfico ( ) Laboratorial ( ) Interpretação dos exames complementares:

Radiográfico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Laboratorial: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

PROGNÓSTICO:

Individual \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Geral: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**PLANO DE TRATAMENTO:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**CIRÚRGICO:**

Tipo de cirurgia: \_\_\_\_\_

Região: \_\_\_\_\_

Tipo de cirurgia: \_\_\_\_\_

Região: \_\_\_\_\_

**CONTROLE:**

Controle clínico imediato: \_\_\_\_\_

Controle radiográfico imediato: \_\_\_\_\_

Controle clínico mediato: \_\_\_\_\_

Controle radiográfico mediato: \_\_\_\_\_





## APÊNDICE C – CARTA DE ANUÊNCIA



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia  
Doutorado em Clínica Integrada

## CARTA DE ANUÊNCIA

Declaro, para fins de pesquisa, que tenho ciência e autorizo a realização do estudo intitulado: **“Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm®) – ensaio clínico randomizado de boca dividida”**, pelo tempo suficiente para a realização de todas as fases previstas, bem como autorizo a utilização da estrutura física desse Departamento para a execução do mesmo.

Recife, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

---

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Renata Cimões Jovino Silveira

## APÊNDICE D – RECOMENDAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE PRÓTESE E CIRURGIA BUCO FACIAL  
EXTENSÃO EM PERIODONTIA

### ORIENTAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Você foi submetido a uma intervenção cirúrgica. Para obter seu pronto reestabelecimento, é necessário seguir as seguintes instruções:

- **ANESTESIA:** não fique mordiscando ou apertando os lábios ou língua, pois poderá feri-los gravemente sem se dar conta.
- **HEMORRAGIA:** o local da cirurgia foi suturado. É normal um pequeno sangramento. Para evitar um sangramento anormal é preciso:
  1. Bochechos: Não fazer bochechos de espécie alguma no primeiro dia;
  2. Bolsa de gelo: para prevenir o sangramento excessivo e a dor pós-operatória, aplique bolsa de gelo sobre a bochecha no local operado durante as primeiras 4 horas. Aplique por 5 minutos e descanse 10, repetidamente;
  3. Em caso de sangramento, coloque uma gaze dobrada sobre o local e morda durante 1 hora. Caso a hemorragia persista entre em contato conosco.
  4. Para dormir: apoie a cabeça de modo que fique mais elevada que o corpo, durma com a face direcionada para o teto ou para o lado oposto ao da cirurgia.
- **DOR:** sendo leve e moderada nos três primeiros dias é normal. Deve passar com o medicamento indicado. No caso de dor intensa e persistente, entre em contato conosco.
- **RÍGIDEZ E INTUMESCIMENTO:** é uma reação normal. Masque uma goma de mascar nos dois primeiros dias ao lado oposto ao da cirurgia. Caso persista, entre em contato conosco.
- **EDEMA** (inchaço na região da face): é uma reação normal que deve ser controlada com o medicamento indicado. Se persistir após 48 horas deve-se usar calor na região ou compressas de pano aquecido. Caso persista, procure-nos.
- **HIGIENE BUCAL:** mantenha uma higiene bucal rigorosa escovando os dentes das áreas não envolvidas na cirurgia. Higienizando a região da cirurgia com gaze embebida com soro fisiológico, não permitindo o acúmulo de resíduos alimentares na região.
- **MEDICAÇÃO:** tome corretamente a medicação prescrita nos horários indicados até o fim do tratamento. Não se automedique.
- **ALIMENTAÇÃO:** no primeiro dia, deve ser líquida ou pastosa, e sempre fria. Durante a primeira semana, deve-se evitar alimentos duros ou líquidos muito quentes. Não mastigue sobre a área operada.
- **RETORNO:** não esqueça de voltar ao consultório no horário marcado para a remoção dos pontos e controle.

## APÊNDICE E – PRESCRIÇÃO MEDICAMENTOSA



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE PRÓTESE E CIRURGIA BUCO FACIAL  
EXTENSÃO EM PERIODONTIA

### RECEITUÁRIO

Para:

Uso interno:

01.Amoxicilina 500mg -----

1 caixa

Tomar uma cápsula a cada oito horas durante sete dias, iniciando na noite anterior ao procedimento.

02.Dexametasona 4mg -----

1 caixa

Tomar dois comprimidos uma hora antes da intervenção e outro a cada doze horas por dois dias.

03.Dipirona Sódica 500mg -----

1 caixa

Tomar um comprimido a cada seis horas, nas primeiras 24 horas. Repetindo por mais 24 horas somente se houver dor.

Uso oral:

04.Digluconato de Clorexidina 0,12% -----

1 frasco

Fazer bochecho durante um minuto, duas vezes ao dia, após o almoço e antes de dormir, iniciando 72 horas após o procedimento.



## ANEXO A – REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS

Saúde  
Ministério da Saúde

USUÁRIO  SENHA  ENTRAR
[Esqueceu a senha?  
Registrar-se](#)

@
REGISTRO BRASILEIRO DE  
Ensaios Clínicos

[PT](#) | [ES](#) | [EN](#)

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

Buscar ensaios

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / [ENSAIOS REGISTRADOS](#) /

### RBR-4vgzyt

#### Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm): ensaio clínico randomizado de boca dividida

Data de registro: 27 de Out. de 2019 às 16:26  
Last Update: 20 de Jan. de 2020 às 13:04

**Tipo do estudo:**

Intervenções

**Título científico:**

<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">PT-BR</div> <p>Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelular xenógena (Mucoderm): ensaio clínico randomizado de boca dividida</p>	<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">EN</div> <p>Perimplant Mucosa Thickness Modification with Xenogen Acellular Collagen Matrix (Mucoderm): Randomized Split-Mouth Clinical Trial</p>
--	--

