UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

MANUELA MARIA VIANA MIGUEL

INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA E DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO: dois estudos clínicos randomizados

2019

MANUELA MARIA VIANA MIGUEL

INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA E DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO: dois estudos clínicos randomizados

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Estudos sobre microbiologia, imunologia e terapia em periodontia e implantodontia.

Orientador: Prof. Ass. Mauro Pedrine Santamaria

Coorientador: Prof. Dra. Ingrid Fernandes Mathias-Santamaria

São José dos Campos

2019

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2020]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Miguel, Manuela Maria Viana
Influência da aplicação de estimulação elétrica e de proteínas derivadas da matriz do esmalte no reparo de feridas em palato: dois estudos clínicos randomizados / Manuela Maria Viana Miguel. - São José dos Campos : [s.n.], 2019.
169 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Aplicada à Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2019.
Orientador: Mauro Pedrine Santamaria
Coorientador: Ingrid Fernandes Mathias Santamaria

1. Cicatrização de feridas. 2. Estímulo elétrico. 3. Matriz derivada do esmalte. 4. Palato. I. Santamaria, Mauro Pedrine, orient. II. Santamaria, Ingrid Fernandes Mathias , coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática, ICMC/USP
com adaptações - STATI, STRAUD e DTI do ICT/UNESP.
Renata Aparecida Couto Martins CRB-8/8376

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ass. Mauro Pedrine Santamaria (Orientador)
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Tit. Márcio Mateus Beloti
Universidade de São Paulo (USP)
Faculdade de Odontologia
Campus de Ribeirão Preto

Prof. Assoc. Renato Corrêa Viana Casarin
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Faculdade de Odontologia
Campus de Piracicaba

São José dos Campos, 16 de dezembro de 2019

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado ao meu pai ***Prof. Dr. Antônio Carlos Viana Miguel.*** *Homem que me ensina que somente obtemos uma boa colheita se semearmos todos os dias com muito esforço e dedicação. Ao mesmo tempo me orienta e aconselha a ter paciência e perseverança, pois muitas vezes os frutos não são colhidos no tempo que desejamos. Sou extremamente grata por fazer da sua vida uma dedicação integral a mim e aos meus irmãos. Amo o senhor imensamente.*

Obrigada por ser incansável.

AGRADECIMENTOS

*À **Deus**, por ter tanto a agradecer e tão pouco a pedir.*

*À **Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Unesp**, na pessoa da diretora do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Assoc. Rebeca Di Nicoló e do vice-diretor Prof. Assoc. Cláudio Antonio Talge Carvalho.*

*Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora **Profa. Assoc. Luciane Dias de Oliveira**.*

*Ao meu orientador **Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria**. Minha imensa gratidão pela confiança e por todas as oportunidades dadas a mim no meu mestrado. Obrigada por formar pessoas.*

*Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, de modo muito especial as professoras da disciplina de periodontia:**Prof. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardini** e **Prof. Dra. Andrea Carvalho de Marco**. Muito obrigada por todo conhecimento compartilhado desde a minha graduação.*

*À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado no período de 01/01/2018 a 30/09/2018.*

***À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (Fapesp) em convênio com a Capes** pela concessão da bolsa de Mestrado, através do Processo no 2018/03353-5, no período de 01/10/2018 a 31/12/2019, bem como pelo auxílio regular de pesquisa n° 2016/16102-5.*

Aos meus pais, ***Prof. Dr. Antônio Carlos Viana Miguel*** *e* ***Delma Bertoni Miguel.***

Aos meus irmãos, ***Marco Antônio****,* ***Mariana Maria*** *e* ***Matheus Lucca****. Obrigada por sempre me receberem com muito amor em todos os meus retornos para casa, vocês são os tesouros da minha vida!*

À minha avó paterna, ***Maria da Glória Rapozo Miguel (in memoriam),*** *por ter me ensinado a ser fiel a vida.*

À ***João Victor Dini Colatto****, muito obrigada pela paciência, respeito e amor mútuo durante todos esses anos juntos. Desejo que ainda venham muitos desafios com você caminhando ao meu lado.*

Aos meus grandes amigos da pós-graduação, ***Amanda Rossato****,* ***Cássia Araújo****,* ***Cristhian Bautista****,* ***Felipe Neves****,* ***Ingrid Mathias-Santamaria****,* ***Laís Ferraz****,* ***Letícia Torquatto****,* ***Naira Andere****,* ***Nídia Castro****,* ***Tatiane Ramos*** *e* ***Victória Lima****. Agradeço de todo coração por tornarem a minha jornada do mestrado mais leve e feliz!*

Às técnicas ***Márcia*** *e* ***Valéria****, bem como a secretária do departamento de Diagnóstico e Cirurgia,* ***Jacqueline****, por sempre estarem de prontidão para ajudar em todo atendimento clínico.*

A todos os funcionários da ***Seção Técnica de Pós-Graduação****,* ***Seção Técnica de Triagem e Documentação*** *e* ***Seção Técnica de Serviços*** *do ICT-UNESP.*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 9
LISTA DE TABELAS 13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 15
RESUMO 17
ABSTRACT 18
1 INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO. ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO 19
1.1 Introdução 19
1.2 Proposição 30
1.3 Material e métodos 31
1.3.1 População de estudo 31
1.3.1.1 Tamanho da amostra 32
1.3.1.2 Critérios de inclusão 32
1.3.1.3 Critérios de não-inclusão 33
1.3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa 34
1.3.2 Delineamento do estudo 34
1.3.3 Plano de pesquisa 35
1.3.3.1 Terapia inicial 35
1.3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento 35
1.3.3.3 Tratamento 36
1.3.3.4 Procedimento cirúrgico 36
1.3.3.5 Protocolo de estimulação elétrica 40
1.3.4 Avaliações clínicas 43
1.3.5 Parâmetros centrados no paciente 47
1.3.6 Análise imunológica 49
1.3.7 Análise estatística 50
1.4 Resultados 51
1.4.1 Análise clínica 52
1.4.1.1 Área remanescente da ferida (ARF) 52
1.4.1.2 Epitelização (EF) 53
1.4.1.3 Espessura do tecido (ET) 53
1.4.1.4 Cicatriz e colorimetria do tecido (CCT) 54
1.4.1.5 Índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF) 60
1.4.2 Avaliações centradas no paciente 61

1.4.2.1 Desconforto pós-operatório (D) 61
1.4.2.2 Número de analgésicos (NA) 61
1.4.2.3 Edema tecidual (E) 62
1.4.2.4 Qualidade de vida associado a saúde oral (OHIP) 62
1.4.3 Avaliação imunológica 66
1.5 Discussão 74
1.6 Conclusão 86
2 INFLUÊNCIA DA MATRIZ DERIVADA DO ESMALTE (EMDOGAIN®) NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO. ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO 87
2.1 Introdução 87
2.2 Proposição 90
2.3 Material e métodos 91
2.3.1 População de estudo 91
2.3.1.1 Tamanho da amostra 92
2.3.1.2 Critérios de inclusão 92
2.3.1.3 Critérios de não-inclusão 93
2.3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa 94
2.3.2 Delineamento do estudo 94
2.3.3 Plano de pesquisa 95
2.3.3.1 Terapia inicial 95
2.3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento 95
2.3.3.3 Tratamento 96
2.3.3.4 Procedimento cirúrgico 96
2.3.3.5 Protocolo de aplicação da matriz derivada do esmalte 99
2.3.4 Avaliações clínicas 100
2.3.5 Parâmetros centrados no paciente 104
2.3.6 Análise imunológica 105
2.3.7 Análise estatística 106
2.4 Resultados 108
2.4.1 Análise clínica 109
2.4.1.1 Área remanescente da ferida (ARF) 109
2.4.1.2 Epitelização (EF) 110
2.4.1.3 Espessura tecidual (ET) 110
2.4.1.4 Cicatriz e colorimetria do tecido (CCT) 110
2.4.1.5 Índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF) 117

2.4.2 Avaliação dos parâmetros centrados nos pacientes 118
2.4.2.1 Desconforto pós-operatório (D) 118
2.4.2.2 Número de analgésicos (NA) 118
2.4.2.3 Edema tecidual (ET) 119
2.4.2.4 Qualidade de vida associado a saúde oral (OHIP) 120
2.5 Avaliação imunológica 124
2.6 Discussão 132
2.7 Conclusão 143
REFERÊNCIAS 144
APÊNDICE.....160
ANEXOS..... 163

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de reparação tecidual..... 20

Figura 2 - Continuação esquema de reparação tecidual..... 21

Figura 3 - Ferida aberta na região de palato após a remoção do enxerto gengival livre..... 23

Figura 4 - Corrente elétrica endógena antes e após lesão tecidual..... 25

Figura 5 - Sinalização intracelular via AKT quinases..... 26

Figura 6 - Ferida em palato de camundongos após eletroterapia..... 29

Figura 7 - Sequência de exodontia do elemento dentário para procedimento de preservação óssea..... 38

Figura 8 - Sequência cirúrgica para a remoção do enxerto gengival livre da região palatina..... 39

Figura 9 - O produtor de sinal elétrico e aparelho..... 41

Figura 10 - Aparelho Osciloscópio Keysight EDUX1002G..... 41

Figura 11 - Esquema representativo do método de estimulação elétrica..... 42

Figura 12 - Demonstração da aplicação da eletroterapia..... 42

Figura 13 - Representação da ferida corada..... 46

Figura 14 - Coleta de exsudato inflamatório da área de ferida durante acompanhamento pós-operatório..... 50

Figura 15 - Diagrama de fluxo do estudo..... 51

Figura 16 - Sequência de fotos do grupo EE durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida..... 56

Figura 17 - Sequência de fotos do grupo Sham durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida..... 57

Figura 18 - Sequência de fotos do grupo EE durante acompanhamento de 90 dias referente a epitelização da ferida..... 58

Figura 19 - Sequência de fotos do grupo Sham durante acompanhamento de 90 dias referente a epitelização da ferida..... 59

Figura 20 - Gráfico referente ao parâmetro Índice de Cicatrização Precoce da Ferida (n=53)..... 60

Figura 21 - Gráficos referentes aos resultados das citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF-α..... 69

Figura 22 - Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MCP-1, MIP-1α e VEGF..... 71

Figura 23 - Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MMP -2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2..... 73

Figura 24 - Preservação de rebordo com enxerto gengival livre..... 97

Figura 25 - Procedimento de remoção do enxerto gengival livre..... 98

Figura 26 - Protocolo de aplicação do Emdogain® na ferida palatina..... 99

Figura 27 - Representação da ferida corada..... 103

Figura 28 - Coleta de exsudato inflamatório da área de ferida durante acompanhamento pós-operatório..... 106

Figura 29 - Diagrama de fluxo do presente estudo..... 108

Figura 30 - Sequência de fotos do grupo EMD durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida..... 113

Figura 31 - Sequência de fotos do grupo Controle durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida..... 114

Figura 32 - Sequência de fotos do grupo EMD durante acompanhamento de 90 dias referente epitelização da ferida..... 115

Figura 33 - Sequência de fotos do grupo Controle durante acompanhamento de 90 dias referente epitelização da ferida..... 116

Figura 34 - Gráfico referente aos scores obtidos frente a avaliação de edema tecidual aos 7 dias pós-operatórios dos pacientes participantes do estudo (n=44)..... 119

Figura 35 - Gráficos referentes aos resultados imunológicos das citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF-α..... 125

Figura 36 - Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MCP-1, MIP-1α e VEGF..... 128

Figura 37 - Gráficos referentes aos resultados imunológicos dos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2..... 131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos dados demográficos dos pacientes incluídos na pesquisa (n=53)..... 52

Tabela 2 - Mensurações dos parâmetros clínicos em função do tempo (dias) (n=53) 55

Tabela 3 - Parâmetros centrados nos pacientes em função do tempo (dias) (n=53)..... 63

Tabela 4 - Parâmetro centrado nos pacientes em função do tempo (dias) (n=53)..... 64

Tabela 5 - Score diário após o preenchimento do diário pós-operatório (OHIP) por 14 dias pelos pacientes (n=53)..... 65

Tabela 6 -Parâmetro Edema Tecidual aos 7 dias após procedimento cirúrgico (n=53)..... 66

Tabela 7 - Resultados imunológicos referentes as citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF-α..... 68

Tabela 8 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MCP – 1, MIP – 1α e VEGF..... 70

Tabela 9 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2. 72

Tabela 10 - Dados demográficos dos indivíduos de ambos os grupos de tratamento (n=44) 109

Tabela 11- Mensurações dos parâmetros clínicos em função do tempo (dias) (n=44) 112

Tabela 12 - Pacientes avaliados no parâmetro Índice de Cicatrização Precoce da Ferida (ICPF) em 7 e 14 dias após procedimento cirúrgico (n=44) 117

Tabela 13 - Parâmetros centrados nos pacientes em função do tempo (dias) (n=44)..... 121

Tabela 14 - Parâmetro centrado nos pacientes em função do tempo (dias) (n=44)..... 122

Tabela 15 - Score diário após o preenchimento do diário pós-operatório (OHIP) por 14 dias pelos pacientes. (n=44)..... 123

Tabela 16 - Resultados imunológicos referentes as citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF- α..... 127

Tabela 17 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MCP-1, MIP-1α e VEGF..... 127

Tabela 18 - Resultados imunológicos dos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2..... 130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIES	Anti-Inflamatório Esteroidal
AKT	Proteína Quinase B
ARF	Área Remanscente da Ferida
BMP	Proteínas Ósseas Morfogenéticas
CCT	Cicatriz e Colorometria do Tecido
CONT	Controle
D	Desconforto Pós Operatório
E	Edema Tecidual
EE	Estimulação Elétrica
EGF	Fator de Crescimento Epidérmico
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
EGL	Enxerto Gengival Livre
EI	Exsudato Inflamatório
EMD	Matriz Derivada do Esmalte
ERK 1/2	Quinase Reguladora da Sinalização Extracelular ½
ET	Espessura Tecidual
ETC	Enxerto de Tecido Conjuntivo
FGF	Fator de Crescimento Fibroblástico
ICPF	Índice de Cicatrização Precoce da Ferida
IL-1ß	Interleucina - 1
IL-6	Interleucina - 6
IL-8	Interleucina - 8
IL-10	Interleucina - 10
kHz	Kilohertz

Hz	Hertz
LPS	Lipopolissacarídeo
mA	Miliampére
MARK	Proteína Quinase
µA	Microampére
MCP-1 α	Proteína Quimiotática de Monócito 1 - alfa
µg/ml	Micrograma por Mililitros
mg/ml	Miligrama por Mililitros
MIP-1 α	Proteína Inflamatória de Macrófago 1 - alfa
MMP	Metaloproteinase da matriz
mV	Milivolts
NA	Número de Analgésicos
NF-Kß	Fator Nuclear Kappa Beta
OHIP	Perfil de Impacto na Saúde Oral
OPG	Osteoprotegerina
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta
PGE2	Prostaglandina E 2
PI3K	Fosfatidilinusitol-3-quinase
RANK	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa B
RANK-L	Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa B
Sham	Simulação Falsa
TENS	Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea
TGF- α	Fator de crescimento fibroblástico - alfa
TGF-ß	Fator de crescimento fibroblástico - beta
TIMP	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral - alfa
VAS	Escala Analógica Visual
VEGF	Fator de crescimento endotélio-vascular

Miguel MMV. Influência da aplicação de estimulação elétrica e de proteínas derivadas da matriz do esmalte no reparo de feridas em palato: dois estudos clínicos randomizados [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2019.

RESUMO

Procedimentos periodontais cirúrgicos podem levar a execução de feridas na região do palato como por exemplo na remoção de enxertos autógenos. Contudo, tais abordagens podem causar ao paciente certo grau de morbidade e desconforto na área operada. Procura-se, portanto, terapias para a área palatina auxiliando a cicatrização de feridas no local doador, que eventualmente também poderiam ser utilizadas para outras finalidades. Assim, o objetivo dos presentes estudos clínicos foi avaliar clínica e imunologicamente os resultados de três meses de duas abordagens, estímulo elétrico (EE) e matriz derivada do esmalte (EMD), no reparo de feridas palatinas advindas da remoção de enxerto gengival livre para preservação de alvéolo. Dois ensaios clínicos randomizados foram realizados seguindo o CONSORT-STATEMENT 2010. (1) Selecionou-se 53 pacientes apresentando necessidade de preservação de rebordo, divididos nos grupos: Sham (n=27) - simulação de EE na ferida aberta no palato, EE (n=26) - estímulo elétrico na ferida aberta no palato. As avaliações clínicas revelaram fechamento precoce da ferida palatina, bem como epitelização desta, aos 7 e 14 dias no grupo EE quando comparado ao grupo Sham ($p<0,05$ e $p=0,03$, respectivamente). Sintomatologia dolorosa revelou-se reduzida no grupo EE em relação ao grupo Sham aos 3 dias pós-operatórios ($p=0,008$). Bem como, uma melhoria na qualidade de vida do paciente foi reportada após 2 dias do procedimento cirúrgico ($p<0,04$). A modulação de certos biomarcadores de modo favorável à reparação tecidual se fez presente com o uso da eletroterapia. Deste modo, conclui-se que o uso da eletroterapia apresenta benefícios clínicos e imunológicos no reparo de feridas. (2) Selecionou-se 44 pacientes com necessidade de preservação de rebordo, divididos nos grupos: Controle (n=22) - ferida aberta no palato sem terapia e EMD (n=22) - aplicação de Emdogain® na ferida palatina. Nenhum benefício clínico, como fechamento da ferida e epitelização, foi visto com a aplicação de EMD. Contudo, verificou-se uma modulação favorável em biomarcadores inflamatórios importantes ao reparo bem como menor sintomatologia dolorosa. Por conseguinte, o uso do EMD revelou uma modulação positiva do processo inflamatório local à resolução da ferida.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas. Estímulo elétrico. Matriz derivada do esmalte. Palato.

Miguel MMV. Influence of electric stimulation and enamel matrix protein derivative application on palatal wound healing: two randomized clinical trials [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2019.

ABSTRACT

Surgical periodontal procedures may favor the formation of wounds in the palatal region as for example to obtain autogenous graft. Discomfort and a certain degree of morbidity may be present in patients undergoing this procedure. Thus, treatments for the palatine donor area has been sought to aid wounds healing and eventually be useful for other functions. Therefore, the aim of the investigations was to evaluate the 3-month clinical and immunological outcomes of two approaches, electric stimulus (EE) and enamel matrix derivative (EMD), on palatal open wound healing due to harvesting a graft for socket preservation. For this, two clinical trials were carried out following the CONSORT STATEMENT 2010. (1) Fifty-three patients presenting need of ridge preservation were divided into 2 groups: Sham (n=27) - sham electrical stimulation on the open palatal wound; EE (n=26) - electrical stimulation on open palatal wound. Clinical perceptions shown early wound closure, as well as, better epithelization in 7 and 14 days after surgery in EE group when related to Sham group ($p<0,05$ e $p=0,03$, respectively). Painful symptomatology was less reported in EE group in comparison to Sham group at 3 days after surgical approach ($p=0,008$). Likewise, an improvement in Oral Health Impact Profile was reported after 2 days of the procedure when combinate with electrotherapy protocol ($p<0,04$). Biomarkers modulation occurred in a favor manner when electric stimulus was applied at the wound. Therefore, the use of electrotherapy presented benefits for clinical wound healing and influenced the expression of favorable biomarkers during injury resolution. (2) Forty-four patients presenting need of ridge preservation were allocated into 2 groups: Control (n=22) - open palatal wound without treatment and EMD (n=22) – Emdogain® applied on the open palatal wound. None clinical benefits, as wound closure and epithelization was seen when EMD was used. However, important biomarkers modulation for repair occurred, as well as, less painful symptomatology. In conclusion, EMD application shown a positive influence in local inflammation during wound repair.

***Keywords**: Wound healing. Electric stimulus. Enamel matrix proteins. Palate.*

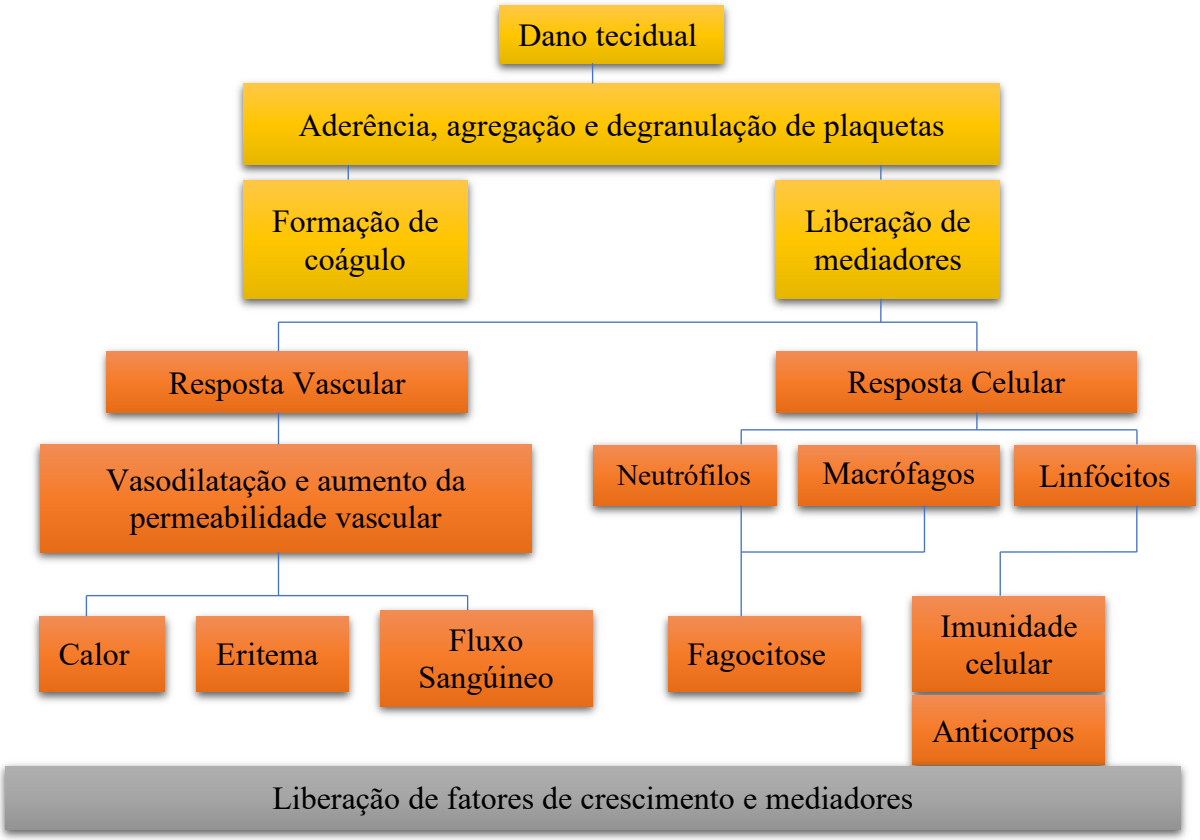
1 INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO. ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

1.1 Introdução

O processo de cicatrização de feridas é caracterizado como um mecanismo fundamental para a manutenção e recuperação da integridade tecidual, consistindo em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos (Wang et al., 2017). O reparo tecidual ocorre através de estágios clássicos sequenciais que se sobrepõem, caracterizados como hemostasia, inflamação, formação de novo tecido e remodelação (Sculean et al., 2014). Perante o contato de elementos sanguíneos com substâncias da matriz extracelular, ocorre a ativação de fatores XII (fator de Hageman) e VII bem como degranulação de células plaquetárias presentes no meio. Um coágulo rico em fibrina se torna estabilizado na região caracterizando a hemostasia local. Diversas citocinas e fatores de crescimento são liberados nesta fase influenciando a cascata de eventos pró – inflamatórios e proliferativos subsequentes como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), prostaglandina (PGE_2), tromboxanos A_2, interleucina – 1 beta (IL-1ß), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), Fator de crescimento fibroblástico – alfa e beta (TGF-α e ß) respectivamente. Após a redução significante de debris e carga bacteriana na área ferida, o equilíbrio do processo inflamatório promove a constituição do tecido de granulação, o qual marca a transição do catabolismo inflamatório para o anabolismo na região da ferida. Angiogênese, aumento de fibroblastos na região, formação de tecido conjuntivo e epitelização caracterizam esse tecido como percursor do reestabelecimento da integridade tecidual (Singh

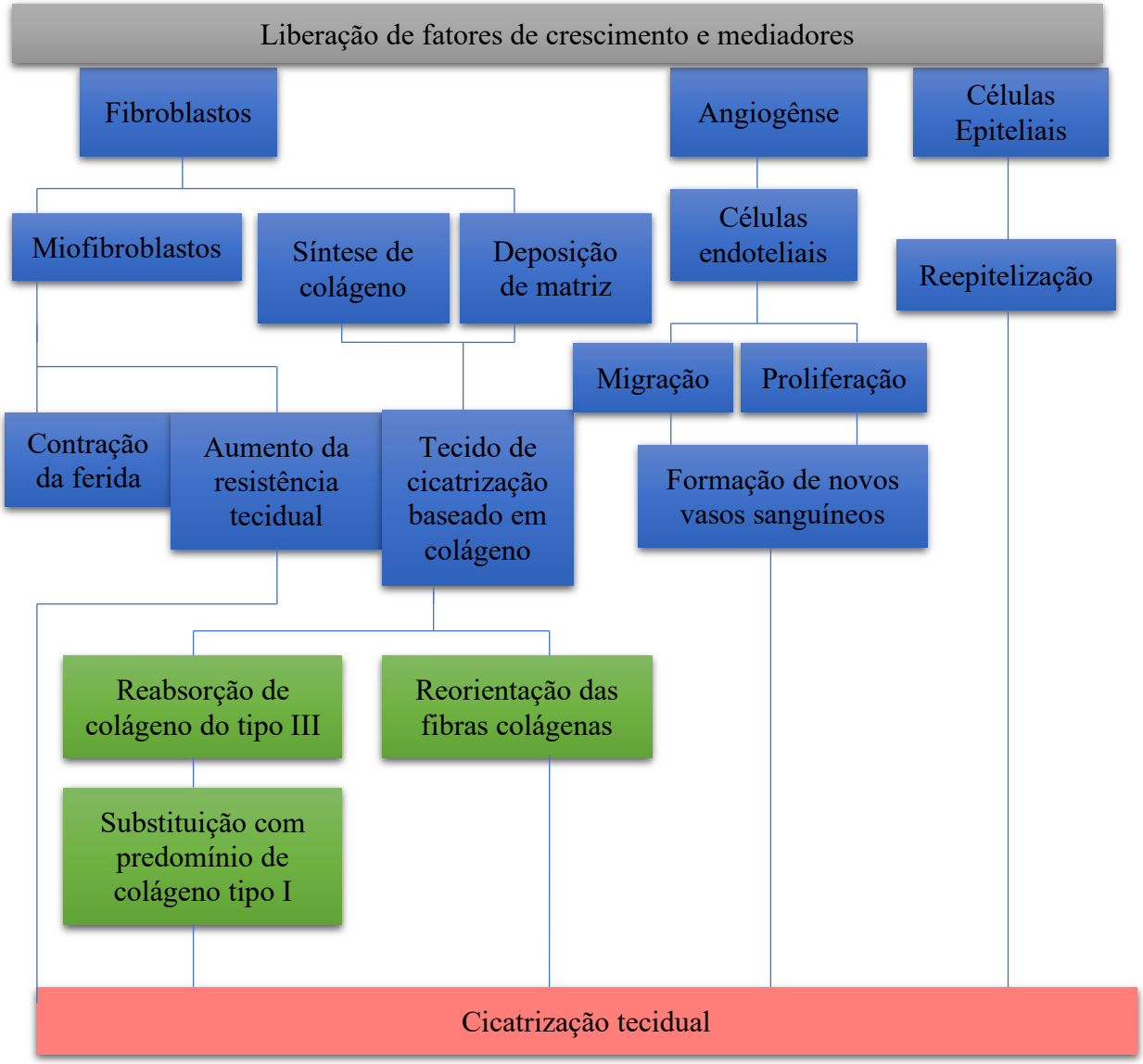
et al., 2017). Posteriormente, a maturação deste revela-se como uma remodelação tecidual, sendo os passos finais do processo de reparo (Wynn, Ramalingam, 2012) (Figura 1 e 2).

Figura 1 – Esquema reparação tecidual



Legenda: Fases de hemostasia e inflamação do processo de reparação tecidual.
Fonte: Adaptado de Hunckler, de Mel et al., 2017.

Figura 2 – Continuação do esquema reparação tecidual



Legenda: Fases de proliferação e remodelação do processo de reparação tecidual.
Fonte: Adaptado de Hunckler, de Mel et al., 2017.

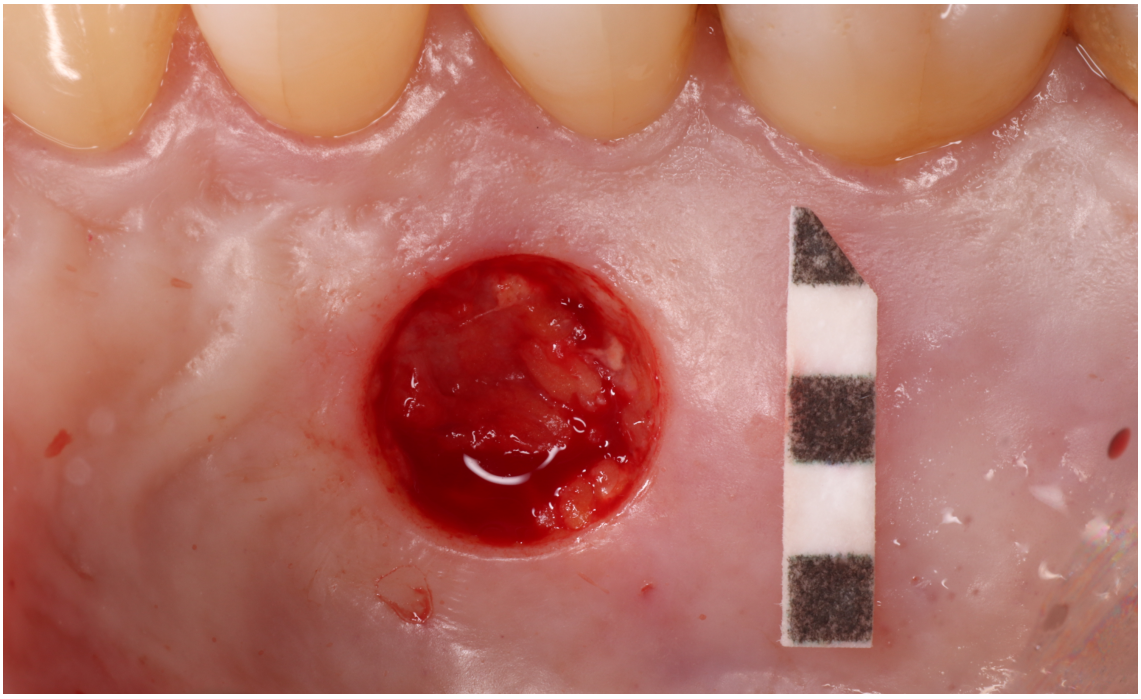
O reparo epitelial intraoral parece estar concluído após um período de 7 a 14 dias (Sculean et al., 2014) enquanto o tecido conjuntivo subjacente necessita de cerca de 7 semanas para sofrer reparação completa (Stanton et al., 1969). As fases de reparo descritas acima se fazem presentes de modo similar tanto em mucosa intraoral quanto em derme, porém a maioria dos estudos indicam que a mucosa oral se cura mais rapidamente e com menos

tecido cicatricial do que as feridas cutâneas. Um artigo recente de Inglesias – Bartolome et al. (2018), a partir de análises moleculares, pode verificar que certas vias de transcrição genética referentes a diferenciação epitelial e resposta inflamatória em processos de injuria tecidual já se encontram inerentes na mucosa oral, promovendo uma resolução mais rápida. Enquanto o estabelecimento e aumento desta expressão genética em derme se faz significante 3 dias e 6 dias pós – lesão. Além disso, a presença da saliva na cavidade oral permite melhor migração celular em um ambiente úmido, bem como o aumento da sobrevida de células pró-inflamatórias e maior suprimento de oxigênio e nutrientes. A presença de defensinas, enzimas lissosomais e histatinas, juntamente a anticorpos do tipo IgA, caracterizam um potencial anti-microbiano da saliva. A possibilidade de uma influência à sinalização celular local é possível perante fatores de crescimento também se fazerem presentes nesta, como fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento endotelial (VEGF) (Brand, Veerman, 2013).

Procedimentos periodontais cirúrgicos podem levar à execução de feridas na região do palato, como por exemplo, para a remoção de enxerto de tecido conjuntivo (ETC) e enxerto gengival livre (EGL) (Figura 3). A utilização do enxerto composto de epitélio e tecido conjuntivo subjacente, advindos da região palatina, é observada no recobrimento radicular (Miller et al., 1985), correção de defeitos de tecido mole ao redor de implantes (Marin et al., 2017), preservação de rebordo após exodontia (Wang, Lang, 2012) e na correção de defeitos de rebordo (Stimmelmayr et al., 2011). Essa variedade de procedimentos demonstra o quão dinâmico e importante são os tecidos palatinos para a terapêutica em periodontia e implantodontia. No entanto, tais procedimentos, apesar do sucesso clínico e acessibilidade, também podem causar morbidade e desconforto para o paciente, o que por sua vez gera uma certa resistência na utilização de tais procedimentos (Wesel, Tatakis, 2008). Além disso, necrose e sangramento podem ocorrer

nessa área. Desta forma, um tratamento para a área palatina auxiliando na reparação de feridas no local doador diminuiria o desconforto e, consequentemente, poderia ser usado para evitar efeitos colaterais e maximizar a utilização desses enxertos (Dias et al., 2015).

Figura 3 - Ferida aberta na região de palato após a remoção do enxerto gengival livre

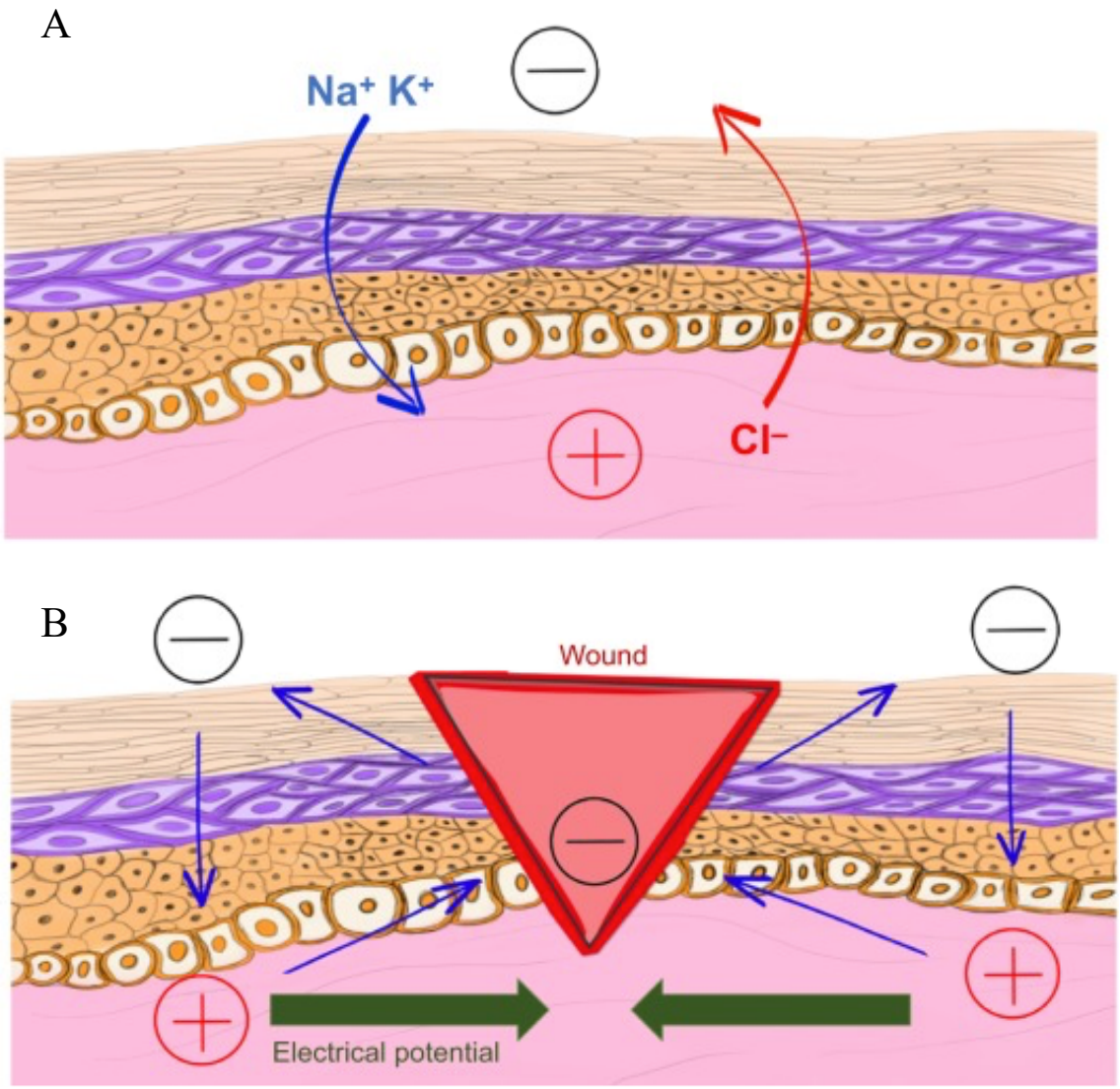


Fonte: Elaborada pelo autor.

