



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



José Rodolfo Spin

**Utilização de membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras
para enxerto gengival livre**

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



José Rodolfo Spin

**Utilização de membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras
para enxerto gengival livre**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Periodontia

Orientadora Prof^{fa} Dra^a. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

Araraquara

2022

S757u Spin, José Rodolfo

Utilização de membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre / José Rodolfo Spin.-- Araraquara, 2022

86 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

1. Cicatrização. 2. Látex. 3. Periodontia. I. Título.

José Rodolfo Spin

**Utilização de membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras
para enxerto gengival livre**

Comissão julgadora

Defesa para obtenção do grau de Doutor em Periodontia

Presidente e orientador Prof.^a. Dra. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

2º Examinador Prof.^a Dra. Elizabeth Pimentel Rosetti – UFES / Espírito Santo - ES

3º Examinador Prof.Dr. Enílson Antonio Sallum – Unicamp / Piracicaba - SP

4º Examinador Prof.Dr. Rafael Silveira Faeda – Uniara / Araraquara - SP

Araraquara, 01 de Abril de 2022.

DADOS CURRICULARES

José Rodolfo Spin

NASCIMENTO: 04/11/1991 – Bauru – São Paulo

FILIAÇÃO: Rubens Spin Filho

Sueli Francisca de Castro Spin

2011 / 2015 – Curso de Graduação em Odontologia

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2016 / 2018 – Curso de Pós-graduação em Odontologia – Área de concentração:
Periodontia

Nível: Mestrado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2019 / 2021 – Curso de especialização – Radiologia e Imagiologia Odontológica

Faculdade Herrero / Instituto Mondelli – Bauru / SP

2018 / Atual – Curso de Pós-graduação em Odontologia – Área de concentração:
Periodontia

Nível: Doutorado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico esta tese primeiramente à Deus, que sempre esteve presente em minha vida, me abençoando com paciência, força, fé e luz para continuar sempre em frente, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço à Ele pela minha família e pelas pessoas de bem que colocou em meu caminho sempre que precisei.

Aos meus pais, **Rubens** e **Sueli**, pela criação pautada no valor da honestidade, humildade e persistência. Os agradeço pelo enaltecer de cada conquista, mas principalmente pelas broncas quando precisei voltar com os pés ao chão. Também os agradeço pelo apoio, dedicação e amor que sempre me deram, me moldando na pessoa em que sou hoje, que conhece o valor do respeito. Todo o esforço que fizeram e fazem por mim será sempre lembrado e honrado, bem como meu amor, gratidão, carinho e admiração por vocês, que jamais se esgotará.

Ao meu irmão **Neto**. Em um mundo tão carente de bons exemplos, você foi desde muito cedo o meu espelho e minha maior referência. Você é a personificação de todos os valores passados por nossos pais. Exemplo de bondade, humildade e respeito. Agradeço à Deus por ter me presenteado com o melhor exemplo de família que poderia ter e, à Ele também agradeço todos os dias por ser seu irmão.

À **Lumena**, por não soltar a minha mão nos momentos mais difíceis e se fazer presente mesmo quando a distância nos separava. Você representa o amor, a força, a determinação e a reciprocidade em minha vida. Eu agradeço à Deus pelo encontro de nossos caminhos. Meu amor, carinho, respeito e admiração por você são sentimentos que serão presentes e expressados para sempre.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Prof^a. Dra^a Rosemary Adriana Chierici Marcantonio**. Obrigado pela dedicação, atenção, carinho e tempo depositado em mim. Obrigado por cada palavra de incentivo e por cada bronca. Meu respeito e admiração por você são os mesmos aos que relaciono à uma mãe e, tenho certeza de que todos os alunos que já passaram por sua orientação, sentem o mesmo. Minha total admiração, carinho e respeito por você serão sempre demonstrados.

Ao **Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano** por todo empenho, dedicação e ensinamentos a mim passados. Sua amizade e colaboração foram determinantes para a realização desta pesquisa. Muito obrigado!

Aos meus amigos, Camila Marcantonio, Felipe Pinotti, Fernanda Castanheira, Julio Sánchez, Javier Vivanco e, dentre tantos outros que provavelmente não me lembrarei de todos os nomes no momento, mas que sempre guardarei em meu coração pois foram essenciais não só para esse trabalho, mas para tornar minha vida em Araraquara a mais proveitosa possível. Obrigado pela amizade sincera, pelas horas dedicadas à mim e por me mostrarem que o trabalho em equipe nos fortalece e nos leva sempre mais longe. Vocês têm minha eterna gratidão e amizade.

Aos funcionários desta faculdade, principalmente à Isabela e Suleima, pela paciência, pelo auxílio em clínica e por sempre tratarem a universidade com respeito. Sem todos vocês, sem a manutenção de toda essa estrutura, este trabalho jamais iria se concretizar.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa, meu eterno respeito e agradecimento. Obrigado por se comprometerem com meu trabalho e confiarem em mim. Que cada uma das linhas aqui escritas reflitam a doação imensurável feita por vocês à Ciência. Serei eternamente grato a cada um de vocês.

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

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas.”
Carl Sagan*

*Sagan C. Cosmos. São Paulo: Companhia das Letras; 2017.

Spin JR. Utilização de membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

Resumo

O objetivo desse projeto, controlado, duplo cego e randomizados foi de avaliar o reparo de feridas no palato duro provenientes da remoção de enxerto gengival livre utilizando membranas de látex natural, com e sem incorporação de compostos (cetoprofeno e própolis). Este projeto foi dividido em dois artigos: Artigo 1: teve como objetivo avaliar o efeito da membrana de látex natural sobre a ferida de palato provenientes da captação de enxerto gengival livre e o artigo 2 teve como objetivo avaliar o efeito dessa membrana com a associação de compostos (Cetoprofeno e própolis) sobre o reparo de ferida em palato resultante da remoção de enxerto gengival livre. Para a realização dos dois estudos foram selecionados 24 pacientes (estudo 1) e 44 pacientes (estudo 2) que apresentavam indicação para realização de enxerto gengival livre. Os pacientes foram submetidos ao procedimento cirúrgico para remoção do enxerto gengival livre da área de palato duro. Após a remoção do enxerto os pacientes foram randomicamente alocados. No primeiro estudo, em dois grupos (Controle e Látex) e em três grupos no segundo estudo (controle, látex + Cetoprofeno e látex + própolis). Em ambos os trabalhos foram feitas tomadas fotográficas padronizadas das regiões das feridas nos períodos de baseline, 3, 7, 15 e 30 dias. Um examinador cego aos grupos experimentais e calibrado realizou as avaliações clínicas, levando-se em consideração os parâmetros: área da ferida; área de superfície epitelizada por meio da utilização de água oxigenada aplicada na região; sangramento (somente no primeiro trabalho); avaliação do autorrelato de dor por meio da aplicação de uma escala de VAS (Escala analógica visual) e avaliação de ficha sobre ingestão de medicamentos pós-operatórios (Somente no segundo trabalho). Os resultados obtidos mostraram que a utilização da membrana de látex, em ambos os estudos, não trouxe prejuízos à cicatrização quando comparadas aos grupos controles além diminuir a dor relatada pelos pacientes.

Palavras-chaves: Cicatrização. Látex. Periodontia.

Spin JR. Use of natural latex membrane on the repair of donor areas for free gingival graft [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

Abstract

The aim of these controlled, double-blind and randomized studies was to evaluate the repair of wounds on the hard palate resulting from the removal of free gingival graft using natural latex membranes, with and without incorporation of compounds (ketoprofen and propolis). Article 1: aimed to evaluate the effect of natural latex membrane on the palate wound from the capture of free gingival graft and article 2 aimed to evaluate the effect of this membrane with the combination of compounds on the palate wound repair resulting from free gingival graft removal. In the first paper presented, 24 patients were selected and in the second, 44 patients who had an indication for performing an epithelized free gingival graft. Patients underwent a surgical procedure to remove the free gingival graft from the hard palate area. After graft removal, patients were randomly allocated. In the first study, in two groups (Control and Latex) and in three groups in the second study (control, latex + Ketoprofen and latex + propolis). In both studies, standardized photographs were taken of the wound regions at baseline, 3, 7, 15 and 30 days. An examiner blinded to the experimental and calibrated groups performed the clinical evaluations, considering the parameters: wound area; epithelialized surface area through the use of hydrogen peroxide applied in the region; bleeding (only in the first study); assessment of self-reported pain through the application of a VAS scale (Visual Analog Scale) and assessment of a form on postoperative medication intake (Only in the second study). The results obtained showed that the use of latex membrane, in both studies, did not damage healing when compared to the control groups, in addition to reducing the pain reported by patients.

Keywords: Wound healing. Latex. Periodontics.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivo específico	18
3 ARTIGOS	19
3.1 Estudo 1	19
3.2 Estudo 2	26
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
5 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICE	62
ANEXOS	79

1 INTRODUÇÃO

A presença de tecido queratinizado, não é um fator essencial para a manutenção da saúde dos tecidos periodontais^{1,2}, porém, a presença de gengiva inserida é importante durante os procedimentos de higienização oral pelo paciente, pois promove conforto, o que facilita o controle do biofilme dental^{3,4}. A recessão gengival, definida pela exposição da superfície da raiz dental devido ao deslocamento apical da gengiva marginal para a junção cimento-esmalte⁵ é uma deformidade mucogengival que afeta diretamente a gengiva inserida, o que pode predispor localmente a instalação da doença periodontal, por prejudicar os procedimentos de higienização oral por parte do paciente e, conseqüentemente, permitir o acúmulo de biofilme nesses sítios (AAP, 1996). Essa condição está associada com perda de inserção clínica e exposição da superfície radicular ao meio oral, localizada e/ou generalizada, e, onde além do possível comprometimento estético, também pode levar a ocorrência de hipersensibilidade dentinária^{3,6} e cáries radiculares⁴.

Sendo assim, a correção cirúrgica dessa condição é necessária, uma vez que visamos o reestabelecimento da gengiva e conseqüentemente a prevenção do acúmulo de biofilme dental podendo assim, prevenir a ocorrência da doença periodontal^{7,8}. Mesmo com os avanços nas técnicas de correção gengival, a técnica do enxerto gengival livre continua sendo o procedimento de escolha mais confiável e mais indicado para essa finalidade⁹, pois apresenta resultados mais previsíveis e estáveis ao longo do tempo⁷, quando da busca pelo aumento da faixa de gengiva queratinizada e contenção da progressão da recessão gengival¹⁰.

Introduzida há mais de 40 anos^{11,12} essa técnica se tornou comum clinicamente por ser simples e fácil de ser executada¹³ e sua realização consiste em obter da região de palato duro um fragmento de tecido conjuntivo e epitélio mastigatório que é transplantado para o leito receptor. Contudo, a principal desvantagem dessa abordagem é a exposição da área doadora ao ser captado o enxerto no palato duro, que promove efeitos colaterais consideráveis, tais como a possibilidade de hemorragia, dor e desconforto ao paciente, seja no período trans quanto no pós-operatório¹ e morbidade da região doadora que irá cicatrizar por segunda intenção, entre 2 a 4 semanas

após a cirurgia¹⁴. A cicatrização por segunda intenção^{15,16}, é um processo relativamente demorado, o que, em conjunto com os eventos citados, pode limitar a aceitação dessa abordagem cirúrgica pelo paciente^{1,17}. Esse mecanismo, depende de processos complexos de restauração de estruturas celulares e camadas de tecidos, que envolvem principalmente migração epitelial, proliferação de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, além da revascularização, contração e remodelação da ferida¹⁸. Esses eventos podem ser separados em três grandes momentos. Primeiramente com uma fase inflamatória (1-3dias), em seguida uma fase proliferativa (3-7 dias) e, finalmente, uma fase remodeladora que pode durar meses¹⁹. Inicialmente há a formação de um coágulo na ferida, onde, após 24 horas, há um processo de migração epidérmica seguida da invasão de células inflamatórias no terceiro dia. Seguinte à proliferação e migração dos neutrófilos, há a liberação de fatores de crescimento, estimulando o aumento de células epidérmicas. Inicialmente, os neutrófilos são recrutados à região da ferida, onde em geral, possuem uma ação antimicrobiana efetiva, primariamente com a função de prevenir infecções²⁰.

Sequencialmente, há uma modulação do processo inflamatório ocorrendo a redução do edema, seguida do início da remodelação tecidual²¹, devido ao processo acentuado de angiogênese e epitelização, juntamente com síntese, ligação e alinhamento de colágeno, promovendo a contração da ferida, para em seguida haver regeneração, ou seja, a substituição de tecidos danificados com o mesmo tipo de célula e, fibrose, onde os tecidos danificados são substituídos por tecido conjuntivo²². Na maioria dos casos, complicações durante a fase de cicatrização podem ocorrer por uma contaminação bacteriana secundária ou ainda por uma vascularização insatisfatória²³, que depende não só das condições da ferida, mas também da condição geral do paciente e de doenças sistêmicas associadas²⁴.