**Identificação do ensaio**

Número do UTN: U1111-1242-6606

**Título público:**

<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">PT-BR</div> <p>Aumento da espessura da gengiva ao redor de implantes com enxerto de colágeno de porco: ensaio clínico randomizado de boca dividida</p>	<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">EN</div> <p>Increased gum thickness around pig collagen graft implants: randomized split-mouth clinical trial</p>
---	--

**Acrônimo científico:**

<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">PT-BR</div> <p>ECR: Ensaio Clínico Randomizado</p>	<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">EN</div> <p>RCT: Randomized Clinical Trial</p>
---	---

**Acrônimo público:**

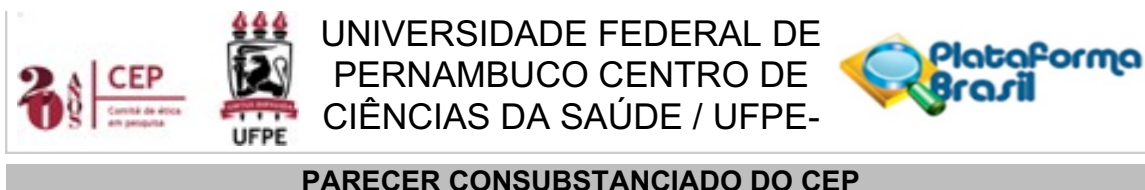
<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">PT-BR</div> <p>ECR: ECT</p>	<div style="text-align: right; font-size: small; font-weight: bold;">EN</div> <p>RCT: RCT</p>
--	---

**Identificadores secundários:**

CAAE 69447917.8.0000.5208  
Órgão emissor: Plataforma Brasil

CEP "2.219.548  
Órgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

## ANEXO B – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Modificação da espessura da mucosa Perimplantar com matriz de colágeno acelular xenóloga (Mucoderm®): ensaio clínico randomizado de boca dividida

**Pesquisador:** Renata Cimões Jovino Silveira

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 69447917.8.0000.5208

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.219.548

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que tem finalidade de pesquisa da Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira, e contará com a participação de dois cirurgiões-dentistas para a execução da sua pesquisa, que buscarão avaliar se a matriz de colágeno acelular xenóloga (Mucoderm®) é uma alternativa satisfatória ao enxerto autógeno de tecido mole para o aumento da espessura do tecido ao redor de implantes.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Avaliar clínica e histologicamente o aumento da espessura do tecido mole ao redor dos implantes, utilizando a matriz de colágeno acelular xenóloga comparativamente ao enxerto autógeno de tecido conjuntivo.

Objetivos específicos:

- Determinar o aumento da espessura do tecido mole ao redor dos implantes quando é utilizado o Mucoderm® ou o enxerto autógeno de tecido conjuntivo.

**Endereço:** Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

- Avaliar clínica e histologicamente as áreas dos enxertos, durante e após a cicatrização, nos períodos de 30, 60, 90 e 120 dias.
- Avaliar a percepção estética de cirurgiões-dentistas após a cicatrização dos enxertos em relação aos locais enxertados.
- Avaliar, em um período de um ano após o carregamento dos implantes, a condição da crista óssea ao redor dos implantes nas duas áreas com enxertos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos e benefícios da pesquisa estão claros e detalhados, encontram-se adequados a pesquisa.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um projeto que será um ensaio clínico controlado randomizado de boca dividida, onde participarão 16 pessoas que apresentem perda de pelo menos dois dentes com indicação para colocação de implantes dentários. Estes serão selecionados nas clínicas da Graduação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), campus Recife, e convidados para participar da pesquisa através do TCLE. Estes passarão por uma anamnese e exame clínico, para saber se estão dentro dos critérios de elegibilidade do estudo. Na etapa cirúrgica um mesmo operador realizará todas as cirurgias, com um mesmo protocolo. Uma área receberá o material teste e o outro será o controle (receberá o enxerto conjuntivo, retirado do palato do próprio participante). Os participantes receberão as recomendações pós operatórias e após 30 dias será retirada uma pequena amostra de tecido gengival sobre os implantes para a realização da análise histológica no primeiro grupo de quatro indivíduos; o mesmo será realizado nos períodos de 60, 90 e 120 dias, envolvendo o segundo, terceiro e quarto grupos de indivíduos, respectivamente. Os materiais coletados para análise laboratorial serão encaminhados para o Laboratório de Patologia Oral/CCS da Universidade Federal de Pernambuco.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos encontram-se adequados.

**Recomendações:**

Nenhuma.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Nenhuma.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_911499.pdf	11/08/2017 18:16:17		Aceito
Outros	CartadeResposta.docx	11/08/2017 18:12:20	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuenciaLaboratorioPatologia.pdf	11/08/2017 18:11:38	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuenciaClinica.pdf	11/08/2017 18:10:44	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Orçamento	Orcamento.doc	19/07/2017 01:41:33	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	19/07/2017 01:32:23	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	19/07/2017 01:32:03	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermodeConfidencialidade.pdf	06/06/2017 11:38:46	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.docx	18/05/2017 12:06:56	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Marcelo_Pereira_Nunes.pdf	15/05/2017 21:43:45	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Camila_Agra_Souza.pdf	15/05/2017 21:43:21	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Renata_Cimoes.pdf	15/05/2017 21:42:18	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 15 de Agosto de 2017

---

**Assinado por:**  
**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
**(Coordenador)**

**ANEXO C - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CLINICAL ORAL  
INVESTIGATIONS**

Disponível em: <https://www.springer.com/journal/784/submission-guidelines>