A cicatrização eficaz de feridas tem sido um tema desafiador no âmbito clínico. Muitas estratégias têm sido utilizadas na tentativa de acelerar a resposta de cicatrização, sendo uma delas a aplicação de um estímulo elétrico exógeno para ativar o reparo tecidual (Zhao et al., 2010). A pele humana é caracterizada por ser carregada eletricamente (Barker, 1982). Há 160 anos, Du-Bois Reymond, fundador da eletrofisiologia, foi o primeiro a

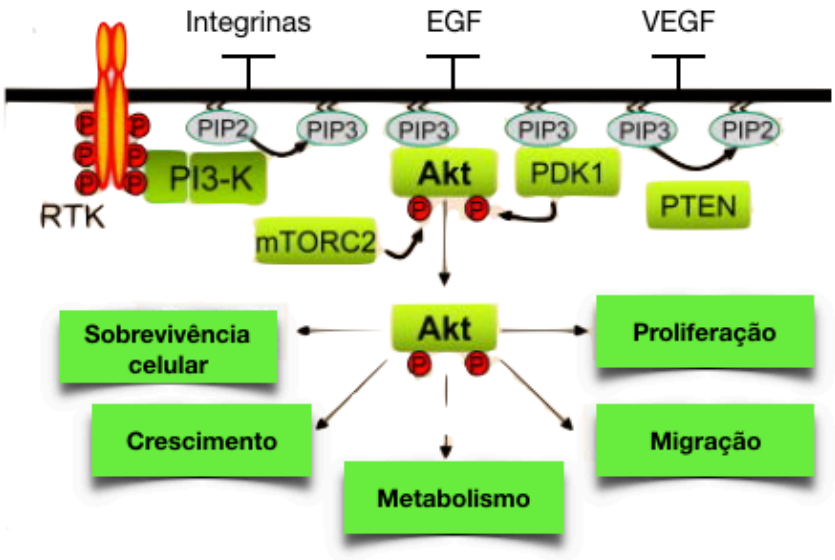
mensurar uma corrente elétrica de 1 mA proveniente de um corte no seu dedo. Desde então, tem sido demonstrado que os campos elétricos endógenos ocorrem naturalmente em torno de feridas humanas (Shin Sun, 2017). A presença de um fluxo de íons assimétricos constante pelos tecidos promove a formação de potenciais elétricos fisiológicos no tecido. A perda da integridade tecidual permite o estabelecimento de uma "Corrente da Injúria" mediada principalmente por íons Ca^{2+}, K^{+} Na^{+} e Cl^{-}. Cerca de 10 a 60 mV são mensurados a uma distância de 2 a 3 mm da ferida permitindo a formação de um potencial elétrico em direção à ferida, com o polo negativo no centro da mesma e o polo positivo nas margens desta (Hunckler, De Mel, 2017) (Figura 4). Os mecanismos pelos quais a estimulação elétrica atua nos tecidos são diversos. Inicialmente, o uso da eletroterapia permite a ativação de moléculas sinalizadoras intracelulares críticas para a evolução do reparo. A estimulação de receptores nas membranas celulares como integrinas, receptores do fator de crescimento epidérmico e endotelial desencadeiam uma reação intracelular em cadeia por meio da fosforilação de fosfatidilinusitol-3-quinase (PIK3) e ativação da quinase reguladora da sinalização extracelular (ERK12). PI3K recruta e ativa proteína quinase B (AKT) favorecendo a regulação positiva para proliferação e migração celular (Zhao et al., 2010) (Figura 5).

Figura 4 – Corrente elétrica endógena antes e após lesão tecidual



Legenda: Integridade tecidual com a manutenção de polaridade celular pela movimentação iônica através do tecido (A). A partir de uma injuria tecidual, a corrente elétrica flui para fora da ferida gerando um campo elétrico no local com polo negativo no centro da ferida e polo positivo às margens desta (B).
Fonte: Adaptado de Hunckler, de Mel et al., 2017.

Figura 5 – Sinalização intracelular via AKT quinases



Legenda: Mecanismo de atuação do estímulo elétrico através da ativação da via intracelular PIP3-AKT.
Fonte: Adaptado de Gonzales, McCraw, 2009.

Proteínas ósseas morfogenéticas (BMP) apresentam um aumento na sua expressão às margens da ferida permitindo maior atividade de fibroblastos e produção de colágeno. Em associação, ocorre a supressão do fator de transcrição nuclear kappa (NF-Kß) reduzindo a modulação gênica para a liberação de mediadores relacionados aos processos imunes e inflamatórios.Além disso, As células locais ao serem estimuladas aumentam sua atividade mitocondrial através da produção de superóxidos que influenciam no potencial de membrana refletindo na atividade celular (Yu et al., 2014, Aziz, Bell-Syer, 2015).

A característica de direcionamento do processo reparador favorece a aplicação terapêutica do estímulo elétrico, uma vez que a condução direcional da resposta de reparação é mantida enquanto o mesmo está

presente. A aplicação tópica de fatores de crescimento ou outros compostos de estimulação normalmente apresentam dificuldades em manter gradientes estáveis para sustentar respostas direcionais migratórias ou proliferativas ao longo do tempo (Zhao et al., 2010).

Campos elétricos atuam também na redução do edema tecidual. Ainda se encontram em comprovação os mecanismos da corrente elétrica sobre o edema, porém duas teorias abordam a minimização do extravasamento de proteínas plasmáticas com a limitação da permeabilidade microvascular e o aumento da taxa de absorção de proteínas plasmáticas através de canais linfáticos (Snyder et al., 2010).

Um estudo clínico randomizado de Peters et al. (2001) relatou o uso da estimulação elétrica como um adjunto à cicatrização de úlceras diabéticas localizadas nos pés. Neste estudo foi observada a capacidade de melhora à cicatrização e o auxílio a minimizar a necessidade de amputação do membro.

Recentemente, Spadari et al. (2017), verificaram a utilização da estimulação elétrica durante o movimento dentário ortodôntico em um modelo de animais. Neste trabalho o grupo controle de 16 ratos machos recebeu o tratamento dentário ortodôntico enquanto o grupo de tratamento de 16 ratos de mesmo sexo recebeu, além da atuação ortodôntica, a aplicação de estímulo elétrico diário de 10 μA por 5 minutos durante 7 dias. As análises dos dados obtidos após o início do tracionamento ortodôntico apresentaram a expressão de TGF-β1 ligeiramente aumentada durante o estágio inicial de 3 dias de movimentação dentária no grupo de tratamento. Além disso, houve um significante aumento do número de fibroblastos nas análises de 3 e 7 dias em ratos que foram estimulados eletricamente, concomitante à redução significativa de granulócitos ao sétimo dia de tratamento.

Um estudo contemporâneo executado em animais por Tomofuji et al. (2013) relatou a importância da estimulação elétrica perante a remodelação do tecido periodontal. Quatro grupos foram descritos neste estudo: o grupo

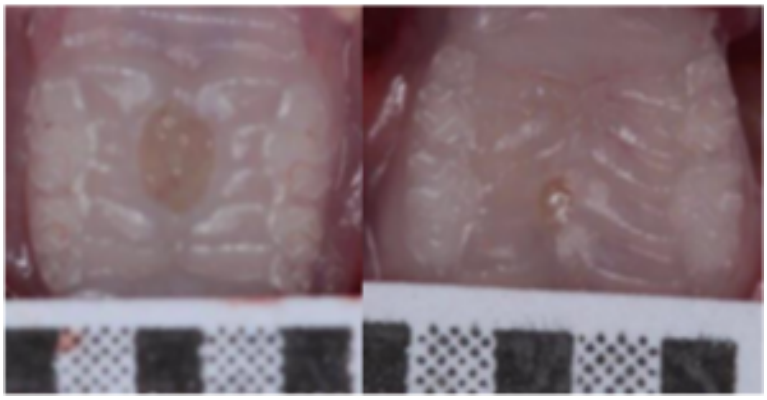
controle não recebeu nenhum tipo de tratamento por seis meses enquanto nos grupos restantes foi introduzido uma ligadura na região subgengival para o desenvolvimento de periodontite. Após 4 semanas, os ratos com periodontite receberam estimulação elétrica diária de 0, 50, ou 100 μA por 10 segundos durante 2 semanas. Constatou-se que os grupos que sofreram o estímulo elétrico de 50 e 100 μA obtiveram uma maior deposição de colágeno e menor densidade de leucócitos polimorfonucleares em comparação ao grupo sem estímulo elétrico com periodontite. Além disso, ocorreu nestes mesmos grupos maior expressão do fator de crescimento fibroblástico (FGF) e redução da expressão genética de metaloproteinases (MMP). Em relação a neoformação óssea e de cemento, o uso de 100 μA indicou melhores resultados a este parâmetro, indicando uma relação deste com processos de regeneração periodontal. Deste modo a estimulação elétrica pode oferecer uma abordagem de remodelação do tecido periodontal com lesão.

Fatores pró-inflamatórios como IL-1β também sofrem alterações perante o uso de corrente elétrica. Huo et al. (2017) realizaram a aplicação de estímulo elétrico de 30 minutos, com potencial de até 0.5 mV, logo após procedimento de laminectomia em ratos com a medula espinhal lesada. Provou-se uma redução significativa dos níveis de RNA mensageiro da IL-1β após 48 horas do procedimento cirúrgico em comparação aos grupos que não receberam a intervenção cirúrgica e os quais não foram estimulados eletricamente pós cirúrgicos.

Em um estudo pré-clínico do nosso grupo, está sendo avaliada a reparação tecidual de feridas abertas em palato de camundongos. Nesse estudo, foi confeccionada uma ferida circular de 1 mm de diâmetros na região palatina e o grupo teste recebeu a estimulação elétrica (corrente alternada de 100 μA em 9 kHz) uma vez ao dia durante 30 segundos por 2 dias. O grupo controle recebeu aplicação *sham* da estimulação. Na avaliação macroscópica das peças, o grupo que recebeu estimulação apresentou a

média da área da ferida inferior ao grupo controle após 3 dias de reparação (Figura 6). Os dados histológicos ainda não foram processados, porém esse parâmetro inicial revela neste parâmetro a diferença entre os grupos.

Figura 6 - Ferida em palato de camundongos após eletroterapia



Legenda: A figura da esquerda representa a ferida em palato de camundongo do grupo controle após 3 dias. A figura da direita mostra uma ferida com os mesmos 3 dias, porém com uma área bem menor do grupo que recebeu a estimulação elétrica.
Fonte: Camila Lopes Ferreira, aluna de pós-graduação do Programa de Biopatologia Bucal do ICT - Unesp.

Os benefícios do uso terapêutico da corrente elétrica se fazem consagrados nas lesões ulceradas em pele. Estudos na área odontológica utilizando campos elétricos se fazem presente em animais, verificando a relação desta intervenção com o tecido periodontal. Contudo, na literatura não se faz presente nenhum estudo que avalie a atuação de estimulação elétrica no reparo de feridas em mucosa oral humana, como por exemplo, na região palatina.

1.2 Proposição

Assim o objetivo do presente estudo foi avaliar a partir do ponto de vista clínico e de parâmetros centrados no paciente os efeitos da aplicação de estimulação elétrica em feridas abertas no palato, após a técnica de remoção de enxerto gengival livre. Além disso, avaliar a concentração de diversos marcadores inflamatórios e fatores de crescimento durante o período de reparação dessas feridas.

1.3 Material e métodos

Esta investigação foi desenhada como um estudo clínico randomizado de superioridade, paralelo e duplo-cego. O protocolo do estudo foi submetido ao *ClinicalTrials.gov* (NCT03576339) (Anexo A) e ao Comitê de Ética Institucional da Universidade Estadual Paulista (CEP-UNESP – 84011318.4.0000.0077) (Anexo B). O consentimento informado foi assinado por cada sujeito depois de uma explicação da natureza, riscos e benefícios da investigação clínica. A metodologia do presente estudo seguiu as normas do CONSORT- STATEMENT de 2010 (Moher et al., 2010) e do SPIRIT-STATEMENT 2013 (Chan et al., 2013).

1.3.1 População de estudo

A população foi constituída de pacientes com indicação de exodontia e necessidade de preservação de rebordo nessa região. Esses pacientes foram provenientes da Clínica de Periodontia do curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, do Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista (Unesp).

1.3.1.1 Tamanho da amostra

Para este estudo, a amostra foi calculada da seguinte forma: A variável primária adotada foi a Área Remanescente de Ferida (ARF), com uma diferença de 9 mm^2 entre os grupos, o que equivale a uma redução de 30% da área inicial total da ferida e um desvio padrão de 9,5 mm^2 de acordo com Dias et al., (2015). Foi adotado um poder de 80% e um α de 5,0% para o teste de variância de medidas repetidas. Com isso, seriam necessários 18 pacientes por grupo (total de 36 pacientes) para se demonstrar diferença entre os grupos. Considerando a inclusão de 27 pacientes no grupo Sham e 26 pacientes no grupo EE, o estudo teve um poder > 80%.

1.3.1.2 Critérios de inclusão

a) pacientes com no mínimo 18 anos de idade, saudáveis sistemicamente, com boa higiene oral, avaliados por meio de índice de placa e índice gengival menor que 25% (O'Leary et al.,1972);
b) pacientes sem nenhuma alteração morfológica ou patológica na região palatina doadora;
c) pacientes saudáveis do ponto de vista periodontal (sem presença ativa de periodontite crônica, agressiva, processos agudos e doenças necrosantes);
d) pacientes que apresentavam indicação de exodontia (como por exemplo pela impossibilidade de tratamento endodôntico, fratura radicular, cáries extensas, impossibilidade de reabilitação

protética) e com indicação de preservação de rebordo para futura instalação de implantes.

1.3.1.3 Critérios de não-inclusão

a) pacientes com problemas sistêmicos (alterações cardiovasculares, discrasias sanguíneas, imunodeficiência, diabetes entre outras), que contra-indiquem o procedimento cirúrgico e de eletroestimulação;
b) pacientes que fazem uso de medicações que sabidamente interferem na cicatrização de feridas ou que contraindiquem o processo cirúrgico, como fármacos relacionadas ao crescimento gengival: fenitoína (dantalin, dualudon, epelin, fenital, fenitoina, fenitoinasodica, hidantal), ciclosporina A (restasis, sandimmun, sandimmunneoral, sigmasporinmicroral), bloqueadores de canais de cálcio (bezilato de amilodipina, hidrocloreto de ditiaziem, felodipina, isradipina, lacidipina, hidrocloreto de lercadinipina, hidrocloreto de micardipina, nifedipina, risoldipina); e fármacos imunossupressoras como azathioprine e prednidolene;
c) pacientes gestantes ou lactantes;
d) pacientes que apresentam lesões bucais oportunistas, principalmente colonizando a região do palato;
e) pacientes fumantes;
f) pacientes em tratamento ortodôntico;
g) pacientes já submetidos à cirurgia periodontal na área de interesse do presente estudo;

h) pacientes portadores de marca-passo.

1.3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa

O estudo foi conduzido de acordo com o Código de Ética Odontológica, dentro do estabelecido pela Resolução número 118/12 do Conselho Nacional de Saúde/MS, para experimentos em humanos, após a devida aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição. Os pacientes foram esclarecidos quanto ao procedimento de obtenção do enxerto gengival livre para preservação de rebordo, dos riscos e benefícios da terapia instituída pelo pesquisador. Apenas os pacientes que concordaram com as condições pré-estabelecidas do estudo, confirmando a aceitação em consentimento formal, foram incluídos no mesmo.

1.3.2 Delineamento do estudo

Este foi um estudo do tipo clínico controlado randomizado de superioridade, paralelo, duplo-cego, com acompanhamento de 3 meses.

1.3.3 Plano de Pesquisa

1.3.3.1 Terapia Inicial

Adequação da cavidade oral foi executada nesses pacientes. Os fatores de retenção de biofilme (cavidades de cárie, excesso de restaurações e cálculo supragengival) foram removidos nas visitas iniciais. Coleta dos parâmetros clínicos, realização de fotografia digital e de radiografias periapicais pela técnica do paralelismo foram realizadas.

1.3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento

A randomização foi realizada por um integrante da equipe que não obteve participação nas atividades clínicas de medidas e tratamentos dos pacientes, caracterizando o *allocation concealment* do estudo. A randomização gerou uma sequência de alocação aleatória, de 1:1, em um programa de computador (Microsoft Excel). Esta sequência foi colocada em envelopes opacos selados. Dentro de cada envelope se apresentava o número do paciente e o tratamento, que foram revelados somente depois da cirurgia. Além da alocação sigilosa, os pacientes e o avaliador do presente estudo não souberam o tratamento que cada paciente recebeu.

1.3.3.3 Tratamento

a) Grupo Sham (n=27): Cirurgia de exodontia atraumática e enxerto gengival livre para selamento da entrada do alvéolo associado à simulação de estimulação elétrica (*Sham*) na ferida aberta no palato;
b) Grupo EE - Estímulo elétrico (n=26): Cirurgia de exodontia atraumática com colocação de enxerto gengival livre para selamento da entrada do alvéolo associado à estimulação elétrica na ferida aberta no palato.

1.3.3.4 Procedimento cirúrgico

O tratamento cirúrgico foi realizado por um único operador (MMVM). A seguinte sequência foi obedecida: Os pacientes foram medicados no período pré-operatória com dexametasona 4 mg (Decadron®, Ache Laboratórios Farmacêuticos S.A. – Guarulhos – SP) 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

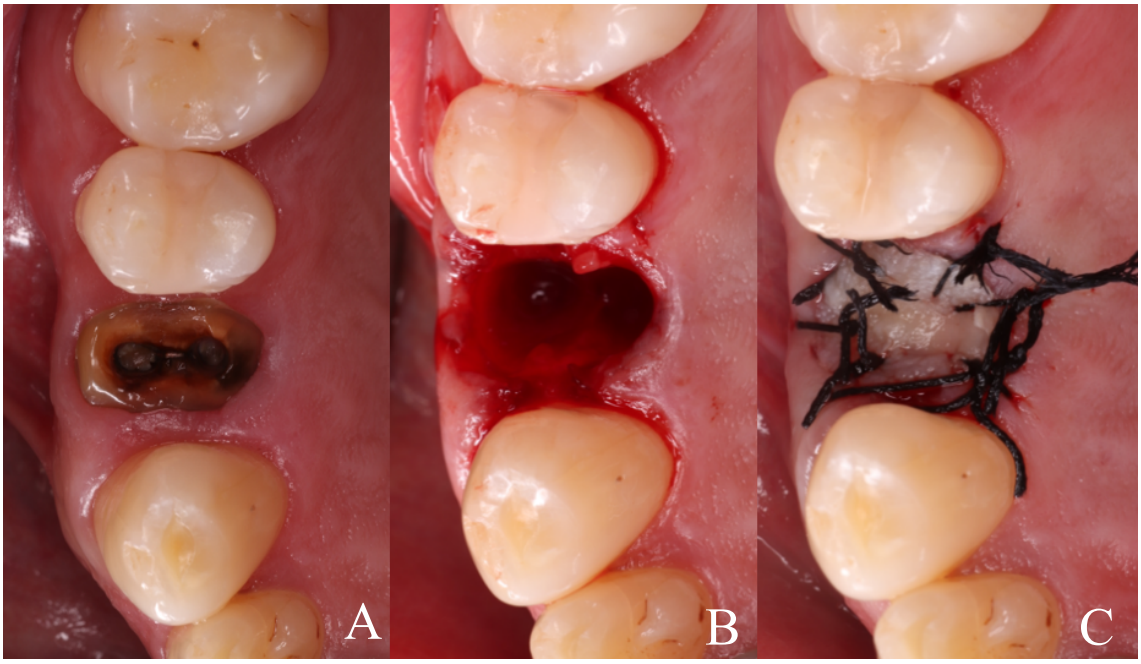
A anti-sepsia na região facial foi realizada com Digluconato de Clorexidina 0,2% em gaze estéril para a desinfecção da pele perioral. Também foi fornecido 15 mL da solução de Digluconato de Clorexidina 0,12% (Periogard®, Colgate Palmolive Ltda – Osasco – SP), para desinfecção intraoral.

Após os procedimentos pré-operatórios, foi empregada anestesia local injetável com Mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepivacaína®, DFL – Rio de Janeiro – RJ) através de técnica infiltrativa.

Com uma lâmina 15c (Swann-Morton® - Sheffield, Inglaterra) montada em cabo de bisturi nº 3 foi executado uma incisão intrasulcular ao redor dente indicado para exodontia. A fim de se obter uma exodontia minimamente traumática, a luxação do elemento foi executada com periótomo. Após a exodontia, realizou-se curetagem e irrigação do alvéolo dentário. Nos grupos Sham e EE, após a formação do coágulo, o alvéolo foi selado com enxerto gengival livre (Figura 7).

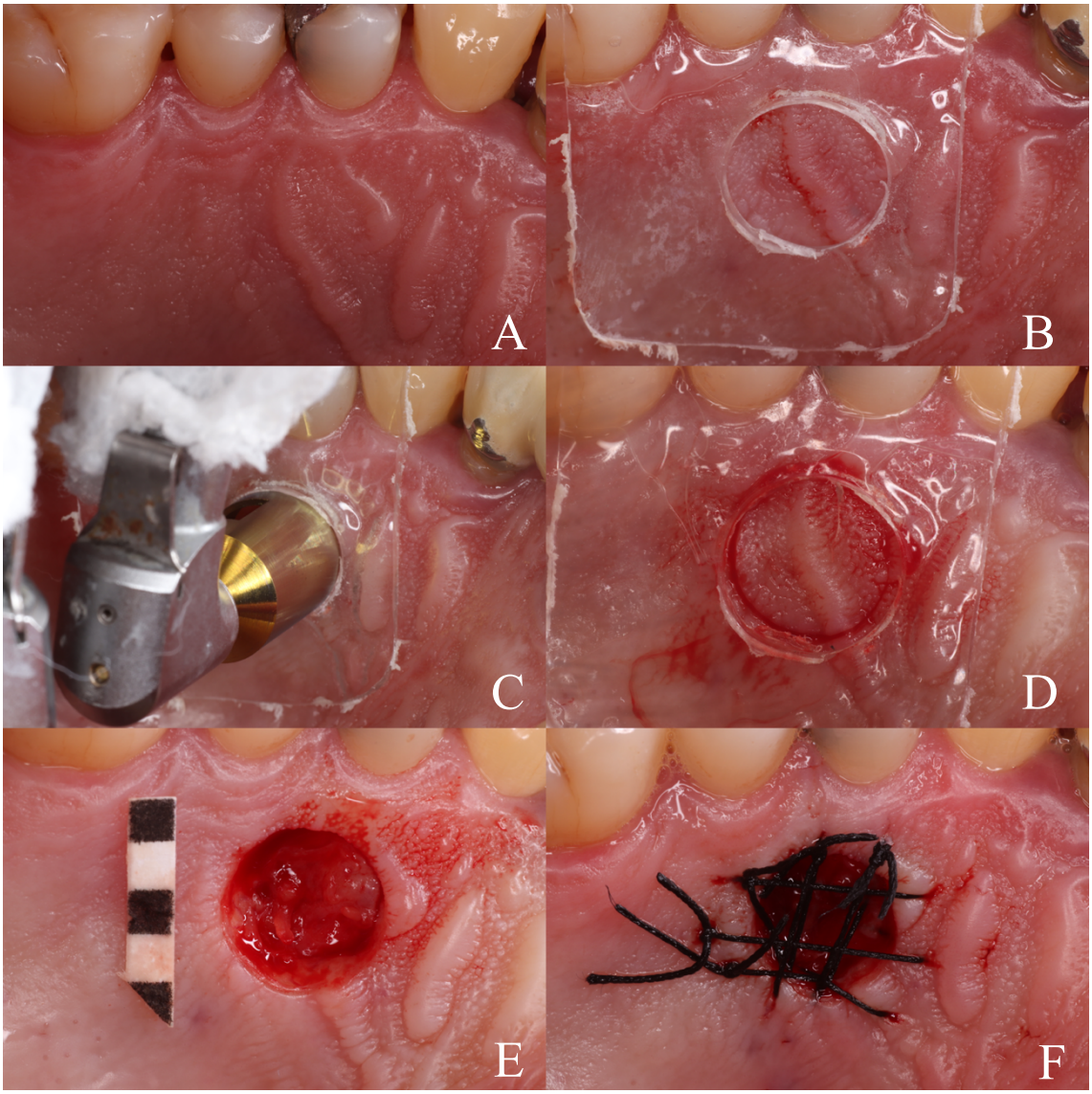
Para a remoção do enxerto gengival livre do palato, um molde circular de 8 mm de diâmetro foi utilizado. Esse molde teve o objetivo de padronizar a remoção do enxerto palatino para que as feridas ficassem sempre com mesmo tamanho. Após a incisão circular, com um bisturi circular do tipo punch (Maximus Instrumental Odontológico, Contagem - MG), o enxerto foi removido com espessura de 2 mm. Realizada a remoção do enxerto gengival livre, o mesmo foi ajustado para a entrada do alvéolo e suturado com fio não-reabsorvível Seda® 4.0 (Ethicon Johnsons do Brasil SA, São José dos Campos - SP) (Figura 8).

Figura 7 – Sequência de exodontia do elemento dentário para procedimento de preservação óssea



Legenda: Raiz residual condenada e indicada para extração (A), alvéolo dental após exodontia atraumática (B) e sutura do enxerto gengival livre na entrada do alvéolo com o objetivo de preservação de rebordo (C).
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 8 - Sequência cirúrgica para a remoção do enxerto gengival livre da região palatina



Legenda: Área palatina doadora (A), stent de acrílico com finalidade de padronização de medidas clínicas e remoção do enxerto (B), bisturi circular em baixa rotação em posição (C), incisão do tecido palatino (D), área de ferida palatina proveniente da remoção do enxerto (E) e execução de suturas para hemostasia da área doadora (F).
Fonte: Elaborada pelo autor.

Após o procedimento cirúrgico, os pacientes receberam, oralmente e por escrito, as seguintes recomendações pós-operatórias : não ingerir bebidas alcoólicas; evitar mexer na ferida cirúrgica; não escovar a região por 14 dias;

nas primeiras 24 horas, ingerir somente alimentos, frios ou gelados (sorvete, iogurte, sucos e gelatina); fazer bochecho com digluconato de clorexidina 0.12% - Periogard® - de 12 em 12 horas, durante 14 dias; tomar 1 comprimido de dipirona sódica 500 mg a cada 8 horas em caso de dor.

1.3.3.5 Protocolo de estimulação elétrica

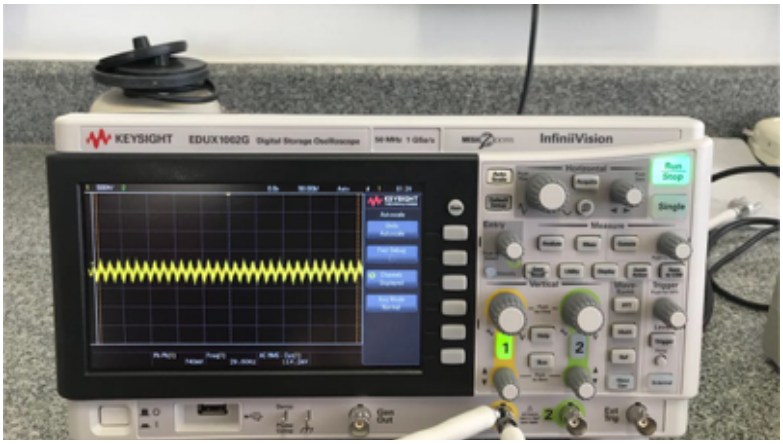
Para a estimulação elétrica, foi montada uma unidade consistindo de um gerador de sinal (Keysight Technologies., Inc., Santa Rosa-CA, USA), uma fonte de alimentação e placa de circuito, como demonstrado (Figura 9). O mesmo aparelho foi utilizado em todos os pacientes, tanto para os randomizados ao grupo Teste quanto aos direcionados ao grupo Sham. A corrente elétrica obteve sua visualização otimizada através de um osciloscópio (Figura 10) (Keysight Technologies., Inc., Santa Rosa-CA, USA). Eletrodos condutores para aplicação de corrente elétrica foram aplicados na região palatina a uma distância de 3 mm das margens da ferida aberta. Uma corrente alternada de 100 μA em 9 kHz foi distribuída de modo a travessar a região operada (Figura 11 e 12). Os pacientes receberam aplicações do estímulo durante 120 segundos, uma vez por dia durante 5 dias consecutivos, iniciando logo após o procedimento cirúrgico.

Figura 9 - O produtor de sinal elétrico e aparelho



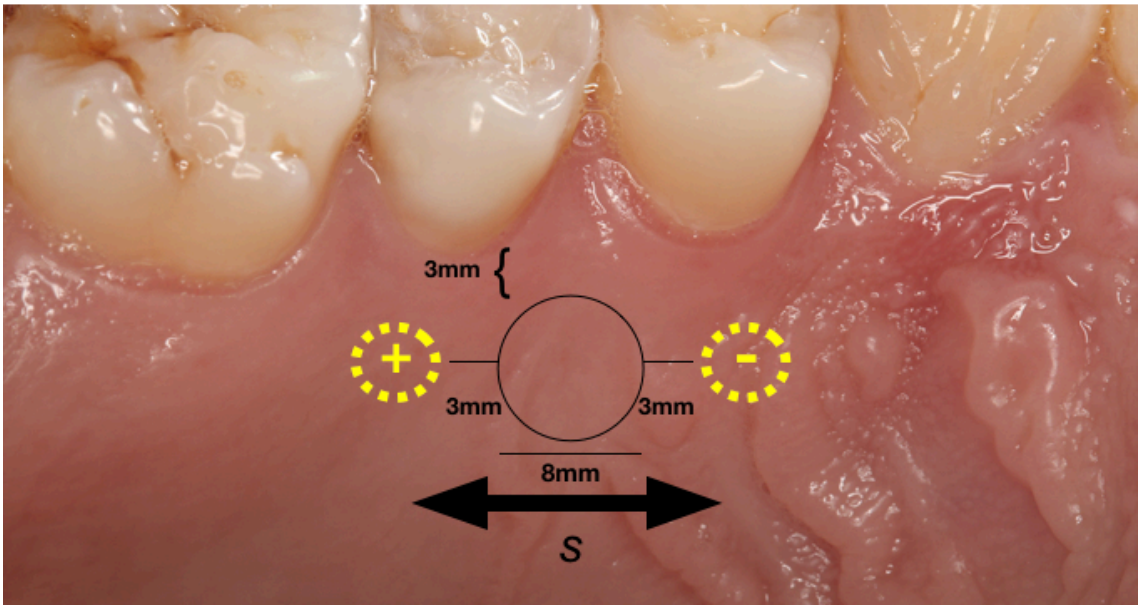
Legenda: A unidade incluiu um osciloscópio (A), fonte de alimentação e uma placa de circuito atual (B), um produtor de sinal elétrico (C), e dois eletrodos metálicos condutores (D).
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 10 – Aparelho Osciloscópio Keysight EDUX1002G



Legenda: Monitoramento da corrente elétrica realizado por meio do osciloscópio.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 11 - Esquema representativo do método de estimulação elétrica



Legenda: Posicionamento dos eletrodos à 3 mm da margem da ferida. *S*: sentido da corrente elétrica aplicada.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 12 – Demonstração da aplicação da eletroterapia



Fonte: Elaborada pelo autor.

1.3.4 Avaliações clínicas

Um único pesquisador (AR) ficou responsável pelas medidas dos parâmetros clínicos dos pacientes e esteve calibrado para medir a variável primária (medida da área da ferida) e espessura do tecido. Além disso o mesmo foi treinado para medir as outras variáveis. A calibração foi realizada da seguinte forma:

a) calibração para a medida de Área Remanescente das Ferida (ARF): utilizando fotos clínicas de áreas de feridas em palato de pacientes de estudo anterior (da Silva Neves et al., 2016), realizou-se as medidas (conforme descrito na medida desse parâmetro abaixo) em dois dias distintos, sendo os valores dessas medidas foram submetidos ao teste de correlação intra-classe;
b) calibração para a medida de Espessura do Tecido (ET): dez pacientes não incluídos nesse estudo obtiveram a espessura da mucosa palatina medida em 2 dias distintos conforme descrito na medida desse parâmetro abaixo, sendo o examinador considerado calibrado quando o índice de concordância dessas duas medidas atingiu 90%.

As seguintes medidas foram realizadas previamente ao procedimento cirúrgico (*baseline*) e nos períodos de 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias após a cirurgia, dependendo de cada parâmetro analisado, sendo descrito abaixo. Para padronização da localização do exame e um ponto fixo para o mesmo, os pacientes foram moldados e com o modelo, foram confeccionados aparelhos orientadores com placas de acrílico rígidas de 1 mm de espessura em plastificador à vácuo (Stents).

a) espessura do tecido (ET);

- a espessura do tecido da mucosa palatina mastigatória foi avaliada antes do procedimento (*baseline*), 45 e 90 dias após o procedimento,
- para isso, um espaçador endodôntico (Dentsply Maillefer Instruments S.A. – Balagues – Suíça) com um cursor de borracha foi colocado em contato com a área até que se atingiu o osso palatino, sem pressionar o tecido,
- a distância entre a ponta do espaçador e o cursor foi medida usando um paquímetro digital (Mitutoyo - Brasil) (Dias et al., 2015).

b) área remanescente de ferida (ARF);

- a área da ferida foi medida após 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias pós-operatórios,
- para isso, foram tiradas fotografias padronizadas (brilho, distância e ângulo),
- uma escala foi usada como referência para medir esta área. Essas fotografias foram exportadas para software de imagem (Image J - NIH, Bethesda, EUA), sendo medida essa área da ferida em milímetros quadrados (Dias et al., 2015).

c) cicatriz e colorometria do tecido (CCT);

- analisou-se a presença ou ausência de cicatriz ou quelóide na área operada nos dias 7, 14, 21, 30, 45 e 90 pós-operatórios,
- além disso, a semelhança de cor de tecido de regiões adjacentes à área operada e imagens pós-operatórias foram analisadas através de fotografias,
- as fotografias foram exportadas para software de imagem (Adobe Photoshop CS 3, München, Alemanha), sendo utilizadas duas áreas, uma da ferida e outra adjacente,

- a comparação (ΔE) das áreas foi feita usando parâmetros de brilho (L), escala de croma vermelho-verde e escala de croma azul-amarela (b) de acordo com a seguinte equação (Knösel et al., 2009):

$$\Delta E = [(L.ferida - L.adjacente)^2 + (a.ferida - a.adjacente)^2 + (b.ferida - b.adjacente)^2]^{1/2}$$

d) epitelização (EF);

- foi analisada a partir da porcentagem de epitelização da ferida (%EF) antes do procedimento cirúrgico e nos dias 3, 7, 14 e 30 posteriormente ao mesmo,
- A ferida foi corada com solução evidenciadora de placa (Replak – Dentisply, Sede São Paulo- BRA) (Figura 13) a área epitelizada foi quantificada no programa Image J,
- em seguida, com a área total da ferida a % de epitelização foi calculada (Ozcelik et al., 2008):

$$\% \text{ de ferida epitelizada} = \frac{\text{área epitelizada} \times 100}{\text{área total}}$$

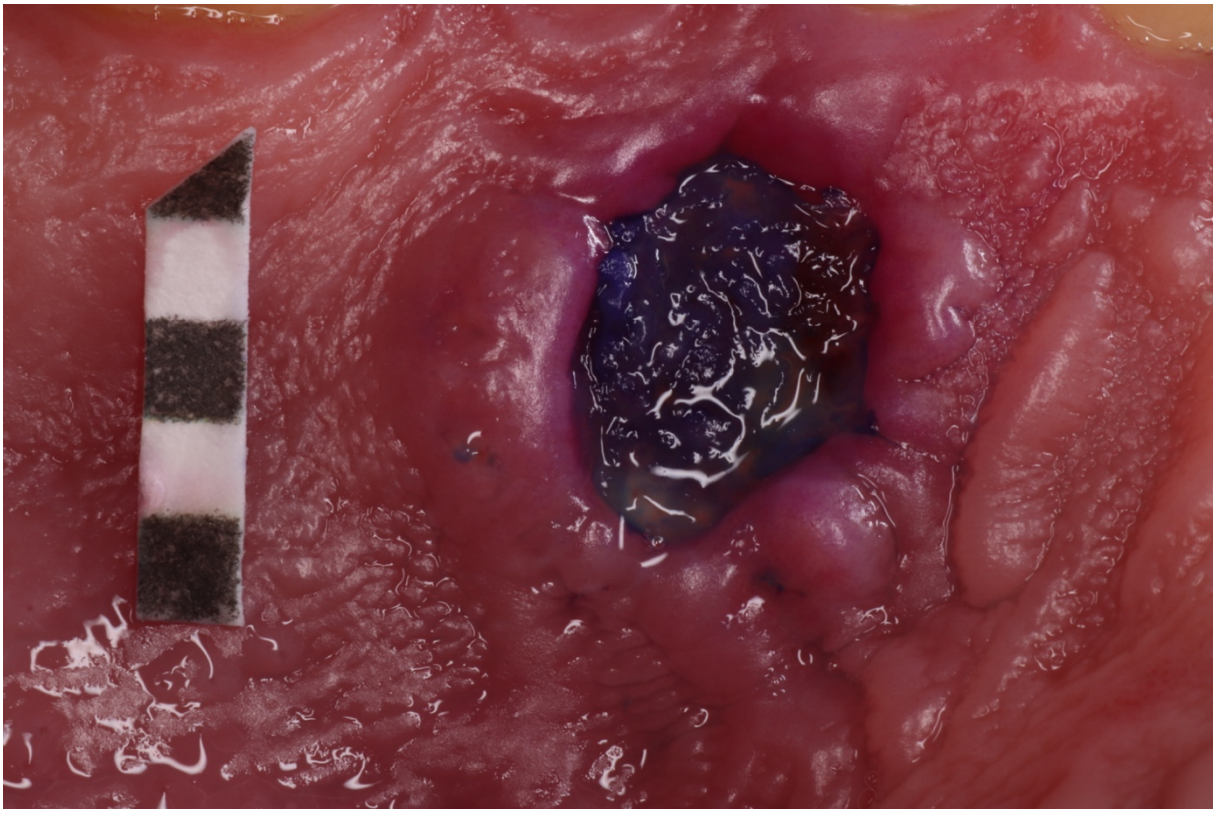
e) índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF): Segundo Fickl et al. (2014), 7 e 14 após a cirurgia, foi avaliada qualquer modificação na cicatrização da ferida, sendo em cinco diferentes graus;

– fechamento completo da ferida com ausência de fibrina no palato,

– fechamento completo da ferida com a presença de uma linha de fibrina no palato,

- fechamento completo da ferida com a presença de um coágulo com fibrina no palato,
- fechamento incompleto da ferida com necrose parcial do tecido no palato,
- fechamento incompleto da ferida com necrose total do tecido no palato.