De acordo com a literatura, o entendimento atual sobre cicatrização de feridas palatinas é direcionado aos estudos com diversos curativos periodontais, o que é natural que ocorra com o passar dos anos, dadas as desvantagens trazidas pela abordagem cirúrgica citadas anteriormente. Sendo assim, novas abordagens cirúrgicas e novos materiais, manufaturados e naturais, são desenvolvidos, visando não só a proteção, mas também a rápida

cicatrização da ferida e a redução da dor e do sangramento no palato²⁵. Os curativos periodontais foram inicialmente introduzidos pelo Dr. A.W Ward em 1923, que sugeriu o uso desses materiais após cirurgia periodontal. De forma geral, os curativos podem ser aplicados diretamente em contato com a ferida, e, embora haja na literatura, trabalhos que são contrários ao seu uso após o procedimento cirúrgico²⁶, em muitos casos o curativo periodontal é essencial, pois pode criar uma condição favorável para o processo de cicatrização, tanto em umidade quanto em temperatura, auxiliando não somente na proteção da ferida contra traumas e na estabilidade do sítio cirúrgico, mas também diminuindo as chances de infecção²⁷, permitindo que as migrações celulares possam ocorrer, e, sequencialmente, a epitelização. Podemos dividir os curativos em duas classes de acordo com sua função, sendo passivos e bioativos. Em síntese, curativos passivos atuam somente como uma barreira física, promovendo proteção à ferida. Enquanto o curativo bioativo, apresenta interação com a superfície da ferida, exercendo não só as funções do curativo passivo, mas também propiciando um microambiente que favoreça a liberação de moléculas bioativas que possam acelerar a cicatrização²⁸. Citado por Farnoush em 1978¹⁴, a associação de uma placa de Hawley modificada e um cimento cirúrgico a base de cianocrilato, serviu como base para o que é utilizado clinicamente até o presente momento. A área doadora proveniente do enxerto gengival livre é protegida preferencialmente utilizando-se uma placa com grampos de fixação nos dentes (Hawley modificada) com a associação de um cimento cirúrgico^{26,27}. Essa placa, atua como uma barreira, impedindo o acesso de alimentos ou líquidos até a ferida do palato, e para manter o cimento cirúrgico em posição¹⁴. Entretanto, para garantir que haja a total cicatrização da região, ela deve ser usada por pelo menos duas semanas, porém, este dispositivo acrílico provoca desconforto e prejudica a fala e a alimentação do paciente. Sendo assim, o desenvolvimento de novos curativos que possam acelerar o processo cicatricial do palato duro poderá trazer benefícios aos pacientes quanto à um pós-operatório mais curto e confortável²⁹. Além do cimento cirúrgico já citado²⁶, materiais como, fragmentos de tecido conjuntivo e epitélio³⁰, colágeno hemostático microfibrilar³¹, plasma rico em fibrina (PRF)³², plasma rico em plaquetas (PRP)³³ e a irradiação com laser de baixa potência^{18,34,35}, são alguns dos exemplos de alternativas desenvolvidas para

essa finalidade. Ademais, existem ainda outros curativos já citados na literatura que continuam sendo utilizados e aprimorados para auxiliar no reparo mais acelerado das feridas em palato como, filme de poliuretano autoadesivo (Opsite® e Aquacel®)³⁶⁻³⁸, colágeno (CollaCote®)³⁹, a proteína da seda associada ao álcool poli vinílico⁴⁰, malha de acetato de celulose (Adaptic Dressing®)³⁶, curativos à base de mel (Activon®)^{41,42} e materiais com látex como matéria prima, como a biomembrana de látex com polilisina à 0,1% (Biocure®)⁴³ e o gel para cicatrização de úlceras crônicas (Regederm®)²³.

O látex está incluído como um novo material proposto para ser utilizado como curativo, principalmente quando da sua aplicação em forma de membrana. Com início dos estudos para essa aplicação iniciados em 1994, na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – SP (Universidade de São Paulo), a membrana de látex já foi testada, tanto em estudos pré-clínicos quanto clínicos, e demonstrou possuir propriedades que aceleram a cicatrização de feridas^{2,29,44}. Além disso, é um material biocompatível⁴, de baixo custo e com alta resistência mecânica⁴⁵, que também demonstrou estimular o processo cicatricial associado ao reparo do pericárdio de cães⁴⁶, a indução do fechamento de defeitos iatrogênicos em parede abdominal de ratos⁴⁷, induzir o processo de angiogênese em córnea de coelhos⁴⁸, acelerar a formação óssea quando feita a associação de grânulos de látex com a cavidade alveolar de ratos⁴⁹, acelerar a formação de tecido nervoso⁵⁰ e a cicatrização de feridas²⁹. Quanto ao tratamento de feridas, se demonstrou eficaz em casos de pacientes com úlceras venosas crônicas^{51,52} além de úlceras em pele de pacientes com diabetes⁵³ e úlceras de pressão⁵⁴. Alguns estudos já enfatizaram que a capacidade do látex de acelerar a cicatrização de feridas, pode estar relacionado diretamente a sua atividade angiogênica, propriedade atribuída a um fator de crescimento^{43,53}, entretanto, o real mecanismo de ação do látex quanto ao seu papel na fase inflamatória e consequente ação angiogênica, ainda não é claro²⁹.

O uso de materiais como veículos de liberação de fármacos tem sido amplamente estudado com a intenção de se alcançar melhores efeitos terapêuticos e farmacológicos⁵⁵⁻⁵⁷.

O intuito de se usar sistemas de liberação de compostos, é para fornecer uma quantia correta de um fármaco à uma determinada parte do corpo em um intervalo de tempo predefinido⁴⁵. Nos últimos anos, a membrana de látex tem sido utilizada como um sistema de liberação local de compostos bioativos⁵⁸ e naturais (proteínas e lipídios) que auxiliam na cicatrização de feridas induzindo a neovascularização no sítio com injúria⁵⁹. Como já citado, estudos pré-clínicos e clínicos mostraram a capacidade da membrana de látex, quando usada como curativo, em promover angiogênese, e também auxiliar na formação de matriz extracelular e adesão celular, acelerando a cicatrização da ferida^{60,61}.

Unindo essas propriedades cicatrizantes da membrana de látex, com suas características físico-químicas favoráveis a liberação de fármacos^{34,62,63}, outros estudos avaliaram ainda a liberação de outros compostos como gentamicina⁶⁴, ocitocina⁶⁵, desmopressina⁶⁶, ciprofloxacina⁶⁷ e nanopartículas de prata⁶⁸ e ouro⁶⁹, onde os resultados promissores levaram a outros estudos que puderam manipular a matriz de látex, visando obter o controle da cinética de liberação do fármaco, ou seja, a dinâmica e a quantidade de medicamento liberado, apenas modificando a morfologia da superfície da membrana⁴⁵.

Além disso, corroborando com a literatura que mostra que a membrana possui características físico-químicas essenciais para um curativo biomédico, como superfície lisa, alta elasticidade e porosidade em nano escala⁷⁰, em 2014, Aielo e colaboradores mostraram que mesmo após a liberação prolongada de diclofenaco de sódio, o látex ainda se manteve sem quaisquer alterações físico-químicas ou estruturais. Floriano e colaboradores em 2018⁷¹ associaram membrana de látex com cetoprofeno e obtiveram como resultados, que além do medicamento ter sido totalmente incorporado à membrana sem alterar quimicamente sua estrutura, também houve a liberação de 60% do medicamento em um período de 50 horas. O cetoprofeno é amplamente utilizado como analgésico com grande potencial de atuação tanto para inflamação aguda quanto para tratamento a longo prazo de várias patologias inflamatórias⁷². Apesar de sua eficácia em vários tratamentos, os pacientes que fazem seu uso recorrente podem apresentar náusea ou desconfortos epigástricos⁷³. Porém, uma maneira de minimizar a chance dessas ocorrências é através do uso de uma membrana como sistema de liberação transdérmica de medicamentos⁷¹.

No mesmo ano, Zancanela e colaboradores⁷⁴, estudaram a associação dessa membrana com a incorporação de própolis, onde da mesma forma que o estudo anterior, foi observado que tanto a membrana quanto a própolis, mantiveram suas características mecânicas e químicas, sendo que após 24 horas, 22% da própolis foi liberado. Na farmacologia, a própolis tem sido amplamente usada devido sua ação cicatrizante, um dos seus usos mais populares⁷⁵. Além disso, uma ampla gama de atividades biológicas da própolis que podem estar relacionadas com a cicatrização de pele foram relatadas na literatura, como atividade antibacteriana, antifúngica, potencializador de proliferação celular cutânea, entre outros^{76,77}.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral desse estudo foi avaliar o efeito da aplicação de uma membrana de látex natural, sobre o reparo de feridas em palato duro resultantes da captação de enxerto gengival livre.

2.2 Objetivo Específico

Para responder o objetivo geral deste projeto foram propostos dois estudos:

Estudo 1: Efeito da membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras do palato para enxerto gengival livre: estudo clínico, controlado e randomizado

As hipóteses desse estudo são:

H0 - A membrana de látex não altera o processo de fechamento, epitelização e dor das feridas na região de palato após o procedimento de captação do enxerto gengival livre.

Ha - A membrana de látex altera o processo de fechamento, epitelização e dor das feridas na região de palato após o procedimento de captação do enxerto gengival livre.

Estudo 2: Efeito da membrana de látex natural associada à própolis e ao cetoprofeno sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre. Estudo clínico, controlado e randomizado.

As hipóteses deste estudo são:

H0 - A membrana de látex associada aos compostos não altera o processo de fechamento e epitelização das feridas e o autorrelato de dor dos pacientes após o procedimento de captação do enxerto gengival livre, quando comparadas ao não uso da membrana.

Ha - A membrana de látex associada aos compostos altera positivamente o processo de fechamento e epitelização das feridas e o autorrelato de dor dos pacientes após o procedimento de captação do enxerto gengival livre, quando comparadas ao não uso da membrana.

3 ARTIGOS

3.1 Estudo 1: DOI: 10.1016/j.mtcomm.2021.102390*

Materials Today Communications 27 (2021) 102390



Contents lists available at ScienceDirect

Materials Today Communications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mtcomm

Effect of natural latex membranes on wound repair of palate donor areas: A pilot randomized controlled trial study, including the membranes characterization

José Rodolfo Spin^{a,*}, Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira^b, Rubens Spin-Neto^c, Rondinelli Donizetti Herculano^d, Rosemary Adriana Chierici Marcantonio^a

^a School of Dentistry, São Paulo State University (Unesp), Department of Diagnosis and Surgery, Araraquara, Brazil

^b School of Dentistry, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia, Brazil

^c Department of Dentistry and Oral Health, Aarhus University, Aarhus Denmark

^d School of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University (Unesp), Department of Bioprocess and Biotechnology, Araraquara, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Latex membrane
Wound repair
Palate donor

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the use of an exclusively developed latex membrane, to act as physical barrier to aid wound healing, epithelization, and pain in the palate region after free gingival graft harvesting. Latex membranes were physically, chemically, and mechanically characterized before application. Twenty-four patients (age 30–70 years, mean 45 years), requiring free gingival graft were sequentially selected, and randomly divided in two groups according to type of protection utilized on the donor site, control group (14 patients)- The wound in palate was covered with acrylic plate and surgical cement only and test group (10 patients) - The wound in palate was covered with the experimental latex membrane. The palate region was evaluated on the surgery day and 3, 7, 15, and 30 days after the surgical procedure for wound healing area, epithelization, bleeding, and self-reported pain (VAS). Wound reduction between periods was calculated, as percentage. The membrane had smooth surface, high elasticity, and nanoscale porosity, as expected for biomedical application. At 15 days, control group patients presented a fully healed wound, while mean wound closure was 98.6 % in the latex group. At 30 days, both groups presented complete wound closure. Also, at 30 days, there was no significant epithelization difference between the groups, and all patients in both presented fully epithelized wounds. As for bleeding, at 7 days it was positive for 21.4 % of the patients in the control group, while it was already negative for all patients in the latex group. Regarding reported pain, VAS values were larger in the control group, although with no statistical significance. Latex membranes did not delay the healing of the palate or caused visible adverse effects (i.e. allergies, discomfort, or injury to the patient), when compared to the control group.

1. Introduction

Developmental and/or acquired mucogingival deformities are conditions that may locally predispose the onset of periodontal disease by impairing the patient's oral hygiene procedures, allowing biofilm accumulation (AAP, 1996). Although the presence of keratinized tissue is not an essential factor in maintaining periodontal tissue health [1,2] its presence promotes comfort during oral hygiene procedures performed by the patient [3,4]. Thus, surgical correction of these deformities is sometimes necessary to prevent dental biofilm formation

from occurring [4,5]. The free gingival graft technique is, among the proposed procedures for increasing the keratinized gingival band, the technique that presents the most predictable and stable results over time [4]. It is also the gold standard for the recovery or creation of the keratinized and inserted tissue band, not only around the teeth but also in implants [6]. The technique consists of obtaining an amount of connective tissue and masticatory epithelium from the hard palate region, which is transplanted to the recipient bed. However, relevant side effects due to free gingival graft uptake have been reported: bleeding, pain, and patient discomfort [3,7]. In addition, donor area repair is relatively slow

* Corresponding author at: Rua Humaitá 1680, CEP 14801-903, Araraquara, SP, Brazil.
E-mail address: jose.r.spin@unesp.br (J.R. Spin).

<https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102390>

Received 3 July 2020; Received in revised form 14 April 2021; Accepted 25 April 2021

Available online 30 April 2021

2352-4928/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

* Cf em Anexo C a autorização do Periódico para a reprodução do artigo em Repositório Institucional.

as this process occurs through secondary intention healing [7,8] and these factors together may limit the patient's acceptance of the surgical technique. Thus, the search for dressings that accelerate the healing process of the hard palate may benefit patients with a shorter and more comfortable postoperative period.

The use of latex-based biomaterials has been shown to accelerate wound healing properties in preclinical and clinical studies [9,10]. Natural latex is a product extracted from rubber trees (*Hevea brasiliensis*), where surgical gloves, condoms, and air balloons are made of this material. Latex is a mixing colloidal rubber particles stabilized by a thin layer of phospholipids and proteins, containing about 40–45 % weight of rubber (poly (*cis*-1,4-isoprene)), 4–5% weight of non-rubber constituents such as proteins, lipids, carbohydrates and sugar, and 50 % of water (Fig. 1). Allergic reactions after repeated contact with latex are commonly reported in the literature, but current latex-product production protocols remove most of the proteins associated with these adverse effects [11].

Natural latex membranes already demonstrated to be biocompatible [12]. Their use was suggested to enhance the pericardial repair in dogs [13], optimize abdominal wall closure in rats [14], induce corneal angiogenesis in rats [15], accelerate the healing of bones [10], nerves [16], and connective tissue [9]. However, natural latex membranes as physical barriers for wound and tissue regeneration in dentistry are not common. These membranes have not been routinely used in dentistry, although they are easy to apply, have favorable characteristics in the aid of wound healing, and can act as a protective agent for donor areas in free gingival graft [17], expecting to aid promoting patient comfort. Obviously, there are no studies focusing on the use of latex membranes on the human palate.

Thus, the aim of the present study was to evaluate the use of an exclusively developed latex membrane, to act as physical barrier to aid wound healing, epithelization, and pain in the palate region after free gingival graft harvesting. The hypothesis that latex membranes positively interfere with these parameters was tested.

2. Materials and methods

This study was approved by the university's ethics committee for human research (#1.215.131) and was given a clinical record number (U1111-1204-1637) (<http://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-3t83b5/>). The procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000.