Figura 13 - Representação da ferida corada



Legenda: Ferida na região palatina corada para análise de epitelização.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.3.5 Parâmetros centrados no paciente

a) desconforto pós-operatório (D);

- a sensibilidade foi medida em 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias após o procedimento cirúrgico através de jatos de ar por 5 s sobre a região palatina,
- após a aplicação do jato de ar, foi solicitado ao paciente a usar uma escala analógica visual (VAS) de 100 mm (Apêndice A) para avaliar o desconforto,
- os extremos da escala foram “nenhum” e “extremo” para relatar o desconforto dessa medida (Dias et al., 2015).

b) número de analgésicos (NA): Foi entregue aos pacientes um diário pós-operatório (Anexo C) no qual os mesmos anotaram, a cada dia, durante 14 dias, a sua intensidade de dor em uma escala analógica visual (VAS) de 100 mm e o número de analgésicos utilizados (Tonetti et al., 2017);

c) edema tecidual (ET): Foi avaliado após 7 dias do procedimento cirúrgico com o escore: 1 = ausente; 2 = ligeiro; 3 = moderado; ou 4 = grave (Sanz-Moliner et al., 2013);

d) qualidade de vida associada à saúde oral (OHIP, Tonetti et al., 2018);

- avaliou-se a partir de um questionário com 14 questões (Quadro 1) baseadas em 7 domínios: limitações funcionais, dor física, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica e deficiência social,

- o paciente respondeu às questões no período de 14 dias após o procedimento cirúrgico, executando um diário pós-operatório (Anexo C),
- para cada pergunta uma resposta foi dada, representada em números, sendo: 0-Nunca; 1-Quase nunca; 2-Ocasionalmente; 3-Bastante frequente; 4-Muito frequente; 5-Não sei (Tonetti MS et al., 2017).

Quadro 1 - Questões referentes a Qualidade de vida associada à saúde oral

	0	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Você teve problemas para pronunciar alguma palavra por problemas com seus dentes ou boca?						
Você sentiu que seu paladar piorou devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve sensação dolorosa em sua boca?						
Você achou desconfortável comer algum alimento devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você ficou preocupado com seus dentes ou boca?						
Você se sentiu tenso devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Sua dieta não foi satisfatória devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve que interromper as refeições devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você achou difícil relaxar devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você ficou um pouco envergonhado por problemas com seus dentes ou boca?						
Você tem se irritado um pouco com outras pessoas devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve dificuldade em fazer seus trabalhos habituais por problemas com seus dentes ou boca?						
Você sentiu que a vida em geral foi menos satisfatória devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você se sentiu incapacitado devido a problemas com seus dentes ou boca?						

Fonte: Adaptação de Tonetti et al., (2018).

1.3.6 Análise imunológica

A coleta de exsudato inflamatório (EI) foi realizada na área de ferida nos dias 3 e 7 pós cirúrgicos (Figura 14). A amostragem foi realizada com a colocação de tiras de papel de filtro (PerioPaper, Oraflow, Plainview, NY, EUA) nas margens da ferida até que uma ligeira resistência fosse percebida e em seguida deixado no local por 45 segundos. As tiras foram colocadas em tubos estéreis contendo 300 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) com 0,05% de Tween-2. Tiras contaminadas por sangue visível foram descartadas. Todas as amostras de EI foram armazenadas imediatamente a -80° C. Níveis de Cito/quimiocinas e fatores de crescimento foram determinados por um imunoensaio de multiplex. Alíquotas de cada amostra foram testadas usando um kit comercial humano (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA), a fim de avaliar os níveis dos seguintes marcadores inflamatórios: IL1β, IL6, IL10, TNFα, proteína inflamatória de macrófagos-1α (MIP-1α), proteína quimiotática para monócitos - 1α (MCP-1α). Além disso, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 e VEGF também foram avaliados. Todos os ensaios foram realizados e analisados no laboratório da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP – Unicamp, SP), através do sistema Luminex (MiraiBio, Alameda, CA, EUA) e seguiram as instruções do fabricante. As concentrações das amostras foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando proteínas padrão do kit e expressos como pg/mL.

Figura 14 – Coleta de exsudato inflamatório da área de ferida durante acompanhamento pós-operatório



Fonte: Elaborada pelo autor.

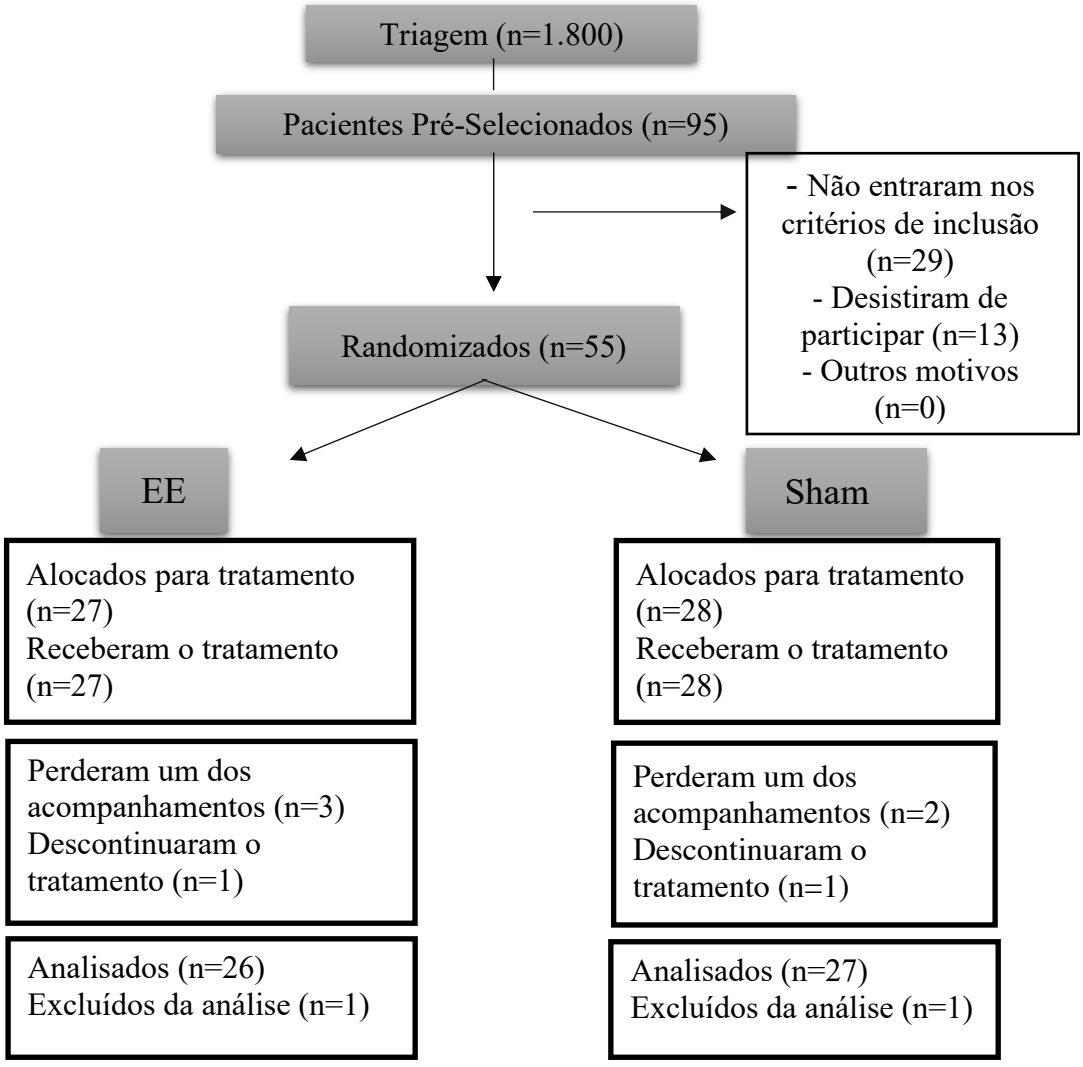
1.3.7 Análise estatística

A estatística descritiva foi expressa como média ± desvio padrão (SD), e a normalidade foi testada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Valores referentes à ET, ARF, CCT, E, ICPF e os marcadores inflamatórios bem como fatores de crescimento foram examinados por ANOVA de medidas repetidas para avaliar as diferenças dentro e entre os grupos, seguidas de um teste de Tukey para comparações múltiplas quando o valor de p Shapiro-Wilk $\geq 0,05$. Aqueles que apresentaram valores de p Shapiro- Wilk $<0,05$ foram analisados por meio do teste de Friedman (para comparações intragrupos) e testes de Mann-Whitney (para comparações intergrupos). Os valores referentes à parâmetros centrados nos pacientes como as medidas de D, NA, ET e OHIP foram analisados através do Teste T.

1.4 Resultados

Foram incluídos no estudo 53 pacientes, sendo 36 mulheres e 17 homens, que apresentavam a necessidade de preservação de rebordo. Os pacientes apresentavam idade entre 23 a 60 anos (média de 44 anos) (Tabela 1). A figura 15 mostra o diagrama de fluxo do presente estudo.

Figura 15 – Diagrama de fluxo do estudo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Distribuição dos dados demográficos dos pacientes incluídos na pesquisa (n=53)

	Sham (n=27)	**Teste (n=26)**	**p**
Idade	44,57 ± 10,14	44,44 ± 11,07	0,744*
Gênero	8 homens 19 mulheres	9 homens 17 mulheres	0,446 †

Legenda: Valores de p: *Teste T; † Teste de Qui-quadrado.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.4.1 Análise clínica

Nos parâmetros avaliados, os dados foram expressos como média e desvio padrão. No período inicial (*baseline*) não foram encontradas diferenças estatísticas relevantes entre os grupos nos parâmetros avaliados.

1.4.1.1 Área remanescente da ferida (ARF)

Analisando o parâmetro área remanescente da ferida (ARF), os grupos EE e Sham apresentaram, na avaliação intragrupo, uma redução progressiva desta mensuração com significância estatística em 7 e 14 dias após o procedimento cirúrgico ($p < 0,001$, em ambos os grupos e tempos) em relação à área inicial. Contudo, na comparação intergrupo, pode-se verificar maior diminuição da área da ferida aos 7 ($p<0,05$) e 14 dias ($p=0,03$) após a abordagem com eletroterapia. Tal característica é complementada pela variação da ARF (Δ) entre os dois períodos citados em cada grupo. Verifica-

se valores maiores de Δ no grupo EE aos 7 (13,9±5,9) e 14 (40,5±5,7) dias, os quais denotam um fechamento acelerado da ferida (p=0,005 e p= 0,003, respectivamente) (Tabela 2, Figura 16 e 17).

1.4.1.2 Epitelização (EF)

A análise da porcentagem de epitelização da ferida (EF%) revela-se com similaridade ao comportamento da ARF. Na análise intragrupo foi possível observar, tanto no grupo Sham quanto no grupo EE, um aumento gradativo, com relevância estatística, na epitelização da ferida palatina com recuperação da integridade epitelial aos 21 dias pós-operatórios. Em relação a avaliação intergrupo, os percentuais de epitelização aos 7 (38,4±16,3) e 14 dias (90,9±10,7) apresentam-se superiores, com relevância numérica, no grupo estimulado eletricamente em relação ao grupo Sham (P<0,001 e p=0,006, respectivamente) (Tabela 2, Figura 18 e 19).

1.4.1.3 Espessura do tecido (ET)

A espessura tecidual não apresentou diferenças significantes, tanto nas avaliações intra quanto intergrupos, em ambos os grupos do presente estudo, ao fim do acompanhamento preconizado (p= 0,8 e p=0,6, respectivamente) (Tabela 2).

1.4.1.4 Cicatriz e colorimetria do tecido (CCT)

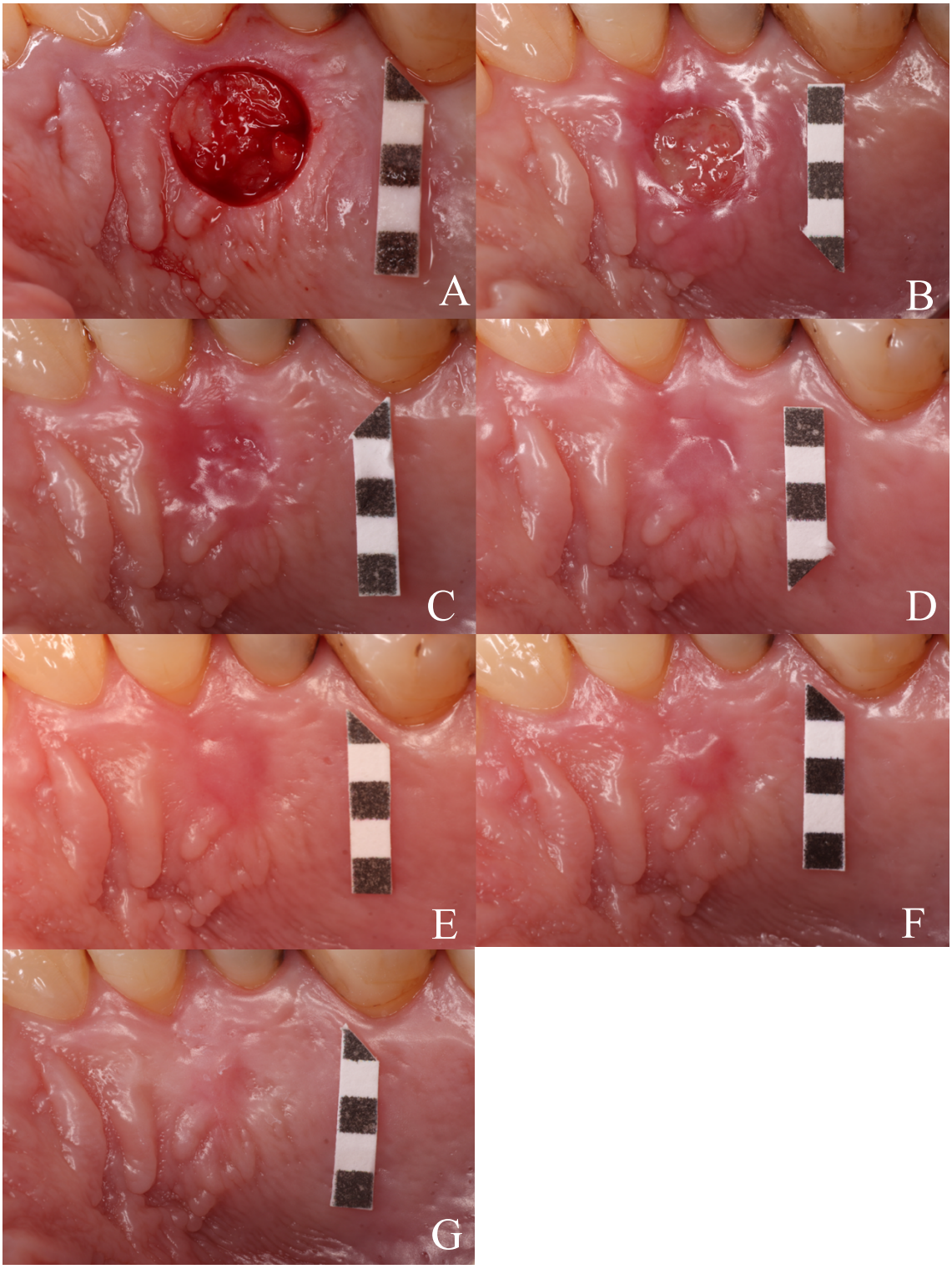
Em relação a cicatriz e colorometria do tecido foi possível verificar, na avaliação intragrupo, que ambos os grupos apresentaram reduções de ΔE em tal mensuração ao longo do acompanhamento realizado, aproximando-se da coloração do tecido adjacente. Contudo ressalta-se que, após 90 dias da execução do procedimento cirúrgico, uma maior redução de ΔE no grupo EE em relação aos dados anteriores deste grupo se fez presente ($p=0,05$). Em adição, evidencia-se que ao comparar os dois grupos do presente estudo em função do tempo, o grupo Sham apresenta aos 7 dias um ΔE reduzido com relevância estatística em relação ao grupo EE ($p=0,008$). (Tabela 2).

Tabela 2 – Mensurações dos parâmetros clínicos em função do tempo (dias) (n=53)

		BL	7	14	21	30	45	90
	ARF (mm^2)							
EE		43.3±6,1Aa	29,4±7,4 Ba	2,8±2,9 Ca	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da
Sham		42±7 Aa	33,4±9,9 Bb	7±7 Cb	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da
	***ΔEE**	-	13,9±5,9 a	40,5±5,7 a	-	-	-	-
	ΔSham	-	8,4±6,9 b	35±6,6 b	-	-	-	-
	EF (%)							
EE		0±0 Aa	38,4±16,3 Ba	90,9±10,7 Ca	99,7±1,0 Da	100±0,0 Da	100±0 Da	100±0 Da
Sham		0±0 Aa	22,2±19 Bb	86,2±13,9 Cb	99,4±2 Da	100±0,0 Da	100±0 Da	100±0 Da
	ET (mm)							
EE		4,3±1,4 Aa	-	-	-	-	4,2±1,3 Aa	4,2±1,5 Aa
Sham		4,0±0,9 Aa	-	-	-	-	3,9±1,1 Aa	4,0±1,3 Aa
	CCT							
EE			10,4±5,9 Aa	6,1±3,6 Ba	5,7±3,3 Ba	5,2±2,3 Ba	5±2,7 Ba	3±1,67 Ca
Sham			9,2±5,7 Ab	6,8±4,8 Ba	4,8±3,1 Ba	5,4±3,9 Ba	5,5±3,7 Ba	4,6±3,2 Ba

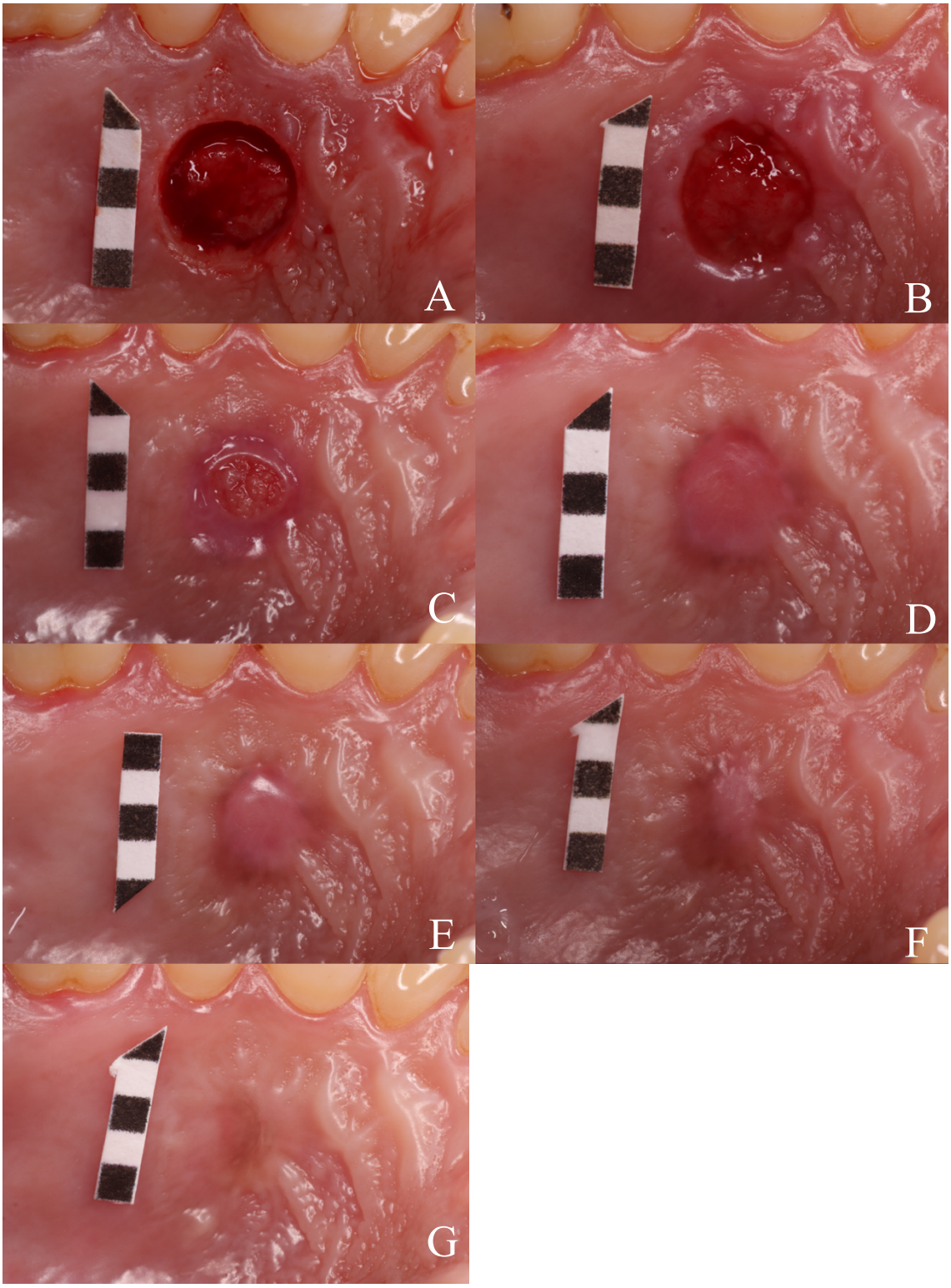
Legenda: BL, *Baseline*; ARF, Área Remanescente da Ferida em mm^2; EF, Epitelização da Ferida em %; ET, Espessura Tecidual em mm. EE, Estimulação Elétrica. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc. Teste T na comparação intergrupo.
Fonte:Elaborada pelo autor.

Figura 16 – Sequência de fotos do grupo EE durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida



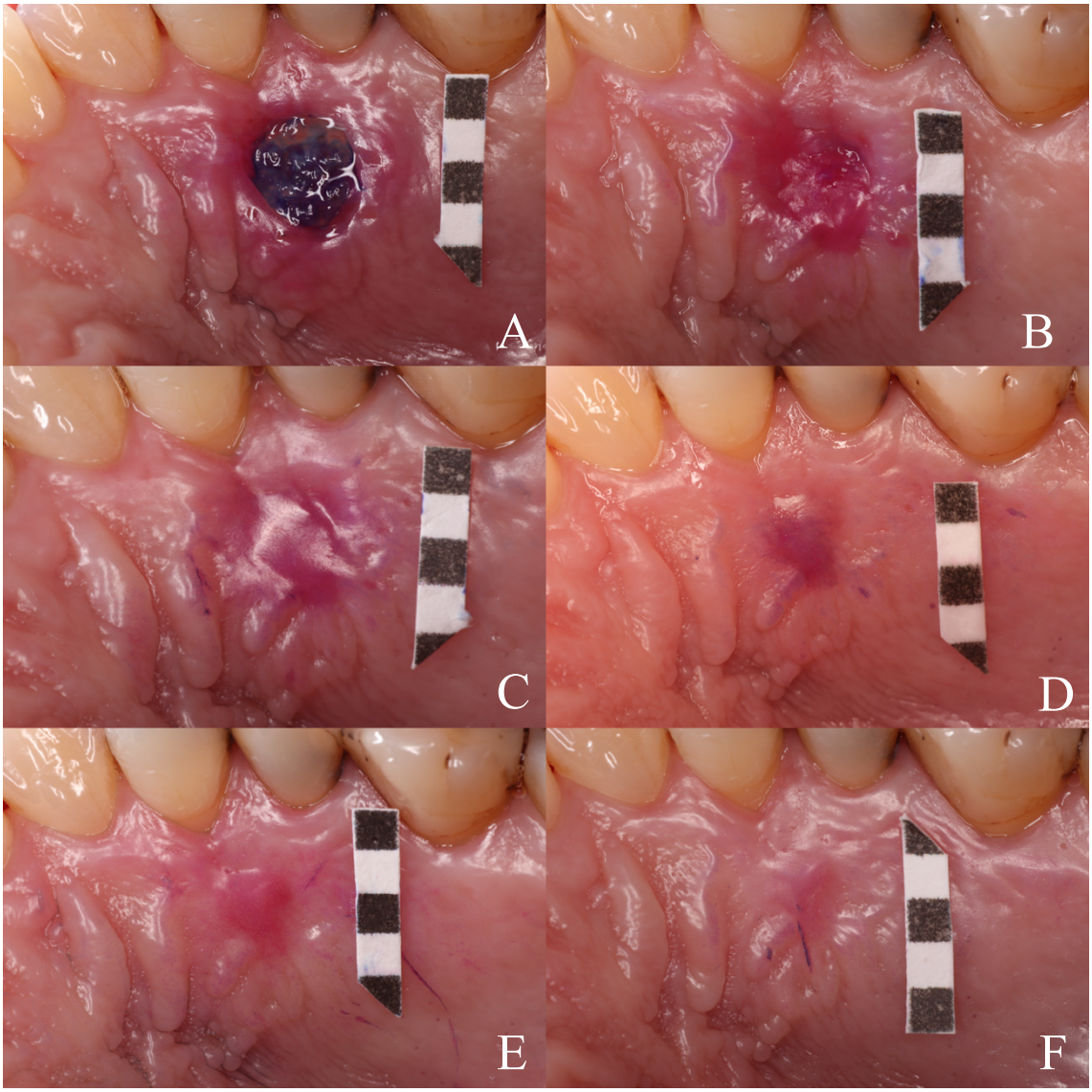
Legenda: *Baseline* (A), 7 dias (B), 14 dias (C), 21 dias (D), 30 dias (E), 45 dias (F) e 90 dias (G) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 17 – Sequência de fotos do grupo Sham durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida



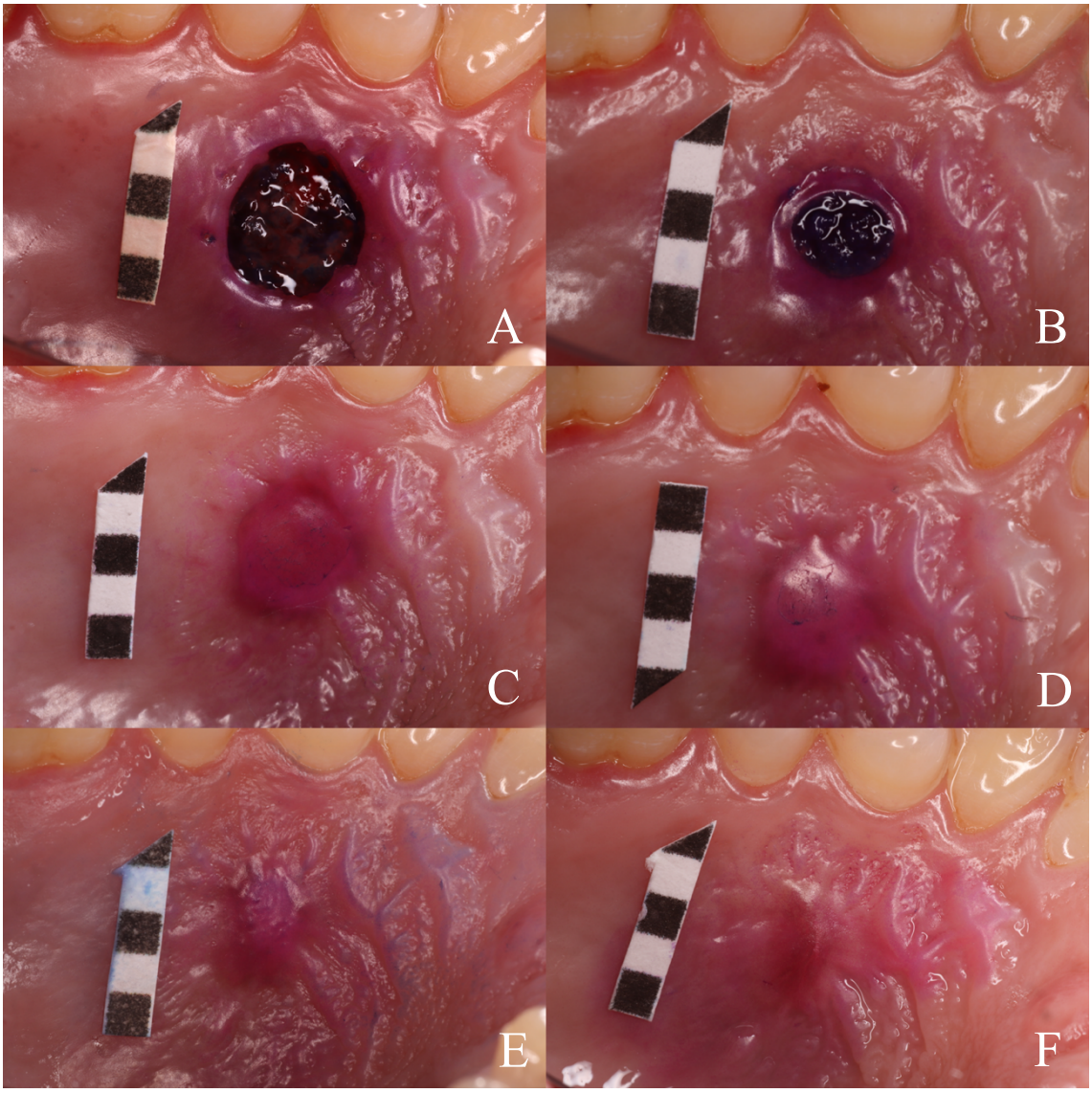
Legenda: *Baseline* (A), 7 dias (B), 14 dias (C), 21 dias (D), 30 dias (E), 45 dias (F) e 90 dias (G) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 18 – Sequência de fotos do grupo EE durante acompanhamento de 90 dias referente a epitelização da ferida



Legenda: Acompanhamento de 7 dias (A), 14 dias (B), 21 dias (C), 30 dias (D), 45 dias (E) e 90 dias (F) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 19 – Sequência de fotos do grupo Sham durante acompanhamento de 90 dias referente a epitelização da ferida

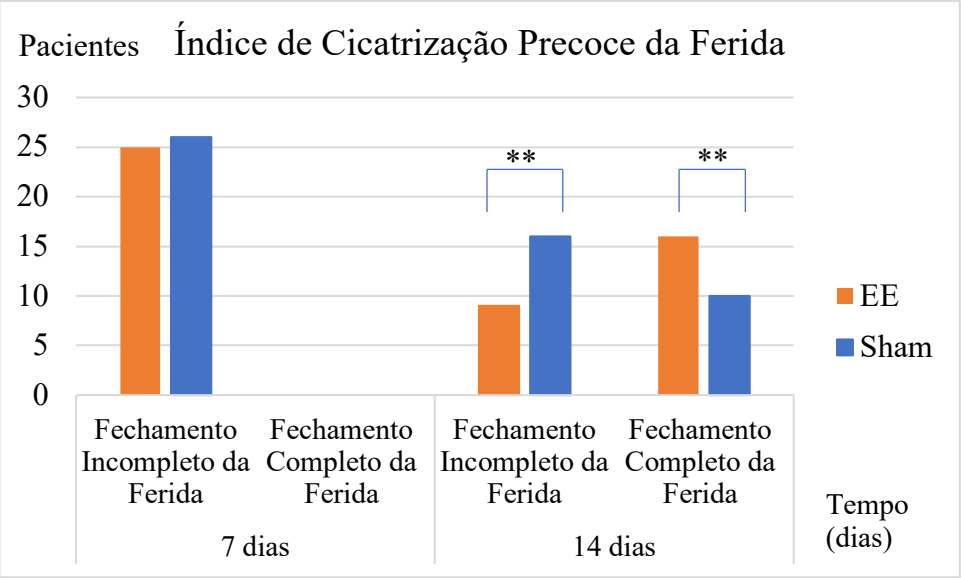


Legenda: Acompanhamento de 7 dias (A), 14 dias (B), 21 dias (C), 30 dias (D), 45 dias (E) e 90 dias (F) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.4.1.5 Índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF)

Ao avaliar os índices de cicatrização precoce da ferida, agrupando os cinco graus a partir do fechamento completo ou incompleto da ferida, foi possível observar que ambos os grupos apresentaram de 7 para 14 dias uma melhora no quadro clínico de cicatrização da ferida. Contudo, na avaliação intergrupo foi passível de observar, aos 14 dias pós procedimento cirúrgico, um fechamento precoce da ferida no grupo EE em relação ao grupo Sham (x^2=0,006) (Figura 20).

Figura 20 – Gráfico referente ao parâmetro Índice de Cicatrização Precoce da Ferida (n=53)



Legenda: Grau 1,2 e 3 = Fechamento Completo da Ferida; Grau 4 e 5 = Fechamento Incompleto da Ferida. * Diferença significante na comparação intragrupo e ** Diferença significante na comparação intergrupo. Teste de Qui-quadrado.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.4.2 Avaliações centradas no paciente

1.4.2.1 Desconforto pós-operatório (D)

O desconforto pós-operatório mensurado clinicamente através da escala VAS apresentou dados relevantes na avaliação intragrupo no grupo Sham. Os pacientes não estimulados eletricamente reportaram redução significante no desconforto ao jato de ar provocado na região de ferida somente após 21 dias do procedimento cirúrgico ($p<0,05$). Em contrapartida, não foi relatado pelos pacientes do grupo EE sintomatologia dolorosa neste parâmetro ao longo dos acompanhamentos preconizados, fato que corrobora para a diferença intergrupo favorecendo o grupo EE aos 7 e 14 dias pós-operatórios ($p<0,001$ e $p=0,047$, respectivamente) (Tabela 4).

1.4.2.2 Número de analgésicos (NA)

Quanto a análise do uso de analgésicos pelos pacientes, observou-se uma redução, tanto no grupo EE quanto no grupo Sham, do uso do mesmo a partir do segundo dia pós-operatório ($p<0,001$ e $p=0,05$). Nenhuma diferença intergrupo foi verificada neste parâmetro (Tabela 3).

1.4.2.3 Edema tecidual (E)

Avaliação do edema tecidual aos 7 dias após procedimento cirúrgico, a partir dos graus empregados, revelou ausência de diferenças significantes entre os grupos (p=0,1) (Tabela 6).

1.4.2.4 Qualidade de vida associado a saúde oral (OHIP)

A análise das 14 perguntas relacionadas em 7 domínios, limitações funcionais, dor física, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica e deficiência social, revelou, dentro do grupo EE, um declínio do score do OHIP aos 7 dias após intervenção (p=0,002). Em adição, a mesma avaliação intragrupo, denota que nos pacientes não estimulados eletricamente tal score apresenta redução significativa aos 8 dias após procedimento cirúrgico (p=0,005). Considerando as observações intergrupo, verifica-se uma diferença com significância numérica no declínio dos scores do OHIP favorecendo o grupo EE aos 2, 3 e 4 dias após intervenção cirúrgica (p=0,04, p=0,03 e p=0,02, respectivamente) (Tabela 5). O relato de dor apontado pelo paciente no diário pós-operatório expressa uma manutenção do desconforto pós-operatório durante 7 dias no grupo Sham, sem diferenças estatísticas significantes no declínio deste sintoma durante os acompanhamentos. Em contrapartida, uma diminuição da sintomatologia dolorosa aos 5 dias pós-operatórios se fez presente no grupo EE (p=0,02). Diferenças intergrupo com relevância estatística foram apresentadas a partir do terceiro dia pós-operatório favorecendo o grupo EE. Tal grupo reportou menor dor pós-operatória em relação ao grupo Sham nos dias 3 (p=0,008) ,4 (p=0,05), 5 (p=0,036) e 7 (p=0,008) após procedimento cirúrgico (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros centrados nos pacientes em função do tempo (dias) (n=53)

		1	2	3	4	5	6	7
	NA							
EE		0,88±1,0 Aa	0,12±0,3 Ba	0,16±0,4 Ba	0,08±0,3 Ba	0,08±0,2 Ba	0,04±0,2 Ba	0,12±0,3 Ba
Sham		0,83±0,9 Aa	0,47±0,9 Ba	0,43±1,2 Ba	0,43±1,3 Ba	0,39±1,3 Ba	0,43±1,3 Ba	0,36±1,0 Ba
	Dor OHIP							
EE		1,2±1,6 Aa	0,79±1,4 Aa	0,6±1,1 Aa	0,5±1,1 Aa	0,37±0,8 Ba	0,54±0,9 Ba	0,37±0,7 Ba
Sham		1,9±2,5 Aa	1,7±2,4 Aa	1,6±2,8 Ab	1,6±2,7 Ab	1,6±3,1 Ab	1,41±2,7 Aa	1,2±2,5 Ab

Legenda: NA, número de analgésicos ingeridos; EE, estimulação elétrica. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4 - Parâmetro centrado nos pacientes em função do tempo (dias) (n=53)

	7	14	21	30	45	90
Dor P.O. (VAS)						
EE	0,0±0,0 Aa	0,0±0,0 Aa	0,0±0,0 Aa	0,0±0,0 Aa	0,0±0,0 Aa	0,0±0,0 Aa
Sham	0,61±1,04 Ab	0,23±0,97 Ab	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba

Legenda: Dor P.O., dor pós-operatória (VAS); Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 5 - Score diário após o preenchimento do diário pós-operatório (OHIP) por 14 dias pelos pacientes (n=53)

	1	2	3	4	5	6	7
OHIP							
EE	6,4±8,7 Aa	3,8±6,2 ABa	3,5±5,8 ABa	2,8±5,1ABa	2,6±4,3ABa	2,7±4,9 ABa	2,3±4,4 Ba
Sham	9,1±11,6 Aa	8,36±11,6 Ab	8,76±12 Ab	7,84±12,2Ab	7±10,9Aa	5,8±9,5 ABa	5,8±10 ABa

	8	9	10	11	12	13	14
OHIP							
EE	2±4,55 Ba	1,5±4,36 Ba	1,4±4,3 Ba	1,4±4,5 Ba	1,5±4,4 Ba	1,4±4,4 Ba	1,3±4,3 Ba
Sham	4,6±7,3 Ba	4,7±8,3 Ba	4,1±8,3 Ba	3,1±6,2 Ba	2,3±5,1 Ba	2,4±5,4 Ba	2,8±5,9Ba

Legenda: Questionário com 14 questões baseadas em 7 domínios: limitações funcionais, dor física, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica e deficiência social. A cada questão uma resposta foi dada, representada em números, sendo: 0-Nunca; 1-Quase nunca; 2-Ocasionalmente; 3-Bastante frequente; 4-Muito frequente; 5-Não sei. O score máximo para cada dia do questionário é de 56. EE, estimulação elétrica. Sham: simuluação de estimulação elétrica.Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 6 -Parâmetro Edema Tecidual aos 7 dias após procedimento cirúrgico (n=53)

	Edema	7	P value
	SCORE 1		
EE		4	
Sham		8	
	SCORE 2		
EE		14	
Sham		11	0,1
	SCORE 3		
EE		7	
Sham		5	
	SCORE 4		
EE		0	
Sham		4	

Legenda: Score: 1 = ausente; 2 = ligeiro; 3 = moderado; ou 4 = grave. EE:Estímulo elétrico. P value: Teste qui-quadrado.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.4.3 Avaliação imunológica

A partir da análise do exsudato inflamatório coletado em 3 e 7 dias após procedimento cirúrgico em um ensaio de multiplex, resultados denotam uma capacidade da eletroterapia em modular a resposta inflamatória do tecido injuriado. A citocina IL-1ß apresentou uma redução, com significância estatística, dentro do grupo Sham dos 3 para 7 dias de

acompanhamento (p=0,041). Característica similar quanto a análise intragrupo no grupo EE não foi verificada (p=0,27). Bem como diferenças intergrupo não foram encontradas perante esta citocina nos períodos de 3 e 7 dias de acompanhamento pós-operatório (Figura 21 - Tabela 7).

Em relação a IL-6, um aumento da sua concentração com relevância estatística intragrupo foi verificado no grupo Sham (p<0,001). Apesar da ausência de diferenças significantes intragrupo no grupo EE e intergrupo aos 3 dias de acompanhamento uma redução com relevância numérica favorecendo o grupo EE aos 7 dias em relação ao grupo Sham foi visto (p<0,001) (Figura 21 – Tabela 7).

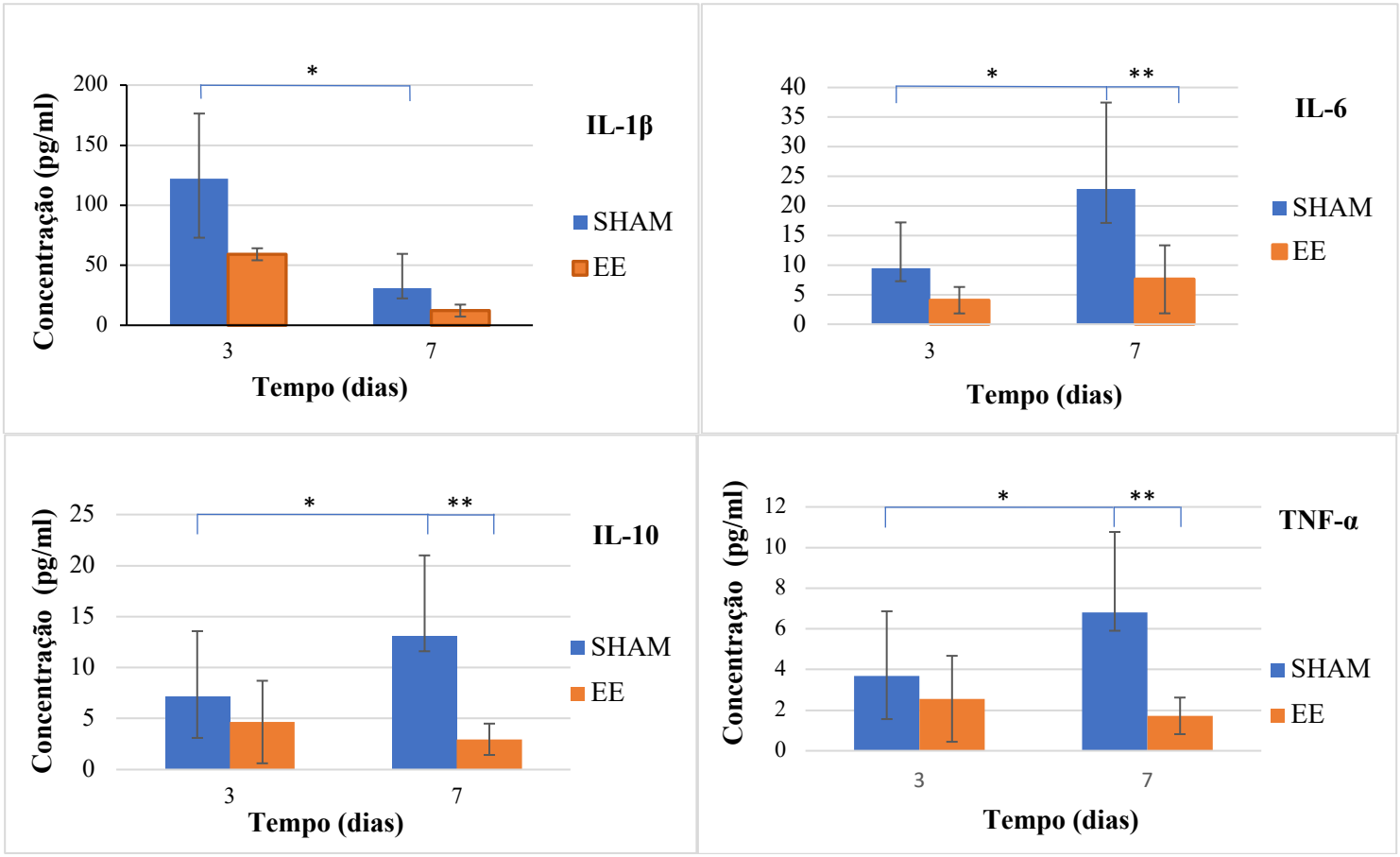
Um semelhante comportamento foi observado nos biomarcadores IL-10 e TNF-α visto que o grupo Sham apresentou aumento da concentração deste biomarcador ao decorrer das análises (p=0,004 e p=0,001, respectivamente). Uma redução destes biomarcadores no grupo EE, com relevância estatística, foi visto aos 7 dias em comparação ao grupo sem eletroterapia (p<0,001 em ambos) (Figura 21 - Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados imunológicos referentes as citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF-α

Grupo	Biomarcador	3	7
EE	**(IL-1β)**	59,11 ± 49,07 Aa	12,21 ± 8,27 Aa
Sham		121,97 ± 54,34 Aa	30,65 ± 28,81 Ba
EE	**(IL 6)**	4,05 ± 2,23 Aa	7,58 ± 5,74 Aa
Sham		9,50 ± 7,69 Aa	22,85 ± 14,59 Bb
EE	**(IL 10)**	4,66 ± 4,04 Aa	2,96 ± 1,53 Aa
Sham		7,15 ± 6,42 Aa	13,13 ± 7,86 Bb
EE	**(TNF-α)**	2,55 ± 2,11 Aa	1,71 ± 0,90 Aa
Sham		3,67 ± 3,19 Aa	6,80 ± 3,96 Bb

Legenda: EE,Grupo Estímulo Elétrico; Sham,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; IL 1 β = Interleucina 1 beta; IL 6 = Interleucina 6; IL 10 = Interleucina 10; TNF α = Fator de Necrose Tumoral Alfa; Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas. Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 21 – Gráficos referentes aos resultados das citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF- α



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor.

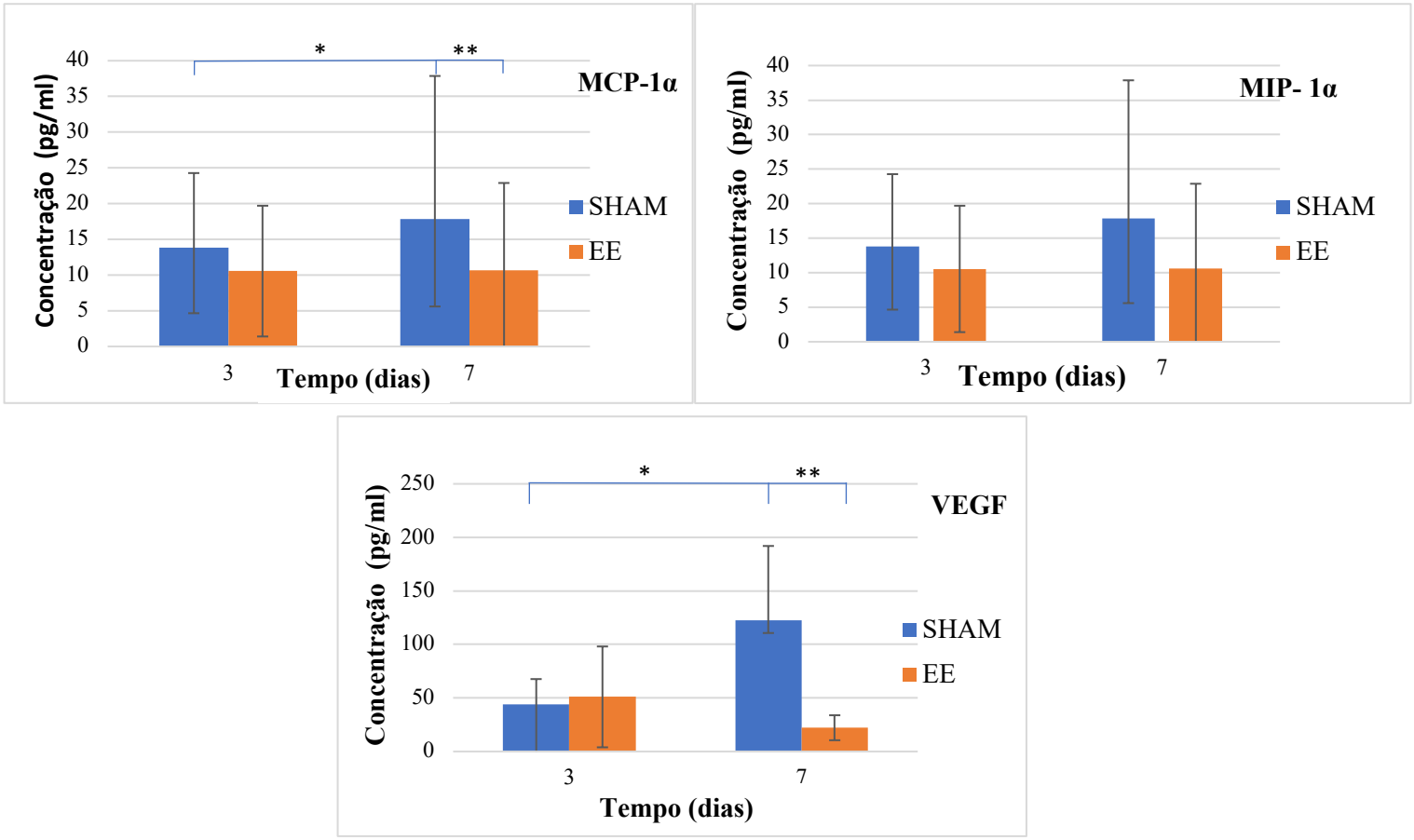
MCP-1α apresentou uma concentração em ascensão no grupo Sham dos 3 aos 7 dias pós-cirúrgico (p=0,001). Em contrapartida, o grupo EE reportou uma redução desta proteína intragrupo porém sem uma relevância estatística (p=0,49). Tal característica de significância numérica (p=0,001) foi verificada no resultado intergrupo no período de 7 dias com uma redução favorecendo o grupo EE. Com relação as análises de MIP-1 α, nenhuma diferença estatística foi verificada nas análises intra e intergrupos (Figura 22 -Tabela 8). Quanto ao VEGF, houve relevância estatística intragrupo neste parâmetro somente no grupo SHAM com aumento da sua concentração de 3 para 7 dias pós-operatório (p<0,001). Em contrapartida, uma redução estatística significante intergrupo foi verificada aos 7 dias no grupo EE em relação ao grupo que não recebeu eletroterapia (p<0,001) (Figura 22 – Tabela 8).

Tabela 8 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MCP – 1α, MIP – 1α e VEGF

Grupo	Biomarcador	3	7
EE	**(MCP-1)**	8,55 ± 5,68 Aa	11,03 ± 7,85 Aa
Sham		11,30 ± 8,22 Aa	23,56 ± 11,73 Bb
EE	**(MIP-1 α)**	10,55 ± 9,15 Aa	10,62 ± 12,26 Aa
Sham		13,80 ± 10,46 Aa	17,85 ± 20,00 Aa
EE	**(VEGF)**	50,99 ± 47,10 Aa	22,17 ± 11,66 Aa
Sham		43,91 ± 23,72 Aa	122,35 ± 69,63Bb

Legenda: EE,Grupo Estímulo Elétrico; Sham,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; MCP-1, Proteína Quimiotática de Monócitos; MIP-1α, Proteína Inflamatória de Macrófago 1-alfa, VEGF, Fator de Crescimento endotélio-vascular. Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 22 - Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MCP-1α, MIP-1α e VEGF



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor

Ao analisar proteínas MMP-2 e 9, um aumento com relevância estatística intragrupo foi verificada nestas proteínas no grupo Sham (p=0,002 e p<0,001, respectivamente). Já nos parâmetros intergrupos foi observado uma redução estatisticamente significante nas mesmas no grupo EE aos 7 dias quando comparado ao sem estimulação elétrica no mesmo período (p<0,001 em ambos) (Figura 23 – Tabela 9).

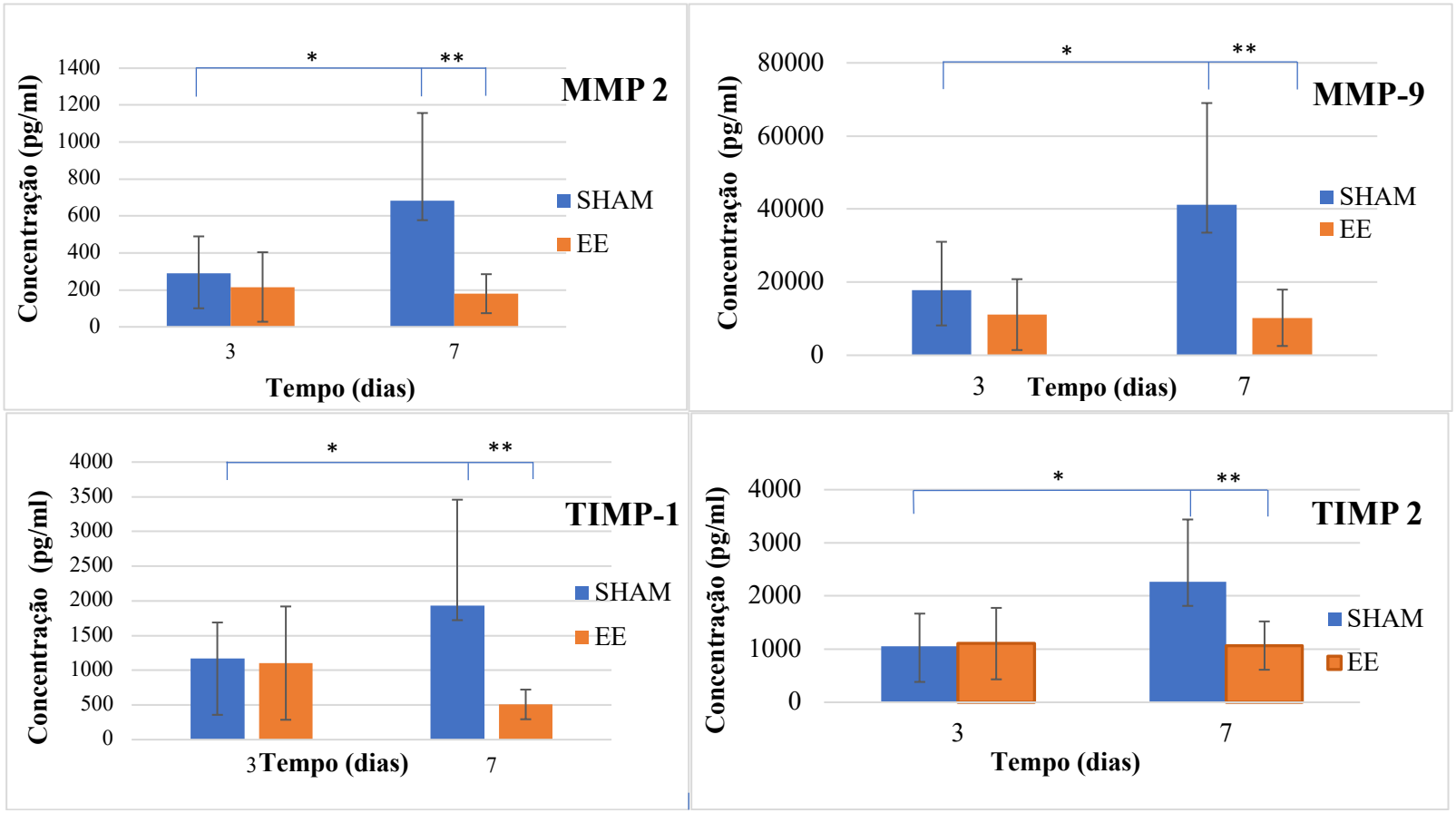
Em consequência da resposta ao aumento de MMP-2 e 9, TIMP-1 e 2 apresentaram-se aumentados com significância estatística no grupo Sham (p=0,02 e <0,001, respectivamente). Em contrapartida, uma redução com relevância estatística foi vista no grupo EE aos 7 dias quando relacionado ao grupo controle no mesmo período (p<0,001 em ambos) (Figura 23 – Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2

Grupo	Biomarcador	3	7
EE	**(MMP-2)**	215,75 ± 188,13 Aa	179,47 ± 105,48 Aa
Sham		288,54 ± 201,10 Aa	682,75 ± 474,63 Bb
EE	**(MMP-9)**	11119,95 ± 9697,02 Aa	10249,36 ± 7710,98 Aa
Sham		17858,19 ± 13182,02 Aa	41249,23 ± 27758,23 Bb
EE	**(TIMP-1)**	1102,43 ± 816,54 Aa	507,43 ± 213,84 Aa
Sham		1173,60 ± 514,45 Aa	1935,36 ± 1522,43 Bb
EE	**(TIMP-2)**	1103,94 ± 672,23 Aa	1066,73 ± 454,72 Aa
Sham		1055,17 ± 613,23 Aa	2268,53 ± 1171,13 Bb

Legenda: EE,Grupo Estímulo Elétrico; Sham,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; MMP – 2 -9, Metaloproteínase, TIMP – 1 -2, Inibidor de Metaloproteínase. Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 23 - Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MMP -2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor.

1.5 Discussão

O uso de enxertos autógenos para a execução de procedimentos mucogengivais se faz consagrado na literatura. Apesar da vasta gama de biomateriais disponíveis no mercado, os enxertos de tecido mole obtidos da região palatina ainda são classificados como padrão-ouro para o tratamento de diversas condições periodontais (Cairo et al., 2008; Buti et al., 2013; Puri et al.,2019). A presença de um segundo sítio cirúrgico apresenta-se como um incômodo para o paciente bem como um risco clínico à vista do operador quanto a sangramento e necrose da área (Fickl et al., 2014, Tonetti et al., 2017, Aguirre-Zorzano et al., 2017, Puri et al., 2019). Terapias adjuntas à região palatina se fazem de grande interesse visando um conforto ao paciente no segundo sítio cirúrgico.

Revisões sistemáticas apontam que o uso da eletroterapia no âmbito médico apresenta benefícios no processo de cicatrização de feridas crônicas em derme (Balakatounis et al., 2008; Barnes et al., 2014; Kawasaki et al., 2014; Ashrafi et al., 2017). Tais estudos clínicos reportam uma variedade de protocolos com diferentes intensidades, corrente, frequência, tipo de onda, bem como tempo de aplicação do estímulo à região lesada. A diversidade de protocolos provém de uma ausência de padronização do uso desta terapia em adição à dificuldade de cicatrização de feridas dérmicas. Comparando-se o processo de reparo tecidual em derme e em mucosa, Iglesias-Bartolome et al. (2018) relataram, através da análise transcricional de biópsias orais e de pele, que certos genes relacionados à cicatrização tecidual já se encontravam transcritos antes mesmo de um processo de injuria estar estabelecido no tecido, e na maioria das análises em alta expressividade, na região intra-oral. Os autores justificam essa predisposição ao reparo devido a cavidade oral estar constantemente em

contato com desafio microbiano e traumático associado a um tecido pouco queratinizado. Sendo assim, denota-se que a área dérmica demanda um maior tempo para o processamento da injuria bem com o início do mecanismo de cicatrização tecidual em comparação à mucosa.

No âmbito odontológico, o emprego de eletroterapia de baixa intensidade foi explorado em animais com finalidades de tratamento de defeitos ósseos, movimentação ortodôntica e auxílio no reparo tecidual após periodontite induzida. Microcorrentes variando de 10 a 100 μa, em uma frequência de 1 a 60 khz, com tempo de aplicação de 10 segundos a 5 minutos, por períodos de 3 a 14 dias, foram empregados (Hashimoto et al., 1990; Kaynak et al., 2005; Tomofuji et al., 2013; Spadari et al., 2017). Resultados positivos frente aos respectivos objetivos foram reportados nestes estudos a partir de uma reconstituição favorável da arquitetura tecidual após o uso da eletroterapia.

No presente estudo foi verificado aos 7 e 14 dias uma redução com significância estatística da área remanescente da ferida em comparação ao grupo Sham. Aparentemente, os resultados intragrupo expressam que os pacientes randomizados ao grupo EE apresentam-se um passo a frente do grupo não estimulado durante os acompanhamentos preconizados no processo de fechamento da ferida. Tais resultados enriquecem os dados histológicos apresentadas por Tomofuji et al. (2013) os quais denotam uma melhor remodelação tecidual com o uso da eletroterapia com protocolo elétrico semelhante aos usados neste estudo clínico. Wood et al. (1993) fizeram uso de uma intensidade de 300 μA, próximo ao utilizado no presente estudo, para o tratamento de úlceras de decúbito. A aplicação 1 vez ao dia, 3 vezes na semana, durante 8 semanas revelou uma redução significante na área da ferida em relação ao grupo controle. Apesar de uma gama de diferentes protocolos bem como maneiras da estimulação elétrica ser conduzida na região de derme, estudos contemporâneos na literatura

indicam uma redução, de modo significante, da área remanescente da ferida com o princípio da eletroterapia em cerca de 30% a mais em comparação a tratamentos convencionais (Houghton et al., 2003; Houghton et al., 2010 ; Koel, Houghton, 2013). Apesar da reparação favorável da mucosa oral, conforme relatado anteriormente, os valores de delta apresentados neste estudo denotam que 30% da ferida se encontrava reparada no grupo EE aos 7 dias. Em conjunto, o parâmetro Índice de Cicatrização Precoce da Ferida apresentado neste estudo revela que aos 14 dias após procedimento cirúrgico graus mais favoráveis de resolução da injuria local são observados no grupo o qual se faz uso do protocolo de estimulação elétrica. Em suma, parte-se do princípio que o uso de campos elétricos endógenos permite um fechamento antecipado da ferida palatina.

A eletroterapia apresenta a capacidade de ativar vias de sinalização intracelular pelo estímulo a receptores de fator de crescimento epidérmico. Essa ativação corrobora com a migração de células epiteliais à região injuriada devido a fosforilação de PI3K/Akt e ERK1/2 no âmbito intracelular (Zhao, 2008; Li et al., 2012). Tal eletrotaxia celular pode ser vista neste estudo nos primeiros acompanhamentos preconizados. Aos 7 e 14 dias o grupo EE apresentou uma área de epitelização em porcentagem superior, com relevância estatística, em relação ao grupo Sham. Os resultados de reepitelização do presente estudo se assemelham ao de Grunter et al. (2014). Tal estudo fez uso da estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS), em corrente direta pulsada nos parâmetros de 4.5 V, 40 μA 2 Hz, por 15 minuto, 1 vez ao dia, durante 5 dias, para verificar o tratamento de feridas na região dorsal de ratos tipo Wistal-Albino. Para avaliar essa abordagem, protocolos habituais ao tratamento de feridas cutâneas como solução salina e iodopovidine foram utilizados. Apesar do TENS ser comumente utilizado no controle de dores de caráter agudo e crônico com efeito de analgesia, os autores revelaram uma capacidade de

cicatrização tecidual com o uso do mesmo. A partir de análises histomorfológicas foi possível observar uma reepitelização da ferida de modo consideravelmente superior aos grupos de tratamento convencionais bem como redução de tecido de granulação local, com um adequando posicionamento das margens da ferida. Deste modo, pode-se sugerir um impacto da eletroterapia na reepitelização de modo precoce da área doadora.

A avaliação da espessura tecidual da área doadora após 3 meses do procedimento de enxertia revelou uma recuperação da mesma com mensurações semelhantes ao *baseline* nos dois grupos estudados. Keskiner et al. (2016) avaliou se a mucosa mastigatória palatina remanescente, com espessura < 2mm ou > 2mm, após remoção de um enxerto gengival livre, influenciava no mecanismo de reparo tecidual. Apesar de verificar que a espessura remanescente > 2mm na região doadora auxiliava no processo de recuperação precoce da espessura tecidual, verificou-se que ao fim do acompanhamento de 6 meses a espessura local se fazia semelhante as mensurações iniciais em ambos os grupos do estudo. Estudos contemporâneos revelaram capacidade de recuperação favorável da espessura da região palatina independente da terapia adicional empregada a mesma (Dias et al., 2015; Da Silva Neves et al., 2016). Aparentemente, a mucosa palatina comporta-se de modo favorável ao processo de cicatrização tecidual com a possibilidade de manutenção da integridade local dentro de semanas (Thoma et al., 2012; Iglesias-Bartolome et al., 2018).

Desconforto pós-operatório é uma das queixas de maior ênfase reportada pelos pacientes na literatura frente a terapias com enxerto autógeno. A sensação dolorosa pós-operatória perante a obtenção do enxerto gengival livre deve-se a área palatina removida bem como a espessura de tecido remanescente no local (Burkhardt et al., 2015; Wyrębek et al., 2018). A partir do emprego do OHIP, o presente estudo verificou uma menor sintomatologia dolorosa, com significância estatística, dos pacientes

pertencentes ao grupo EE a partir do terceiro dia pós-operatórios em comparação ao grupo Sham. Além disso, a manutenção da sintomatologia dolorosa ao decorrer das análises nos pacientes não submetidos a eletroterapia, sem alterações significantes intragrupo, denota uma caraterística de analgesia do uso do protocolo elétrica. Em paralelo, o uso da VAS pelo clínico revelou ausência de desconforto pós-operatório no grupo EE. Em relação ao Sham foi reportado desconforto aos 7 e 14 dias com diferenças significantes intra e intergrupo, favorecendo o grupo EE. Estes resultados corroboram com o manejo da dor a partir do uso de microcorrentes (20 a 600 μa) em feridas crônicas presente na literatura (Ojingwa et al., 2003; Korelo et al., 2012).

Ao comparar o uso da mensuração de dor no questionário pós-operatório com a VAS aplicada pelo profissional em ambiente clínico verifica-se a fidelidade da primeira quanto ao acompanhamento do paciente. O preenchimento diário da sensação dolorosa, com a presença de variados estímulos cotidianos a região palatina injuriada, denota uma sensibilidade maior quanto a avaliação do parâmetro dor. Apesar de certa morbidade apresentada pelos pacientes, o consumo de analgésicos foi reduzido de modo gradativo nos dois grupos perante os acompanhamentos preconizados, sem diferença estatística tanto intra quanto intergrupo.

Ainda se fazem escassas as explicações perante o efeito farmacológico-analgésico da eletroterapia. Contudo, uma plausibilidade para tal ação deve-se as relações fisiológicas das fibras transportadoras da dor (C e A-δ) com as supressoras (A-β) após aplicação de uma corrente elétrica local. A aplicação de uma eletroterapia de baixa intensidade estimula fibras do tipo A-β as quais competem com fibras C e A-δ na condução do estímulo doloroso ao sistema nervoso. Esta ativação de fibras supressoras favorece a incapacidade de transdução dos impulsos de dor (de Domenico, 2002; Bowsher, 2003; Kahn, 2004).

Menor score na avaliação da qualidade de vida dos pacientes estimulados eletricamente foi observado durante 2, 3 e 4 dias pós-intervenção cirúrgica em comparação ao grupo Sham. Tonetti et al. (2017) utilizaram o questionário OHIP para avaliar a qualidade de vida do paciente submetido a procedimento de cirurgia mucogengival. Os pacientes sofriam a remoção de tecido conjuntivo subepitelial ou uso do biomaterial de matriz colágena xenógena associado à técnica de recobrimento radicular. Os resultados apontam um *score* elevado do questionário nos 7 primeiros dias após intervenção local no grupo randomizado para remoção do enxerto da região palatina. Em comparação ao manuseio da mesma área no presente estudo, um *score* reduzido frente ao uso da eletroterapia pode ser constatado no período relatado. Deste modo, campos elétricos endógenos podem oferecer comodidade ao paciente frente a necessidade de um sítio doador.

As fases do reparo tecidual são orquestradas por diversas citocinas, bem como fatores de crescimento, que influenciam diretamente na resolução da injuria tecidual através da interação destes com células locais. Um reparo tecidual com lenta evolução, associado com frequente formação de um tecido fibrótico, possui uma relação direta com a liberação desreguladas ou de certo modo demasiada-deficiente de certos mediadores. A permanência do processo de cicatrização na fase inflamatória, com presença significante de proteases, tal como acúmulo de citocinas pró-inflamatórias, influenciam na reparação tecidual (Efron, Moldawer, 2004).

IL-6, caracterizada por um perfil ambíguo devido atuar como uma citocina pró-inflamatória nos períodos de fase aguda do reparo e como uma quimiocina anti-inflamatório nas fases mais tardias com um papel importante na hematopoiese (Heinrich et al., 2003), apresentou-se neste estudo elevada no grupo Sham na comparação intragrupo. Em adição, uma diferença com significância estatística foi vista ao comparar os dois tratamentos à ferida aos 7 dias, favorecendo uma menor concentração deste biomarcador no grupo

EE. A redução desta citocina após abordagem de eletroterapia é suportada por Gürgen et al. (2014) o qual fez uso de TENS em ferida cutâneas, conforme citado anteriormente. Os animais foram sacrificados após o último dia de estímulo elétrico e citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF-α e IL-1ß foram exploradas. Após avaliação, com ensaio de ELISA, foi exposto uma redução da concentração (pg/mg) da IL-6 bem como das outras citocinas citadas no grupo estimulado em relação aos demais, com relevância estatística. Deste modo, a partir do período no qual esta citocina foi avaliada nos dois estudos, a redução da sua atividade pró-inflamatório no período de reparo se torna um benefício para uma menor permanência na fase inflamatória.

TNF-α, considerado a citocina de papel crucial nos instantes imediatos após injuria devido permitir aumento de permeabilidade vascular, recrutamento de polimorfonucleares, com sua concentração diretamente proporcional à intensidade inflamatória (Petkovic et al., 2010; Parameswaran, Patial, 2010), apresentou-se aumentada no presente estudo no grupo Sham de 3 para 7 dias. Quanto a análise intergrupo, uma concentração inferior de TNF- α se fez significante no grupo EE em relação ao grupo não estimulado aos 7 dias após procedimento cirúrgico. Tal resultado corrobora também com Gürgen et al. (2014). Uma redução com relevância estatística no grupo que recebeu eletroterapia foi verificada em relação aos grupos com tratamento convencional. A redução da concentração de TNF-α reduz a expressão de uma série de outras citocinas com caráter pró-inflamatório, visto que atua como a maior reguladora da produção destas (Parameswaran, Patial, 2010).

Diminuta expressão de IL-1ß, proteína relacionada ao aumento da expressão de moléculas de adesão endotelial, quimiotaxia de células do sistema imune e a degradação de colágeno, se faz frente à estimulação elétrica em reparação tecidual na literatura (Gürgen et al., 2014; Huo et al.,

2017). Kim et al. (2013) fizeram uso de um campo elétrico em células da coluna vertebral previamente estimuladas com IL-1β. Após análise observou-se uma redução significante na expressão de diversos mediadores relacionados ao processo inflamatório. Uma das justificativas trazidas pelo autor é a modulação do NF-κB e de uma via específica de proteinas-quinase (MAPK) pelo estímulo elétrico o qual tem como função a transcrição de genes na região de núcleo com a finalidade de futura produção de proteínas, como por exemplo citocinas. Este fenômeno se equipara ao relato trazido por Yu e colaboradores em 2014, sendo um dos mecanismos de ação da eletroterapia. Apesar da apresentação desta citocina em menor concentração, tanto na avaliação intra quanto intergrupo nos pacientes randomizados ao grupo EE do presente estudo, não foi possível verificar uma diferença relevante no âmbito estatístico.

MCP- 1α e MIP- 1α são quimiocinas com alta expressão frente à sinais inflamatórios instalados no tecido, provocando recrutamento de células polimorfonucleares como neutrófilos e macrófagos de modo direcionado à área injuriada (Deshmane et al., 2009; Petkovic et al., 2010). Um aumento de modo significante na concentração de MCP- 1α foi verificado no grupo Sham na comparação intragrupo, bem como uma maior expressão aos 7 dias em relação ao grupo EE no mesmo período. Tal característica pode ser explicada pela menor concentração de citocinas pioneiras no processo inflamatório frente ao uso da eletroterapia, conforme relatado acima (Kim et al., 2013). Deste modo, a intensidade do recrutamento celular é menor e uma contenção da extensão do processo inflamatório se faz presente, sendo portanto plausível a diminuição de MCP- 1α no grupo EE. Apesar de não se apresentar com relevância estatística, é possível observar um aumento de MIP-1α na avaliação intragrupo dos indivíduos não estimulado eletricamente. Tal propriedade, apesar de singela, denota um controle da inflamação local ao uso da eletroterapia de baixa intensidade.

O VEGF também foi analisado no presente estudo. Apresentando funções de angiogênese através do aumento da expressão de células endoteliais, bem como produção de citocinas vasodilatadoras pelas mesmas (Cross et al., 2013), estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que o uso de campos elétricos e microcorrentes aumentam a expressão deste fator de crescimento (Ferroni et al., 2005; Cross et al., 2013; Ud-Din S et al., 2015; Chen et al., 2018). Em contrapartida, o presente estudo revela uma diminuição deste parâmetro imunológico ao longo do acompanhamento de 3 e 7 dias após o procedimento cirúrgico e um aumento deste biomarcador no grupo Sham. Este resultado, apesar de confrontar com a gama de estudos presentes na literatura, se equipara ao estudo recente de Spadari et al. (2017), que avaliaram o uso da eletroestimulação de baixa intensidade durante a movimentação ortodôntica em ratos. Assim como no presente estudo, a expressão de VEGF reportou-se reduzida após 7 dias da terapia e um comportamento de ascensão deste fator foi relatado no grupo controle. Os autores justificam este comportamento em vista da velocidade acelerada do reparo quando o estímulo elétrico é empregado, reestabelecendo de modo mais veloz o colapso tecidual e nova formação de vasos sanguíneos (Poltawsk, Watson, 2009). A partir disto, um maior aporte sanguíneo se faz presente bem como vasos com comportamento de vasodilatação precoce, fatores que reduzem um dos componentes principais para a maior expressão de VEFG: a hipóxia (Weber et al., 2004; Bates, 2008; Bao et al., 2009).

Metaloproteinases são proteínas específicas nomeadas de endopeptidases que atuam sobre os tecidos de modo íons- dependentes, Zn2+ ou Ca2+, para atividade no local (Gill, Parks, 2008). As mesmas são subdividias em cinco grupos segundo seu substrato primário. MMP -2 e -9 são caracterizadas como gelatinases com significante participação no mecanismo de remodelação tecidual visto sua atividade sob colágeno do tipo IV, V, VII e X bem como elastina (Utz et al., 2014). Em adição, devido

sua atividade de catabolismo tecidual, a ação de quimiotaxia desta enzima consegue ser observada devido o recrutamento de células imunes (Gill, Parks, 2008). No presente estudo, foi possível verificar um aumento expressivo de ambas MMPs no grupo Sham, bem como uma diferença intergrupo aos 7 dias favorecendo o grupo EE com menores concentrações deste biomarcador. Esses resultados são compatíveis com os obtidos por Tomofuji et al. (2017). Neste estudo periodontite foi induzida em ratos a partir do uso de ligadura. Após 4 semanas as ligaduras foram removidas e os animais que desenvolveram a doença receberam estimulação elétrica diária de 0, 50, ou 100 μA por 10 segundos durante 2 semanas. Observou-se que a expressão de MMP-9 nos animais destinados ao grupo com estímulo elétrico (50 e 100 μA) fez-se inferior a metade da expressão desta citocina no tecido periodontal no grupo controle. A presença deste biomarcador em concentrações equilibradas no tecido durante o processo de cicatrização de ferida se faz importante devido sua capacidade de alterar a matriz da área injuriada permitindo migração celular e remodelação tecidual (Bellayr et al., 2009; Caley et al., 2015). Contudo, o aumento exacerbado da concentração de MMP denota uma previsibilidade de cicatrização retardada ou até mesmo o desenvolvimento de feridas crônicas (Shan et al., 2012; Patel et al., 2016). Deste modo, inibidores de metaloproteinases (TIMP) se fazem importantes na busca de uma atividade balanceada destas endopeptidases. Certa especificidade se faz presente entre MMPs e TIMPs, por exemplo, o controle das MMPs 1,3 e 9 se faz mais efetivo com TIMP-1. Em contrapartida, MMP-2 é inibida de modo mais eficaz por TIMP-2 (Patel et al., 2016; Bourboulia, Stetler-Stevenson, 2010). No presente estudo, TIMP-1 e TIMP-2 apresentaram-se reduzidas aos 7 dias de modo estatisticamente significante no grupo EE em relação ao grupo Sham. De modo semelhante, na compararação intragrupo, um aumento extremamente relevante foi visto no grupo sem estímulo elétrico verdadeiro. Tal resultado

era esperado devido o seu *feedback* positivo com MMP-9 e MMP-2, respectivamente. Remetendo-se novamente ao estudo de Tomofuji et al. (2017), verifica-se que TIMP-1 e TIMP-2 apresentaram-se também reduzidas nos grupos submetidos à eletroterapia, sendo, portanto, coerente com os resultados obtidos neste estudo. Deste modo, é plausível afirmar que o uso da eletroterapia de baixa intensidade permite o controle de MMP e TIMP de modo a favorecer o reparo tecidual.

Edema tecidual apresenta-se relacionado com a condução do processo inflamatório local. Como consequência, o manejo de citocinas pró inflamatórias no mecanismo de reparo favorece controle do edema no local devido ao controle da resposta aguda frente a injúria (Gonzalez et al., 2015; Fullerton, Gilroy, 2016). A presente dissertação não observou diferenças entre os grupos perante o edema tecidual aos 7 dias pós-operatórios. Um predomínio ao edema ausente ou ligeiro se fez presente nas feridas analisadas em ambos os grupos. Uma plausível justificativa para o ocorrido deve-se a prescrição de dexametasona 4 mg antes do procedimento cirúrgico para ambos os grupos. O uso de medicação pre-empitiva se faz consagrado no âmbito cirúrgico-odontológico (Markiewicz et al., 2008; Alcantara et al., 2014). A prescrição prévia de anti-inflamatório corticoides (AIES) propicia redução mais efetiva do edema facial bem como do local cirúrgico injuriado (Falci et al., 2017; Semper-Hogg et al., 2017).