2.1. Latex membrane production

A batch of latex membranes was developed exclusively to this study. The natural latex membrane was produced by mixing different latex clones (RRIM 600 and PB 235) extracted from rubber trees (*Hevea brasiliensis*) (BDF Trade of Agricultural Products LTDA, Guarantã, São Paulo, Brazil). After extraction, the latex was centrifuged along with

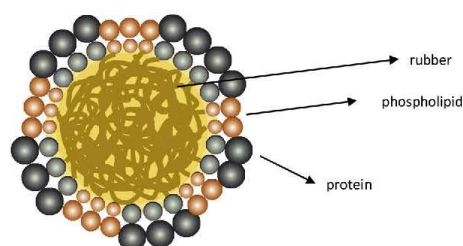


Fig. 1. Natural rubber latex particle (adapted from Floriano et al.) [18].

ammonia at 19,000 rpm to reduce the amount of proteins that can cause allergic reactions, separating those proteins which have a molecular weight of about 14 kDa [11]. The membranes were produced by simple deposition, in which 2 mL of latex was deposited on a stainless steel circular plate (50 mm in diameter). The membranes were polymerized at room temperature, under ultraviolet light, for 48 h, and finally sterilized with ethylene oxide gas exposure [10,19].

2.2. Latex membrane characterization

From the produced batch, some membranes were randomly selected to the characterization tests. The membranes were tested in the dry state, as they would normally be used in the clinic. All membrane-characterization experiments were performed in triplicate.

The surface morphology of the membranes, as well as the arrangement of the polymers were observed using a scanning electron microscope (SEM; Zeiss EVO 50, England) at an accelerating voltage of 2.00 kV and magnifications of $\times 300$. Samples were previously carbon sputter coated (20 nm thick) (SCD-050; BalTec, Vaduz, Lichtenstein). The pore size of the membranes was analyzed in a semi-automatized manner using dedicate image analysis software (ImageJ, ImageJ NIH, Bethesda, USA), and based on all pores visible in the image (e.g. hundreds). The average pore size measured in each image was selected to represent the sample. The average among the triplicate was selected to represent the material.

The Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR) was used to identify different types of chemical bonds present in the latex membranes, which were characterized using a TENSOR 27 (Bruker, Germany) source: HeNe laser; detector: DLaTGS, directly by Attenuated Total Reflection (ATR) method. The equipment was equipped with a diamond-coated crystal, and the test was performed with a resolution of 4 cm^{-1} and 32 scans, over a range of $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, at room temperature. Mechanical strength testing was applied in membranes ($44.8\text{ mm} \times 26.19\text{ mm} \times 0.84\text{ mm}$) by the mechanical testing machine (EMIC DL 2000) with 10 kgf load cell at 500 mm min^{-1} (according to ASTM D412) at 28°C (Murbach et al. 2014). For contact angles analysis, an OCA (Dataphysics) 25-HTV 1800 with video-based optical was used. 17 μL of deionized water was placed on the surface of the membrane. The measurement of the contact angle between the drop and the surface of the material was calculated with the use of the SCA20 software. The latex membranes were subjected to 10 measurements each [20]. The swelling kinetics of latex membranes were incubated in 50 mL of PBS (7.4 pH) at 37°C . The measurements were performed by the gravimetric method. After hydration for 0.5, 1, 1.5, 2 and 24 h, the membranes were removed, excess water was dried from the surface with filter paper and subsequently weighed. The degradation behavior was calculated for latex membranes during 15, 30, 60 and 120 days. Membranes were incubated in closed bottles containing 50 mL of PBS (pH 7.4) at 37°C . After the degradation period, the membranes were washed, dried in an oven at 50°C for 24 h, kept in a desiccator for 24 h and weighed. The degradation behavior percentages of the membranes were calculated using the dried mass obtained before and after degradation.

2.3. Patient selection

Twenty-four patients (age 30–70 years, mean 45 years), with indication to perform free gingival graft technique were selected at the Periodontology Clinic, School of Dentistry, São Paulo State University (Unesp), Department of Diagnosis and Surgery, Araraquara, Brazil (from June 2016 to June 2017).

As inclusion criteria, patients should have good oral hygiene and absence of onset periodontitis (plaque index $<20\%$, and bleeding on probing $<20\%$), and possibility of returning in the pre-established periods for examinations. All patients signed an informed consent form for their participation in the study. Active/former (at least 1 year) smokers, patients with systemic problems interfering with healing (i.e. diabetics,

immunodeficiencies, and blood dyscrasias), patients taking chronic drugs that influence the biological response of connective tissue (i.e. drugs indicated for arthritis, calcium blockers and anticonvulsants, anti-inflammatories, and antibiotics), carriers of bruxism, alcoholics, chemical dependents, pregnant and lactating women, and patients with history of radiotherapy in the head and neck region or chemotherapy were not included in the study sample.

2.4. Confection of acrylic plates

Two months before the surgical procedure, a basic periodontal treatment was performed, which included scaling procedures with hand instruments, oral hygiene instruction and brushing assessment. One week prior to the surgery, all patients were taken an impression, using alginate. The impressions were used to produce casts, from which modified acrylic protector plates (i.e. Hawley plate) [21] were produced. In the internal part of the plate, in the region of the first and second premolars and first molars, a space for the placement of surgical cement was created.

2.5. Group allocation

On the surgery day, patient randomization was performed drawing a lot, which served to allocate them into two groups (control and latex), according to the type of protection that was used to protect the hard palate wound following the removal of the free gingival graft removal. In the control group (CG) ($n = 14$, 11 women and 3 men, mean age 45.3 ± 12.2 years), the wound was covered with the acrylic plate associated with surgical cement. In the latex group (LG) ($n = 10$, 7 women and 3 men, mean age 45.7 ± 12.0 years), the wound was covered with the latex membrane, which had the acrylic plate associated with the surgical cement placed underneath it.

2.6. Graft removal and donor bed preparation

Immediately prior to the surgical procedure, antiseptics was performed in the operative field using mouthwash with 0.12 % chlorhexidine digluconate (Periogard, Colgate, São Paulo, SP, Brazil) for 1 min. Soon after, local anesthesia was performed with 3% Mepivacaine (NOVA DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) and Epinephrine 1: 200000 (NOVA DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). After preparation of the free gingival graft recipient bed, the palatal region between the first premolar and the first upper molar, 2 mm below the gingival margins, was demarcated using a paper template obtained according to the size of the graft that should be removed. With the template in position, a 15C scalpel blade (Solidor, LAMEDID, Barueri, SP, Brazil) was used to delimit the graft size. With a millimeter-demarcated probe (Williams, Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brazil), the thickness of the tissue to be removed was standardized at 2 mm. For the final graft uptake, the scalpel blade was carefully inserted into the anterior margin of the demarcated area on the hard palate and then slightly tilted so that the donor area graft detachment could begin, until the blade reached the posterior margin of the incision. Finally, the graft was removed and transferred into the site to be grafted.

Donor area bleeding was controlled by digital pressure associated with the use of sterile gauze soaked in saline. After bleeding control, the first (i.e. baseline) measurements and evaluations of the surgical bed area were performed, before the wound was finally protected with the acrylic plate or membrane and acrylic plate, according to the group. In the latex group, the membrane was fitted over the surgical wound, exceeded it by 2 mm in its entire length. For both groups, surgical cement was used directly over the acrylic plate (Pericem, Technew, Rio de Janeiro, RJ, Brazil).

2.7. Postoperative care

Immediately after the surgery, the patients were prescribed oral

intake of Nimesulide (100 mg) and Dipyrone (500 mg) for 3 days, together with Amoxicillin (500 mg), for 7 days. Additionally, 0.12 % chlorhexidine gluconate-based mouthwash (Periogard, Colgate, São Paulo, SP, Brazil) was prescribed for 14 days. Along with this protocol, care about food intake and the maintenance of acrylic plate were oriented to patients, as well as the possible consequences of not following such guidelines, which may cause exacerbated discomfort, greater pain sensitivity, and problematic healing.

The patients returned for postoperative control and further examinations 3, 7, 15 and 30 days after surgery. At these time points, standardized photographs, epithelization and bleeding, and self-reported pain evaluation were also conducted. At days 3 and 7, the acrylic plate was removed, and the wound washed with saline, before any evaluations took place. At these time points, for the patients in the latex group, the latex membrane was replaced by a new one. For both groups, the surgical cement was changed. At day 15, the acrylic plates were removed from all patients, regardless of group.

2.8. Wound healing area evaluation

A single, previously trained and calibrated examiner performed all examinations. Wound healing was measured from standardized digital photographs taken at baseline, 3, 7, 15, and 30 days postoperatively. These standardized photographs were taken using the Canon Rebel T5i camera with Canon Ef 100 mm f / 2.8 Macro Usm lens, and a Canon Macro Ring Light MR-14 EX II flash. When the photograph was taken, a millimeter-demarcated probe (Williams, Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brazil), was placed beside the wound, to serve as linear calibration standard when measuring the areas from the photographs.

The digital photographs were saved as uncompressed bitmap (BMP) files and imported into dedicated image analysis software (Image J NIH, Bethesda, USA). The photographs coded according to the patient, however the examiner was not aware of group distribution. The observer started by adjusting the linear scale of software, based on the millimeter-demarcated probe visible in the photograph. The observer then proceeded delineating (i.e. drawing) the wound healing area in the picture, which was measured in mm^2 . Before starting the evaluation of the photographs included in the study, examiner calibration was obtained by evaluating photographs of 10 patients not included in the study, in duplicate, with a 7-day interval between evaluations. The area measurements of the calibration round presented an intra-class correlation coefficient (>0.85), which assured adequate examiner calibration.

2.9. Epithelization evaluation

Also, at baseline, 3, 7, 15, and 30 days postoperatively, epithelialization evaluation was performed by gently tapping a gauze, soaked with 3% oxygen peroxide, to the wound area, allowing the observation of gas blisters in the wound area. When the contact of oxygen peroxide produced these gas blisters, it indicated the absence of epithelium in the region. Epithelization was therefore scored on a dichotomous scale (present/absent).

2.10. Bleeding evaluation

Donor area bleeding was evaluated by means of visual inspection, and controlled by digital pressure associated with the use of sterile gauze soaked in saline. Bleeding was therefore scored on a dichotomous scale (present/absent).

2.11. Self-reported pain (VAS)

Pain was assessed through self-reporting, not at baseline, but also at postoperative periods of 3, 7, 15, and 30 days. Self-reporting was performed with aid of a visual analog scale (VAS) [22]. The scale was

standardized with 10 cm, numbered 0–10, in which the value 0 indicates total absence of pain and the value 10 at the end of the scale, indicates severe pain. The scale was presented to the patients, and they answered the degree of pain in the different experimental periods, by crossing the scale in the value they thought to be representative of their pain.

2.12. Data treatment

Data from the wound healing area, epithelization, bleeding, and self-reported pain (VAS) was noted on dedicated software (GraphPad Prism 8, GraphPad, San Diego, CA, USA), which was also used for further statistical analysis. Self-reported pain data was converted to a percentage, measuring the distance from the start of the scale to the point marked by the patient (i.e. 0 was converted to 0% and 10 was converted to 100 %). Based on the wound healing area data, wound closure was calculated, as a percentage. This was performed considering how much was remaining of the original wound area in each period, subtracting the area found in that specific period from the initial area.

Wound healing area and wound closure data were assessed by the Shapiro-Wilk normality test. Data was found to be normally distributed. Unpaired *t*-test was applied to evaluate the differences between the groups in each evaluation period. Repeated-measures ANOVA followed by Tukey's post-test was applied to evaluate the differences among the periods, within each group. This was also the case for the self-reported pain. According to the case, adequate simultaneous-hypothesis-testing correction was included in the analysis (i.e. the Holm-Sidak correction was applied to the *t*-tests). Epithelization and bleeding were assessed by means of chi-square tests, to assess differences between the groups, in each period. McNemar's test was used to assess the differences among the periods, within each group. All tests were applied at a significance level of 5% ($p < 0.05$).

3. Results

3.1. Latex-membrane-related parameters

The membrane was smooth and continuous, without irregularities in its surface. In addition, regions of phase separation were not observed, as well as pores, although the natural latex had porosity in nanoscale [23]. The membranes presented a thickness of 0.512 ± 0.005 mm and average pore size smaller than 50 nm in diameter. Fig. 2(A) shows the images of the latex membrane surface with magnifications of $300 \times$.

Fig. 2(B) presents FT-IR spectrum of the natural rubber used in the latex membrane, in which the *cis*-1,4-polyisoprene absorption band of strong amplitude corresponding to $=CH$ out of plane bending is observed at 873 cm^{-1} ; the *trans* isomer has no absorption at this wavelength. A closer inspection of the infrared spectra reveals that it has absorbance bands at 1240 cm^{-1} , corresponding to $O-P-O$ asymmetric stretching of phospholipids indicating the presence of associated phospholipids at the rubber chain. The absorptions bands at 1374 cm^{-1} (CH_2

deformation), and 1495 cm^{-1} are characteristics of CH_2 deformation. The absorption band at 1658 cm^{-1} correspond to $C=C$ stretching in *cis*-1,4-polyisoprene. The CH_3 asymmetric stretching in FT-IR of latex membranes is observed at 3040 cm^{-1} .

The analysis of the mechanical properties showed that the developed latex membrane has high elasticity with large deformability, being a good choice for biomedical applications. Fig. 2(C) presents typical elastomer stress-strain curve, where the tensile strength to latex membrane was 1.02 MPa, whilst the deformation of biomaterial was 960 % and modulus of elasticity was 0.81 MPa.

As for the wettability, water drops in contact with the membrane surfaces produced contact angles varying from 83.1° to 90.5° with mean of 86.60° and with standard deviation of 2.44. The swelling assay showed that the developed membrane had a swelling percentage of 10.2 % (Fig. 3A). The degradation of the membrane (mass loss) was of 2.15 % after 120 days at 37°C (Fig. 3B).

3.2. Patient-related parameters

All 14 patients included in the control group were followed to the end of the study, uneventfully. From the 10 patients included in the latex group, 4 withdrew from treatment after the 7th day. There was an attempt to contact these patients by telephone, but they did not answer, so they did not return for further controls.

Fig. 4 shows a patient from the control group at the time of surgery, starting from baseline, as assessed for wound healing area evaluation (A). At the three-day postoperative period (B), no margins of exudate formation were observed. At seven days (C), the wound was still in the process of epithelialization. At 15 days (D) the wound already shows complete closure, but with a slightly swollen region. At 30 days post-operatively (E), the palate scar is practically nonexistent.

Fig. 5 presents a patient from the latex group, also starting from baseline (A). At the three-day postoperative period (B), there is an exudate region, extending within the wound margins. This exudate is no longer visible at the seven days postoperative control (C), when a white area is visible, limited to the center of the wound. This confirms that the wound did not close completely at that time, as confirmed by the application of hydrogen peroxide in the site and consequent formation of blisters. At 15 days postoperative (D), the wound was fully healed, and a well-defined scar was visible on the palate, with an overall aspect suggesting a more advanced healing stage than in the control group. In the last observation period (E), the scar is difficult to visualize, and the palate tissue is back to normal.