Alterações de cor entre a área operada e área adjacente a ferida foram mensuradas com a finalidade de observar os estágios de inflamação, bem como o reparo do tecido local através da coloração predominante. O presente estudo relatou aos 7 dias uma coloração no grupo Sham com maior semelhança a área adjacente em relação ao grupo estimulado. Este fato se faz interessante visto que nos parâmetros clínicos bem como imunológicos o grupo EE apresentou-se com resultados positivos e favoráveis frente ao reparo tecidual em relação ao grupo Sham. Contudo, ao fim do

acompanhamento do estudo, o grupo EE apresentou um tecido cicatrizado com maior similaridade a um tecido não injuriado. Tal característica corrobora para a presença de um tecido reparado com maior semelhança morfológica ao que ali residia antes da injúria.

Em vista dos dados apresentados, o presente estudo denota benefícios frente ao uso da eletroterapia de baixa intensidade na cicatrização de feridas palatinas. A partir dos parâmetros clínicos empregados verificou-se um fechamento da área injuriada, bem como sua integridade epitelial reestabelecida, de modo precoce em relação ao grupo sem nenhuma intervenção adicional a região doadora. Parâmetros centrados no paciente expressam um maior conforto pós-operatório com redução de episódios de dor. Em adição, uma modulação no âmbito imunológico foi verificada em prol do reparo tecidual quando a estimulação elétrica foi aplicada na injúria. Frente aos resultados positivos apresentados neste trabalho, certas considerações devem ser ressaltadas. A comparação destes resultados na literatura odontológica atual torna-se ínfima devido não haver estudos fazendo uso de eletroterapia em mucosa oral de humanos. Deste modo, o estabelecimento de novos trabalhos é de grande valia com o intuito de desenvolver padrões de estimulação elétrica baseada na bioimpedância do tecido oral humano. Conforme relatado, na literatura médica uma variedade de tipos de ondas, assim como intensidade, frequência e tempo de aplicação se fazem presentes nos estudos em derme. Essa gama de protocolos dificulta até mesmo uma linha de terapia a seguir nesta área. Deste modo, variáveis ideais do campo elétrico para mucosa oral devem ser investigadas, a partir de novos estudos clínicos randomizados, com o intuito de desenvolver protocolos voltados à prática clínica.

1.6 Conclusão

Dentro dos limites do estudo, pode-se concluir que o uso do presente protocolo de eletroterapia de baixa intensidade apresentou potencial de acelerar o processo de reparo tecidual bem como modular a resposta inflamatória da área injuriada. Em adição, um maior conforto pós-operatório foi relatado pelos pacientes a partir do emprego da eletroterapia.

2 INFLUÊNCIA DA MATRIZ DERIVADA DO ESMALTE (EMDOGAIN®) NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO. ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

2.1 Introdução

Matriz Derivada do Esmalte (EMD) consiste em efetivo composto empregado em biomateriais nos últimos anos com a finalidade de regeneração do ligamento periodontal, cemento e osso alveolar em indivíduos com perda de inserção periodontal. Cerca de 95% da EMD é constituída de amelogeninas, uma família de proteínas hidrofóbicas derivadas de um único gene (Lyngstadaas et al., 2009). Tais proteínas, produzidas pelas células da bainha epitelial de Hertwig durante o desenvolvimento do elemento dentário, são de grande importância para a cementogênese (Hammarstrom et al., 1997) e consequentemente para a formação do tecido periodontal. Quando aplicadas à superficies de raízes desnudas, as proteínas precipitam para formar uma matriz extracelular estável com potencial para suportar interações com células e tecidos adjacentes (Lyngstadaas et al., 2009). Estudos contemplando o uso da EMD se fazem presente para o tratamento de defeitos intraósseos (Tonetti et al., 2004; Cortelini et at., 2011) e lesões de furca (Casarin et al., 2010).

Pesquisas contemporâneas denotam o emprego da EMD na modulação de células e citocinas do processo inflamatório. Bertl et al. (2009), verificaram o efeito da EMD na proliferação/viabilidade, expressão de fator angiogênicos e moléculas de adesão *in vitro* em células endoteliais da veia umbilical humana. Uma significante proliferação/viabilidade celular foi dada com 0,1 μg/ml de EMD. As concentrações de 0,1, 10, e 50 μg/ml

proporcionaram migração celular em direção à ferida superior em relação ao grupo controle. Além disso, pode ser verificado que na concentração de 50 μg/ml uma maior quantidade de moléculas de adesão endotelial e fatores angiogênicos foram expressados. Em adição, Kasaj et al. (2012) realizaram estudos perante a influência do EMD no mesmo tipo celular, relatando resultados positivos para proliferação/viabilidade celular com 50 μg/mL do biomaterial e aumento da migração celular com 0.1–250 μg/mL. Em conjunto, observou-se a formação de novos capilares sanguíneos em relação ao controle negativo com 0,5-0,10 μg/mL do biomaterial. Fibroblastos gengivais humanos, estimulados com 50 mg/mL de TNF-α, segundo Zeldich et al. (2010), e tratados com 100 μg/mL de EMD, resultaram em aumento TIMP-3, além de redução em MMP-1 e manutenção de MMP-2,-3,-7 e -13. O uso da EMD causou proteção dos fibroblastos à apoptose provocada pela citocina TNF-α. Nokhbehsaim et al. (2011) verificaram, *in vitro*, sobre células do ligamento periodontal, a ação da EMD (0.1 mg/ml) após o estímulo de IL-1. Concluiu-se um aumento de TGF-ß1 em relação ao grupo controle.

No âmbito de células relacionadas à resposta imune, foi verificado a capacidade de aumento da proliferação e migração de linfócitos à região de ferida fazendo uso de EMD (25 e 10 μg/ml) por meio de contato indireto através do uso de matriz de colágeno (Gassmann et al., 2009). Myhre et al. (2006) introduziram lipopolissacarídeo (LPS) em amostras de sangue humano, favorecendo um desafio pró-inflamatório local. Em seguida tais amostras foram tratadas com EMD. Verificou-se uma redução significativa na liberação de TNF-α duas vezes maior em relação ao controle em conjunto a modulação da IL-8, mediadores relacionados à exacerbação do processo inflamatório. O controle do sistema RANK/RANK-L/OPG sugere-se também ser influenciado pelo uso da EMD. Galli et al. (2006) fizeram uso deste biomaterial, na concentração de 50 e 100 μg/ml, em osteoblastos

provenientes de alvéolos humanos, verificando a capacidade de modulação à reabsorção óssea. Obteve-se como resultado uma redução de 50% de RANK-L e o aumento em 1,5 vezes de OPG em relação ao grupo controle. A partir destas análises *in vitro*, a combinação desses eventos que podem ocorrer após a aplicação de EMD pode ser o mecanismo pelo qual, *in vivo*, esse composto contribui para a cicatrização/regeneração dos tecidos e resolução da inflamação (Miron et al., 2015).

Al-Hezaimi et al. (2011) realizaram um estudo em beagles verificando a atuação de EMD (Emdogain®) na espessura de tecido queratinizado no tratamento de retrações gengivais. Os mesmos concluiram que este biomaterial apresentou influência no aumento da espessura do tecido queratinizado, bem como uma redução do grau de inflamação durante a fase inicial de cicatrização em relação ao grupo controle. Em adição, a literatura atual revela que o emprego do mesmo no tratamento de defeitos infra-ósseo, bem como cirurgias periodontais, permite uma amenização dos processos inflamatórios locais e conforto ao paciente.

Um material com amelogeninas em sua composição se faz presente no mercado estrangeiro para auxílio na cicatrização de feridas dérmicas, nomeado comercialmente de Xelma®. Tal material, apresentado como um gel, é composto por amelogeninas na concentração de 30 mg/mL com 7% de alginato de propilenoglicol em ph 4,0 e 4,5 e água. Vowden et al. (2006, 2007) e Huldt-Nystrom et al. (2008), fizeram uso deste material sobre úlceras crônicas em pernas e pés, respetivamente, obtendo sucesso na cicatrização das mesmas dentro de 12 semanas.

Apesar dos estudos na literatura abordarem o potencial da EMD sobre células e citocinas relacionadas ao mecanismo de reparo tecidual *in vitro*, não se faz presente na mesma nenhum estudo clínico controlado randomizado que avalie a atuação clínica deste biomaterial em feridas abertas na cavidade oral, auxiliando no processo de cicatrização.

2.2 Proposição

Assim o objetivo do presente estudo foi avaliar a partir do ponto de vista clínico, de parâmetros centrados no paciente, bem como imunológicos, os resultados da aplicação de matriz derivada do esmalte (Emdogain®, Straumann, Basel, Suíça) em feridas abertas no palato, provenientes da técnica de remoção do enxerto gengival livre.

2.3 Material e métodos

Esta investigação foi desenhada como um estudo clínico randomizado de superioridade, paralelo e cego. O protocolo do estudo foi submetido ao *ClinicalTrials.gov* (NCT03972267) (Anexo D) e ao Comitê de Ética Institucional da Universidade Estadual Paulista (CEP-Unesp – 08831019.8.0000.0077) (Anexo E). O consentimento informado foi assinado por cada sujeito depois de uma explicação da natureza, riscos e benefícios da investigação clínica. A metodologia do presente estudo seguiu as normas do CONSORT- STATEMENT de 2010 (Moher et al., 2010) e do SPIRIT-STATEMENT 2013 (Chan et al., 2013).

2.3.1 População de estudo

A população foi constituída de pacientes com indicação de exodontia e necessidade de preservação de rebordo nessa região. Esses pacientes foram provenientes da Clínica de Periodontia do curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, do Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista (Unesp).

2.3.1.1 Tamanho da amostra

Para este estudo, a amostra foi calculada da seguinte forma: a variável primária adotada foi a Área Remanescente de Ferida (ARF), com uma diferença de 9 mm^2 entre os grupos, o que equivale a uma redução de 30% da área inicial total da ferida e um desvio padrão de 9,5 mm^2 de acordo com Dias et al. (2015). Foi adotado um poder de 80% e um α de 5,0% para o teste de variância de medidas repetidas. Com isso, seriam necessários 18 pacientes por grupo (total de 36 pacientes) para se demonstrar a diferença entre os grupos. Considerando a atrição, a amostra foi de 22 por grupo, total de 44 pacientes.

2.3.1.2 Critérios de inclusão

a) pacientes com no mínimo 18 anos de idade, saudáveis sistemicamente, com boa higiene oral, avaliados por meio de índice de placa e índice gengival menor que 25% (O'Leary et al.,1972);
b) pacientes sem nenhuma alteração morfológica ou patológica na região palatina doadora;
c) pacientes saudáveis do ponto de vista periodontal (sem presença ativa de periodontite crônica, agressiva, processos agudos e doenças necrosantes);
d) pacientes que apresentavam indicação de exodontia (como por exemplo pela impossibilidade de tratamento endodôntico, fratura radicular, cáries extensas, impossibilidade de reabilitação

protética) e com indicação de preservação de rebordo para futura instalação de implantes.

2.3.1.3 Critérios de não-inclusão

a) pacientes com problemas sistêmicos (alterações cardiovasculares, discrasias sanguíneas, imunodeficiência, diabetes entre outras), que contra-indiquem o procedimento cirúrgico e de eletroestimulação;
b) pacientes que faziam uso de medicações que sabidamente interferem na cicatrização de feridas ou que contraindiquem o processo cirúrgico, como fármacos relacionadas ao crescimento gengival: fenitoína (dantalin, dualudon, epelin, fenital, fenitoina, fenitoinasodica, hidantal), ciclosporina A (restasis, sandimmun, sandimmunneoral, sigmasporinmicroral), bloqueadores de canais de cálcio (bezilato de amilodipina, hidrocloreto de ditiaziem, felodipina, isradipina, lacidipina, hidrocloreto de lercadinipina, hidrocloreto de micardipina, nifedipina, risoldipina); e fármacos imunossupressoras como azathioprine e prednidolene;
c) pacientes gestantes ou lactantes;
d) pacientes que apresentavam lesões bucais oportunistas, principalmente colonizando a região do palato;
e) pacientes fumantes;
f) pacientes em tratamento ortodôntico;
g) pacientes já submetidos à cirurgia periodontal na área de interesse do presente estudo.

2.3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa

O estudo foi conduzido de acordo com o Código de Ética Odontológica, dentro do estabelecido pela Resolução número 118/12 do Conselho Nacional de Saúde/MS para experimentos em humanos, após a devida aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição. Os pacientes foram esclarecidos quanto ao procedimento de obtenção do enxerto gengival livre para preservação de rebordo, dos riscos e benefícios da terapia instituída pelo pesquisador. Apenas os pacientes que concordaram com as condições pré-estabelecidas do estudo, confirmando a aceitação em consentimento formal, foram incluídos no mesmo.

2.3.2 Delineamento do estudo

Este foi um estudo do tipo clínico controlado randomizado de superioridade, paralelo e cego, com acompanhamento de 3 meses.

2.3.3 Plano de Pesquisa

2.3.3.1 Terapia Inicial

Foi executado nesses pacientes uma adequação da cavidade oral. Os fatores de retenção de biofilme (cavidades de cárie, excesso de restaurações e cálculo supragengival) foram removidos nas visitas iniciais. Coleta dos parâmetros clínicos, realização de fotografia digital e de radiografias periapicais pela técnica do paralelismo foram realizadas.

2.3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento

A randomização foi realizada por um integrante da equipe que não obteve participação nas atividades clínicas de medidas e tratamentos dos pacientes, caracterizando o *allocation concealment* do estudo. A randomização gerou uma sequência de alocação aleatória, de 1:1, em um programa de computador (Microsoft Excel). Esta sequência foi colocada em envelopes opacos selados. Dentro de cada envelope se apresentava o número do paciente e o tratamento, que foram revelados somente depois da cirurgia. Além da alocação sigilosa, os pacientes e o pesquisador encarregado dos procedimentos cirúrgicos não souberam o tratamento que cada paciente recebeu.

2.3.3.3 Tratamento

a) Grupo Controle - (n=22): Cirurgia de exodontia atraumática e enxerto gengival livre para selamento da entrada do alvéolo;
b) Grupo EMD - Matriz derivada do esmalte (Emdogain ® Straumann, Basel, Switzerland, 0,3 ml) (n=22): Cirurgia de exodontia atraumática e enxerto gengival livre para selamento da entrada do alvéolo associado à aplicação de matriz derivada de esmalte (Emdogain ® Straumann, Basel, Suíça, 0,3ml) na ferida da região palatina doadora.

2.3.3.4 Procedimento Cirúrgico

O tratamento cirúrgico foi realizado por um único operador (MMVM). A seguinte sequência foi obedecida: Os pacientes foram medicados no período pré-operatória com dexametasona 4mg (Decadron®, Ache Laboratórios Farmacêuticos S.A. – Guarulhos – SP) 1 hora antes do procedimento cirúrgico.

A anti-sepsia na região facial foi realizada com Digluconato de Clorexidina 0,2% em gaze estéril para a desinfecção da pele perioral. Também foi fornecido 15 mL da solução de Digluconato de Clorexidina 0,12% (Periogard®, Colgate Palmolive Ltda – Osasco – SP), para desinfecção intraoral.

Após os procedimentos pré-operatórios, foi empregada anestesia local injetável com Mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepivacaína®, DFL – Rio de Janeiro – RJ) através de técnica infiltrativa.

Com uma lâmina 15c (Swann-Morton® - Sheffield, Inglaterra) montada em cabo de bisturi nº 3 foi executado uma incisão intrasulcular ao redor dente indicado para exodontia. A fim de se obter uma exodontia minimamente traumática, a luxação do elemento foi executada com periótomo. Após a exodontia, realizou-se curetagem e irrigação do alvéolo dentário. Nos grupos Controle e EMD, após a formação do coágulo, o alvéolo foi selado com enxerto gengival livre (Figura 24).

Figura 24 – Preservação de rebordo com enxerto gengival livre

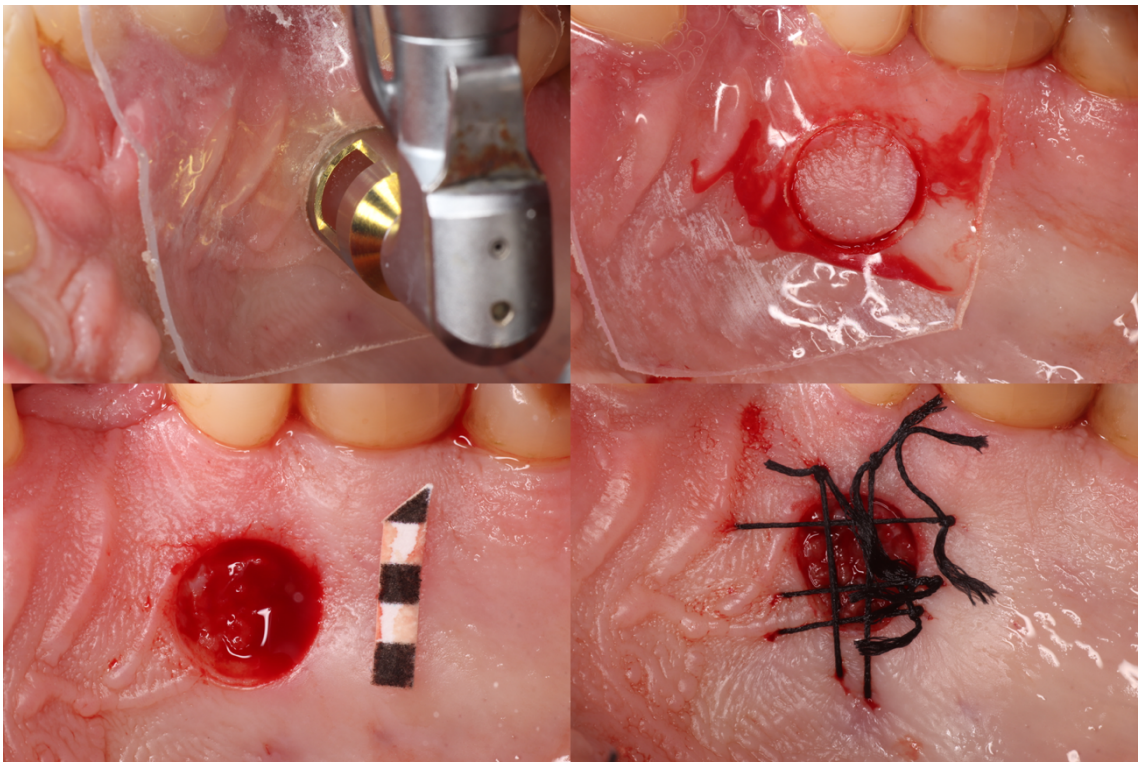


Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a remoção do enxerto gengival livre do palato, um molde circular de 8 mm de diâmetro foi utilizado. Esse molde tem o objetivo de padronizar a remoção do enxerto palatino para que as feridas fiquem sempre com mesmo tamanho. Após a incisão circular, com um bisturi circular do tipo punch (Maximus Instrumental Odontológico, Contagem - MG), o enxerto

foi removido com espessura de 2 mm. Realizada a remoção do enxerto gengival livre, o mesmo foi ajustado para a entrada do alvéolo e suturado com fio reabsorvível Seda® 4.0 (Ethicon Johnsons do Brasil SA, São José dos Campos - SP) (Figura 25).

Figura 25 – Procedimento de remoção do enxerto gengival livre



Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3.3.5 Protocolo de aplicação da matriz derivada do esmalte

A ferida na região palatina recebeu, no grupo EMD, a aplicação de matriz derivada do esmalte (Straumann Emdogain ®, Basel, Switzerland 0,3 ml) logo após a remoção do enxerto gengival livre. O biomaterial ficará em contato com a ferida por 5 minutos. Com a finalidade do mesmo se manter por mais tempo em contato com a ferida, perpetuando a sua ação, uma placa de acetato (Bio-Art ®, São Carlos - SP) individualizada foi confecionada de modo à se estender por toda a região palatina. Esta devia ser utilizada pelo paciente somente durante as 2 primeiras horas após o ato cirúrgico (Figura 26).

Figura 26 – Protocolo de aplicação do Emdogain® na ferida palatina



Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3.4 Avaliações clínicas

Um único pesquisador (AR) ficou responsável pelas medidas dos parâmetros clínicos dos pacientes e esteve calibrado para medir a variável primária (medida da área da ferida) e espessura do tecido. Além disso o mesmo foi treinado para medir as outras variáveis. A calibração foi realizada da seguinte forma:

a) calibração para a medida de Área Remanescente das Ferida (ARF): utilizando fotos clínicas de áreas de feridas em palato de pacientes de estudo anterior (da Silva Neves et al., 2016), realizou-se as medidas (conforme descrito na medida desse parâmetro abaixo) em dois dias distintos, sendo os valores dessas medidas foram submetidos ao teste de correlação intra-classe;
b) calibração para a medida de Espessura do Tecido (ET): dez pacientes não incluídos nesse estudo obtiveram a espessura da mucosa palatina medida em 2 dias distintos conforme descrito na medida desse parâmetro abaixo, sendo o examinador considerado calibrado quando o índice de concordância dessas duas medidas atingiu 90%.

As seguintes medidas foram realizadas previamente ao procedimento cirúrgico (*baseline*) e nos períodos de 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias após a cirurgia, dependendo de cada parâmetro analisado, sendo descrito abaixo. Para padronização da localização do exame e um ponto fixo para o mesmo, os pacientes foram moldados e com o modelo, foram confeccionados

aparelhos orientadores com placas de acrílico rígidas de 1 mm de espessura em plastificador à vácuo (Stents).

a) espessura do tecido (ET);

- a espessura do tecido da mucosa palatina mastigatória foi avaliada antes do procedimento (*baseline*), 45 e 90 dias após o procedimento,
- para isso, um espaçador endodôntico (Dentsply Maillefer Instruments S.A. – Balagues – Suíça) com um cursor de borracha foi colocado em contato com a área até que se atingiu o osso palatino, sem pressionar o tecido,
- a distância entre a ponta do espaçador e o cursor foi medida usando um paquímetro digital (Mitutoyo - Brasil) (Dias et al., 2015).

b) área remanescente de ferida (ARF);

- a área da ferida foi medida após 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias pós-operatórios,
- para isso, foram tiradas fotografias padronizadas (brilho, distância e ângulo),
- uma escala foi usada como referência para medir esta área. Essas fotografias foram exportadas para software de imagem (Image J - NIH, Bethesda, EUA), sendo medida essa área da ferida em milímetros quadrados (Dias et al., 2015).

c) cicatriz e colorometria do tecido (CCT);

- analisou-se a presença ou ausência de cicatriz ou quelóide na área operada nos dias 7, 14, 21, 30, 45 e 90 pós-operatórios,
- além disso, a semelhança de cor de tecido de regiões adjacentes à área operada e imagens pós-operatórias foram analisadas através de fotografias,

- as fotografias foram exportadas para software de imagem (Adobe Photoshop CS 3, München, Alemanha), sendo utilizadas duas áreas, uma da ferida e outra adjacente,
- a comparação (ΔE) das áreas foi feita usando parâmetros de brilho (L), escala de croma vermelho-verde e escala de croma azul-amarela (b) de acordo com a seguinte equação (Knösel et al., 2009):

$$\Delta E = [(L.ferida - L.adjacente)^2 + (a.ferida - a.adjacente)^2 + (b.ferida - b.adjacente)^2]^{1/2}$$

d) epitelização (EF);

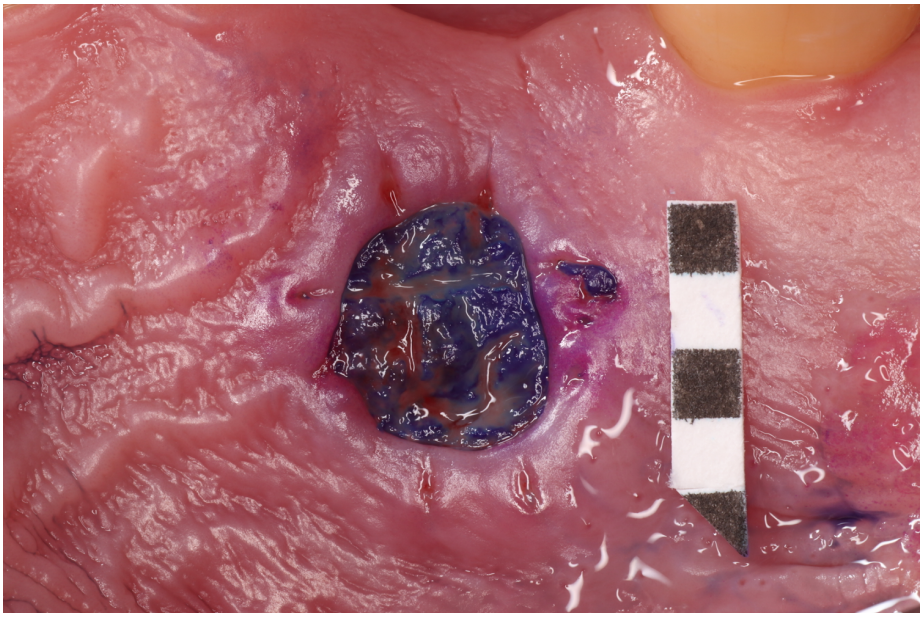
- foi analisada a partir da porcentagem de epitelização da ferida (%EF) antes do procedimento cirúrgico e nos dias 3, 7, 14 e 30 posteriormente ao mesmo,
- a ferida foi corada com solução evidenciadora de placa (Replak – Dentisply, Sede São Paulo- BRA) (Figura 27) a área epitelizada foi quantificada no programa Image J,
- em seguida, com a área total da ferida a % de epitelização foi calculada (Ozcelik et al., 2008):

$$\% \text{ de ferida epitelizada} = \frac{\text{área epitelizada} \times 100}{\text{área total}}$$

e) índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF): Segundo Fickl et al. (2014), 7 e 14 após a cirurgia, foi avaliada qualquer modificação na cicatrização da ferida, sendo em cinco diferentes graus;

- fechamento completo da ferida com ausência de fibrina no palato,
- fechamento completo da ferida com a presença de uma linha de fibrina no palato,
- fechamento completo da ferida com a presença de um coágulo com fibrina no palato,
- fechamento incompleto da ferida com necrose parcial do tecido no palato,
- fechamento incompleto da ferida com necrose total do tecido no palato.

Figura 27 - Representação da ferida corada



Legenda: Ferida na região palatina corada para análise de epitelização.
Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3.5 Parâmetros centrados no paciente

a) desconforto pós-operatório (D);

   - a sensibilidade foi medida em 7, 14, 21, 30, 45 e 90 dias após o procedimento cirúrgico através de jatos de ar por 5 s sobre a região palatina,

   - após a aplicação do jato de ar, foi solicitado ao paciente a usar uma escala analógica visual (VAS) de 100 mm (Apêndice A) para avaliar o desconforto,

   - os extremos da escala foram “nenhum” e “extremo” para relatar o desconforto dessa medida (Dias et al., 2015).

b) número de analgésicos (NA): Foi entregue aos pacientes um diário pós-operatório (Anexo C) no qual os mesmos anotaram, a cada dia, durante 14 dias, a sua intensidade de dor em uma escala analógica visual (VAS) de 100 mm e o número de analgésicos utilizados (Tonetti et al., 2017);

c) edema tecidual (ET): Foi avaliado após 7 dias do procedimento cirúrgico com o escore: 1 = ausente; 2 = ligeiro; 3 = moderado; ou 4 = grave (Sanz-Moliner et al., 2013);

d) qualidade de vida associada à saúde oral (OHIP, Tonetti et al., 2018);

   - avaliou-se a partir de um questionário com 14 questões (Quadro 1) baseadas em 7 domínios: limitações funcionais, dor física, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica e deficiência social,

- o paciente respondeu às questões no período de 14 dias após o procedimento cirúrgico, executando um diário pós-operatório (Anexo C),

- para cada pergunta uma resposta foi dada, representada em números, sendo: 0-Nunca; 1-Quase nunca; 2-Ocasionalmente; 3-Bastante frequente; 4-Muito frequente; 5-Não sei (Tonetti MS et al., 2017).

2.3.6 Análise imunológica

A coleta de exsudato inflamatório (EI) foi realizada na área de ferida nos dias 3 e 7 pós cirúrgicos (Figura 28). A amostragem foi realizada com a colocação de tiras de papel de filtro (PerioPaper, Oraflow, Plainview, NY, EUA) nas margens da ferida até que uma ligeira resistência fosse percebida e em seguida deixado no local por 45s. As tiras foram colocadas em tubos estéreis contendo 300 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) com 0,05% de Tween-2. Tiras contaminadas por sangue visível foram descartadas. Todas as amostras de (EI) foram armazenadas imediatamente a -80° C. Níveis de Cito/quimiocinas e fatores de crescimento foram determinados por um imunoensaio de multiplex. Alíquotas de cada amostra foram testadas usando um kit comercial humano (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA), a fim de avaliar os níveis dos seguintes marcadores inflamatórios: IL1β, IL6, IL10, TNF-α, proteína inflamatória de macrófagos 1α (MIP-1α), proteína quimiotática para monócitos 1α (MCP-1α). Além disso, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 e VEGF também foram avaliados. Todos os ensaios foram realizados e analisados no laboratório da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP – Unicamp, SP), através do sistema Luminex (MiraiBio, Alameda, CA, EUA) e seguiram as instruções do

fabricante. As concentrações das amostras foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando proteínas padrão do kit e expressos como pg/mL.

Figura 28 – Coleta de exsudato inflamatório da área de ferida durante acompanhamento pós-operatório



Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3.7 Análise estatística

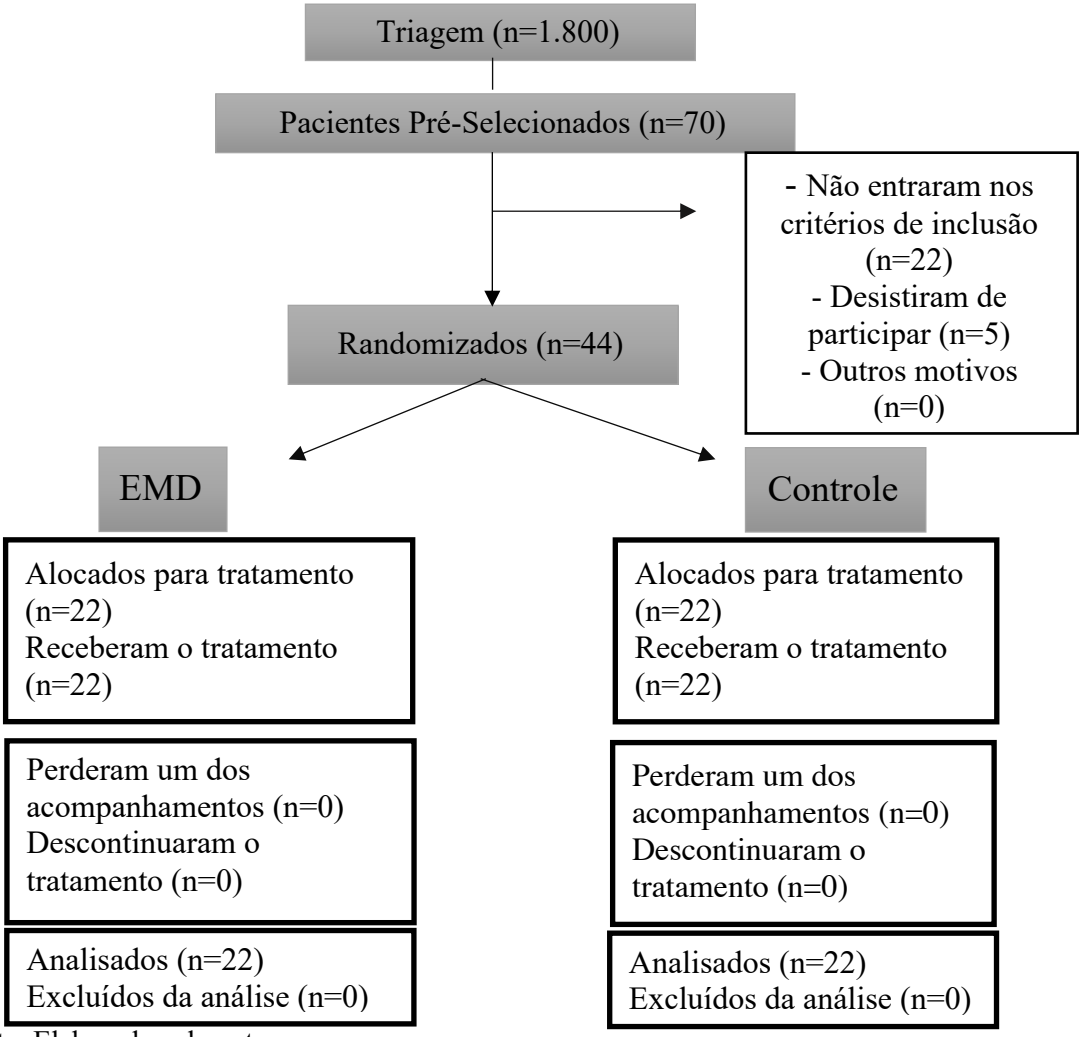
A estatística descritiva foi expressa como média ± desvio padrão (SD), e a normalidade foi testada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Valores referentes à ET, ARF, CCT, E, ICPF e os marcadores inflamatórios bem como fatores de crescimento foram examinados por ANOVA de medidas repetidas para avaliar as diferenças dentro e entre os grupos, seguidas de um teste de Tukey para comparações múltiplas quando o valor de p Shapiro-Wilk $\geq 0,05$. Aqueles que apresentaram valores de p Shapiro-Wilk $< 0,05$ foram analisados por meio do teste de Friedman (para comparações

intragrupos) e testes de Mann-Whitney (para comparações intergrupos). Os valores referentes à parâmetros centrados nos pacientes como as medidas de D, NA, ET e OHIP foram analisados através do Teste T.

2.4 Resultados

Foram incluídos no estudo 44 pacientes, sendo 36 mulheres e 17 homens, que apresentavam a necessidade de preservação de rebordo. Os pacientes apresentavam idade entre 23 a 60 anos (média de 46,29 ± 11,97 anos). Nenhuma diferença na amostra foi verificada quanto aos dados demográficos apresentados (Tabela 10). A figura 29 mostra o diagrama de fluxo do estudo.

Figura 29 – Diagrama de fluxo do presente estudo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 10 - Dados demográficos dos indivíduos de ambos os grupos de tratamento (n=44)

	EMD (n=22)	**CONT (n=22)**	**p**
Idade	48,27 ± 12,42	44,31±11,51	0,13*
Gênero	10 homens 12 mulheres	7 homens 15 mulheres	0,12†

Legenda: Valores de p: *Teste T; † Teste de Qui-quadrado.
Fonte: Elaborada pelo autor.

2.4.1 Análise clínica

2.4.1.1 Área remanescente da ferida (ARF)

Perante a análise da variável primária do presente estudo, revelou-se, na avaliação intragrupo, uma redução gradativa da área remanescente da ferida ao longo do tempo, em ambos grupos, com significância estatística. Os pacientes apresentaram, tanto no grupo EMD quanto no grupo Controle, fechamento completo da ferida em comparação à área injuriada inicialmente (*baseline*) aos 30 dias após procedimento cirúrgico ($p<0,001$). Nenhuma diferença foi verificada na observação intergrupo ao longo do reparo tecidual. Tal fator corrobora com a ausência de relevância estatística na variação da ARF (Δ) nos dias 7 ($p=0,21$) e 14 ($p=0,7$) entre os mesmos (Tabela 11, Figuras 30 e 31).

2.4.1.2 Epitelização (EF)

O parâmetro clínico de epitelização da ferida apresentou comportamento semelhante a ARF do presente estudo. Os grupos EMD e Controle foram capazes de recuperar a integridade epitelial após 30 dias da execução do procedimento cirúrgico ($p<0,001$). Em relação a avaliação intergrupo não foi observado em nenhum dos períodos de acompanhamento anterior a este, 7, 14 e 21 dias pós-operatório, diferenças com significância numérica entre os grupos perante a porcentagem de epitelização ($p= 0,1$, $p=0,7$ e $p=0,8$, respectivamente) (Tabela 11, Figuras 32 e 33).

2.4.1.3 Espessura tecidual (ET)

A mucosa mastigatória da região palatina apresentou capacidade de recuperação à espessura inicial em ambos os grupos sem nenhuma diferença com relevância clínica. Em adição, nenhuma diferença foi verificada entre os grupos após 90 dias da execução da preservação de rebordo ($p=0,2$) (Tabela 11).

2.4.1.4 Cicatriz e colorimetria do tecido (CCT)

A recuperação da coloração tecidual da região injuriada ao longo do tempo se fez presente nos dois grupos estudados. Contudo, o grupo EMD, em sua avaliação intragrupo, revelou um ΔE reduzido ($2,9\pm3$) no último

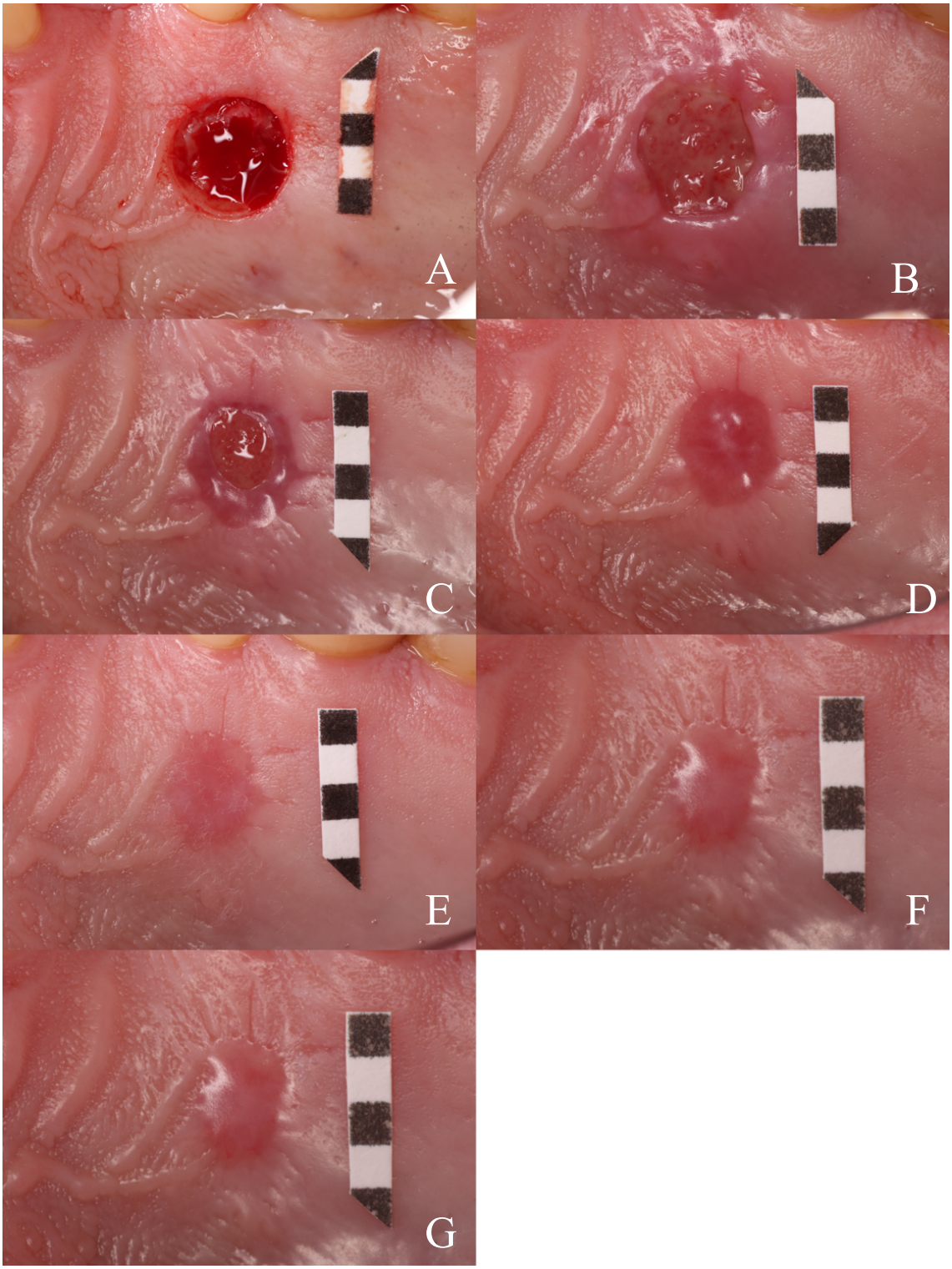
acompanhamento preconizado. Deste modo, maior similaridade à área adjacente não lesada foi observada ($p<0,007$). Em adição, a comparação intergrupo revelou que aos 21 dias um ΔE (4,7±2,7) com redução significante no grupo Controle foi observado quando comparado ao grupo EMD ($p<0,001$) (Tabela 11).