Table 1 presents the data of all assessed parameters (wound healing area, epithelization, bleeding, self-reported pain, and wound closure). The standard-deviation values found in this pilot study interfere with the sample power (approximately 50 %, considering a non-inferiority trial in which the groups were actively compared after 7 days). As for wound healing area and wound closure, repeated-measures ANOVA followed by Tukey's post-test showed significant healing improvement from

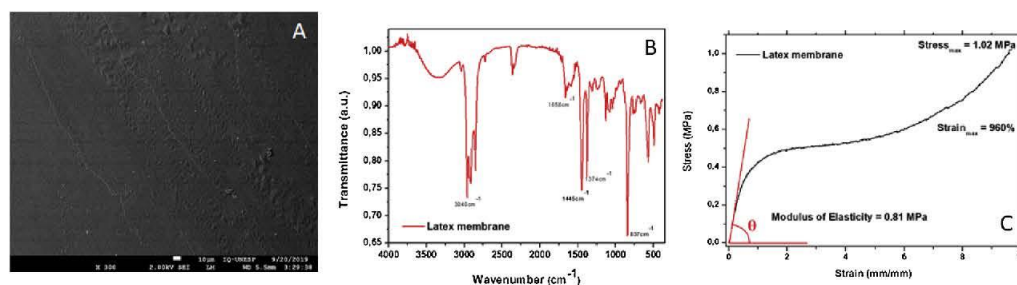


Fig. 2. Membrane characterization -SEM images of latex membrane with magnifications of 300 times and scale bars of $10\text{ }\mu\text{m}$ (A), FT IR spectrum of latex membrane (B) and Stress-strain curve of latex membrane (C).

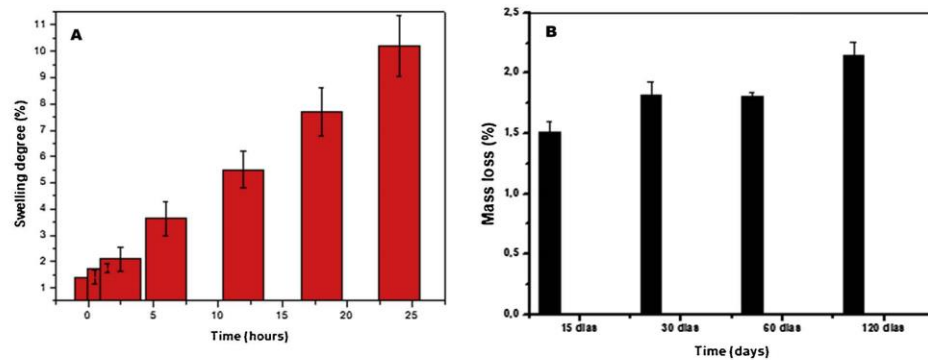


Fig. 3. Swelling (A) and degradation (B) profiles of the developed natural latex membranes.

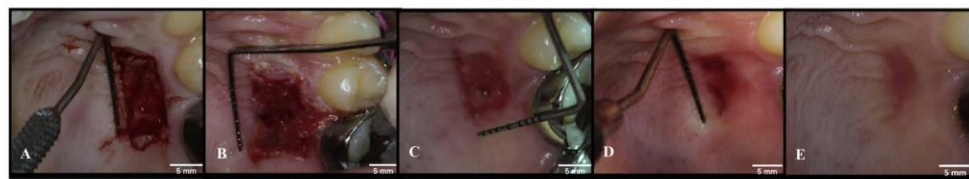


Fig. 4. Patient from the control Group, at baseline (A), and at 3 (B), 7 (C), 15 (D), and 30 (E) days post-surgery.



Fig. 5. Patient from the latex Group, at baseline (A), and at 3 (B), 7 (C), 15 (D), and 30 (E) days post-surgery.

Table 1

Mean (and standard deviation) of wound healing area (mm^2), epithelization (% of positive), bleeding (% of positive), self-reported pain (%), and wound closure (%), according to group and period. Unpaired t-tests (wound healing area, self-reported pain, and wound closure), and chi-square tests (epithelization and bleeding), were applied to evaluate the differences between the groups, in each evaluation period. However, this difference was never statistically significant (NS).

Parameter	Group	Baseline	3 days	7 days	15 days	30 days	P
Wound healing area	Control	77.60 $\pm$ 24.28	59.05 $\pm$ 17.75	31.26 $\pm$ 18.69	0	0	NS
	Latex	77.49 $\pm$ 16.37	61.64 $\pm$ 17.76	33.68 $\pm$ 18.12	1.25 $\pm$ 3.96	0	
Epithelization	Control	–	0	21.4	100	100	NS
	Latex	–	0	0	80	100	
Bleeding	Control	–	57.1	21.4	0	0	NS
	Latex	–	40	0	0	0	
Self-reported pain	Control	–	11.57 $\pm$ 18.9	7.36 $\pm$ 12.94	2.14 $\pm$ 2.71	0	NS
	Latex	–	6.7 $\pm$ 9.07	2.2 $\pm$ 2.04	1.70 $\pm$ 3.71	0	
Wound closure	Control	–	27.9 $\pm$ 34.5	59.9 $\pm$ 30.2	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0	NS
	Latex	–	23.1 $\pm$ 14.9	58.9 $\pm$ 25.7	98.6 $\pm$ 3.9	100 $\pm$ 0.0	

baseline to 3 days ($p < 0.05$), from 3 days to 7 days ($p < 0.001$), and from 7 to 15 days ($p < 0.001$), for both groups. Also, for both groups, no differences were noticed from 15 to 30 days postoperatively, due to full closure of the wounds. Reported pain was rather low, on average, in all assessed periods, and associated to large standard deviations. Repeated-measures ANOVA followed by Tukey's post-test showed that, for both groups, self-reported pain was almost inexistent and significantly lower

at 15 days ($p < 0.05$, compared to 3 days). McNemar's test showed that epithelization, for both groups, was reached and advanced stage at 15 days ($p < 0.05$, compared to 3 days). As for bleeding, McNemar's test showed that already at 7 days patients from both groups presented positive control of wound bleeding ($p < 0.05$, compared to 3 days).

4. Discussion

The present study is a pilot randomized controlled trial study, which evaluated the use of natural latex membranes over wound healing, epithelialization, and pain in the palate region after free gingival harvest.

The latex membranes were developed exclusively to the study. The physical, chemical, and mechanical characteristics of the developed membrane showed interesting properties. The previous literature on the topic suggests that different temperatures during latex processing (latex liquid form) creates diversity degrees of porosity in the latex membrane, as well as diverse surface patterns (i.e. irregularities). [23,24] In the present study, the developed membrane was found to be smooth and continuous, without any irregularities, and with porosity in the nano-scale, with would be ideal for using the membrane as a sustained drug delivery system [19]. In according to Borges et al. [24] latex membranes with and without pores showed osteoblasts can adhere in latex membranes submitted to different thermal treatments, presenting adhesion structures, such as lamellipodia, proving to be suitable for guided regeneration. Barros et al. [25] related latex membranes produced by the casting method, at room temperature (25 °C), have lower pore density surface, as suggested by the present findings. FT-IR spectrum of the developed membrane pointed at the presence of *cis*-1,4-polyisoprene, that is the main component of latex [24,26], beyond the aldehyde group responsible for cross-linking between the latex chains [27], as well as, lipids, neutral glycolipids and phospholipids [28], demonstrating that the composition of biomaterial was preserved. The modulus of elasticity observed for the latex membrane was 0.81 MPa, in accordance with those observed to Barros et al. [25] and Garms et al. [29]. The modulus of elasticity (or modulus of Young) is the slope of the stress-strain curve in the range of linear proportionality of stress to strain (0–10 % to deformation), where $y = 0,8219x - 0,0015$ and $R^2 = 0,9973$.

In addition, the value of modulus of elasticity of the developed membrane is close to human epithelial tissue, which ranges from 0.01 to 50MPa [30,31], when assessed under the same conditions tested in the present study. The results of the present mechanical resistance test suggest the latex membrane can be utilized for biological applications, and it presents a morphological structure suitable to act as a cellular scaffold. On the contact angles analysis the present results are in accordance to Morise et al. [32], that have found wettability of latex membranes to be above 66.2°. Besides, Barros et al. [33] observed that water drops in contact with the latex membrane surfaces produced contact angles of 75.13°. These results point at an intermediate wettability ($45^\circ < \alpha < 90^\circ$) of the latex membranes. As for the swelling, Cesar et al. [28] observed the low absorption capacity of water by the latex membrane (12 % in 24 h). Barros et al. [34] observed that the membrane absorbed over 1.08 g of water per grams of membrane in 18 h. Saijun et al. [35] showed similar results in relation to swelling percentage of latex membrane. The low absorptive of membrane is due to proteins and phospholipids from the rubber tree in its composition. On our degradation (mass loss) assay, the value found was low and it is in according to the literature. Saijun et al. [35] evaluated the mass loss of the natural rubber latex and obtained values of about 1% during 90 days of immersion in water. Also, Cesar et al. [28] observed degradation of 0.6 % in 120 days. In other words, the mass loss measurements suggest the degradation of the membrane as not relevant, over 120 days.

Although some authors have already used latex membranes in the clinic, its action on the palate, specifically in situations of free gingival graft, have not yet been reported. Silva & Meniscalco [17] used latex membranes to aid wound healing from palatoplasty in dogs, with a palate defect being very similar to the one found in humans palate after free gingival graft harvest. Following the promising results found by those authors, the interest for using the latex membrane in a clinical situation, as proposed in the present this study, is valid. This material has proved to have biocompatibility [13,36] and that it can act as a physical barrier against mechanical damages to wound sites [30], being able to maintain the wound healing process without any harmful effect,

as proven by the presented results.

Some studies have tested biomaterials as collagen (CollaCote®) [37], transparent polyurethane film with self-adhesive (Opsite® e Aquacel®) [38–40], topical application of simvastatin/chitosan gel [41], among others, in order to accelerate the process of epithelialization of gingival graft donor area wounds and consequently reduce morbidity of this site and bring more comfort to the patient in the postoperative period. The main advantage of the latex membrane when compared to the products mentioned, is its low cost, making it a more accessible biomaterial. In addition, it has a low potential for transmitting infectious diseases, since it is a material of plant origin [15]. However, there are no studies that benchmark natural latex membranes with other products with the same purpose. Therefore, studies highlighting the plausibility of latex membranes in the clinic, assisting in wound healing, along with the other studies background studies presented, were important precursors to our interest in a new application of the latex membrane.

The results obtained in the present study regarding wound epithelialization showed no statistical differences between the groups treated with or without the suggested latex membrane. Within 3 days a whitish halo can be observed at the edges of the latex group wounds, which characterizes a common process in wound closure, where there is an epithelial proliferation in the injury region [42]. However, although in the present study this parameter was not tested, these findings may be related to the angiogenic capacity of latex. Mendonça et al. [43], evaluated the vascular permeability and angiogenic activity of latex membranes. The results showed an increase in the number of vessels and vascular permeability during the healing process. The authors credit these results to the polypeptide structure of the material.

In the present study, after 30 days, there were no significant differences between the control group and latex in the epithelialization process. These results agree with those of Frade et al. [44], who evaluated the healing of chronic ulcers after 30 days with latex membrane compared to chlorofenical-associated fibrin ointment and found no differences between groups. Silva & Maniscalco [17] evaluated the palate healing of dogs, where the results showed that the wounds covered with the latex membrane presented faster closing compared to the group without material. The authors suggested that these results may be related to the biocompatibility of the material, as it has a chemical structure consisting mainly of carbon and hydrogen. Studies with this material have demonstrated its biocompatibility, even in rat alveoli, as well as its angiogenic capacity, which can accelerate the healing process in both human and animal models [45].

Latex membranes have shown good results in terms of wound healing optimization: dog palate, rabbit ears, latex membrane replacement of dog pericardium, reconstruction of iatrogenic defects in the abdominal wall of rats, skin of diabetic patients, tympanoplasty, and healing of chronic venous ulcers [44]. Although the results on wound epithelialization of the latex group were not superior to the control group, the patient's pain self-report showed a significant decrease, just like on the bleeding parameter. One hypothesis for this result may be related to the antimicrobial and antifungal activity of some specific proteins present in the used latex, such as hevein, leading to a decrease in the inflammatory process [46,47], which could reduce pain sensation. This allows the researchers to speculate that a possible advantage of the latex membranes used in the clinic may not necessarily be a faster recovery, but specially a less painful recovery.

Within the limitations of this study, it is fair to speculate that the reduced sample size interfered with the statistical power of the performed statistical tests. However, the reported standard deviation provides relevant information for adequate sample size calculation in future studies. Roughly, approximately 40 patients in each group would be necessary to highlight significant differences between the two tested approaches (with and without a membrane). Also, a split-mouth design could be speculated on. However, this clinical experimental setup could then hide the results related to pain. Another drawback was the withdrawal of some patients, who did not return in the required

postoperative periods, and consequently decreased sample size. In this way, we preferred to define this as a pilot study. Bearing this information in mind, the current sample size is not enough to provide a broader view of latex action, as well as to assess its full statistical and clinical significance. Thus, it is necessary to carry out further studies with this material, not only with a larger number of individuals, but also, including the incorporation of drugs or other substances, such as growth factors, to the membranes. Another limiting factor for the total accuracy of how effective latex can be in relation to pain sensation is that pain measurement is often subjective, with a different threshold between each patient, which may present a large variance and usually leads to large standard deviations.

Even though the present results did not show superior palate healing following the use of latex membranes, we believe they are relevant considering the possibility of further studies with the same material (e.g. evaluate the incorporation of drugs to the membranes - antibiotics, pain killers, anti-inflammatories, and growth factors). One can speculate on the possibility based on the fact that the latex membranes allow porosity control during its manufacturing process, adjusting its macro-, micro-, and nano-structure to promote drug release [11]. Furthermore, this feature is important in the integration between living tissue and implanted material [48]. These would be especially interesting when the focus is set to such a challenging area, the oral cavity.

5. Conclusion

The use of latex membranes did not lead to any beneficial effects following free gingival harvesting. On the other hand, tested membranes did not delay palate healing and showed biocompatibility, not initiating any allergic or uncomfortable sensation to the patient. Although without statistical significance, self-reported pain and bleeding was lower for patients treated with a latex membrane.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the financial support from the Brazilian agencies CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) and FAPESP (Fundação de Amparo a pesquisa do Estado de São Paulo – Grants: 16/00275-8 and 2017/19603-8)

References

- [1] H.S. Dorfman, J.E. Kennedy, W.C. Bird, *J. Periodontol.* 53 (1982) 349–352.
- [2] J.L. Wennström, *J. Clin. Periodontol.* 14 (1987) 181–184.
- [3] P.M. Camargo, P.R. McNick, E.B. Kenney, *Periodontol.* 2000 27 (2001) 72–96.
- [4] G. Agudio, M. Neri, R. Rotundo, P. Cortellini, G. Pini Prato, *J. Periodontol.* 79 (2008) 587–594.
- [5] H. Hatipoglu, N. Yamalik, A. Berberoglu, K. Eratlay, *J. Periodontol.* 78 (2007) 705–715.
- [6] S.-L. Oh, R.M. Mastri, D.A. Williams, C. Ji, E. Romberg, *J. Clin. Periodontol.* 44 (2017) 195–203.
- [7] L.-A. Aguirre-Zorzano, A.M. García-De La Fuente, R. Estefanía-Fresco, X. Marichalar-Menda, *J. Clin. Exp. Dent.* 9 (2017) e1439–e1445.
- [8] P.V. Patel, S. Kumar, G.D. Vidya, A. Patel, J.C. Holmes, V. Kumar, *Acta Cytol.* 56 (2012) 277–284.
- [9] T.A. Andrade, A. Iyer, P.K. Das, N.T. Foss, S.B. Garcia, *J. Coutinho-Netto, A. A. Jordao-Jr, M.A. Frade, Braz. J. Med. Biol. Res.* 44 (2011) 1036–1047.
- [10] C. Ereno, S.A.C. Guimarães, S. Pasetto, R.D. Herculano, C.P. Silva, C.F.O. Graeff, O. Tavano, O. Baffa, A. Kinoshita, *J. Biomed. Mater. Res. A* 95A (2010) 932–939.
- [11] M.C.R. Miranda, F.G. Prezotti, F.A. Borges, N.R. Barros, B.S.F. Cury, R. D. Herculano, E.M. Cilli, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 28 (2017) 2117–2130.
- [12] R.J. Mendonça, V.B. Maurício, L. de Bortoli Teixeira, J.J. Lachat, J. Coutinho-Netto, *Phytother. Res.* 24 (2010) 764–768.
- [13] S.L. Sader, J. Coutinho Netto, J. Barbieri Neto, S.A. Mazzetto, P. Alves Jr., J. C. Vanni, A.A. Sader, *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* 15 (2000) 338–344.
- [14] N.M. Paulo, F.Gd. Lima, J.Td. Siqueira Júnior, L.F.F. Henry, F.J.Fd.Sant' Ana, A. C. Borges, Td.C. Telles, *Acta Cir. Bras.* 20 (2005) 305–310.
- [15] E.C.C.Md. Pinho, S.Jd.Fe. Sousa, F. Schaud, J.-J. Lachat, J. Coutinho-Netto, *Arq. Bras. Oftalmol.* 67 (2004) 27–32.
- [16] M.V.M. Ganga, J. Coutinho-Netto, B.O. Colli, W. Marques Junior, C.H.R. Catalão, R.T. Santana, M.R.P. Oltramari, K.T. Carraro, J.-J. Lachat, Ld.S. Lopes, *Acta Cir. Bras.* 27 (2012) 885–891.
- [17] E. Silva, C. Maniscalco, *Semin. Ciênc. Agrár.* 34 (2013) 785–792.
- [18] J.F. Rocio, N.R. de Barros, J.L.F. Gman, R.G. da Silva, A.V. Loffredo, F. A. Borges, A.M.Q. Norberto, A.L.D. Chagas, B.C. Garms, C.F. de Oliveira Graeff, R. D. Herculano, *J. Polym. Environ.* 26 (2018) 2281–2289.
- [19] R.D. Herculano, C.P. Silva, C. Ereno, S.A.C. Guimarães, A. Kinoshita, C.Fd. O. Graeff, *Mater. Res.* 12 (2009) 253–256.
- [20] B.T. Morise, A.L. Mutch, B.C. Garms, R.D. Herculano, L. Grondahl, *J. Appl. Polym. Sci.* 138 (2021) 50117.
- [21] A. Ertas, Ş. Ertas, M. Usta, M. Ertöz, *J. Periodontol. Implant. Dent.* 6 (2014) 47–53.
- [22] D.A. Ertin, T. Hitz, C. Ramel, M.L. Meier, M. Roos, L.M. Gall, P. Svensson, C. H. Hammerle, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 42 (2013) 401–405.
- [23] R.D. Herculano, S.A.C. Guimarães, G.C. Belmonte, M.A.H. Duarte, O. Nd. Oliveira Júnior, A. Kinoshita, C.Fd.O. Graeff, *Mater. Res.* 13 (2010) 57–61.
- [24] F.A. Borges, N.R. de Barros, B.C. Garms, M.C.R. Miranda, J.L.P. Gemeinder, J. T. Ribeiro-Paes, R.F. Silva, K.A. de Toledo, R.D. Herculano, *J. Appl. Polym. Sci.* 134 (2017) 45321.
- [25] N.R. de Barros, R.S. dos Santos, M.C.R. Miranda, L.F.C. Bolognesi, F.A. Borges, J. V. Schiavon, R.F.C. Marques, R.D. Herculano, A.M.Q. Norberto, *Ski Res. Technol.* 25 (2019) 461–468.
- [26] A.C. Dall'Antonia, M.A. Martins, R.M.B. Moreno, L.H.C. Mattoso, P.S. Gonçalves, A.E. Job, *Polymeros* 19 (2009) 63–71.
- [27] R.D. Herculano, L.C. Tzu, C.P. Silva, C.A. Brunello, Á.A. Queiroz, A. Kinoshita, C.Fd.O. Graeff, *Mater. Res.* 14 (2011) 355–359.
- [28] M.B. Cesar, F.A. Borges, A.P. Bilck, F. Yamashita, C.G. Paulino, R.D. Herculano, *J. Polym. Environ.* 28 (2020) 220–230.
- [29] B.C. Garms, F.A. Borges, N.R. de Barros, M.Y. Marcelino, M.N. Leite, M.C. Del Arco, S.L. de Souza Salvador, G.S.A. Pegorin, K.S.M. Oliveira, M.A.C. Frade, R. D. Herculano, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103 (2019) 4767–4778.
- [30] D.C. Zancandá, C.S. Punari, R.D. Herculano, V.M. Melo, C.M. Rodrigues, F. A. Borges, N.R. de Barros, C.M. Marcos, A.M.F. Almeida, A.C. Guastaldi, *Mater. Sci. Eng. C* 97 (2019) 576–582.
- [31] X. Zhao, X. Sun, L. Yildirim, Q. Lang, Z.Y. Lin, R. Zheng, Y. Zhang, W. Cui, N. Annabi, A. Khademhosseini, *Acta Biomater.* 49 (2017) 66–77.
- [32] B.T. Morise, A.L.D. Chagas, N.R. Barros, M.C.R. Miranda, F.A. Borges, J.L. P. Gemeinder, R.G. Silva, C.G. Paulino, R.D. Herculano, A.M.Q. Norberto, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 68 (2019) 788–795.
- [33] N.R. Barros, S. Ahadian, P. Tebon, M.V.C. Rudge, A.M.P. Barbosa, R.D. Herculano, *Mater. Sci. Eng. C* 119 (2021), 111589.
- [34] N.R. de Barros, M.C.R. Miranda, F.A. Borges, R.J. de Mendonça, E.M. Cilli, R. D. Herculano, *Int. J. Pept. Res. Ther.* 22 (2016) 435–444.
- [35] S. Diew, K. Azizon, P. Kimpitaksa, Songklanakarin J. Sci. Technol. 31 (2009).
- [36] F. Mue, J.C. Netto, R. Ceneviva, J.J. Lachat, J.A. Thomazini, H. Tambeini, *Mater. Res.* 7 (2004) 277–283.
- [37] M. Shanmugam, T.S. Kumar, K.V. Arun, R. Arun, S.J. Karthik, *J. Indian Soc. Periodontol.* 14 (2010) 241–244.
- [38] Y. Demirtas, C. Yagmur, F. Soylemez, N. Ozturk, A. Demir, *Burns* 36 (2010) 999–1005.
- [39] S. Hatle, A. Korhonen, J.A. Kettunen, S. Seitsalo, *J. Orthop. Nurs.* 9 (2005) 205–210.
- [40] D. Kaiser, J. Hafner, D. Mayer, L.E. French, S. Lauchli, *Adv. Skin Wound Care* 26 (2013) 67–73.
- [41] M. Madi, A. Kassem, *Acta Odontol. Scand.* 76 (2018) 212–219.
- [42] G. Leoni, P.A. Neumann, R. Sumagin, T.L. Denning, A. Nusrat, *Mucosal Immunol.* 8 (2015) 959–968.
- [43] R.J. Mendonça, V.B. Maurício, B. Teixeira Lde, J.J. Lachat, J. Coutinho-Netto, *Phytother. Res.* 24 (2010) 764–768.
- [44] M.A.C. Frade, R.V.Gd. Assis, J. Coutinho Netto, T.A.Md. Andrade, N.T. Foss, *An. Bras. Dermatol.* 87 (2012) 45–51.
- [45] C.A. Balabanian, J. Coutinho-Netto, T.L. Lamas-Carvalho, S.A. Lacerda, L. G. Brentegani, *J. Oral Sci.* 48 (2006) 201–205.
- [46] K. Kanokwiroon, R. Teanpaisan, D. Wititsuwannakul, A.B. Hooper, R. Wititsuwannakul, *Mycoses* 51 (2008) 301–307.
- [47] J. Van Parijs, W.F. Broekaert, L.J. Goldstein, W.J. Peumans, *Planta* 183 (1991) 258–264.
- [48] E.G. Machado, J.P. Issa, F.A. Figueiredo, G.R. Santos, E.A. Galdeano, M.C. Alves, E. L. Chacon, R.S. Ferreira Junior, B. Barraviera, M.R. Cunha, *Acta Histochem.* 117 (2015) 288–296.

3.2 Estudo 2**

Spin JR. Utilização de membrana de látex natural associada à própolis e ao Cetoprofeno sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre

Resumo

O objetivo desse estudo clínico, controlado e randomizado foi avaliar o reparo de feridas no palato duro provenientes da remoção de enxerto gengival livre utilizando membranas de látex natural, com a incorporação de compostos (cetoprofeno e própolis). Foram selecionados 44 pacientes que apresentavam indicação para realização de enxerto gengival livre epitelizado. Os pacientes foram submetidos ao procedimento cirúrgico para remoção do enxerto gengival livre da área de palato duro. Após a remoção do enxerto os pacientes foram randomicamente alocados em um dos três grupos de acordo com o tratamento a ser utilizado para proteger a região doadora do enxerto: Grupo controle (GC): A ferida é recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico; Grupo Látex + Cetoprofeno (LC): a ferida é recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex com incorporação de cetoprofeno e Grupo Látex + Própolis (LP): a ferida é recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex com incorporação de própolis. Foram feitas tomadas fotográficas padronizadas das regiões das feridas nos períodos de baseline, 3, 7, 15 e 30 dias. Um examinador cego aos grupos experimentais e calibrado realizou as avaliações clínicas, levando-se em consideração os parâmetros: 1) área da ferida; 2) área de superfície epitelizada por meio da utilização de água oxigenada aplicada na região; 3) avaliação do autorrelato de dor por meio da aplicação de uma escala de VAS (Escala analógica visual). Os resultados obtidos mostraram que para os três grupos houve diferença significativa da dor reportada nos períodos de 3 para 15 dias e de 7 para 15 dias. Dentre os grupos, o grupo com associação de Cetoprofeno teve maior redução média da área da ferida de 3 para 7 dias e de 7 para 15 dias.

O uso da membrana de látex com a associação de compostos não promoveu qualquer injúria ao palato dos pacientes, sem interferir no processo cicatricial, onde o grupo associado ao Cetoprofeno apresentou uma cicatrização mais rápida e com menor relato de dor.

Palavras-chaves: Cicatrização. periodontia. Látex

* Trabalho formatado segundo as normas da revista *Biomaterials Advances* para a qual pretende-se submeter.

Spin JR. Use of natural latex membrane associated with propolis and ketoprofen on the repair of donor areas for free gingival graft.

Abstract

The aim of this controlled, clinical and randomized study was to evaluate the repair of wounds on the hard palate resulting from the removal of a free gingival graft using natural latex membranes, with the incorporation of compounds (ketoprofen and propolis). We selected 44 patients who had an indication for performing an epithelialized free gingival graft. Patients underwent a surgical procedure to remove the free gingival graft from the hard palate area. After graft removal, patients were randomly allocated to one of three groups according to the treatment to be used to protect the graft donor region: Control group (GC): The wound is covered with an acrylic plate associated with surgical cement; Latex + Ketoprofen Group (LC): the wound is covered with an acrylic plate associated with a latex membrane with ketoprofen incorporation and Latex + propolis Group (LP): the wound is covered with an acrylic plate associated with a latex membrane with propolis incorporation. Standardized photographs of the wound regions were taken at baseline, 3, 7, 15 and 30 days. An examiner blinded to the experimental and calibrated groups performed the clinical evaluations, taking into account the parameters: 1) wound area; 2) epithelialized surface area through the use of hydrogen peroxide applied to the region; 3) assessment of self-reported pain through the application of a VAS scale (Visual Analog Scale) and 4) assessment of a form on postoperative medication intake. The results obtained showed that for the three groups there was a significant difference in reported pain in the periods from 3 to 15 days and from 7 to 15 days. Among the groups, the ketoprofen association group had the greatest mean reduction in wound area from 3 to 7 days and from 7 to 15 days.

The use of latex membrane with the combination of compounds did not cause any injury to the patients' palate, without interfering with the healing process, where the group associated with ketoprofen showed faster healing and less pain.

Keywords: Wound healing. periodontics. latex

1 Introdução

O látex natural já é bastante utilizado na confecção de diversos produtos, desde fabricação de luvas e preservativos até como parte de equipamentos utilizados na medicina e na odontologia⁷⁸. Atualmente, o látex é comercializado como curativo (BIOCURE®), em mais de 60 países, para tratamento de úlceras em pacientes com diabetes dentre outras aplicações⁷⁹. O uso do látex natural em forma de membrana tem sido indicado para novas aplicações biomédicas por sua biocompatibilidade^{4,43}, baixo custo e alta resistência mecânica⁴⁵, além de se mostrar capaz de estimular a angiogênese, a adesão celular e a formação de matriz extracelular⁴³, promovendo a reparação tecidual⁸⁰. Na odontologia, a busca por um curativo capaz de acelerar a cicatrização e diminuir a dor do paciente tem sido foco de estudo nos últimos anos, principalmente em procedimentos cirúrgicos que possam promover efeitos colaterais que tragam desconforto ao paciente. A cirurgia de enxerto gengival livre é uma técnica bastante difundida no tratamento de deformidades muco gengivais⁹ pela sua fácil execução e por apresentar resultados previsíveis e estáveis com o passar do tempo⁷. Entretanto, essa técnica nem sempre é facilmente aceita pelos pacientes por conta dos efeitos colaterais presentes, tais como hemorragia, dor e desconforto, causados principalmente pela necessidade de um segundo sítio cirúrgico criado no palato do paciente, levando a morbidade dessa região doadora, que irá cicatrizar por segunda intenção¹⁴.