Tabela 11 - Mensurações dos parâmetros clínicos em função do tempo (dias) (n=44)

		BL	7	14	21	30	45	90
	ARF (mm^2)							
EMD		42,1±6,8Aa	35±8 Ba	8,5±7,7 Ca	0,02±0,1 Da	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da
Controle		40±4,5 Aa	31,4±8,3 Ba	5,9±6 Ca	0,06±0,3 Da	0±0 Da	0±0 Da	0±0 Da
	ΔEMD	-	7,1±4,8 a*	33,6±10,8a†	-	-	-	-
	ΔCont	-	8,8±7,1 a	34,4±6,3 a	-	-	-	-
	EF (%)							
EMD		0±0 Aa	15,8±14,5 Ba	85,4±16,1 Ca	99,9±0,3 Da	100±0 Da	100±0 Da	100±0 Da
Controle		0±0 Aa	19±16,8 Ba	84,4±13,9 Ca	99,3±2,2 Da	100±0 Da	100±0 Da	100±0 Da
	ET (mm)							
EMD		4,2±0,79Aa	-	-	-	-	3,79±0,68 Ba	3,82±0,6 Ba
Controle		4,05±0,5Aa	-	-	-	-	4±0,34 Aa	4,02±0,4 Aa
	CCT							
EMD		-	11,5±6,0 Aa	8,2±4,5Ba	9,2±5,5Ba	7,2±4,4Ba	6,5±3,4Ba	2,9±3 Ca
Controle		-	9,1±5 Aa	6,37±4,7 Ba	4,7±2,7 Bb	5,5±4 Ba	5,4±3,7 Ba	4,77±3,1 Ba

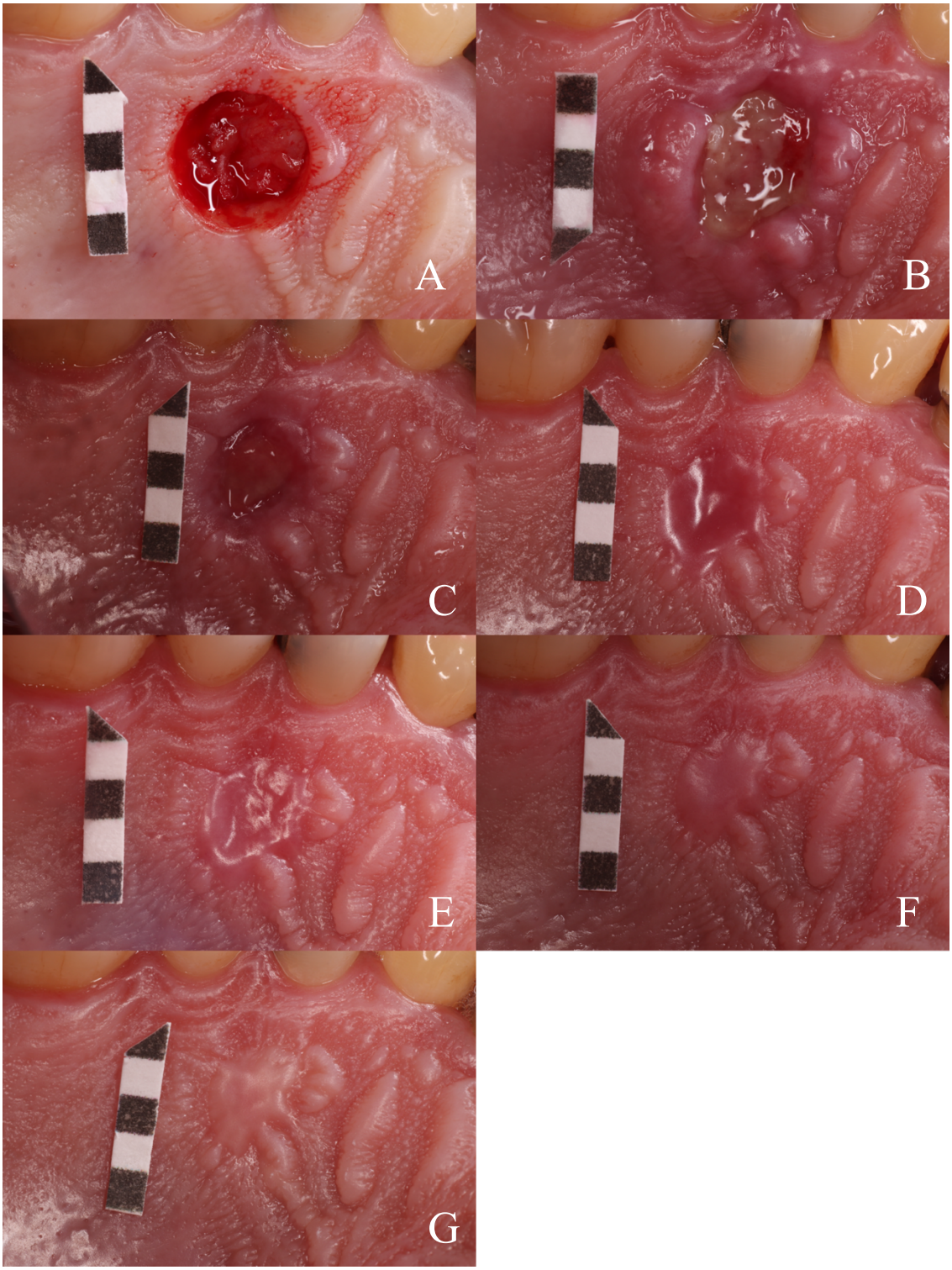
Legenda: BL, *Baseline*; ARF, Área Remanescente da Ferida em mm^2; EF, Epitelização da Ferida em %; ET, Espessura Tecidual em mm. EMD, emdogain.Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc* Mann-Whitney Rank Sum Test na comparação intergrupo. † T Test na comparação intergrupo.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 30 – Sequência de fotos do grupo EMD durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida



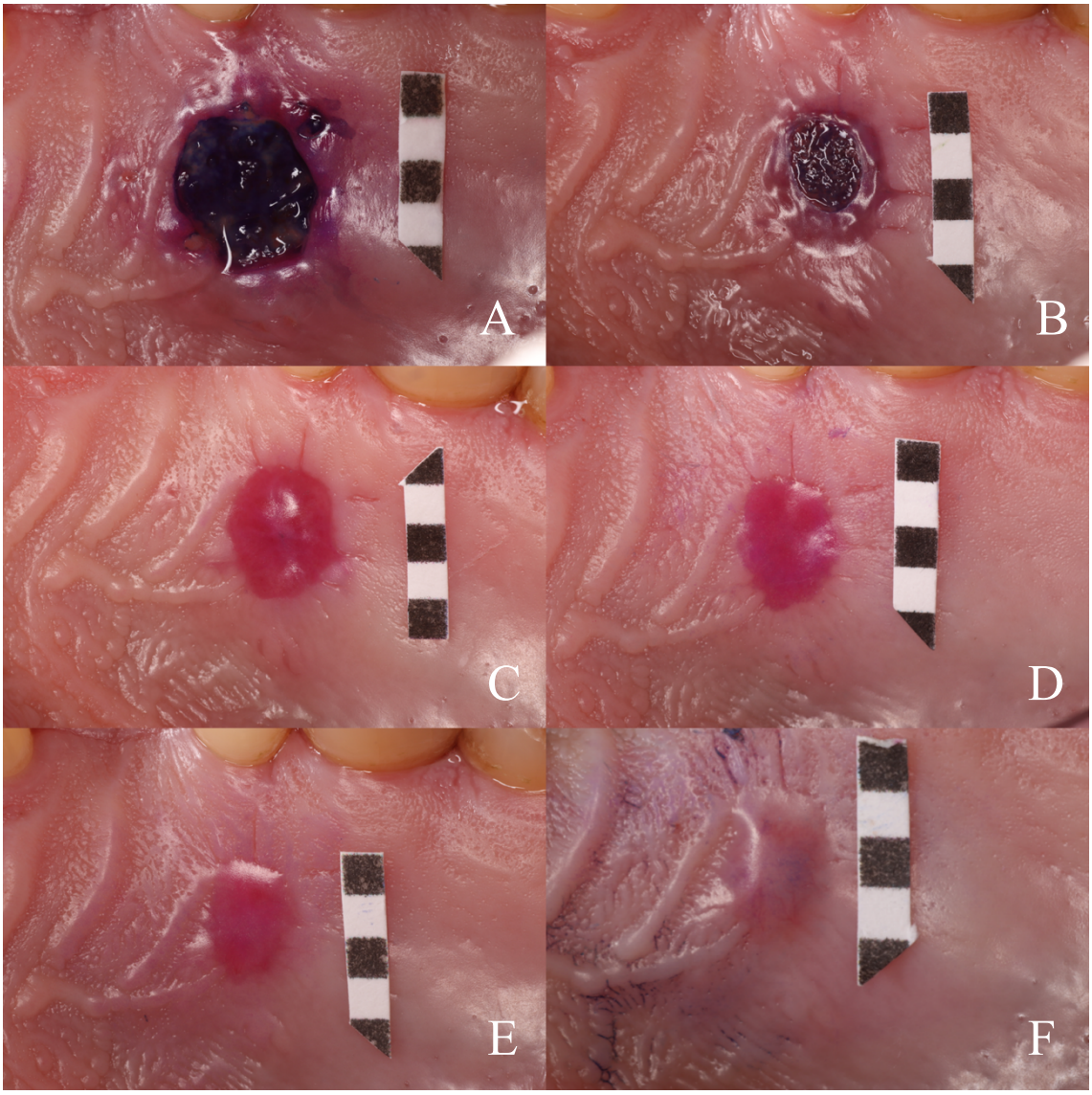
Legenda: *Baseline* (A), 7 dias (B), 14 dias (C), 21 dias (D), 30 dias (E), 45 dias (F) e 90 dias (G) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 31 – Sequência de fotos do grupo Controle durante acompanhamento de 90 dias referente a área remanescente da ferida



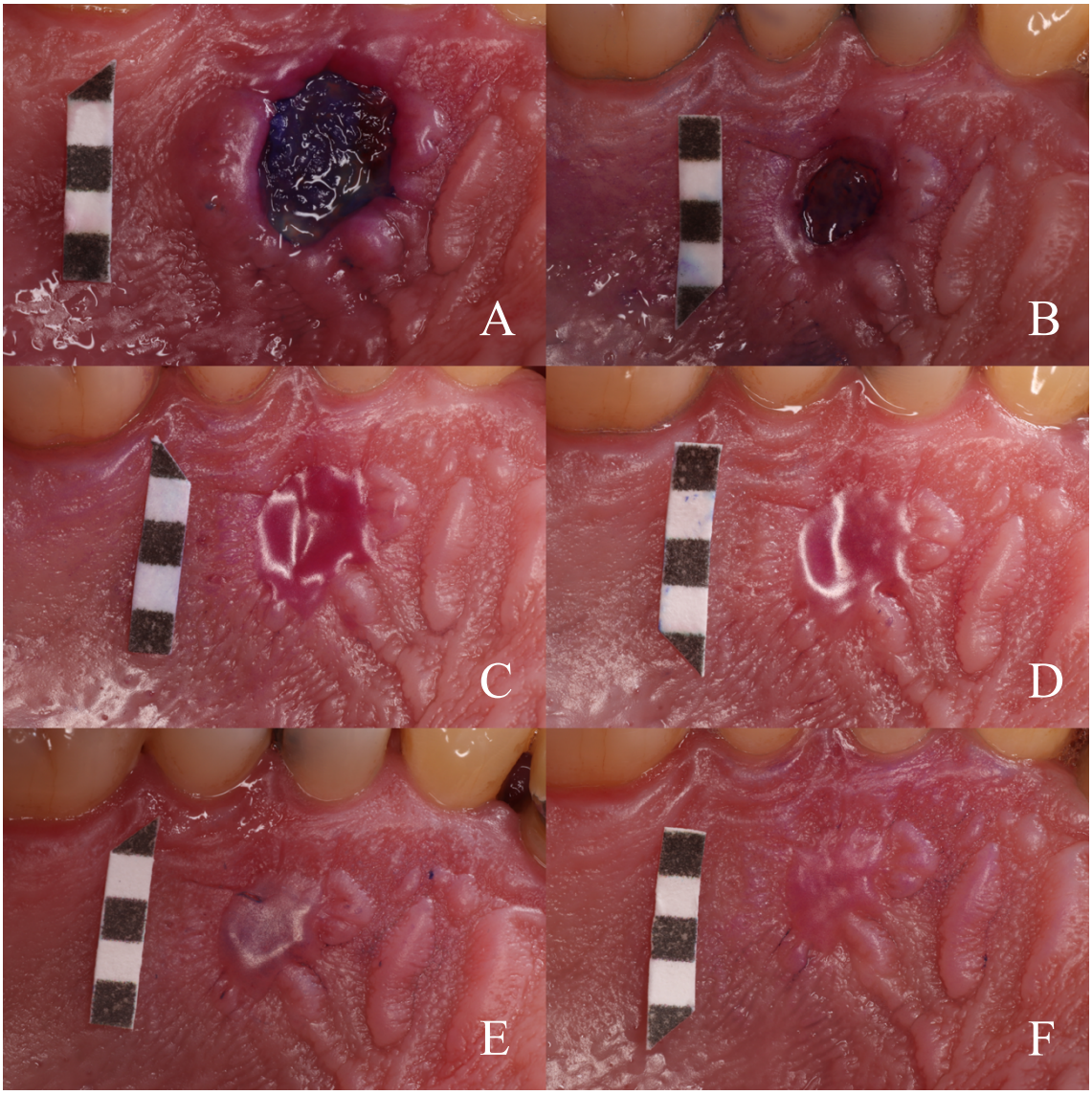
Legenda: *Baseline* (A), 7 dias (B), 14 dias (C), 21 dias (D), 30 dias (E), 45 dias (F) e 90 dias (G) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 32 – Sequência de fotos do grupo EMD durante acompanhamento de 90 dias referente epitelização da ferida



Legenda: 7 dias (A), 14 dias (B), 21 dias (B), 30 dias (D), 45 dias (E) e 90 dias (F) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 33 – Sequência de fotos do grupo Controle durante acompanhamento de 90 dias referente epitelização da ferida



Legenda: 7 dias (A), 14 dias (B), 21 dias (B), 30 dias (D), 45 dias (E) e 90 dias (F) após procedimento cirúrgico.
Fonte: Elaborada pelo autor

2.4.1.5 Índice de cicatrização precoce da ferida (ICPF)

Após avaliação em 7 e 14 dias após procedimento cirúrgico, os pacientes randomizados tanto para o grupo Controle quanto para o grupo EMD apresentaram graus de cicatrização semelhantes. Apesar de uma melhora no índice de cicatrização de 7 para 14 dias em ambos os grupos, não foi possível verificar uma diferença intergrupo em relevância estatística (p=0,94) (Tabela 12).

Tabela 12- Pacientes avaliados no parâmetro Índice de Cicatrização Precoce da Ferida (ICPF) em 7 e 14 dias após procedimento cirúrgico (n=44)

	ICPF	**7**	**14**
	GRAU 1		
EMD		0 a	7 a
Controle		0 a	6 a
	GRAU 2		
EMD		0 a	1 a
Controle		0 a	0 a
	GRAU 3		
EMD		0 a	9 a
Controle		0 a	3 a
	GRAU 4		
EMD		20 a	5 a
Controle		18 a	13 a
	GRAU 5		
EMD		2 a	0 a
Controle		4 a	0 a

Legenda: Grau1=fechamento completo da ferida com ausência de fibrina no palato; Grau 2= fechamento completo da ferida com a presença de uma linha de fibrina no palato; Grau 3=fechamento completo da ferida com a presença de um coágulo com fibrina no palato; Grau 4= fechamento incompleto da ferida com necrose parcial do tecido no palato; Grau 5= fechamento incompleto da ferida com necrose total do tecido no palato. EMD, Emdogain. Letras minúsculas diferentes – diferença estatisticamente significativa (p<0,05) na comparação intergrupo dentro do mesmo tempo– Teste de Qui-quadrado.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.4.2 Avaliação dos parâmetros centrados nos pacientes

2.4.2.1 Desconforto pós-operatório (D)

A partir do uso de um jato de ar como finalidade de um estímulo doloroso na região da ferida, foi possível observar uma redução de tal sintomatologia na análise intragrupo aos 14 dias no grupo EMD (p=0,02). Tal característica no grupo Controle somente ocorreu aos 21 dias após procedimento cirúrgico (p=0,03). Com relação a comparação intergrupo, pode-se observar nenhuma diferença numérica relevante entre os grupos ao decorrer do acompanhamento preconizado (p > 0,05) (Tabela 14).

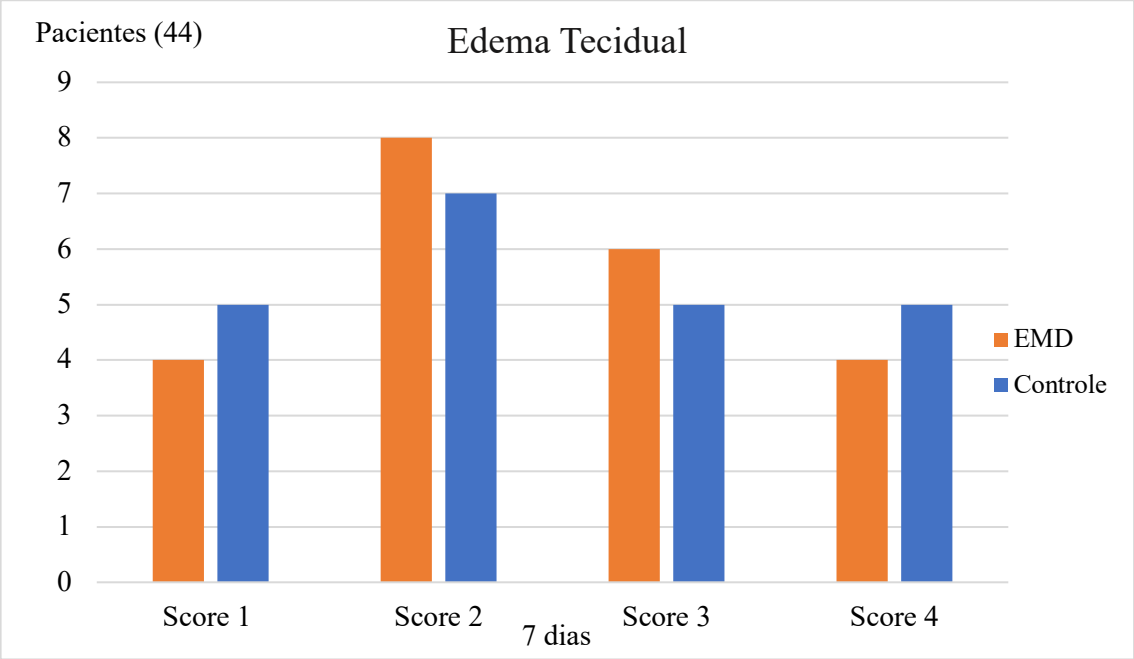
2.4.2.2 Número de Analgésicos (NA)

Frente a análise intragrupo, verificou-se que o grupo EMD reportou menor uso de analgésicos desde o primeiro dia pós-operatório resultando, portanto, numa ausência de relevância estatística no decorrer dos acompanhamentos (p>0,05). Em contrapartida, o grupo Controle apresentou uma redução com significância estatística do primeiro para o segundo dia pós-operatório visto o maior consumo de analgésicos nas primeiras 24 horas após o procedimento de preservação de rebordo (p=0,01). Apesar de tais alterações intragrupo, nenhuma diferença com relevância numérica foi observada intergrupo no primeiro e segundo dia pós-operatórios (p=0,11 e p=0,39, respectivamente) (Tabela 13).

2.4.2.3 Edema Tecidual (ET)

O edema tecidual foi avaliado a partir de scores pré-determinados. Os dois grupos do presente estudo, aos 7 dias após procedimento de preservação de rebordo, apresentaram resultados semelhante frente a análise (p=0,9) (Figura 34).

Figura 34 – Gráfico referente aos scores obtidos frente a avaliação de edema tecidual aos 7 dias pós-operatórios dos pacientes participantes do estudo (n=44)



Fonte: Elaborada pelo autor.

2.4.2.4 Qualidade de vida associado a saúde oral (OHIP)

Fazendo uso de um questionário validado que aborda a qualidade de vida do paciente com 14 questões em 7 domínios, foi possível observar uma redução do *score* do mesmo em ambos os grupos, EMD e Controle, aos 11 dias pós-operatórios ($p<0,001$ e $p=0,02$, respectivamente). Nenhuma diferença com relevância estatística foi verificada na avaliação intergrupo ao decorrer dos 14 dias avaliados ($p>0,05$). A partir deste diário pós-operatório a análise de dor cotidiana foi executada. Observou-se uma manutenção de desconforto pós-operatório durante 7 dias após procedimento cirúrgico em ambos os grupos ($p=0,6$) Apesar do grupo EMD relatar menores valores de sintomatologia dolorosa, nenhuma diferença intergrupo foi vista ($p=0,9$) (Tabela 13 e 15).

Tabela 13 - Parâmetros centrados nos pacientes em função do tempo (dias) (n=44)

		1	2	3	4	5	6	7
	NA							
EMD		0,45±0,7 Aa	0,18±0,5 Aa	0,31±0,8 Aa	0,36±0,9 Aa	0,31±0,8 Aa	0,31±1,0 Aa	0,31±1,0 Aa
Controle		0,95±0,95 Aa	0,45±0,9 Ba	0,45±1,0 Ba	0,5±1,0 Ba	0,4±1,1 Ba	0,45±1,0 Ba	0,36±1,0 Ba
	Dor OHIP							
EMD		1,2±1,6 Aa	0,72±1,3 Aa	0,95±2 Aa	1,1±2,6 Aa	1,0±2,6 Aa	0,9±2,6 Aa	0,86±2,6 Aa
Controle		2±2,6 Aa	1,8±2,2 Aa	1,72±2,8 Aa	1,72±2,8 Aa	1,8±2,8 Aa	1,6±2 Aa	1,5±2,8 Aa

Legenda: NA, número de analgésicos ingeridos; EMD: Emdogain. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo - Teste de Friedman. Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Teste de Mann-Whitney. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 14 – Parâmetro centrado nos pacientes em função do tempo (dias) (n=44)

		7	14	21	30	45	90
	Dor P.O (VAS)						
EMD		0,36±1,0 Aa	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba
Controle		0,4±1,0 Aa	0,27±1 Aa	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba	0,0±0,0 Ba

Legenda: Dor P.O., dor pós-operatória (VAS); EMD: Emdogain. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo - Teste de Friedman. Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Teste de Mann-Whitney. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 15- Score diário após o preenchimento do diário pós-operatório (OHIP) por 14 dias pelos pacientes (n=44)

	1	2	3	4	5	6	7
OHIP							
EMD	14,1±8,3 Aa	9,3±7,8 Aa	11,6±12,1 Aa	11,7±13,6 Aa	11,6±13,7Aa	11,6±13,7 Aa	10,1±13 Aa
Controle	8±10,5 Aa	7,3±10,1ABa	7,7±11,9 Aa	7,2±11,9ABa	7±11,3ABa	5,5±9,2 ABb	5,6±10,8ABa
	8	9	10	11	12	13	14
OHIP							
EMD	9,4±12,7ABa	8,1±10,8ABa	7,1±9,4 ABa	5,7±7,6 Ba	4,9±7 Ba	4,8±6,5 Ba	4,5±5,3 Ba
Controle	4,2±7 ABa	3,9±7,7 ABa	3,9±8,4 ABa	2,6±5,7 Ba	1,7±3,3 Ba	2,3±5,4 Ba	2,6±5,5 Ba

Legenda: Questionário com 14 questões baseadas em 7 domínios: limitações funcionais, dor física, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica e deficiência social. A cada questão uma resposta foi dada, representada em números, sendo: 0-Nunca; 1-Quase nunca; 2-Ocasionalmente; 3 Bastante frequente; 4-Muito frequente; 5-Não sei. O score máximo para cada dia do questionário é de 56. EMD, Emdogain. Letras maiúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intragrupo. Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc. Letras minúsculas distintas, diferença estatisticamente significante ($p<0,05$) na comparação intergrupo (dentro do mesmo tempo). Two Way Repeated Measures ANOVA e Tukey post-hoc.
Fonte: Elaborada pelo autor.

2.5 Avaliação imunológica

Após análise, por meio de um ensaio de multiplex, os resultados imunológicos para a avaliação da concentração dos biomarcadores selecionados foram obtidos. IL-1ß apresentou redução com significância estatística no grupo controle de 3 para 7 dias (p=0,014). Em contrapartida, tal diferença intragrupo não foi verificada no grupo EMD, o qual manteve a concentração deste biomarcador durante os dois períodos analisados (p=0,567). Uma diferença intergrupos no período de 3 dias foi encontrada com concentrações estatisticamente inferiores da IL-1ß no grupo EMD em relação ao grupo controle (p=0,05). Tal característica não se manteve aos 7 dias pós-operatórios (p=0,212). (Figura 35 – Tabela 16).

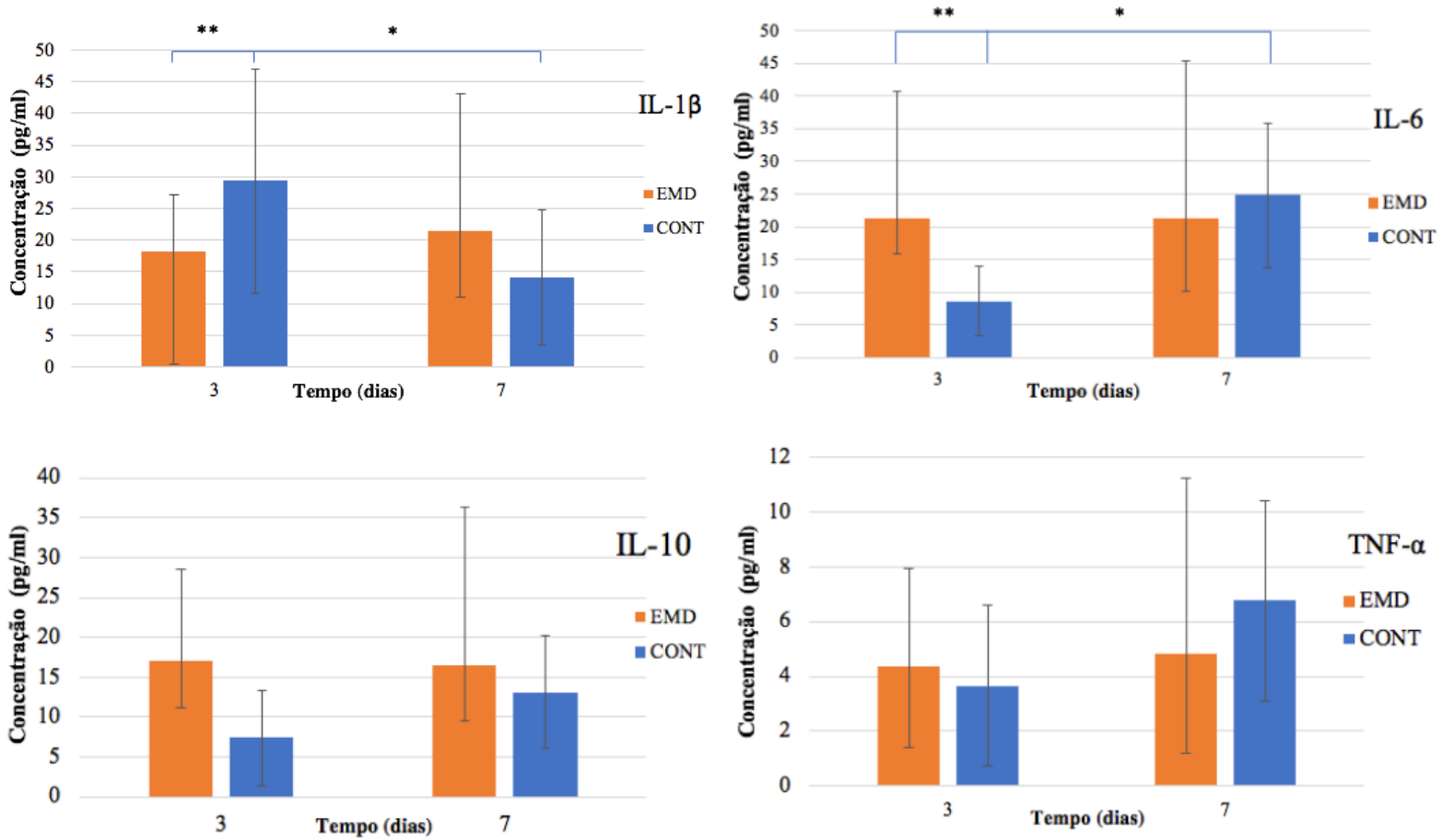
Com relação IL-6, um aumento com relevância estatística foi visto no grupo controle de 3 para 7 dias de acompanhamento (p=0,005). Esta manifestação imunológica não foi verificada na análise intragrupo do grupo EMD (p=0,986). Quanto a análise intergrupo, um aumento com significância estatística apresentou-se no grupo EMD aos 3 dias em comparação ao grupo controle (p=0,052). Porém, uma ausência de diferença estatística nas concentrações deste biomarcador entre os grupos não foi mantida aos 7 dias (p=0,582) (Figura 35 – Tabela 16).

Os biomarcadores IL-10 e TNF-α não apresentaram diferenças significativas na comparação intra (p=0,1 e p=0,2 respectivamente) e intergrupos (p=0,1 e 0,6 respectivamente) (Figura 35 – Tabela 16).

.

Figura 35 - Gráficos referentes aos resultados imunológicos das citocinas IL-1ß, IL-6, IL-10 e TNF-α

.



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor.

MCP-1α revelou-se aumentada no grupo controle de 3 para 7 dias após o procedimento cirúrgico ($p<0,001$). No grupo EMD tal característica não foi verificada, permanecendo concentrações reduzidas deste biomarcador ao longo do tempo analisado ($p=0,5$). Uma diferença com significância estatística foi vista na comparação intergrupos aos 7 dias, expondo uma redução desta quimiocina com o uso do biomaterial ($p=0,04$). (Figura 36 – Tabela 17).

MIP-1α expressou-se reduzida no grupo EMD de 3 para 7 dias após o procedimento de enxertia com relevância estatística ($p=0,05$). No mesmo período e análise o grupo controle, apesar do aumento deste biomarcador ao longo do tempo, não foi demonstrado uma significância estatística ($p=0,13$) para tal expressão. Apesar de diferenças significativas não se fazerem presentes aos 3 dias na avaliação intergrupos ($p=0,2$), uma redução com diferença estatística aos 7 dias foi verificada favorecendo o grupo EMD ($p=0,008$). (Figura 36 – Tabela 17).

VEGF apresentou uma manutenção na sua concentração no grupo EMD de 3 para 7 dias. Enquanto isso, o grupo controle revelou um aumento deste biomarcador, porém sem relevância estatística ($p=0,2$). Com relação a comparação intergrupos, tanto aos 3 dias quanto aos 7 dias, nenhuma diferença com significância estatística foi verificada ($p=0,1$). (Figura 36 – Tabela 17).

Tabela 16 - Resultados imunológicos referentes as citocinas IL-1β, IL-6, IL-10 e TNF-α

Grupo	Biomarcador	3	7
EMD	**(IL-1β)**	18,19 ± 9,03 Ab	21,56 ± 21,47Aa
CONT		29,40 ± 17,67 Aa	14,14 ± 10,57Ba
EMD	**(IL 6)**	21,21 ± 19,48 Ab	21,30 ± 24,13Aa
CONT		8,64 ± 5,31 Aa	24,80 ±11,06 Ba
EMD	**(IL 10)**	17,01 ± 11,54 Aa	216,54 ±19,7 Aa
CONT		7,41 ± 5,94 Aa	13,13 ± 7,08 Aa
EMD	**(TNF-α)**	4,36 ± 3,55 Aa	4,82 ± 6,40 Aa
CONT		3,65 ± 2,94 Aa	6,76 ± 3,65 Aa

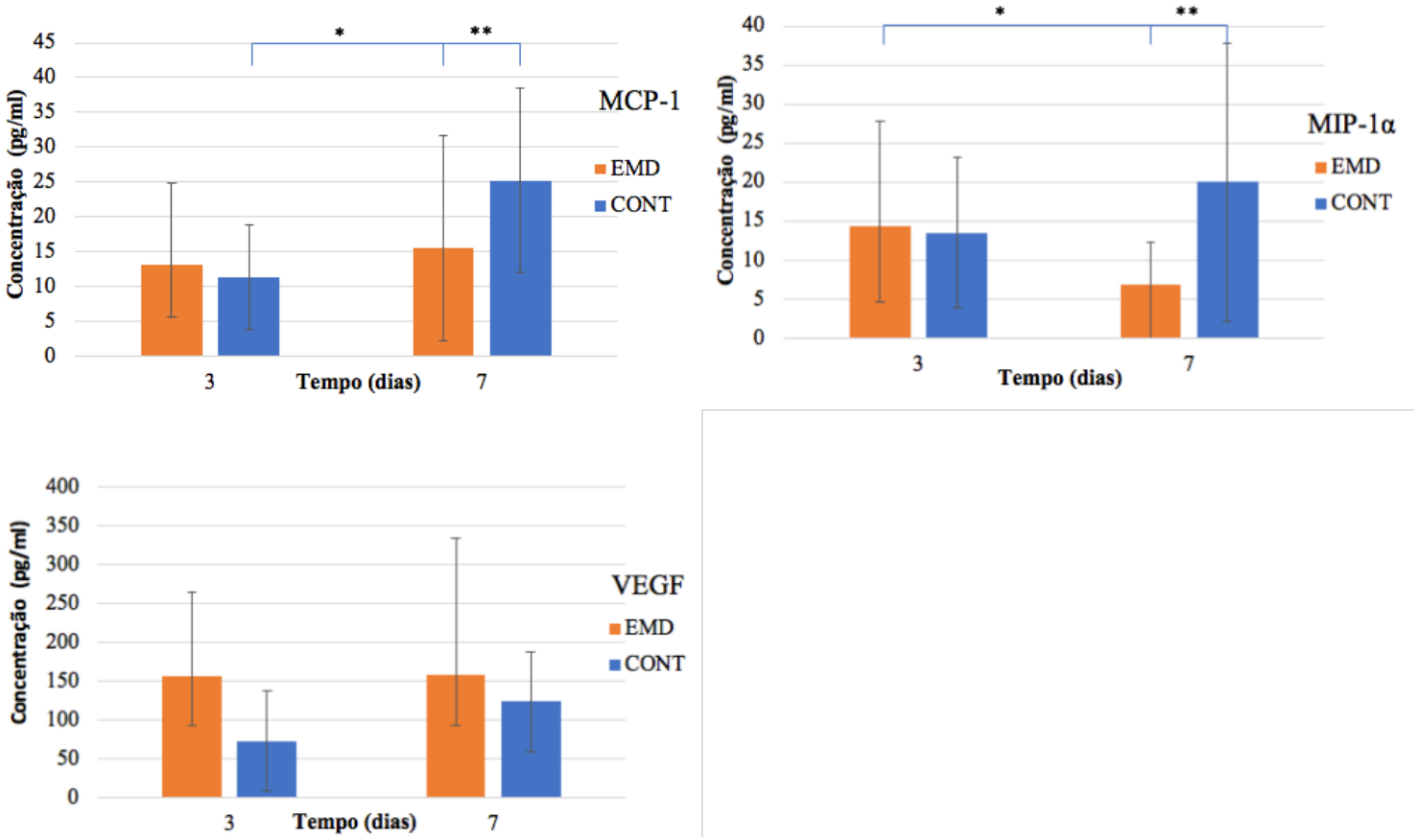
Legenda:EMD,Grupo Emdogain; CONT,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; IL 1ß= Interleucina 1 beta; IL 6 = Interleucina 6; IL 10 = Interleucina 10; TNF α = Fator de Necrose Tumoral Alfa; Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 17 - Resultados imunológicos referentes aos biomarcadores MCP-1, MIP-1α e VEGF

Grupo	Biomarcador	3	7
EMD	**(MCP-1α)**	13,18 ± 11,73 Aa	15,46 ± 16,29 Ab
CONT		11,33 ± 7,56 Aa	25,2 ± 13,24 Ba
EMD	**(MIP-1α)**	14,34 ± 13,47 Aa	6,85 ± 5,36 Bb
CONT		13,47 ± 9,66 Aa	19,95 ± 17,81Aa
EMD	**(VEGF)**	156,8 ± 107,5 Aa	158,4 ± 175,10 Aa
CONT		73,38 ± 64,14 Aa	124,08 ± 64,48 Aa

Legenda: EMD,Grupo Emdogain; CONT,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; MCP-1, Proteína Quimiotática de Monócitos; MIP-1α, Proteína Inflamatória de Macrófago 1-alfa, VEGF, Fator de Crescimento endotélio-vascular. Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística ($p<0,05$) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 36 – Gráficos referentes aos resultados dos biomarcadores MCP-1, MIP-1α e VEGF



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor.

MMP-2 apesar de elevadas no grupo controle e reduzidas no grupo EMD, não resultaram em concentrações que justifiquem suas diferenças com significância estatística (p=0,2). A cerca de relevâncias estatísticas na comparação intergrupos, apesar de uma concentração inferior desta proteína aos 7 dias no grupo EMD, não se obteve uma diferença justificável frente ao grupo controle. Do mesmo modo, aos 3 dias uma similaridade na concentração de tal biomarcador foi vista na avaliação intergrupos (p=0,5)

Em contrapartida, MMP-9 apresentaram-se consideravelmente aumentadas no grupo controle na observação intragrupo (p=0,003). Enquanto isso, uma manutenção da concentração da mesma foi analisada no grupo EMD no período de 3 a 7 dias pós cirúrgicos (p=0,5). No que se refere as repercussões intergrupos desta proteína, uma redução com significância estatística foi vista favorecendo o grupo EMD aos 7 dias após procedimento de enxertia (p<0,001).

De acordo com os resultados apresentados de MMP-2 e 9, um *feedback* positivo se fez presente com os TIMP-1 e TIMP-2. Na comparação intragrupo observou-se uma manutenção das concentrações de TIMP-1 no grupo EMD e Controle ao longo da avaliação imunológica (p=0,3). De tal modo, uma ausência de diferença com relevância estatística foi vista na comparação intergrupo desta proteína reguladora aos 3 e 7 dias (p=0,2). Tal comportamento se faz justificável frente aos resultados apresentados pela MMP-2 neste estudo. Em oposição, TIMP-2 exibiu um aumento com relevância estatística no grupo Controle na análise intragrupo (p<0,001). Tal fato não se faz presente ao verificar os dados do grupo EMD, os quais apresentam uma manutenção deste biomarcador (p=0,2). No que se refere a análise intergrupos, nenhuma diferença justificável se fez representada aos 3 dias pós-operatórios(p=0,5). Contudo, aos 7 dias, um significante aumento desta proteína inibidora de colagenase apresentou-se relevante no grupo

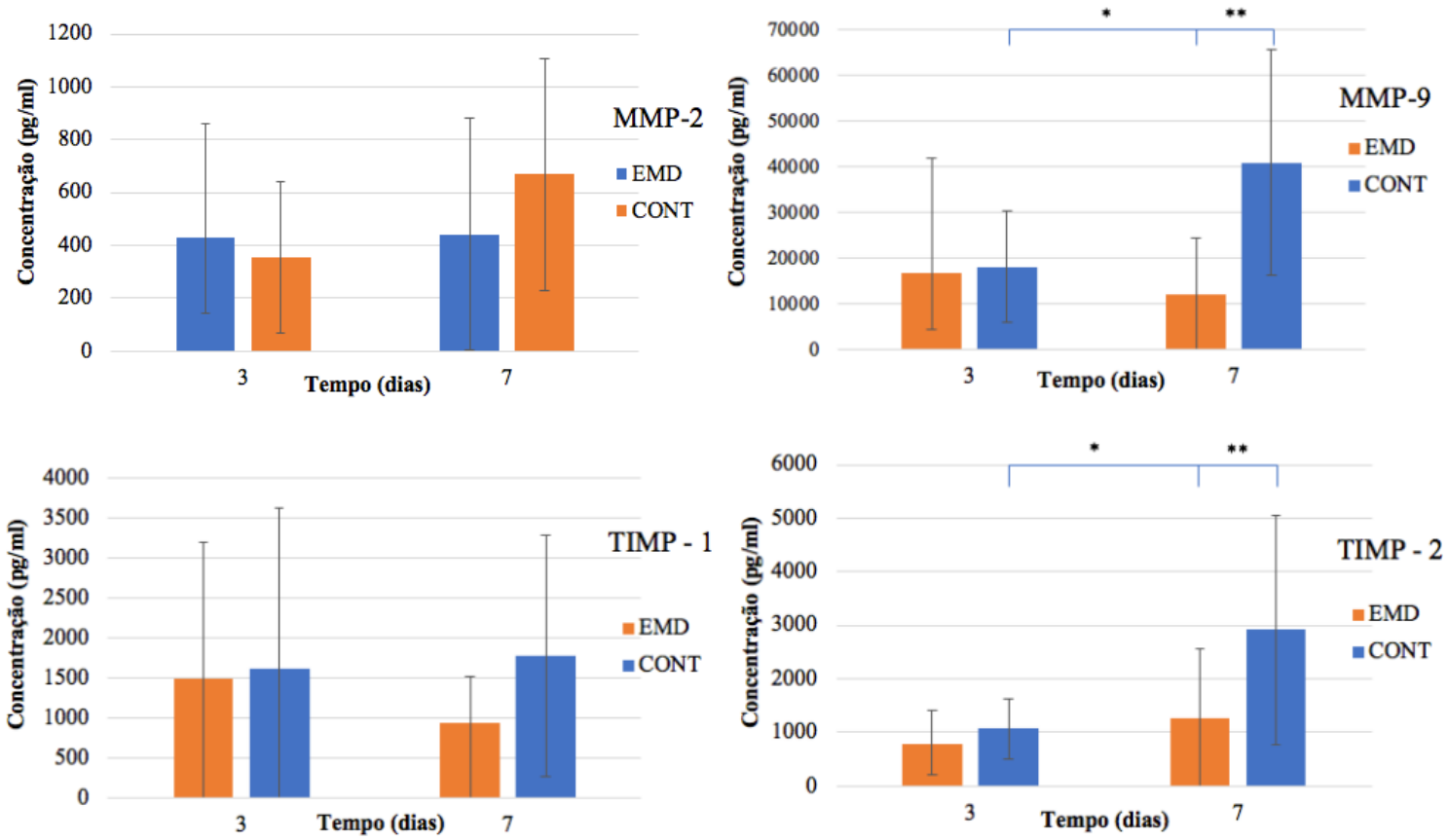
CONT, sendo uma resposta ao aumento de MMP-9 neste mesmo período e grupo (p=0,002) (Figura 37 – Tabela 18).

Tabela 18 - Resultados imunológicos dos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2

Grupo	Biomarcador	3	7
EMD	**(MMP-2)**	429,98 ± 387,10 Aa	439,70 ± 656,56 Aa
CONT		353,81 ± 286,30 Aa	669,2 ± 438,06 Aa
EMD	**(MMP-9)**	16698,3 ± 25075,45 Aa	12059,3 ± 12510,7 Ab
CONT		18165,2 ± 12180,7 Aa	40835,5 ± 24653,5 Ba
EMD	**(TIMP-1)**	1490,3 ± 1704,3 Aa	946,3 ± 581,8 Aa
CONT		1629,1 ± 2002,6 Aa	1778,7 ± 1506,3 Aa
EMD	**(TIMP-2)**	783,2 ± 641,3 Aa	1254,4 ± 1318,2 Ab
CONT		1066,94 ± 566,7 Aa	2913,3 ± 2142,3 Ba

Legenda: EMD,Grupo Emdogain; Sham,Grupo Controle; 3,Três Dias Pós Operatório; 7,Sete Dias Pós Operatório; MMP – 2 -9, Metaloproteínase, TIMP – 1 -2, Inibidor de Metaloproteínase. Letras maiúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas. Letras minúsculas distintas - diferença com relevância estatística (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 37 - Gráficos referentes aos resultados imunológicos dos biomarcadores MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2



Legenda: * Diferença significante (p<0,05) na comparação intragrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA. ** Diferença significante (p<0,05) na comparação intergrupo – Two Way Repeated mensures ANOVA.
Fonte: Elaborada pelo autor.

2.6 Discussão

Procedimentos periodontais cirúrgicos que requerem a remoção de enxerto de tecido mole da região palatina podem suscitar preocupações quanto a necrose e sangramento por parte do operador (Aguirre-Zorzano et al., 2017). Além disso, desconforto e morbidade pós-operatória são queixas frequentemente reportadas pelos pacientes. Biomaterial contendo EMD foi desenvolvido como o objetivo de mimetizar o processo embrionário de formação do aparato de suporte periodontal, a partir da presença de proteínas como as amelogeninas. Apesar do seu desenvolvimento com enfoque no processo de regeneração periodontal, estudos *in vitro* demostram uma possível influência deste material na reparação de tecidos moles.

Wennström e Lindhe (2002) observaram a capacidade do Emdogain® em auxiliar no reparo de bolsas periodontais após terapia periodontal não cirúrgica. Utilizando como *endpoint* o score 0 no parâmetro de índice gengival, os autores verificaram que 16% dos sítios haviam alcançado tal sucesso após uma semana de terapia associada ao uso do biomaterial. Em contrapartida, somente 2% dos sítios controle apresentavam o mesmo *score*. Dentro de 2 semanas uma grande proporção de sítios doentes apresentou resolução do processo inflamatório frente ao desafio microbiano associado a terapia adjunta quando comparado ao grupo controle. Os autores explicam tal efeito duradouro devido as proteínas compostas nesta matriz ficarem adsorvidas na superfície dentária o que pode influir na cicatrização dos tecidos dentogengivais. Em contrapartida, Hagenaars et al. (2004) relataram ausência de efeitos adicionais ao processo de cicatrização tecidual quando o mesmo biomaterial foi empregado em cirurgias a retalho. Fazendo uso de mensurações clínicas para avaliar as fases de reparo tecidual, o autor relata

até mesmo um edema gengival aumentando no grupo o qual recebeu Emdogain®. Um estudo na literatura atual, fazendo uso deste biomaterial em mucosa oral de animais, verificou que as análises à nível histológico frente a epitelização e fechamento de ferida encontraram-se sem diferenças significantes em relação ao grupo controle. Porém, modificações quanto a expressão de biomarcadores relacionados à angiogênese e melhor arquitetura de fibras colágenas são vistas nas feridas contendo a matriz derivada do esmalte (Maymon-Gil et al., 2016).

Apesar da plausível atividade anti-microbiana da EMD (Sculean et al., 2001) e influência na proliferação de fibroblastos, bem como fatores de crescimento favoráveis ao reparo tecidual (Rodrigues et al., 2007; Heng et al., 2015), parâmetros clínicos como área remanescente da ferida e epitelização no presente estudo revelaram-se sem diferença estatística significante na avaliação intergrupo durante os períodos de avaliação preconizados. Ambos os grupos conduziram o processo de cicatrização à resolução aos 3 meses pós-operatórios com reduções relevantes intragrupo ao longo dos acompanhamentos de modo semelhante.

Observações devem ser pautadas frente aos dados apresentados. Em primeiro lugar deve-se analisar o modelo de ferida empregado em cada estudo. Feridas com cicatrização por primeira intenção apresentam como característica a coaptação de suas margens sendo, portanto, uma característica favorável a cicatricação. Em contrapartida, ferida aberta com distância entre suas bordas, bem como a presença de um tecido cruento, favorece uma demanda maior do mecanismo de reparo (McCaughan et al., 2018). Sendo assim, o fechamento de feridas abertas torna-se um processo que dispende um tempo maior de resolução. Estudos *in vitro* denotam a capacidade da matriz derivada do esmalte em inibir a modulação de células epiteliais (Groeger et al., 2016; Wyganowska-Swiatkowska et al., 2017) Tal característica corrobora com o objetivo deste biomaterial em reduzir a

formação de epitélio juncional longo em processos regenerativos, almejando a formação de um aparato periodontal verdadeiro (Hammarström et al., 1997; Stout et al., 2014). Deste modo, um auxílio a migração de células epiteliais com a finalidade de reepitelização precoce da ferida torna-se uma ação diminuta por parte deste biomaterial. Em adição, a adsorção do Emdogain® na superfície radicular é um ato de extrema importância para a efetividade do mesmo nos mecanismos de regeneração periodontal a longo prazo (Lyngstadaas et al., 2009). Apesar do material ter sido mantido em posição por meio de placa de acetado individualizada, com o tempo de viabilidade preconizado pelo fabricante, o mecanismo de interação do biomaterial bem como a sua manutenção com o tecido mole ainda não se encontra especificado na literatura.

O presente estudo revelou uma recuperação da espessura tecidual após 3 meses da remoção do enxerto gengival livre da região palatina. Comportamento semelhante foi encontrado tanto no grupo Controle quanto no grupo EMD, sem diferenças estatísticas significantes entre os grupos. Tonetti et al. (2004) avaliaram fatores relacionados a percepção dos pacientes, bem como os eventos precoces de cicatrização, frente ao uso do biomaterial Emdogain ® no tratamento de defeito intraósseo. Procedimentos periodontais os quais foram aplicados EMD apresentaram um aumento da densidade do tecido mole local em 6 semanas após terapia. Porém, após 12 semanas do protocolo cirúrgico a densidade do tecido foi igualada entre os grupos. O aumento precoce do tecido frente ao uso do Emdogain® deve-se a capacidade deste em estimular fibroblastos e fatores de crescimento locais (Brett et al., 2002). Contudo, assim como no presente estudo, com acompanhamentos em períodos semelhantes, uma manutenção da espessura tecidual se fez presente.

Métodos de avaliação do processo inflamatório como o edema tecidual, coloração local e percepções quanto à cicatrização precoce

transparecem ao clínico as possíveis fases que o reparo se encontra. O presente estudo relatou semelhança no edema tecidual nos pacientes randomizados aos grupos EMD e Controle aos 7 dias pós-cirúrgicos. Em ambos os grupos a presença de um edema local se fez presente em mais da metade da amostra. Tal característica do grupo EMD corrobora com o apresentado por Hagenaars et al. (2004), no mesmo período de acompanhamento, após uso da EMD nos tecidos gengivais. Em adição, resultados similares quanto ao índice precoce de cicatrização da ferida foram reportados entre os presentes grupos nos períodos de 7 e 14 dias, após o procedimento cirúrgico. Tal característica corrobora com um estudo atual o qual fez uso deste biomaterial com o objetivo de preservação de alvéolo. Resultados semelhantes para cicatrização precoce da área operada nos grupos estudados foram relatados, sendo indiferente o uso do mesmo (Lee et al., 2019). Deste modo, parece plausível concluir que o uso do Emdogain® não apresentou relevância clínica na redução do edema tecidual e cicatrização precoce da ferida.

A variação de cor da área lesada, fazendo uso da coloração adjacente à ferida como referência, apresentou-se elevada no grupo EMD com significância estatística na avaliação intergrupo em 21 dias após procedimento cirúrgico. Tal fator pode ser explicado devido a capacidade de estímulo a angiogênese que este biomaterial apresenta favorecendo um maior aporte sanguíneo na região (Bertl et al., 2009; Sakoda et al., 2012). Ambos os grupos reportaram uma similaridade à coloração inicial do tecido após o fim do acompanhamento preconizado, contudo, maior proximidade à coloração original foi observado no grupo EMD. Tal característica denota uma possível potencialização a regeneração tecidual visto sua atividade no âmbito celular observado nas análises *in vitro*.

Parâmetros centrados no paciente foram mensurados no presente estudo. A partir do uso do questionário OHIP foi possível observar no grupo

Controle, na avaliação intragrupo, uma frequência reduzida ao uso de analgésicos, com relevância estatística, nos dois primeiros dias após o procedimento cirúrgico. Tal fator não se fez presente no grupo EMD, o qual apresentou constância ao uso da medicação. Além disso, a partir do uso da escala VAS, pacientes alocados ao grupo EMD apresentaram menor sintomatologia dolorosa aos 14 dias após abordagem cirúrgica em relação aos acompanhamentos anteriores. Enquanto isso, o grupo Controle somente apresentou este comportamento aos 21 dias. Tais características corroboram com os resultados de Mercado et al. (2019). O estudo citado apresentou um menor relato de dor, em 7 e 14 dias pós-operatórios, pelos pacientes submetidos à procedimento de recobrimento radicular com enxerto de tecido conjuntivo associado ao Emdogain® na região doadora quando comparado ao grupo controle que não foi aplicado o biomaterial no palato. Em adição, Lee et al. (2019) verificaram a capacidade da EMD em auxiliar na redução de desconforto ao paciente após cirurgia periodontal a retalho. Os autores revelam um resultado semelhante ao presente estudo: não houve nenhuma influência do biomaterial em acelerar a cicatrização precoce do tecido, contudo, um menor desconforto pós-operatório foi relatado com o uso do mesmo.

Atualmente condições fisiológicas e patológicas de injurias teciduais podem ser diagnosticadas de como mais acurado a partir da avaliação de biomarcadores (Veves et al., 2016). Neste estudo foi realizado a análise imunológica do exsudato inflamatório proveniente da área da ferida palatina. IL-1ß, IL-6, IL-10 e TNF-α são citocinas com grande influência perante a condução do processo inflamatório na resolução da injúria. Apesar de serem biomarcadores importantes para a reepitelização da ferida bem como recrutamento de células do sistema imune, sua expressão em altas concentrações na área injuriada acarretam uma lentidão no processo de cicatrização (Barrientos et al., 2008; Krzystek-Korpacka et al., 2019).

Após o uso do biomaterial EMD, observou-se alterações dessas citocinas no exsudato proveniente da ferida palatina. IL-1ß, na comparação intergrupos, apresentou-se com menor concentração no grupo EMD em relação ao grupo Controle aos 3 dias após tratamento. Uma manutenção deste biomarcador foi visto no grupo EMD enquanto no grupo Controle uma redução foi observada ao longo do acompanhamento proposto. IL-10 e TNF-α não apresentaram nenhuma alteração intra e intergrupo perante os acompanhamentos preconizados. Stähli et al. (2019), a partir de um estudo clínico randomizado, avaliaram a capacidade do biomaterial Emdogain® na cicatrização precoce de feridas após recobrimento radicular. Analisando biomarcadores relacionados à reparação tecidual, sendo dois deles a IL-1ß e IL-10, em 2 e 7 dias após a cirurgia mucogengival, não se obteve diferenças com significância estatística quando a EMD foi empregada em relação ao grupo, o qual não fez uso da mesma. Resultado semelhante quanto ao comportamento da IL-1ß foi visto no estudo de Giannopoulou et al. (2006) o qual fez uso da EMD durante a terapia periodontal não-cirúrgica. Apesar de tais resultados clínicos reportarem a manutenção deste biomarcador, análises *in vitro* relataram uma redução de IL-1ß após um dia de inoculação do Emdogain® em células do ligamento periodontal. Em contrapartida, somente após 6 dias foi visto regulação desta citocina em células em cultura com condições normal (Nokhbehsaim et al., 2012; Miron et al., 2012), características que corroboram com o estudo atual frente a redução a concentração da IL-1ß aos 3 dias pós-operatórios.

Em relação a IL-6, no presente estudo, uma diferença com significância no âmbito estatístico foi vista na comparação intergrupos aos 3 dias, favorecendo o grupo Controle. Em adição, uma constância deste biomarcador no grupo EMD foi relatada no acompanhamento de 3 para 7 dias após procedimento cirúrgico, enquanto no grupo Controle ocorreu uma redução. Villa et al. (2016) verificaram o perfil de biomarcadores locais

após procedimento cirúrgico com o intuito de promover regeneração periodontal, fazendo uso do Emdogain®, nos períodos de 7 e 14 dias pós-operatórios. Neste estudo clínico foi relatado que as concentrações de TNF-α e IL-6 ao longo dos acompanhamentos propostos foram semelhantes entre os grupos do estudo com aumento significante na comparação intragrupos em relação as mensurações iniciais, fator compatível com o processo inflamatório durante a reparação tecidual. Paralelamente, os mesmos autores executaram estudos *in vitro* avaliando citocinas semelhantes em fibroblastos humanos provenientes do tecido periodontal. IL-6 apresentou-se com aumento da expressão aos 3 dias, bem como aos 7 dias, após emprego do biomaterial (Villa et al., 2015). Tal comportamento expressivo se equipara aos resultados obtidos por Lyngstadaas et al. (2001). Sendo assim, a EMD aparenta, ao nível celular, estimular a liberação da IL -6 quando vinculada ao processo inflamatório.

Uma plausível relação perante as diferentes modulações das IL-1ß e IL-6 no presente estudo, frente aos estudos clínicos reportados, deve-se ao modelo de ferida empregado no mesmo, conforme discutido anteriormente. Tal fator pode propiciar uma maior concentração de mediadores pró-inflamatórios nos tempos de acompanhamento do presente estudo em relação às feridas fechadas apresentadas nos estudos citados. Em adição, os estudos *in vitro* relatados, fazendo uso do mesmo material, se assemelham ao comportamento imunológicos das citocinas do presente estudo.

A constância dos níveis de IL- 10 e TNF- α neste estudo corroboram com a literatura contemporânea a qual indica uma manutenção destas citocinas frente a presença de um processo inflamatório local. IL-10 com presença marcante, frente ao estímulo de biomarcadores locais, apresenta a capacidade de reduzir a expressividade de TNF-α. A partir disto, com reduzidas concentrações desta citocina, ocorre uma diminuição de IL-10 na área injuriada. É possível verificar, portanto, uma regulação entre tais

citocinas (Borish, Steinke, 2003).

MCP-1α e MIP-1α são citocinas produzidas e liberadas por células presentes no processo inflamatório agudo. MCP- 1α se apresenta com uma das citocinas de maior relevância para o recrutamento de células polimorfonucleares, principalmente macrófagos, e induz a liberação de linfócitos T (DiPietro et al., 2001). Estudo em animais o qual fez uso de anticorpos neutralizadores de MCP-1α e MIP-1α relataram uma melhora no processo de cicatrização nas feridas direcionadas a este protocolo em comparação ao grupo que obteve a cicatrização espontânea. Os autores relataram uma grande quantidade de macrófagos e neutrófilos povoando a área injuriada o que permeia a cicatrização deficiente do local bem como um processo de evolução lenta de reparo (Wetzler et al., 2000; Low et al., 2001). O presente estudo relatou uma redução de MCP-1α aos 7 dias no grupo EMD, com significância estatística, quando comparado ao grupo Controle na análise intergrupo. Este, na avaliação intragrupo, apresentou aumento da expressão do biomarcador. Em adição, uma menor concentração da citocina MIP-1α foi vista nas análises intra e intergrupo, aos 7 dias, favorecendo o grupo EMD com relevância estatística. Um estudo *in vitro* observou uma redução de MCP-1α após inoculação do Emdogain® em fibroblastos gengivais humanos, quando comparado ao controle negativo, após 7 dias (Villa et al., 2016). Deste modo, o uso do biomaterial, conforme acordado com a literatura contemporânea, favorece uma modulação perante a quimiotaxia de células do sistema imune relacionadas à fase inflamatória do processo de cicatrização, bem como a redução de seus produtos.

VEGF faz parte de um importante grupo de citocinas no processo de angiogênese permitindo um maior aporte sanguíneo à região lesada, a partir de diferenciação e proliferação de células endoteliais, bem como hemostasia a região (Larjava H, 2012). O presente estudo observou uma ausência de

relevância estatística, nas comparações intra e intergrupo, frente a expressão de VEGF. Um estudo em animais conduzido por Maymon-Gil et al. (2016) fez uso do biomaterial Emdogain® para verificar a cicatrização de feridas em mucosa oral. Após a execução de um retalho de espessura total, na região de rebordo alveolar, aplicou-se o biomaterial na região imediatamente à sutura. Após 5 e 9 dias os animais foram sacrificados e verificou-se uma grande expressão de VEGF no grupo que fez uso da EMD. Demais estudos *in vitro* demonstram a influência da matriz derivada do esmalte em células endoteliais bem como a expressão de seus biomarcadores (Bertl et al., 2009; Kasaj et al., 2012). Uma possível explicação para os nossos resultados se oporem aos apresentados deve-se a capacidade de modulação que o EMD apresentou frente ao recrutamento de polimorfonucleares. A literatura aponta o fagócito macrófago, no mecanismo de reparação tecidual, como uma célula importante para a liberação de VEGF (Childs, Murthy, 2017). A redução significante de MCP-1α no presente estudo pode apresentar influência na disponibilidade de VEGF devido reduzir o número destas células no local. Tal fator pode-se fazer justificável perante a não redução da concentração de MCP-1α no grupo controle e o aumento, apesar de não relevante no âmbito estatístico, de VEGF neste mesmo grupo.

MMP são endopeptidases zinco-dependentes com classificação baseada no seu substrato primário. MMP-2 e 9 são classificadas como gelatinases devido a sua filia por colágeno desnaturado e tipo X, residentes no tecido conjuntivo (Boelen et al., 2019). Sua atividade proteolítica requer atenção frente a etapa da cicatrização tecidual a qual tal enzima se faz atuante, bem como sua concentração local (McCart, Percival, 2012). Inibidores de metaloproteínases apresentam um papel importante no controle de tais colágenas, principalmente no *turn-over* tecidual, desenvolvendo um papel importante na literatura no controle diversas desordens (Liu, Kalil, 2017). Apesar de um amplo espectro de ação, é sabido

que uma especificidade se faz existente com melhor controle da atividade catabólica de MMP-2 e 9 quando mediada por TIMP -1 e 2, respectivamente (Bourboulia, Stetler-Stevenson, 2010). No presente estudo observou-se um aumento com relevância estatística de MMP-9 no grupo Controle na comparação intragrupo e uma redução com valores representativos no grupo EMD aos 7 dias na avaliação intergrupo. O *feedback* positivo do biomarcador TIMP-2 foi confirmado a partir de um comportamento semelhante à sua citocina de regulação. Estudo em defeitos infra-ósseos, fazendo uso da EMD com finalidade de regeneração periodontal, relataram um menor tempo de reestabelecimento dos biomarcadores MMP e TIMP para suas concentrações normais em relação ao grupo controle. Além disso, observou-se uma redução de 0,5 vezes na expressão de MMP-1 frente ao grupo controle (Okuda et al., 2001). Stähli et al. (2019) avaliaram, em conjunto às citocinas relatadas anteriormente, o biomarcador MMP-8 no procedimento mucogengival citado. Os autores divergem quanto aos resultados do presente estudo devido relatarem ausência de um resultado significante quanto ao uso do Emdogain® na modulação deste fator. Contudo, vale-se ressaltar a previsibilidade da ferida analisada no estudo citado, apresentando menor propensão à um processo inflamatório intenso. A avaliação de MMP e TIMP no âmbito *in vitro* com o uso de EMD apresentam controversas em seus resultados bem como poucos dados coletados para afirmar sua influência nos mesmos (Goda et al., 2008; Zeldich et al., 2010; Miron et al., 2016). Porém, a redução da concentração de MMP-9, visto a sua relevância no processo de reparação tecidual, torna-se um relato interessante.

Discorrer sobre a aplicabilidade da EMD no âmbito de reparação tecidual de tecido mole é um desafio frente a poucas evidências que se fazem presentes na literatura (Miron et al., 2016). Com os dados apresentados no presente estudo pode-se inferir que o uso da EMD

(Emdogain®) não apresentou influência sobre o fechamento da ferida palatina bem como na sua epitelização e parâmetros clínicos avaliados. Apesar disto, o biomaterial apresentou atividade sobre os parâmetros centrados no paciente como conforto e menor morbidade pós-operatória. Em adição, a capacidade de modulação do processo inflamatório da ferida foi verificada a partir da redução de mediadores pró inflamatórios conforme visto na análise imunológica.

2.7 Conclusão

Dentro dos limites do presente estudo, o uso do biomaterial Emdogain® não apresentou benefícios frente a reparação de feridas abertas em palato. Entretanto, verificou-se uma modulação favorável das citocinas inflamatórias durante o reparo tecidual bem a promoção de conforto pós-operatório aos pacientes, reduzindo sintomatologia dolorosa.

REFERÊNCIAS*

Aguirre-Zorzano LA, García-De La Fuente AM, Estefanía-Fresco R, Marichalar-Mendía X. Complications of harvesting a connective tissue graft from the palate. A retrospective study and description of a new technique. J Clin Exp Dent. 2017;9(12):e1439-45.

Alcantara CE, Falci SG, Oliveira-Ferreira F, Santos CR, Pinheiro ML. Preemptive effect of dexamethasone and methylprednisolone on pain, swelling, and trismus after third molar surgery: a split-mouth randomized triple-blind clinical trial. Int J Oral Maxillofac Surg. 2014;43:93–8.

Al-Hezaimi K, Al-Fahad H, O'Neill R, Shuman L, Griffin T. The effect of enamel matrix protein on gingival tissue thickness in vivo. Odontology. 2012 Jan;100(1):61-6. doi: 10.1007/s10266-011-0022-5. Epub 2011 May 13. PubMed PMID:21567122

Ashrafi M, Alonso-Rasgado T, Baguneid M, Bayat A. The efficacy of electrical stimulation in lower extremity cutaneous wound healing: A systematic review. Exp Dermatol. 2017 Feb;26(2):171-8. doi: 10.1111/exd.13179. Review. PubMed PMID: 27576070.

Aziz Z, Bell-Syer SEM.Electromagnetic therapy for treating pressure ulcers Cochrane Database Syst Rev. 2015;9. Art. No.: CD002930.

Balakatounis KC, Angoules AG. Low-intensity electrical stimulation in woundhealing: review of the efficacy of externally applied currents resembling thecurrent of injury. Eplasty. 2008 May 16;8:e28.

Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vacular endothelial growth factor in wound healing. J Surg Res. 2009;153:347-58.

Barnes R, Shahin Y, Gohil R, Chetter I. Electrical stimulation vs. standard care for chronic ulcer healing: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. Eur J Clin Invest. 2014 Apr;44(4):429-40. doi:10.1111/eci.12244.

Barker AT, Jaffe LF, Vanable JW Jr. The glabrous epidermis of cavies contains a powerful battery. Am J Physiol. 1982 Mar;242(3): R358-66. PubMed PMID: 7065232.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2019 Jan 2019]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair Regen. 2008 Sep-Oct;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x. Review. PubMed PMID: 19128254.

Brand HS, Veerman EC. Saliva and wound healing. Chin J Dent Res. 2013;16(1):7-12. Review. PubMed PMID: 23878824.

Bates DO. Vascular endothelial growth factors and vascular permeability. Cardiovasc Res. 2008; 87(2):262-71.

Bellayr IH, Mu X, Li Y. Biochemical insights into the role of matrix metalloproteinases in regeneration: challenges and recent developments. Future Med Chem. 2009 Sep;1(6):1095-111. doi: 10.4155/fmc.09.83.

Bertl K, An N, Bruckmann C, Dard M, Andrukhov O, Matejka M et al. Effects of enamel matrix derivative on proliferation/viability, migration, and expression of angiogenic factor and adhesion molecules in endothelial cells in vitro. J Periodontol. 2009;80:1622– 30.

Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) andtissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulatorsin tumor cell adhesion. Semin Cancer Biol. 2010 Jun;20(3):161-8. doi:10.1016/j.semcancer.2010.05.002. Epub 2010 May 12. Review. PubMed PMID: 20470890;PubMed Central PMCID: PMC2941566.

Boelen GJ, Boute L, d'Hoop J, EzEldeen M, Lambrichts I, Opdenakker G. Matrix metalloproteinases and inhibitors in dentistry. Clin Oral Investig. 2019 Jul;23(7):2823-35. doi: 10.1007/s00784-019-02915-y. Epub 2019 May 15. Review. PubMed PMID: 31093743.

Borish LC, Steinke JW. Cytokines and chemokines. J Allergy Clin Immunol. 2003 Feb;111(2 Suppl):S460-75.

Bowsher D. Modulation of nociceptive input. Pain: management and control in physiotherapy. Londres: Heinemann Medical Books; 2003.

Burkhardt R, Ha€mmerle CHF, Lang NP, On behalf of the Research Group on Oral Soft Tissue Biology & Wound Healing. Self-reported pain perception of patients after mucosal graft harvesting in the palatal area. J Clin Periodontol. 2015;42:281–7. doi: 10.1111/jcpe.12357.

Brett PM, Parkar M, Olsen I, Tonetti M. Expression profiling of periodontal ligament cells stimulated with enamel matrix proteins in v i m : a model for tissue regeneration. J Dent Res. 2002;81:776E3.

Buti J, Baccini M, Nieri M, La Marca M, Pini-Prato GP. Bayesian network meta-analysis of root coverage procedures: ranking efficacy and identification of best treatment. J Clin Periodontol. 2013;40:372–86. doi: 10.1111/jcpe.12028.

Cairo F, Pagliaro U, Nieri M. Treatment of gingival recession with coronally advanced flap procedures: a systematic review. J Clin Periodontol. 2008 Sep;35(8):136-62.

Campos ACL, Borges-Branco A, Groth AK. Wound healing. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2007; 20(1):51-8.

Caley MP, Martins VL, O'Toole EA. Metalloproteinases and wound healing. Adv Wound Care (New Rochelle). 2015 Apr 1;4(4):225-34. doi: 10.1089/wound.2014.0581. PMID: 25945285; PMCID: PMC4397992.

Casarin RCV, Ribeiro E´DP, Nociti Jr FH, Sallum AW, Ambrosano GMB, Sallum EA, et al. Enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class II furcation involvements: a prospective 24-month randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2010;37:1100–9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01614.x.

Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, Laupacis A, Gøtzsche PC, Krle A-Jerić K, et al. SPIRIT 2013 Statement: defining standard protocol items for clinical trials. Rev Panam Salud Publica. 2015 Dec;38(6):506-14. PubMed PMID: 27440100; PubMed CentralPMCID: PMC5114122.

Chen Y, Ye L, Guan L, Fan P, Liu R, Liu H, et al. Physiological electric field works via the VEGF receptor to stimulate neovessel formation of vascular endothelial cells in a 3D environment. Biol Open. 2018 Sep 19;7(9). pii: bio035204. doi: 10.1242/bio.035204. PubMed PMID: 30232195; PubMed Central PMCID: PMC6176943

Cortellini P, Tonetti MS. Clinical and radiographic outcomes of the modified minimally invasive surgical technique with and without regenerative materials: a randomized- controlled trial in intra-bony defects. J Clin Peridontol. 2011;38:365–73.doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01705.x.

Cross MJ, Dixelius J, Matsumoto T, Claesson-Welsh L. VEGF-receptor signal transduction. Trends Biochem Sci. 2003 Sep;28(9):488-94. Review. PubMed PMID:13678960.

da Silva Neves FL, Silveira CA, Dias SB, Santamaria Júnior M, de Marco AC, Kerbauy WD, et al. Comparison of two power densities on the healing of palatal wounds after connective tissue graft re- moval: randomized clinical trial. Lasers Med Sci. 2016 Sep;31(7):1371-8.

de Domenico G. Pain relief with interferential therapy. Aust J Physiother. 1982;28:14-8.

DiPietro LA, Reintjes MG, Low QE, Levi B, and Gamelli RL. Modulation of macrophage recruitment into wounds by monocyte chemoattractant protein-1. Wound Repair Regen. 2001;9:28–33.

Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. J Interferon Cytokine Res. 2009 Jun;29(6):313-26. doi: 10.1089/jir.2008.0027. PMID: 19441883; PMCID: PMC2755091.

Dias SBF, Fonseca MVA, Santos NCC, Mathias IF, Martinho FC, Santamaria M, et al. Effect of GaAIAs low-level laser therapy on the healing of human palate mucosa after connective tissue graft harvesting: randomized clinical trial. Lasers In Medical Science. 2015;30(6):1695-702.

Efron PA, Moldawer LL. Cytokines and wound healing: the role of cytokine and anticytokine therapy in the repair response. J Burn Care Rehabil. 2004 Mar-Apr;25(2):149-60. Review. PubMed PMID: 15091141.

Falci SGM, Lima TC, Martins CC, Santos CRRD, Pinheiro MLP. Preemptive effect of dexamethasone in third-molar surgery: a meta-analysis. Anesth Prog. Fall 2017;64(3):136-43. doi: 10.2344/anpr-64-05 08. Review. PubMed PMID: 28858550; PubMed Central PMCID: PMC5579814.

Ferroni P, Roselli M, Guadagni F, Martini F, Mariotti S, Marchitelli E, et al. Biological effects of a software-controlled voltage pulse generator (PhyBack PBK-2C) on the release of vascular endothelial growth factor (VEGF). In Vivo. 2005 Nov-Dec;19(6):949-58.

Fickl S, Fischer KR, Jockei-Schneider Y, Stapelt CFJ, Schalgenhauf U, Keuschull M. Early wound healing and patient morbidity after single-incision vs. trap-door graft harvesting from the palate—a clinical study. Clin Oral Invest. 2014;18:2213–9.

Fullerton JN, Gilroy DW. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. Nat Rev Drug Discov. 2016 Aug;15(8):551-67. doi: 10.1038/nrd.2016.39.Epub 2016 Mar 29. Review. PubMed PMID: 27020098.

Galli C, Macaluso GM, Guizzardi S, Vescovini R, Passeri M, Passeri G. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand modula- tion by enamel matrix derivative in human alveolar osteoblasts. J Periodontol 2006;77:1223–8.

Gassmann G, Schwenk B, Entschladen F, Grimm WD. Influence of enamel matrix derivative on primary CD4+ T-helper lymphocyte migration, CD25 activation, and apoptosis. J Periodontol. 2009;80:1524–33.

Gill SE, Parks WC. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(6-7):1334-47. Epub 2007 Oct 26. Review. PubMed PMID: 18083622; PubMed Central PMCID: PMC2746915.

Giannopoulou C, Andersen E, Brochut P, Plagnat D, Mombelli A. Enamel matrix derivative and systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal treatment: biologic response. J Periodontol. 2006 Apr;77(4):707-13. PubMed PMID: 16584354.

Gonzalez ACV, CostaTL, Andrade ZA, Medrado ARAP. Wound healing - A literature review. An Bras Dermatol. 2016 Oct;91(5):614-20.

Goda S, Inoue H, Kaneshita Y, Nagano , Ikeo YT, Lida J et al. Emdogain stimulates matrix degradation by osteoblasts. J Dent Res. 2008;87:782–7.

Graziani F, Gennai S, Roldán S, Discepoli N, Buti J, Madianos P, et al. Efficacy of periodontal plastic procedures in the treatment of multiple gingival recessions. J Clin Periodontol. 2014 Apr;41 Suppl 15:S63-76.