A membrana de látex já se mostrou eficiente na cicatrização de palato após captação de enxerto gengival livre, diminuindo o sangramento e o relato de dor pelos pacientes e não promovendo nenhum efeito adverso no processo de cicatrização do palato dos pacientes⁷⁰. Além disso, suas características físico-químicas se mostraram viáveis para o seu uso como um veículo de liberação de fármacos e compostos^{45,62,63,70}, sendo mostrado em novos estudos que através da modificação da superfície da membrana, é possível se controlar a cinética de liberação do fármaco⁴⁵. As membranas de látex natural já têm sido utilizadas como mecanismos de liberação de fármacos⁷⁹.

O Cetoprofeno é utilizado como analgésico de escolha em muitos casos, pois atua de forma eficaz tanto na inflamação aguda quanto no tratamento a longo prazo de várias patologias inflamatórias⁷², porém, é sabido que seu uso recorrente pode gerar desconforto epigástricos⁷³. Uma forma de minimizar tais efeitos é através da membrana de látex como sistema de liberação⁷¹, que além de minimizar os efeitos colaterais do uso de cetoprofeno, também já se mostrou passível de ser incorporado à

membrana sem quaisquer alterações de suas características físico-químicas e também garantindo uma liberação eficaz do medicamento⁷¹.

A própolis é outro produto que tem sido estudado visando auxiliar no processo de cicatrização de feridas. Alguns estudos já mostraram que seus compostos químicos, em grande parte taninos, fenóis, flavanóides e resinas, independente do solvente empregado, possuem ações biológicas importantes como ação antioxidante, analgésica e antiinflamatória, imunomodulação, atividades antibacterianas e antifúngicas⁸¹⁻⁸⁴. Além disso, a própolis também aumenta a proliferação em células de pele, bem como aumenta a expressão de compostos importantes no processo de reepitelização, como colágeno tipos I e II⁸⁵. Assim, como o cetoprofeno, estudos foram feitos associando a membrana de látex com a própolis, onde não houve qualquer modificação física ou química na membrana bem como na eficácia do composto⁷⁴.

Em 2021, um artigo publicado por nosso grupo de pesquisa⁷⁰, avaliou a utilização de uma membrana de látex na cicatrização de feridas do palato, os resultados demonstraram que nos grupos com membrana e sem membrana (controle), houve diminuição gradativa da área da ferida cirúrgica, sendo que a partir dos 15 dias essa era inexistente para todos os pacientes avaliados e em relação à dor houve uma redução significativa da sensibilidade dolorosa relatada pelos pacientes do grupo látex em relação ao grupo controle. Estes resultados demonstraram que o uso da membrana de látex não promoveu prejuízo a cicatrização, apresentando os mesmos resultados clínicos que a utilização de cimento cirúrgico, com a adição de ter demonstrado um menor relato de dor pelos pacientes. Com isso, achamos oportuno utilizar a membrana de latex associada a alguns compostos visando a melhor cicatrização da ferida e menor dor pós operatória.

O objetivo deste estudo foi avaliar em humanos o efeito de uma membrana de látex natural com a associação de compostos sobre o reparo de feridas no palato duro provenientes da captação do enxerto gingival livre.

2 Materiais e métodos

Esse projeto clínico, duplo-cego, controlado e randomizado foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CAAE: 01692818.8.0000.5416). Após a orientação sobre os riscos, benefícios da investigação clínica, todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Para todos os procedimentos foram asseguradas as normas da Biossegurança da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2.1 Seleção dos pacientes

Foram selecionados pacientes da Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, com idade entre 20 e 65 anos que tiveram indicação para realização do procedimento cirúrgico de enxerto gengival livre. Para inclusão na pesquisa, os pacientes deviam apresentar as seguintes características: ausência de periodontite e boa higiene oral (índice de placa e gengival $<20\%$), boa saúde sistêmica, indicação para realização de técnica de enxerto gengival livre, possibilidade de retornar nos períodos pré-estabelecidos para realização de exames e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEPE da FOAr – UNESP.

Como critérios de exclusão, os pacientes deveriam estar dentro das seguintes características: pacientes com problemas sistêmicos que contraindique a realização de cirurgia e/ou tenha interferência na cicatrização (pacientes com diabetes, imunodeficiências, discrasias sanguíneas, entre outras), pacientes fumantes e/ou ex-fumantes, pacientes que façam uso crônico de medicamentos que influenciam na resposta biológica do tecido conjuntivo como por exemplo fármacos indicados para artrite, bloqueadores de cálcio e anticonvulsivantes, pacientes que utilizam cronicamente anti-inflamatórios e/ou antibióticos, portadores de bruxismo, etilistas, dependentes químicos, grávidas e lactantes, histórico de tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço ou quimioterápico e pacientes alérgicos a própolis e/ou cetoprofeno.

2.2 Grupos e tamanho da amostra

O cálculo de amostra foi obtido tomando como por base o estudo de Dias e colaboradores em 2015⁸⁶, que avaliou o efeito da laserterapia sobre o fechamento do leito doador do palato proveniente da remoção de um enxerto gengival livre. No cálculo realizado nesse estudo os autores determinaram que o mínimo de variação para detecção de diferenças entre os grupos deveria ser de 30% com desvio padrão de 5%, e que determinando o poder β em 0.8 e o poder α em 0.05 em um teste estatístico bilateral seria necessária uma amostra de 12 pacientes por grupo para receber os tratamentos.

Os pacientes desse estudo foram divididos randomicamente em três grupos de acordo com o material que foi aplicado no leito doador no palato duro proveniente da remoção do enxerto gengival livre. Os grupos foram definidos como:

- Grupo controle (GC): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico;
- Grupo Látex + Cetoprofeno (LC): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex natural incorporada com cetoprofeno;
- Grupo Látex + Própolis (LP): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex natural com incorporação de própolis;

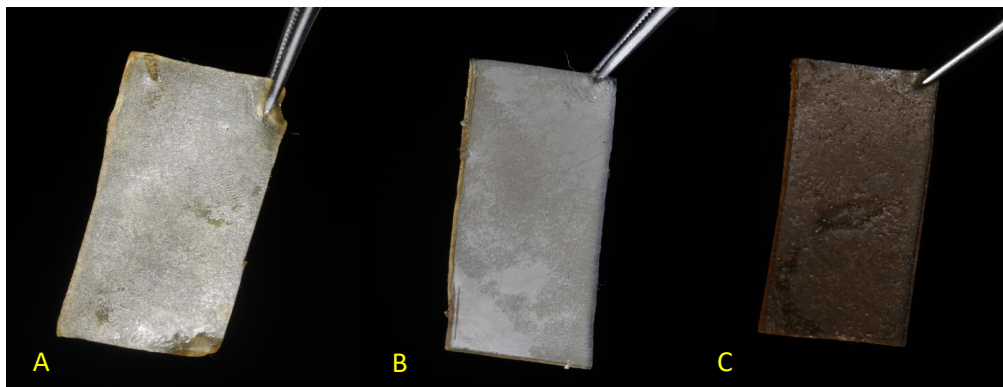
2.3 Confeção das placas acrílicas

Uma semana antes da realização do procedimento cirúrgico, todos os pacientes foram moldados e sobre os moldes foram confeccionadas placas de acrílico, no modelo de Hawley modificadas. Na região interna da placa, na altura de primeiros, segundo pré-molares e primeiro molar foi realizado um alívio para colocação do cimento cirúrgico.

2.4 Produção da membrana de látex

O látex natural extraído nesse estudo foi obtido da mistura dos clones (RRIM 600 e PB 235) extraídos das árvores seringueiras (*Hevea brasiliensis*) (BDF Comércio de Produtos Agrícolas Ltda, Guaratã, São Paulo, Brasil). Após a extração, foi adicionado amônia (1% v/v) para preservação do material na mesma forma líquida e centrifugado a 19.000 para remover as proteínas com alto peso molecular que são responsáveis pelas reações alérgicas^{87,88}. A confecção das membranas ocorreu pelo método de simples deposição, onde 2mL do látex foi depositado sobre uma placa circular de 5.00 ± 0.05 cm de diâmetro de inox. O látex natural foi mantido em temperatura ambiente por 48 horas, até a completa coagulação, apresentando uma espessura de 0.512 ± 0.005 mm e poros menores que 50nm de diâmetro. Em seguida, as membranas de látex natural foram embaladas e esterilizadas com óxido de etileno (Oxetil – Santo Anastácio, São Paulo, Brasil) a fim de garantir a segurança do tratamento^{2,89}. A membrana foi confeccionada na faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP – Araraquara - SP) junto ao Grupo de Bioengenharia e Biomateriais.

Figura 1 - Membranas de látex a serem utilizadas na ferida: A – Membrana de látex sem incorporação de compostos, apenas para comparação. B – Membrana com associação de cetoprofeno. C – Membrana com associação de própolis.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

2.5 Incorporação da própolis ao látex

A cera (resina) de própolis vermelha foi cedida pela ApisFlora (ApisFlora – Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Para a obtenção do extrato, 0,5g desta cera foram adicionados em 10mL de uma solução hidroetanólica (EtOH-H₂O) por dois dias sob agitação (100 rpm). O extrato resultante foi filtrado e seco a 35°C em um evaporador rotatório⁹⁰. A membrana própolis-látex foi produzida pela adição de 1 mL de extrato de própolis a 3 mL de látex natural em uma placa de Petri com 140 x 15 mm e assim mantida em estufa por 24 horas⁹¹.

2.6 Incorporação do cetoprofeno ao látex

O Cetoprofeno foi adquirido pela farmácia Callithea (Farmácia Callithea – Assis / SP, Brasil) em cápsulas de gel sem excipientes, contendo 100mg em pó dissolvidos primeiramente com etanol para análise (P.A) e um ajustando para 90% de solução aquosa, para evitar a coagulação do látex, a temperatura de 25°C. As membranas foram preparadas depositando 6 mL de látex natural com 4 mL de solução de cetoprofeno (10 mg/mL⁻¹) em uma placa Petri com 140 x 15 mm, deixando a mistura dessa forma por 2 dias para garantir a polimerização total antes do uso⁷¹.

2.7 Tratamento inicial pré-cirúrgico

Durante 2 meses anteriores à realização da cirurgia foi realizado tratamento periodontal básico onde todos os pacientes receberam orientação de higiene oral, raspagem e alisamento radicular de todos os dentes e controle de placa bacteriana.

2.8 Procedimentos cirúrgicos

2.8.1 Preparo do leito receptor e remoção do enxerto

Os pacientes a serem submetidos aos procedimentos cirúrgicos apresentaram a combinação de vestibulo raso e/ou inserção alta de freio associado à ausência de faixa de gengiva queratinizada e relataram dificuldade ou desconforto durante os procedimentos de higienização em regiões associadas aos incisivos inferiores.

Logo após, foi executada anestesia local com Mepivacaína 3% (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e Epinefrina 1:200000 (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e o preparo dos leitos receptores e doadores de acordo com Spin et al, 2021.

Na região palatina, entre o primeiro pré-molar e o primeiro molar superior, 2 mm abaixo das margens gengivais é demarcada uma região para remoção do enxerto. O enxerto foi removido da região, preparado e estabilizado na área receptora por meio de fios de Nylon (5.0)¹⁰. Esta área é protegida por uma lâmina de alumínio esterilizada associada à inserção de cimento cirúrgico. O cimento foi trocado após 7 dias e totalmente removido, juntamente com as suturas no 14º dia de período pós-operatório.

Na região do palato, após o controle do sangramento, foram realizadas as primeiras medidas da área do leito cirúrgico e uma tomada fotográfica da região. As medidas foram realizadas com uma sonda periodontal tipo Willians (Golgran) que é utilizada para medir o tamanho e profundidade da ferida. Após a obtenção dos dados foi realizada uma tomada fotográfica com a sonda posicionada lateralmente a ferida¹⁰. Essa imagem possibilita que no momento da análise das fotos das feridas, a sonda seja utilizada como uma escala para calibrar o software de análise de imagens (Image J NIH, Bethesda, USA), facilitando dessa forma o cálculo da área total da região doadora.

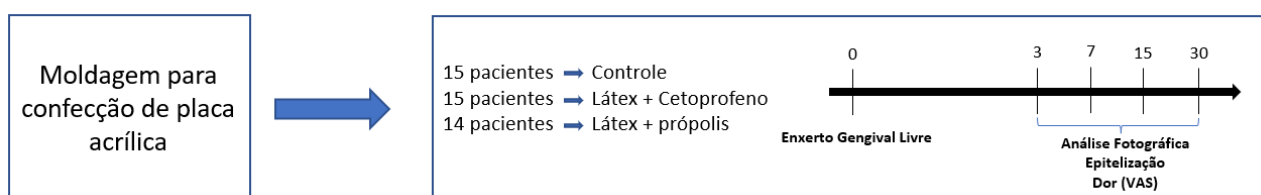
2.9 Randomização e cegamento

A randomização foi feita previamente aos procedimentos clínicos. Tal procedimento foi realizado no dia anterior aos tratamentos, quando do preparo das fichas clínicas e do equipamento que seria utilizado no momento dos procedimentos cirúrgicos. Utilizando-se um programa de computador foi obtida uma sequência de alocação aleatória. A sequência foi colocada em envelopes lacrados com o número do paciente e o grupo a que pertencia. O paciente e o pesquisador responsável pelas avaliações clínicas não tiveram conhecimento do tratamento que cada indivíduo recebeu.

2.10 Caracterização dos grupos

Após o sorteio os pacientes foram relocados em cada grupo, onde no grupo controle, na parte interna da placa de acrílico foi colocado cimento cirúrgico (Pericem – Technew, Rio de Janeiro - RJ) e então a placa acrílica foi adaptada na região do palato de cada paciente. Nos grupos látex com associação dos fármacos, a membrana foi adaptada sobre a placa acrílica com cimento cirúrgico e então colocada sobre a ferida no palato. Após os períodos de 3, 7, 15 e 30 dias os pacientes retornam para a realização de novos exames. Nos períodos de 3 e 7 dias a placa acrílica é removida e a ferida lavada com soro fisiológico. Nestes períodos, após os exames, uma nova membrana de látex foi colocada e a placa acrílica recolocada associada ao cimento cirúrgico. No grupo controle, após a limpeza da ferida, a placa é recolocada somente com novo cimento cirúrgico. Após 15 dias de pós-operatório as placas são removidas de todos os pacientes independente do grupo.

Figura 2 – Diagrama dos grupos e períodos de observação



Fonte: Elaboração própria

2.11 Avaliação clínica

Um único pesquisador, não conhecedor dos grupos, realizou as avaliações clínicas e foi calibrado para os parâmetros utilizados. As análises clínicas foram: análise do fechamento da ferida, área de superfície epitelizada, avaliação do autorrelato de sensação dolorosa.

2.11.1 Análise do fechamento da ferida

As análises dos leitos doadores foram realizadas nos períodos de 3, 7, 15, e 30 dias de pós-operatório. A porcentagem de redução do tamanho da ferida foi executada por meio de análises fotográficas. Foram feitas fotografias da região da ferida nos períodos de 3, 7, 15 e 30 dias após o procedimento cirúrgico. As fotos foram realizadas com uma câmera Canon Rebel T5i com a lente Ef 100mm f/2.8 Macro Usm e flash Canon Macro Ring Light MR-14 EX II. As fotos obtidas foram agrupadas por paciente e codificadas. Um examinador, não conhecedor dos grupos e calibrado (RSN) realizou a avaliação clínica. Para calibração, 10 fotos com diferentes períodos de análise, foram analisadas duas vezes com intervalo de 10 dias. Os valores obtidos foram analisados pelo teste Kappa para avaliar a reprodutibilidade intra-examinador na medida de tamanho da ferida. O valor obtido deveria ser maior que 0,8.

2.11.2 Área de superfície epitelizada após utilização de água oxigenada aplicada na região

A análise da epitelização da ferida foi feita utilizando-se uma gaze molhada com peróxido de oxigênio a 3% para observar a presença de formação de bolhas na ferida. Quando do contato do peróxido de oxigênio há produção de bolhas, indicando-se a ausência de epitélio na região¹⁶. Esse parâmetro foi anotado de forma dicotômica (Presença/ausência de bolhas), sendo anotado como sim ou não, respectivamente, na ficha do paciente¹⁰.

2.11.3 Avaliação do autorrelato de sensação dolorosa por meio da aplicação da escala de dor VAS

Para a análise de dor, foi entregue aos pacientes, nos períodos de acompanhamento de 3, 7, 15, e 30 dias uma escala analógica visual (VAS)²¹, numerada de 0-10 na qual o valor 0 indicava ausência total de dor e 10 indicava dor extrema. Para a análise estatística dos dados os valores obtidos são expressos em porcentagem, sendo que o valor 0 é considerado 0% e 10 considerado 100%.

A escala é apresentada ao paciente onde ele respondeu o grau de dor nos diferentes períodos experimentais¹⁰.

2.11.4 Avaliação da quantidade de medicamentos utilizados pelo paciente no pós-operatório

No dia da cirurgia, um questionário era entregue aos pacientes onde nela, todos os dias, por um período de 7 dias, o paciente deveria anotar se houve dor, tanto na região de palato, quanto na região onde o enxerto foi posicionado e, se fez uso dos medicamentos prescritos. Dessa forma, poderíamos verificar uma possível correlação de ausência ou não de dor, com a utilização ou não do medicamento.

2.11.5 Protocolo de Cuidados Pós-operatório

Foram prescritos para todos os pacientes durante o período pós-operatório, Nimesulida (100mg), 1 comprimido de 12 em 12 horas, e Dipirona (500mg), 1 comprimido de 6 em 6 horas por 3 dias, além de Amoxicilina (500mg), 1 cápsula de 8 em 8 horas, por 7 dias para consumo por via oral.

Adicionalmente foi prescrito colutório à base de gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard - Colgate, São Paulo - SP) por 14 dias. Junto ao protocolo, cuidados quanto à alimentação e a manutenção do curativo foram informados aos pacientes, bem como as eventuais consequências do não seguimento de tais orientações, podendo haver desconfortos exacerbados, maior sensibilidade dolorosa e dificuldade de cicatrização.

2.12 Análise estatística

Os parâmetros de área da ferida, redução da área da ferida, epitelização, avaliação do autorrelato de dor dos pacientes e avaliação de questionário referente aos medicamentos utilizados pelos pacientes, foram avaliados. Dados da área da ferida, epitelização e autorrelato dor (VAS) foram anotados em software dedicado (GraphPad Prism 8, GraphPad, San Diego, CA, EUA), que também foi usado para análise estatística. Com base nos dados da área da ferida, foi calculado em milímetros quadrados e a redução da área da ferida foi calculada em porcentagem. Isso foi feito considerando o quanto restou da área original da ferida em cada período, subtraindo-se a área encontrada naquele período específico da área inicial. A área da ferida e os dados de fechamento da ferida foram avaliados pelo Teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os dados foram distribuídos normalmente. Para as comparações entre os grupos, em um mesmo período e, entre os períodos dentro de um mesmo grupo, foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey.

A epitelização avaliada por meio do teste de qui-quadrado, para avaliar as diferenças entre os grupos, em cada período. O teste de McNemar foi usado para avaliar as diferenças entre os períodos, dentro de cada grupo.

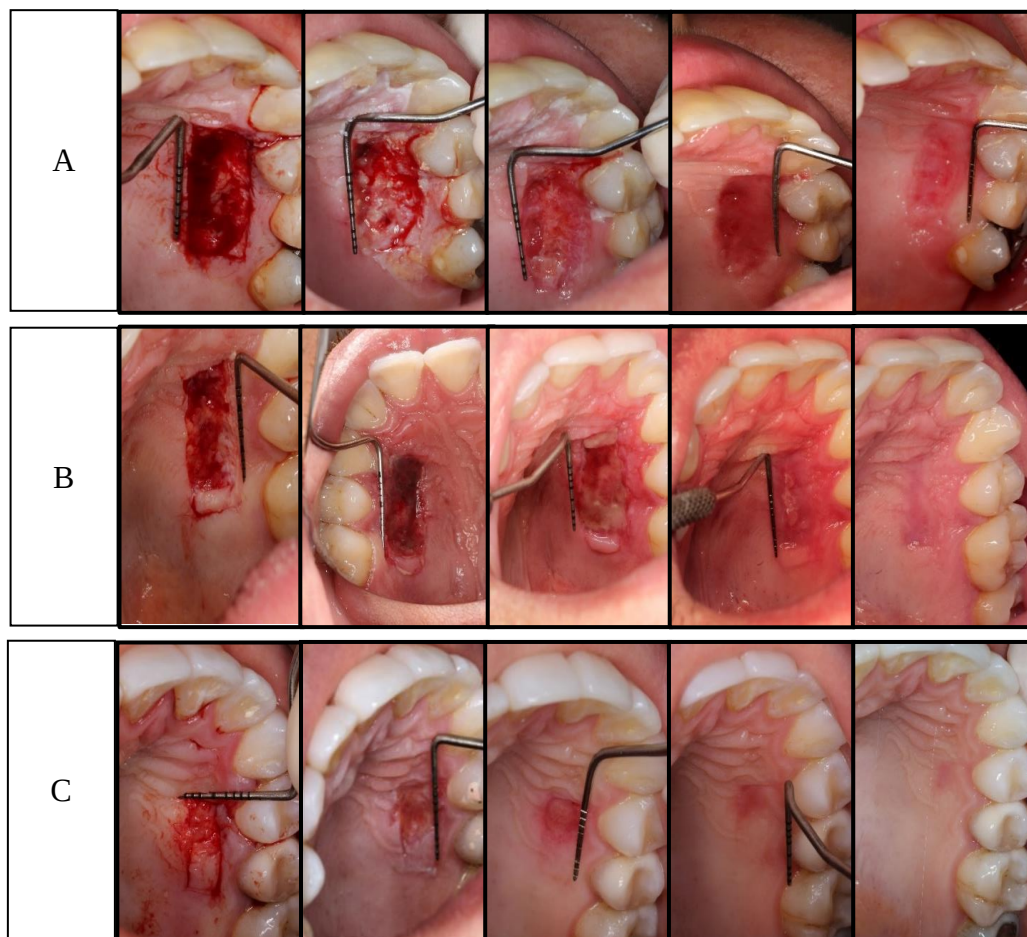
Os dados de dor autorrelatada foram convertidos em porcentagem, medindo-se a distância do início da escala analógica visual (VAS), até ao ponto marcado pelo paciente (ou seja, 0 foi convertido em 0% e 10 foi convertido para 100%). Para as comparações entre os grupos, em um mesmo período e, entre os períodos dentro de um mesmo grupo, foi utilizado o teste de ANOVA, seguido pelo teste de Tukey. Todos os testes foram aplicados com significância nível de 5% ($p < 0,05$).

3 Resultados

Foram triados 60 pacientes com indicação de enxerto gengival livre onde através da anamnese realizada, somente 49 correspondiam aos critérios de inclusão de nosso estudo. Destes indivíduos, 5 desistiram no meio do tratamento. Sendo assim, os resultados a seguir referem-se à 44 pacientes, sendo 6 homens e 38 mulheres, com idades entre 23 e 68 anos. Dentre estes 44 pacientes, 15 pertencem ao grupo controle, 15 pertencem ao grupo látex + cetoprofeno e 14 pertencem ao grupo látex + própolis.

Na avaliação complementar feita com o questionário de medicamentos ingeridos e a presença de dor (palato e região de enxerto) em um período de 7 dias, observamos um número considerável de pacientes que não responderam às questões apresentadas. Entretanto, também verificamos que o número de pacientes que fez uso de anti-inflamatório e analgésico, foi diminuindo ao longo dos dias, o que pode estar associado à redução da sensação dolorosa. Da mesma forma, a maioria dos pacientes respondeu que usou o antibiótico por todo o período prescrito. Para a parte de dor presente no questionário, mesmo com a grande ausência de respostas, foi possível verificar que nos grupos com membrana, no primeiro dia de pós-operatório, houve menor relato de dor no palato se comparado com o grupo controle e, para o grupo com própolis, no período de 2 a 4 dias, os pacientes não tiveram dor.

Figura 3 – Fotos dos grupos controle (A), látex + própolis (B) e látex + cetoprofeno (C) obtidas em cada período do tratamento, sendo baseline e 3,7, 15 e 30 dias de pós-operatório, respectivamente.



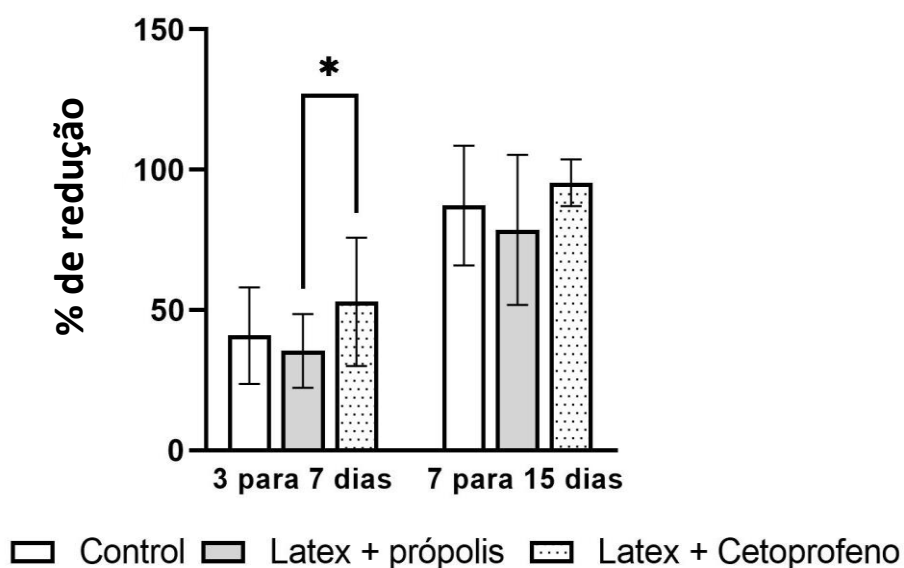
Fonte: Arquivo pessoal do autor

3.1 Área da ferida cirúrgica

Foram feitas fotografias nos períodos de 3, 7, 15 e 30 dias após a cirurgia, de todos os pacientes incluídos no estudo. Aos 15 dias, 9 pacientes do grupo controle apresentavam fechamento total da ferida cirúrgica. O mesmo evento foi observado em 5 pacientes do grupo látex + própolis, e em 10 pacientes do grupo látex + Cetoprofeno. Aos 30 dias, para os três grupos avaliados, todos os pacientes apresentavam fechamento total da ferida cirúrgica. A maior média da área é dada pelo grupo látex + própolis (92.2 mm²), seguido pelo grupo látex + cetoprofeno (85.5 mm²) e controle (67.4 mm²). Aos 15 dias, o grupo com própolis ainda apresenta a maior média de área de ferida (17.2 mm²), enquanto os grupos controle e, com cetoprofeno, apresentaram médias de 6.3 mm² e 2.8 mm², respectivamente.

A figura 4 representa a redução da área da ferida, também em porcentagem, demonstrando que houve diferença estatística entre os grupos experimentais (látex + própolis e látex + Cetoprofeno) na comparação entre 3 e 7 dias.

Figura 4 - Redução da área da ferida (média e desvio padrão, em %)



3.2 Epitelização da ferida

A tabela 1 mostra a epitelização da ferida em cada período e em cada grupo. Os dados representam o número de pacientes positivos para esse parâmetro em cada período.

Tabela 1 - Epitelização da ferida

Grupo	Amostra atual (n)	3 dias	7 dias	15 dias	30 dias
Controle	15	0	0	9	15
Látex + própolis	14	0	1	7	14
Látex + cetoprofeno	15	0	2	11	15

A análise estatística mostrou não haver diferença estatística entre os grupos estudados (qui-quadrado, $p=0.72$), em nenhum dos períodos estudados.

Na análise intragrupo, houve diferença significativa ($p>0.01$) do período de 7 dias para o período de 15 dias.