Groeger S, Windhorst A, Meyle J. Influence of enamel matrix derivative on human epithelial cells in vitro. J Periodontol. 2016 Oct;87(10):1217-27. doi:10.1902/jop.2016.160088. Epub 2016 Jun 17. PubMed PMID: 27315393

Gürgen SG, Sayın O, Cetin F, Tuç Yücel A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) accelerates cutaneous wound healing and inhibits pro-inflammatory cytokines. Inflammation. 2014 Jun;37(3):775-84. doi:10.1007/s10753-013-9796-7. PubMed PMID: 24357416.

Hagenaars S, Louwerse PHG, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA: Soft-tissue wound healing following periodontal surgery and Emdogains application. J Clin Periodontol. 2004;31:850–6. doi: 10.1111/j. 1600-051X.2004.00571.x

Hammarstrom L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. J Clin Periodontol 1997;24:658–68.

Hashimoto H. Effect of micro-pulsed electricity on experimental tooth movement. Nihon Kyosei Shika Gakkai Zasshi. 1990 Aug;49(4):352-61.

Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its. regulation.Biochem J. 2003 Aug 15;374(Pt 1):1-20. Review. PubMed PMID: 12773095; PubMedCentral PMCID: PMC1223585.

Heng NH, Zahlten J, Cordes V, Ong MM, Goh BT, N'Guessan PD, et al. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor-β1 on connective tissue growth factor in human periodontal ligament fibroblasts. J Periodontol.2015 Apr;86(4):569-77. doi: 10.1902/jop.2015.120448. Epub 2015 Jan 16. PubMed PMID: 25594423.

Hunckler J, de Mel A. A current affair: electrotherapy in wound healing. J Multidiscip Healthc. 2017 Apr 20;10:179-94. doi: 10.2147/JMDH.S127207.

Huo X, Zhang G,Wu C, Zhang C. Electric field stimulation protects injured spinal cord from secondary inflammatory response in rats. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2017 Jul;2017:1958-61. doi:10.1109/EMBC.2017.8037233. PubMed PMID: 29060277.

Huttenlocher A, Horwitz AR. Wound healing with electric potential. N Engl J Med. 2007;356:303.

Huldt-Nystrom T, Meuleneire F,Acton C. Xelma®, an advanced wound treatment for venous ulcers: A European perspective. Wounds UK, 2008. Vol 4.

Hofmänner P, Alessandri R, Laugisch O, Aroca S, Salvi GE, Stavropoulos A, et al. Predictability of surgical techniques used for coverage of multiple adjacent gingival recessions—a systematic review. Quintessence Int. 2012;43(7):545–54.

Houghton PE, Campbell KE, Fraser CH, Harris C, Keast DH, Potter PJ, et al. Electrical stimulation therapy increases rate of healing of pressure ulcers in community-dwelling people with spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil. 2010 May;91(5):669-78. doi: 10.1016/j.apmr.2009.12.026.

Houghton PE, Kincaid CB, Lovell M, Campbell KE, Keast DH, Woodbury MG, et al. Effect of electrical stimulation on chronic leg ulcer size and appearance. Phys Ther. 2003 Jan;83(1):17-28. PubMed PMID: 12495409

Iglesias-Bartolome R, Uchiyama A, Molinolo AA, Abusleme L, Brooks SR, Callejas-Valera JL, et al. Transcriptional signature primes human oral mucosa for rapid wound healing. Sci Transl Med. 2018 Jul 25;10(451). pii: eaap8798. doi:10.1126/scitranslmed.aap8798.

Kahn J. Principles and practice of electrotherapy. New York: Churchill Livingstone; 2004.

Kasaj A, Meister J, Lehmann K, Stratul SI, Schlee M, Stein JM, et al. The influence of enamel matrix derivative on the angiogenic activity of primary endothelial cells. J Periodontal Res. 2012;47:479–87.

Kawasaki L, Mushahwar VK, Ho C, Dukelow SP, Chan LL, Chan KM. The mechanisms and evidence of efficacy of electrical stimulation for healing of pressure ulcer: a systematic review. Wound Repair Regen. 2014 Mar-Apr;22(2):161-73. doi: 10.1111/wrr.12134.

Kaynak D, Meffert R, Günhan M, Günhan O. A histopathologic investigation on the effects of electrical stimulation on periodontal tissue regeneration in experimental bony defects in dogs. J Periodontol. 2005 Dec;76(12):2194-204.

Keskiner I, Aydogdu A, Balli U, Kaleli AE. Quantitative changes in palatal donor site thickness after free gingival graft harvesting: a pilot study. J Clin Periodontol. 2016;43:976–84. doi: 10.1111/jcpe.12592.

Kim JH, Choi H, Suh MJ, Shin JH, Hwang MH, Lee HM. Effect of biphasic electrical current stimulation on IL-1β-stimulated annulus fibrosus cells using in vitro microcurrent generating chamber system. Spine (Phila Pa 1976). 2013 Oct 15;38(22):E1368-76. doi: 10.1097/BRS.0b013e3182a211e3.

Koel G, Houghton PE. Electrostimulation: current status, strength of evidence guidelines, and meta-analysis. Adv Wound Care (New Rochelle). 2014 Feb 1;3(2):118-26. doi: 10.1089/wound.2013.0448. PMID: 24761352; PMCID: PMC3928827.

Korelo RIG, Valderramas S, Ternoski B, Medeiros DS, Andres LF, Adolph SMM. Aplicação da microcorrente como recurso para tratamento de úlceras venosas: um estudo piloto Rev Latino-Am. Enfermagem. 2012;20(4).

Knösel M, Attin R, Jung K, Brunner E, Kubein-Meesenburg D, Attin T. Digital image color analysis compared to direct dental CIE colorimeter assessment under different ambient conditions. Am J Dent. 2009 Apr;22(2):67-72.

Krzystek-Korpacka M, Kędzior K, Masłowski L, Mierzchała M, Bednarz-Misa I, Bronowicka-Szydełko A, et al. Impact of chronic wounds of various etiology on systemic profiles of key inflammatory cytokines, chemokines, and growth factors and their interplay. Adv Clin Exp Med. 2019 Aug 19. doi: 10.17219/acem/103845. [Epub ahead of print] PubMed PMID:31430066.

Larjava H. Oral wound healing cell biology and clinical management. Ames, IA: John Wiley and Sons; 2012.

Lee JH, Kim DH, Jeong SN. Comparative assessment of anterior maxillary alveolar ridge preservation with and without adjunctive use of enamel matrix derivative: a randomized clinical trial. Clin Oral Implants Res. 2019 Aug 31.doi: 10.1111/clr.13530. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31472087.

Lee JH, Park YS, Kim YT, Kim DH, Jeong SN. Assessment of early discomfort and wound healing outcomes after periodontal surgery with and without enamel matrix derivative: an observational retrospective case-control study. Clin Oral Investig. 2019 May 12. doi: 10.1007/s00784-019-02941-w. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31079246.

Li L, Gu W, Du J, Reid B, Deng X, Liu Z, et al. Electric fields guide migration of epidermal stem cells and promote skin wound healing. Wound Repair Regen. 2012 Nov-Dec;20(6):840-51. doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00829.x. Epub 2012 Oct 19.PubMed PMID: 23082865.

Liu J, Khalil RA. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational and therapeutic tools in unrestrained tissue remodeling and pathological disorders. Prog Mol Biol Transl Sci. 2017;148:355-420. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.04.003. Epub 2017 May 10. Review. PubMed PMID: 28662828; PubMed Central PMCID: PMC5548434.

Low QE, Drugea IA, Duffner LA, Quinn DG, Cook DN, Rollins BJ, et al. Wound healing in MIP-1alpha(-/-) and MCP-1(-/-) mice. Am J Pathol. 2001;159:457–63.

Marin DO, Leite AR, Nícoli LG, Marcantonio C, Compagnoni MA, Marcantonio E Jr. Free gingival graft to increase keratinized mucosa after placing of mandibular fixed implant-supported prosthesis. Case Rep Dent. 2017;2017:5796768. Doi:10.1155/2017/5796768. Epub 2017 Feb 15. PubMed PMID: 28293441; PubMed Central PMCID: PMC5331288.

Markiewicz MR, Brady MF, Ding EL, Dodson TB. Corticosteroids reduce postoperative morbidity after third molar surgery: a systematic review and metaanalysis. J Oral Maxillofac Surg. 2008;66:1881–94.

Maymon-Gil T, Weinberg E, Nemcovsky C, Weinreb M. Enamel matrix derivative promotes healing of a surgical wound in the rat oral mucosa. J Periodontol. 2016 May;87(5):601-9. doi: 10.1902/jop.2016.150567. Epub 2016 Jan 16. PubMed PMID:26777768.

McCarty SM, Percival SL. Proteases and delayed wound healing. Adv Wound Care (New Rochelle). 2013 Oct;2(8):438-47. Review. PubMed PMID: 24688830; PubMed Central PMCID: PMC3842891.

McCaughan D, Sheard L, Cullum N, Dumville J, Chetter I. Patients' perceptions and experiences of living with a surgical wound healing by secondary intention: a qualitative study. Int J Nurs Stud. 2018 Jan;77:29-38. doi:10.1016/j.ijnurstu.2017.09.015. Epub 2017 Sep 28. PubMed PMID: 29031127; PubMed Central PMCID: PMC5744862.

Mercado F, Hamlet S, Ivanovski S. Subepithelial connective tissue graft with or without enamel matrix derivative for the treatment of multiple Class III-IV recessions in lower anterior teeth: A 3-year randomized clinical trial. J Periodontol. 2019 Sep 27. doi: 10.1002/JPER.19-0058. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31561272.

Miller PD Jr. A classification of marginal tissue recession. Int J Periodontics Restorative Dent. 1985;5(2):8-13. PubMed PMID: 3858267.

Miron RJ, Dard M, Weinreb M. Enamel matrix derivative, inflammation and soft tissue wound healing. J Periodontal Res. 2015;50:555–69.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 Explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. Br Med J. 2010;340:c869.

Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, Froum S, Zucchelli G, Nemcovsky C, et al. Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. J Clin Periodontol. 2016;43:668–83.

Miron RJ, Bosshardt DD, Hedbom E, Zhang Y, Haenni B, Buser D, et al. Adsorption of enamel matrix proteins to a bovine-derived bone grafting material and its regulation of cell adhesion, proliferation, and differentiation. J Periodontol. 2012 Jul;83(7):936-47. doi: 10.1902/jop.2011.110480. Epub 2011 Dec 5. PubMed PMID: 22141360.

Myhre AE, Lyngstadaas SP, Dahle MK, Stuestol JF, Foster SJ, Thiemermann C, et al. Anti-inflammatory properties of enamel matrix derivative in human blood. J Periodontal Res. 2006;41:208–13.

Nokhbehsaim M, Winter J, Rath B, Ja¨ger A, Jepsen S, Deschner J. Effects of enamel matrix derivative on periodontal wound healing in an inflammatory environment in vitro. J Clin Periodontol. 2011;38:479–90. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01696.x

O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. J Periodontol. 1972 Jan;43(1):38.

Ojingwa JC, Isseroff RR. Electrical stimulation of wound healing. J Invest Dermatol. 2003 Jul;121(1):1-12.

Okuda K, Miyazaki A, Momose M, Murata M, Nomura T, Kubota T, et al. Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDOGAIN). J Periodont Res 2001;36:309-16.

Ozcelik O, Haytac MC, Kunin A, Seydaoglu G. Improved wound healing by low-level laser irradiation after gingivectomy operations: a controlled clinical pilot study. J Clin Periodontol. 2008;35:250–4.

Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103. Review. PubMed PMID: 21133840; PubMed Central PMCID: PMC3066460

Patel S, Maheshwari A, Chandra A. Biomarkers for wound healing and their evaluation. J Wound Care. 2016 Jan;25(1):46-55. doi:10.12968/jowc.2016.25.1.46. Review. PubMed PMID: 26762498

Peters EJ, Lavery LA, Armstrong DG, Fleischli JG. Electric stimulation as an adjunct to heal diabetic foot ulcers: a randomized clinical trial. Arch Phys Med Rehabil. 2001;82:721-5.

Petković AB, Matić SM, Stamatović NV, Vojvodić DV, Todorović TM, Lazić ZR, et al. Proinflammatory cytokines (IL-1beta and TNF-alpha) and chemokines (IL-8 and MIP-1alpha) as markers of peri-implant tissue condition. Int J Oral Maxillofac Surg. 2010 May;39(5):478-85. doi: 10.1016/j.ijom.2010.01.014.

Poltawski L, Tim Watson T. Bioelectricity and microcurrent therapy for tissue healing—a narrative review. Phys Ther Rev. 2009;14:104–14.

Puri K, Kumar A, Khatri M, Bansal M, Rehan M, Siddeshappa ST. 44-year journey of palatal connective tissue graft harvest: a narrative review. J Indian Soc Periodontol. 2019;23:395-408.

Rodrigues TL, Marchesan JT, Coletta RD, Novaes AB Jr, Grisi MF, Souza SL et al. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor-beta1 on human periodontal ligament fibroblasts. J Clin Periodontol. 2007;34:514–22.

Sakoda K, Nakajima Y, Noguchi K. Enamel matrix derivative induces production of vascular endothelial cell growth factor in human gingival fibroblasts. Eur J Oral Sci. 2012;120:513-9.

Sanz-Moliner JD, Nart J, Cohen RE, Ciancio SG. The effect of an 810-nm diode laser on postoperative pain and tissue response after modified Widman flap surgery: a pilot study in humans. J Periodontol. 2013 Feb;84(2):152-8. doi: 10.1902/jop.2012.110660

Sculean A, Auschill TM, Donos N, Brecx M, Arweiler NB. Effect of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) on ex vivo dental plaque vitality. J ClinPeriodontol. 2001 Nov;28(11):1074-8. PubMed PMID: 11686830.

Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. J Clin Periodontol. 2014 Apr;41 Suppl 15:S6-22. doi: 10.1111/jcpe.12206. Review. PubMed PMID: 24641001.

Semper-Hogg W, Fuessinger MA, Dirlewanger TW, Cornelius CP, Metzger MC. The influence of dexamethasone on postoperative swelling and neurosensory disturbances after orthognathic surgery: a randomized controlled clinical trial. Head Face Med. 2017 Nov 7;13(1):19. doi: 10.1186/s13005-017-0153-1. PubMed PMID: 29116013; PubMed Central PMCID: PMC5678574.

Snyder AE, Perotti AL, Lam KC, Bay RC. The influence of high-voltage electrical stimulation on edema formation after acute injury: a systematic review. J Sport Rehabil. 2010;19:436-51.

Stout BM, Alent BJ, Pedalino P, Holbrook R, Gluhak-Heinrich J, Cui Y, et al. Enamel matrix derivative:protein components and osteoinductive properties. J Periodontol. 2014Feb;85(2):e9-e17. doi: 10.1902/jop.2013.130264. Epub 2013 Aug 6. PubMed PMID:23919251.

Stähli A, Imber JC, Raptis E, Salvi GE, Eick S, Sculean A. Effect of enamel matrix derivative on wound healing following gingival recession coverage using the modified coronally advanced tunnel and subepithelial connective tissue graft:a randomized, controlled, clinical study. Clin Oral Investig. 2019 Jul 9. doi: 10.1007/s00784-019-03008-6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31290017.

Spadari GS, Zaniboni E, Vedovello SAS, Santamaria MP, Amaral MEC, Santos GMT, et al. Electrical stimulation enhances tissue reorganization during orthodontic tooth movement in rats. Clin Oral Invest. 2017;21:111–20.

Stanton G, Levy M, Stahl SS. Collagen restoration in healing human gingiva. J Dent Res. 1969 Jan-Feb;48(1):27-31. PubMed PMID: 5252096.

Stimmelmayr M, Güth JF, Iglhaut G, Beuer F. Preservation of the ridge and sealing of the socket with a combination epithelialised and subepithelial connective tissue graft for management of defects in the buccal bone before insertion of implants: a case series. Br J Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;50(6):550-5. doi: 10.1016/j.bjoms.2011.09.014. Epub 2011 Oct 14. PubMed PMID:22000635

Sun YS. Electrical stimulation for wound-healing: simulation on the effect of electrode configurations. Biomed Res Int. 2017;2017:5289041. doi:10.1155/2017/5289041. Epub 2017 Apr 9. PubMed PMID: 28497054.

Thoma DS, Sancho-Puchades M, Ettlin DA, Hammerle CHF, Jung RE. Impact of a collagen matrix on early healing, aesthetics and patient morbidity in oral mucosal wounds – a randomized study in humans. J Clin Periodontol 2012; 39: 157–65. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01823.x.

Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Endo Y, Kasuyama K, Nagayama M, et al. Effects of electrical stimulation on periodontal tissue remodeling inrats. J Periodont Res. 2013;48:177–83.

Tonetti MS, Cortellini P, Pellegrini G, Nieri M, Bonaccini D, Allegri M, Bouchard P, et al. Xenogenic collagen matrix or autologous connective tissue graft as adjunct to coronally advanced flaps for coverage of multiple adjacent gingival recession: randomized trial assessing non-inferiority in root coverage and superiority in oral health-related quality of life. J Clin Periodontol. 2018 Jan;45(1):78-88. doi: 10.1111/jcpe.12834. Epub 2017 Nov 21. PubMed PMID: 29087001

Tonetti MS, Fourmousis I, Suvan J, Cortellini P, Bra¨gger U, Lang NP. Healing, post- operative mobidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects. J Clin Periodontol. 2004;31:1092–8. doi:10.1111/ j.1600-051X.2004.00615.x. r

Ud-Din S, Perry D, Giddings P, Colthurst J, Zaman K, Cotton S, et al. Electrical stimulation increases blood flow and haemoglobin levels in acute cutaneous wounds without affecting wound closure time: evidenced by non-invasive assessment of temporal biopsy wounds in human volunteers. Exp Dermatol. 2012 Oct;21(10):758-64. doi: 10.1111/exd.12005.

Utz ER, Elster EA, Tadaki D, Gage F, Perdue PW, Fosberg JA et al. Metalloproteinase expression is associated with traumatic wound failure. J Surg Res. 2010;159(2):633–9.

Veves A. Discussion: biology and biomarkers for wound healing. Plast Reconstr Surg. 2016 Sep;138(3 Suppl):29S-30S. doi: 10.1097/PRS.0000000000002698. PubMed PMID: 27556771; PubMed Central PMCID: PMC5659197.

Villa O, Brookes SJ, Thiede B, Heijl L, Lyngstadaas SP, Reseland JE. Subfractions of enamel matrix derivative differentially influence cytokine secretion from human oral fibroblasts. J Tissue Eng. 2015 Mar 19;6:2041731415575857. doi: 10.1177/2041731415575857. eCollection 2015. PubMed PMID: 26090085; PubMed Central PMCID: PMC4456328.

Villa O, Wohlfahrt JC, Koldsland OC, Brookes SJ, Lyngstadaas SP, Aass AM, et al. EMD in periodontal regenerative surgery modulates cytokine profiles: a randomised controlled clinical trial. Sci Rep. 2016 Mar 15;6:23060. doi:10.1038/srep23060. PubMed PMID: 26976446; PubMed Central PMCID: PMC4791659.

Vowden P, Romanelli M, Price P. Effect of amelogenin extracellular matrix protein and compression on hard-to-heal venous leg ulcers. J Wound Care. 2007;16(5):189–95.

Vowden P, Romanelli M, Peter R, Bostrom A, Josefsson A, Stege H. The effect of amelogenins (Xelma) on hard- to-heal venous leg ulcers. Wound Repair Regen. 2006;14:240–6.

Wang RE, Lang NP. Ridge preservation after tooth extraction. Clin Oral Implants Res. 2012 Oct;23 Suppl 6:147-56. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02560.x.Review. PubMed PMID: 23062139.

Wang Y, Tatakis DN. Human gingiva transcriptome during wound healing. J Clin Periodontol. 2017; 44:394–402. doi: 10.1111/jcpe.12669.

Wennstrom JL, Lindhe J. Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region J Clin Periodontol. 2002;29:9–14.

Wessel JR, Tatakis DN. Patient outcomes following subepithelial connective tissue graft and free gingival graft procedures. J Periodontol. 2008 Mar;79(3):425-30. doi: 10.1902/jop.2008.070325. PubMed PMID: 18315424.

Wetzler C, Kampfer H, Stallmeyer B, Pfeilschifter J, Frank S. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. J Invest Dermatol. 2000;115: 245–53 .

Wood JM, Evans PE 3rd, Schallreuter KU, Jacobson WE, Sufit R, Newman J, et al. A multicenter study on the use of pulsed low-intensity direct current for healing chronic stage II and stage III decubitus ulcers. Arch Dermatol. 1993 Aug;129(8):999-1009. PubMed PMID: 8352625.

Wyganowska-Swiatkowska M, Urbaniak P, Lipinski D, Szalata M, Borysiak K, Jakun J, et al. Effects of enamel matrix proteins on adherence, proliferation and migration of epithelial cells: A real-time in vitro study. Exp Ther Med. 2017 Jan;13(1):160-8. doi: 10.3892/etm.2016.3918. Epub 2016 Nov 18. PMID: 28123485; PMCID: PMC5245141.

Wyganowska-Świątkowska M, Urbaniak P, Nohawica MM, Kotwicka M, Jankun J. Enamel matrix proteins exhibit growth factor activity: a review of evidence at the cellular and molecular levels. Exp Ther Med. 2015 Jun;9(6):2025-33. doi: 10.3892/etm.2015.2414. Epub 2015 Apr 7. PMID: 26161150; PMCID: PMC4489198.

Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. Nat Med. 2012 Jul 6;18(7):1028-40. doi: 10.1038/nm.2807. Review. PubMed PMID: 22772564; PubMed Central PMCID: PMC3405917.

Wyrębek B, Górski B, Górska R. Patient morbidity at the palatal donor site depending on gingival graft dimension. Dent Med Probl. 2018 Apr-Jun;55(2):153-9. doi: 10.17219/dmp/91406. PubMed PMID: 30152618.

Yu C, Hu ZQ, Peng RY. Effects and mechanisms of a microcurrent dressing on skin wound healing: a review. Mil Med Res. 2014 Nov 24;1:24. doi: 10.1186/2054-9369-1-24.

Zeldich E, Koren R, Dard M, Weinberg E, Weinreb M, Nemcovsky CE. Enamel matrix derivative induces the expression of tissue inhibitor of matrix metallopro- teinase-3 in human gingival fibroblasts via extracellular signal-regulated kinase. J Periodontal Res. 2010;45:200–6.

Zhao M, Penninger J, Isseroff RR. Electrical activation of wound-healing pathways. Adv Skin Wound Care. 2010 Jan 1;1:567-73. PubMed PMID: 22025904; PubMed Central PMCID: PMC3198837.

Zhao M, Song B, Pu J, Wada T, Reid B, Tai G, Wang F, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. Nature. 2006 Jul 27;442(7101):457-60. PubMed PMID:16871217.

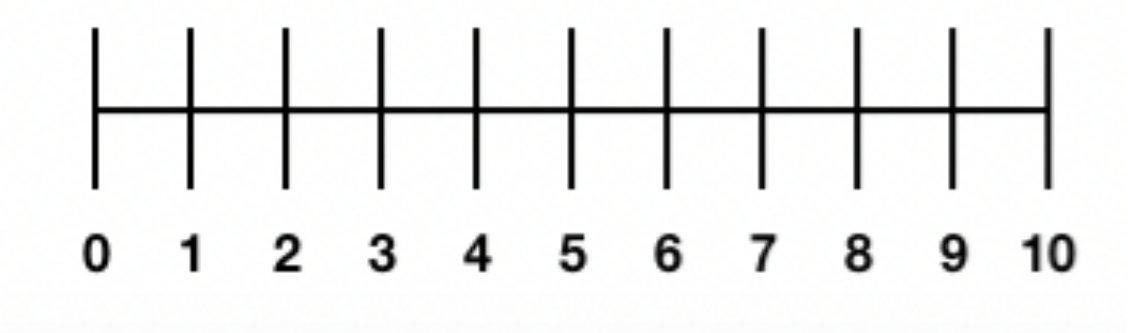
Zeldich E, Koren R, Dard M, Weinberg E, Weinreb M, Nemcovsky CE. Enamel matrix derivative induces the expression of tissue inhibitor of matrix metallopro- teinase-3 in human gingival fibroblasts via extracellular signal-regulated kinase. J Periodontal Res. 2010;45:200–6.

APÊNDICE A - Avaliação da dor pós-operatória pelo uso da escala VAS

Nome: _____
Idade:_____

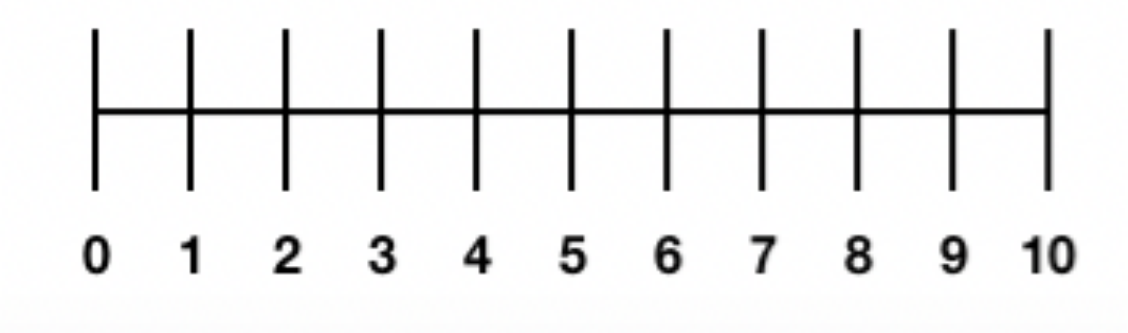
DIA 7

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



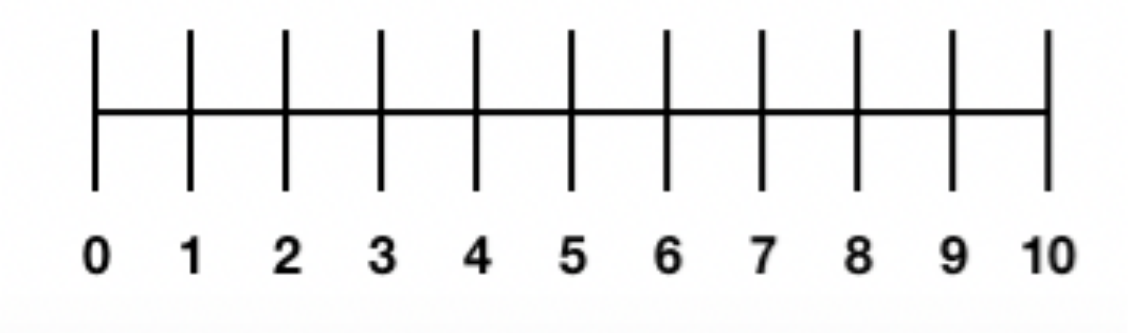
DIA 14

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



DIA 21

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



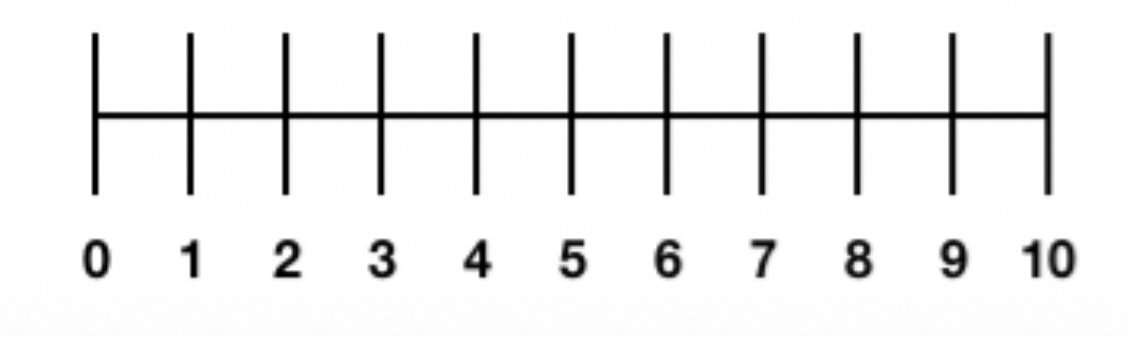
DIA 30

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



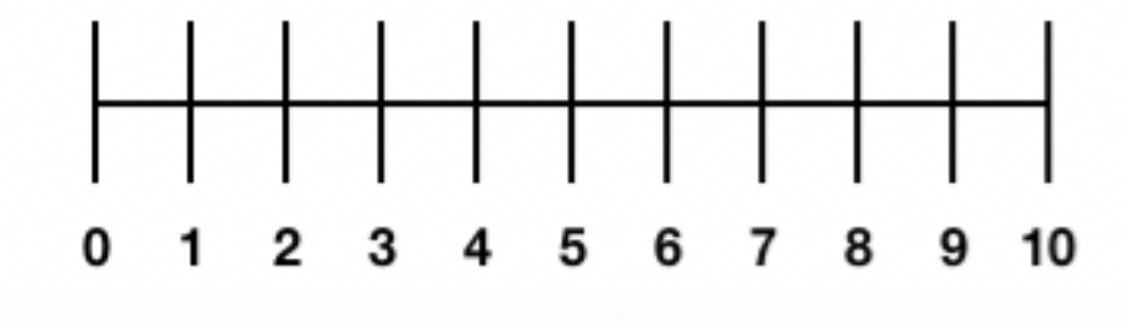
DIA 45

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



DIA 90

Após a aplicação do pulverizador de ar por 5 s na região palatina doadora, relate o seu desconforto em uma escala de 0 a 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 uma dor extremamente intensa.



ANEXO A – Registro estudo clínico “Influência da estimulação elétrica no reparo de feridas em palato” na plataforma americana *clinicaltrials.gov*



Open	UEPJMF9	NCT03576339	Influence of Electrical Stimulation on Palatal Wound Healing.	Approved	07/29/2019 09:25	Mauro Pedrine Santamaria mauro.santamaria@fosjc.unesp.br

ANEXO B – Comitê de Ética estudo clínico "Influência da estimulação elétrica no reparo de feridas em palato"



I DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NO REPARO DE FERIDAS EM PALATO: Estudo Clínico Randomizado.
Pesquisador Responsável: MANUELA MARIA VIANA MIGUEL
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 84011318.4.0000.0077
Submetido em: 14/03/2018
Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1071690

PLATAFORMA BRASIL COORDENADOR PLATAFORMA BRASIL

ANEXO C – Questionário relacionado à qualidade de vida OHIP (Tonetti *et al.,* 2018)

DIÁRIO PÓS-OPERATÓRIO

Nome:_____ **Idade:**_____

INSTRUÇÕES

Esse questionário irá nos ajudar a monitorar a sua cicatrização diária. Ele deve ser preenchido durante 14 DIAS SEGUIDOS, de preferência ao fim de cada dia. É muito importante responder a todas as perguntas diariamente!

DIA 1: ____/____/_____

1) **As perguntas no quadro estão relacionadas a insatisfações com seus dentes ou boca. Complete o quadro abaixo segundo a frequência dessa insatisfação. Para cada pergunta assinale:**

0-Nunca; 1-Quase nunca; 2-Ocasionalmente; 3-Bastante frequente; 4-Muito frequente; 5-Não sei

	0	1	2	3	4	5
Você teve problemas para pronunciar alguma palavra por problemas com seus dentes ou boca?						
Você sentiu que seu paladar piorou devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve sensação dolorosa em sua boca?						
Você achou desconfortável comer algum alimento devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você ficou preocupado com seus dentes ou boca?						
Você se sentiu tenso devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Sua dieta não foi satisfatória devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve que interromper as refeições devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você achou difícil relaxar devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você ficou um pouco envergonhado por problemas com seus dentes ou boca?						
Você tem se irritado um pouco com outras pessoas devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você teve dificuldade em fazer seus trabalhos habituais por problemas com seus dentes ou boca?						
Você sentiu que a vida em geral foi menos satisfatória devido a problemas com seus dentes ou boca?						
Você se sentiu incapacitado devido a problemas com seus dentes ou boca?						

2) Assinale na linha abaixo a sua intensidade de dor neste dia entre 0 e 10, sendo 0 nenhuma dor e 10 dor extremamente forte/intensa:



3) Quantos analgésicos (número de comprimidos) você utilizou neste dia? _____

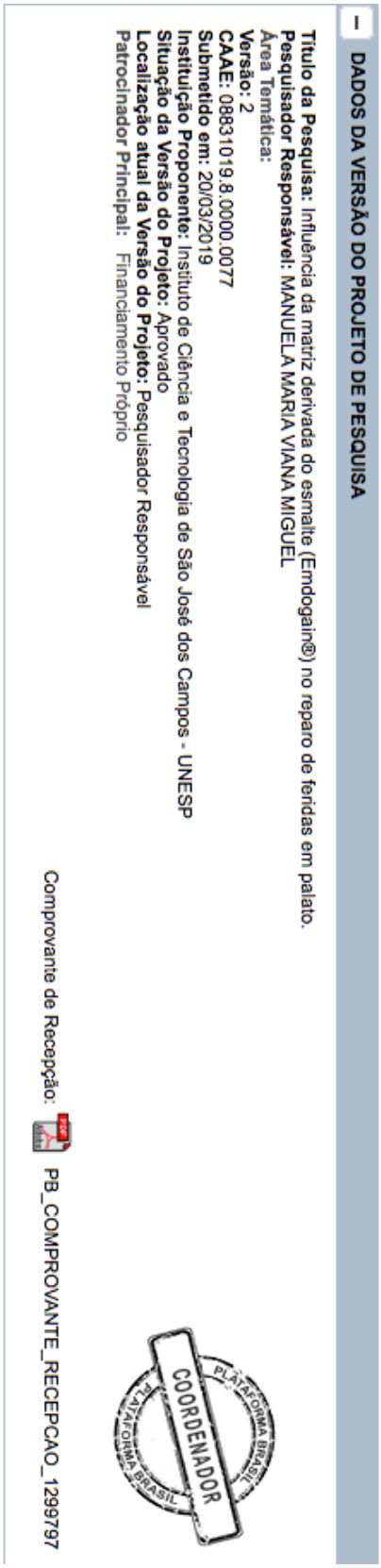
POR FAVOR, NÃO SE ESQUEÇA DE PREENCHER ESTE QUESTIONÁRIO DE NOVO AMANHÃ NO FIM DO DIA!

ANEXO D – Registro do estudo clínico “Influência da matriz derivada do esmalte (Emdogain®) no reparo de feridas em palato” na plataforma americana *clinicaltrials.gov*



Open	UEPJMF10	NCT03972267	Influence of Enamel Matrix Derivative (Emdogain®) on Palate Wound Healing.	Public	06/03/2019 08:49	Mauro Pedrine Santamaria mauro.santamaria@fosjc.unesp.br

ANEXO E – Comitê de Ética estudo clínico “Influência da matriz derivada do esmalte (Emdogain®) no reparo de feridas em palato”



DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência da matriz derivada do esmalte (Emdogain®) no reparo de feridas em palato.
Pesquisador Responsável: MANUELA MARIA VIANA MIGUEL
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 08831019.8.0000.0077
Submetido em: 20/03/2019
Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Comprovante de Recepção:

PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1299797

PLATAFORMA BRASIL
COORDENADOR

ANEXO F – Artigo publicado na revista Lasers in Medical Science

Lasers in Medical Science
https://doi.org/10.1007/s10103-019-02799-0

ORIGINAL ARTICLE

Photobiomodulation for the treatment of periodontal pockets in patients with type 2 diabetes: 1-year results of a randomized clinical trial

Nidia Castro dos Santos[1] · Naira M. R. B. Andere[1] · Manuela Maria Viana Miguel[1] · Lúcio Murilo dos Santos[1] · Milton Santamaria Jr[2] · Ingrid Fernandes Mathias[1] · Maria Aparecida Neves Jardini[1] · Mauro Pedrine Santamaria[1]

Received: 20 December 2018 / Accepted: 29 April 2019
© Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2019

Abstract

This study investigated the local effect of photobiomodulation (PBM) for the treatment of periodontal pockets in patients with periodontitis and type 2 diabetes. Thirty-eight periodontal pockets presenting probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL) ≥ 5 mm were selected from 19 patients (two pockets/patient). The selected periodontal pockets were randomly assigned to receive mechanical debridement only (control group) or mechanical debridement with PBM (PBM group). Clinical measures, such as PD, CAL, bleeding on probing (BoP), and presence of supragingival biofilm (PI), were collected and compared at baseline, 3, 6, and 12 months. After 12 months, no statistically difference was observed for mean PD and mean CAL when control and PBM groups were compared. The frequency of pockets with PD 5–6 mm was significantly lower for the PBM group at 6 months when compared to the control group. Pockets with PD ≥ 7 mm changed significantly between baseline and 3, 6, and 12 months for the PBM group, while for the control group, statistical significance was only observed between baseline and 6 months. The PBM protocol used in this study did not provide significant changes for PD and CAL in periodontal pockets when compared to mechanical therapy only. However, PBM was more effective in reducing the percentage of moderate periodontal pockets at 6 months in patients with type 2 DM.

Keywords Diabetes mellitus · Periodontitis · Photobiomodulation · Low-level laser therapy · Periodontal pockets

Introduction

Periodontitis is an inflammatory disease, initiated by dental biofilm, that leads to attachment loss, bone resorption, and, eventually, tooth loss [1]. The purpose of periodontal therapy is to remove supra- and subgingival dental biofilm to reduce periodontal inflammatory burden, thus re-establishing tissue homeostasis and stopping the progression of periodontal disease. The gold standard for the treatment of periodontitis is mechanical periodontal therapy, which can be performed by either traditional manual scaling and root planing or ultrasonic debridement [2]. Both the disease initiation or progression and treatment effectiveness of periodontitis can be negatively influenced by systemic, genetic, and behavioral modifiers. [3].

Evidence shows that diabetes mellitus (DM) increases the risk for the initiation and progression of periodontitis [4]. Patients with poor metabolic control frequently present impaired wound healing. The inflammatory mechanisms involved in this process greatly affect diseased periodontal tissues in patients with DM [5, 6]. Several studies show that the expression of local inflammatory factors in the crevicular fluid is increased in patients with poor metabolic control and periodontitis [7–9].

The outcomes of studies that investigated mechanical therapy for the treatment of periodontitis in patients with type 2 DM show that periodontal conditions improve when mechanical periodontal therapy is performed [10–13]. However, impaired wound healing, a significant phenomenon in patients

✉ Mauro Pedrine Santamaria
mauro.santamaria@unesp.br

[1] São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology, São José dos Campos, Department of Diagnosis and Surgery, Division of Periodontics, São José dos Campos, SP, Brazil

[2] University of Araras (Uniararas), Dental School, Department of Orthodontics, Araras, SP, Brazil

Published online: 15 May 2019