3.3 Autorrelato de dor

Na tabela 4 representa a porcentagem de dor, avaliada pela escala de VAS, em seus valores mínimos e máximos dentro de cada grupo e em cada período. Aos 3 dias, todos os grupos obtiveram valores mínimos de 0, porém, o grupo látex + cetoprofeno foi o grupo que relatou o menor valor de dor (36%), seguido pelo grupo controle (58%) e grupo látex + própolis (88%). Aos 7 dias, o grupo látex + cetoprofeno ainda demonstrou menor dor relatada (22%), seguido novamente pelos grupos controle (34%) e látex + própolis (82%). No período de 15 dias, nenhum paciente do grupo látex + cetoprofeno relatou dor, e no grupo controle, a maior porcentagem de dor anotada foi 10% e de 3% no grupo látex + própolis. Aos 30 dias não houve nenhum relato de dor pelos pacientes.

Para os três grupos estudados, houve diferença estatística significativa ($p<0.01$, indicando diminuição da dor) entre a dor reportada aos 3 e aos 15 dias (diminuição, $p<0.01$). Quando comparados dentro de cada período, os grupos foram iguais em todos os períodos estudados.

Tabela 2 – Média de dor e, min – máx. relatados em porcentagem (%)

Grupo	Amostra atual (n)	3 dias			7 dias			15 dias			30 dias		
		Média	Min	Máx.	Média	Min	Máx.	Média	Min	Máx.	Média	Min	Máx.
Controle	15	12.1	0	58	16.4	0	34	6.9	0	10	0	0	0
Látex + Própolis	14	7.0	0	88	13.8	0	82	3.0	0	3	0	0	0
Látex + Cetoprofeno	15	0.7	0	36	0.3	0	22	0.0	0	0	0	0	0

4 Discussão

Este presente estudo, clínico, controlado e randomizado, teve como objetivo avaliar o efeito da membrana de látex natural com associação de compostos, sobre o reparo de feridas em palato oriundas da remoção de enxerto gengival livre. A membrana de látex já é utilizada como curativo, podendo acelerar o processo cicatricial^{2,29,44}, sem causar injúrias adicionais aos tecidos nos quais ela é colocada, devido à sua biocompatibilidade⁴. O uso dessa membrana como curativo em palato após remoção de enxerto gengival livre, também já está documentado na literatura⁷⁰, utilizando-se uma membrana de látex natural, sem adição de compostos, atuando somente como uma barreira física, onde foi avaliada a cicatrização do palato, epitelização e dor relatada pelos pacientes, após a remoção do enxerto no palato. Os autores demonstraram que os pacientes que fizeram uso da membrana, quando comparado ao grupo que não a usou, ainda que sem significância estatística, relataram menos dor. Ainda nesse estudo, a membrana apresentou características físico-químicas fundamentais para o seu uso como veículo de liberação de compostos, como alta elasticidade, superfície lisa e porosidade em nano escala, corroborando com outros trabalhos que a utilizaram para essa aplicação^{71,78,81,92,93}. Sendo assim, em nosso estudo, utilizamos a membrana de látex como um veículo para a liberação de Cetoprofeno e própolis. O Cetoprofeno é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) bastante utilizado em casos de dores crônicas e doenças inflamatórias agudas e de longa duração, como artrite reumatoide⁷¹, atenuando células mediadas pela inflamação e retardando a progressão da destruição tecidual em inflamações de articulação⁹⁴⁻⁹⁶. Porém, como citado na literatura, o Cetoprofeno possui efeitos tóxicos ao sistema gastrointestinal⁷³ e uma alternativa para minimizar a incidência desses efeitos adversos, é utilizando-se dos sistemas de liberação de fármacos, forma na qual a membrana de látex tem sido utilizada nos estudos recentes citados. O gel de Cetoprofeno já foi testado com o intuito de ser aplicado localmente e reduzir as adversidades ocasionadas pelo fármaco^{97,98}. Porém, essa forma de aplicação ainda trouxe problemas aos pacientes, como fotosensibilidade e eczemas de contato, que duraram por até 16 dias após a aplicação^{97,99}. Em comparativo nenhum efeito adverso foi encontrado em nossos resultados, com a adição de o grupo com Cetoprofeno ter relatado menos dor. Esses efeitos favoráveis podem estar relacionados com a correta escolha da concentração utilizada.

A concentração utilizada em nosso trabalho foi pautada no trabalho de Floriano et al., 2018⁷¹ que mostrou que o fármaco teve 60% de liberação em 50 horas e, nessas condições, não houve interação química com a membrana e não ocasionando comprometimento a sua resistência mecânica.

Produtos e compostos naturais também têm sido citados como opções de curativo de feridas, por possuírem em alguns casos, propriedades anti-inflamatórias, antioxidante e antibacterianas¹⁰⁰. A própolis é um candidato farmacológico promissor, que tem sido utilizado por séculos e é relativamente barata¹⁰¹. Esse composto possui propriedades terapêuticas bem estabelecidas, como ação anti-inflamatória¹⁰², antioxidante¹⁰³ e antibacteriana¹⁰⁴, além de ser utilizada para tratamento de feridas diabéticas em animais¹⁰⁵ e em humanos^{106,107}. A própolis vermelha escolhida para nosso trabalho tem sido difundida principalmente pela sua excelente atividade antimicrobiana¹⁰⁸⁻¹¹⁰. Para este estudo, a concentração da própolis vermelha utilizada foi baseada na literatura, onde para esse tipo de proporção, é comprovado ausência de citotoxicidade, além de possuir uma cinética de liberação de até 42% do composto em 96 horas, sem comprometer as características mecânicas da membrana de látex⁷⁴.

No presente estudo, os parâmetros avaliados foram área da ferida, epitelização e a presença ou não de dor, tanto em região de palato quanto na região de enxertia.

A variável qualitativa observada com auxílio da estatística inferencial foi a redução da ferida cirúrgica entre os períodos de 3 e 7 dias, e entre os períodos de 7 e 15 dias, conforme apresentado na tabela 2. Na comparação entre 3 e 7 dias, o grupo látex + cetoprofeno foi diferente ($p=0.03$) do grupo látex + própolis. Na comparação entre 7 e 15 dias, os grupos foram iguais. Em comparação, com os resultados encontrados em Spin et al., 2021, não houve diferença estatisticamente significativa para esse parâmetro, onde aos 15 dias todos os 14 pacientes do grupo controle já apresentavam a ferida totalmente fechada, enquanto no grupo com membrana de látex havia pacientes sem fechamento de ferida. Para a epitelização os resultados não demonstraram diferença estatística ($p=0.72$) entre os grupos, em nenhum dos períodos. Aos 3 dias, todos os pacientes ainda eram negativos para esse parâmetro, ou seja, a ferida ainda não se encontrava epitelizada. No período de 7 dias, dois pacientes do grupo com Cetoprofeno apresentaram epitelização da ferida seguido de 1 paciente do grupo com própolis. O grupo controle somente apresentou ser positivo para esse parâmetro, ou seja, havia epitelização da ferida, aos 15 dias, onde 11 dos 15 pacientes do grupo com Cetoprofeno já eram positivos para esse parâmetro, comparados com 7 dos 14 pacientes do grupo com própolis. No período de 30 dias, todos os pacientes apresentavam epitelização das feridas. Este resultado quando comparado com Spin et al., 2021⁷⁰ também mostra que houve uma mudança para esse parâmetro, uma vez que na primeira publicação, os pacientes do grupo com látex apresentaram ser positivos para epitelização somente aos 15 dias, onde todos os pacientes do grupo controle (sem membrana), já estavam com as feridas epitelizadas. Na análise do autorrelato de dor pelos

pacientes para os três grupos estudados, houve diferença estatística significativa ($p < 0.01$) entre a dor reportada aos 3 e aos 15 dias e aos 7 e aos 15 dias (diminuição, $p < 0.01$), de 3 para 7 dias não houve diferença significativa entre os grupos, sendo o grupo látex + Cetoprofeno apresentou menor dor em todos os períodos. Quando comparados dentro de cada período, os grupos foram iguais em todos os períodos estudados. A membrana de látex parece influenciar positivamente na diminuição da dor relatada pelo paciente, como já citado na literatura⁷⁰, onde embora sem diferença estatisticamente significativa, o grupo com membrana de látex apresentou menor percentual de dor em média, se comparado ao grupo controle, em todos os períodos. No presente estudo, os resultados o grupo com própolis teve maior relato de dor e cicatrização mais demorada em relação aos outros grupos. Uma hipótese para isso, é que aos 3 dias de pós-operatório, é observado a formação de um exsudato ao redor da ferida já demonstrado em outro trabalho⁷⁰, indicando um processo exacerbado de atividade celular inflamatória. Uma hipótese é de haja uma interação desse exsudato com a própolis capaz de influenciar sua ação, fazendo com que ela não tenha a eficácia esperada.

O processo de cicatrização é um uma reação fisiológica natural à uma injúria tecidual, sendo altamente complexo, envolvendo inúmeros tipos de células, citocinas e mediadores¹¹¹. Porém, mesmo com a impossibilidade até o momento, de se eliminar para sempre a necessidade de uma ferida, os estudos com métodos para lidar com esse problema continuam expandindo, seja com o uso de fármacos, seja com o uso de curativos ou a combinação dos dois^{93,112}.

Embora a eficácia da própolis como anti-inflamatório já esteja comprovada pela literatura, em nosso trabalho os resultados referentes à redução da área da ferida, mostraram que o grupo látex + Cetoprofeno apresentou um resultado mais expressivo, com uma redução de área da ferida mais rápida do que quando comparado com o grupo látex + própolis. Esses resultados podem estar relacionados ao mecanismo de ação do Cetoprofeno. Pertencente aos derivados do ácido propiônico, esse fármaco possui propriedades analgésicas, antipiréticas e anti-inflamatórias¹¹³, onde sua atividade farmacodinâmica está relacionada à inibição da enzima COX, interferindo no metabolismo do ácido araquidônico e, conseqüentemente, atuando sobre a produção de prostaglandinas. Embora o seu uso de forma oral possa trazer complicações para o trato gastrointestinal, como já citado anteriormente, a aplicação tópica do Cetoprofeno por um veículo de liberação minimiza esses problemas. Da mesma forma, possivelmente o resultado positivo encontrado em nosso estudo se relaciona ao fato do fármaco atingir uma concentração plasmática ideal por ser liberado localmente, como visto em outros trabalhos^{71,114}, e assim, a membrana pode

liberar o medicamento por um longo período de tempo, de modo que este permaneça continuamente presente no tecido aplicado¹¹⁵. Além disso, o Cetoprofeno apresenta uma capacidade de penetração quando aplicado localmente, melhor do que outros AINE's¹¹⁴, o que associado com a capacidade da membrana de látex em atuar como um meio efetivo de liberação, poderia explicar a rápida redução da área ferida. Da mesma forma, dada a facilidade em se modificar as características de superfície da membrana de látex, este material se torna favorável para aplicações biomédicas podendo ser adequada de acordo com o meio na qual for aplicada.

5 Conclusão

Embora ainda sejam necessárias novas avaliações sobre como é o mecanismo de ação exato exercido tanto pelo Cetoprofeno quanto pela própolis, especificamente sobre a ferida do palato, os resultados obtidos demonstraram, que o uso da membrana de látex com a associação de compostos não promoveu qualquer injúria ao palato dos pacientes, sem interferir no processo cicatricial, onde o grupo associado ao Cetoprofeno apresentou uma cicatrização mais rápida e com menor relato de dor. Mais estudos devem ser realizados buscando uma concentração ideal dos compostos associados ao látex para cicatrização.

Referências

1. Herculano R, Silva C, Ereno C, Guimaraes S, Kinoshita A, Graeff C. Natural Rubber Latex Used as Drug Delivery System in Guided Bone Regeneration (GBR). *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*. 2009;12:253-6.
2. Herculano R, Guimarães S, Belmonte G, Duarte M, Oliveira O, Kinoshita A, et al. Metronidazole Release Using Natural Rubber Latex as Matrix. *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*. 2010;13:57-61.
3. Mrue F, Netto JC, Ceneviva R, Lachat JJ, Thomazini JA, Tambelini H. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. *Materials Research*. 2004;7:277-83.
4. Mendonça RJ, Maurício VB, de Bortolli Teixeira L, Lachat JJ, Coutinho-Netto J. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Phytotherapy Research*. 2010;24(5):764-8.
5. Almeida GFB, Cardoso MR, Zancanela DC, Bernardes LL, Norberto AMQ, Barros NR, et al. Controlled drug delivery system by fs-laser micromachined biocompatible rubber latex membranes. *Applied Surface Science*. 2020;506:144762.
6. Frade M, Salathiel A, Mazzucato E, Nettob J, Foss M. A natural biomembrane as a new proposal for the treatment of pressure ulcers Biomembrana natural como uma nova proposta de tratamento para as úlceras de pressão. 2022.
7. Cortellini P, Pini Prato G. Coronally advanced flap and combination therapy for root coverage. *Clinical strategies based on scientific evidence and clinical experience. Periodontol 2000*. 2012;59(1):158-84.
8. Agudio G, Nieri M, Rotundo R, Cortellini P, Pini Prato G. Free Gingival Grafts to Increase Keratinized Tissue: A Retrospective Long-Term Evaluation (10 to 25 years) of Outcomes. *Journal of Periodontology*. 2008;79(4):587-94.
9. Farnoush A. Techniques for the protection and coverage of the donor sites in free soft tissue grafts. *J Periodontol*. 1978;49(8):403-5.
10. Spin JR, de Oliveira GJPL, Spin-Neto R, Herculano RD, Marcantonio RAC. Effect of natural latex membranes on wound repair of palate donor areas: A pilot randomized controlled trial study, including the membranes characterization. *Materials Today Communications*. 2021;27:102390.
11. Carvalho F, Uchina H, Azevedo Borges F, Oyafuso M, Herculano R, Gremiao M, et al. Natural membranes of *Hevea brasiliensis* latex as delivery system for *Casearia sylvestris* leaf components. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2017;28.

12. Saska S, Teixeira LN, Tambasco de Oliveira P, Minarelli Gaspar AM, Lima Ribeiro SJ, Messaddeq Y, et al. Bacterial cellulose-collagen nanocomposite for bone tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry*. 2012;22(41):22102-12.
13. Maestrelli F, Zerrouk N, Cirri M, Mura P. Comparative evaluation of polymeric and waxy microspheres for combined colon delivery of ascorbic acid and ketoprofen. *International journal of pharmaceutics*. 2015;485(1-2):365-73.
14. Rahbek I. Gastroscopic evaluation of the effect of a new anti-rheumatic compound, ketoprofen (19.583 R.P.), on the human gastric mucosa. A double-blind cross-over trial against acetylsalicylic acid. *Scandinavian journal of rheumatology Supplement*. 1976;1976(0):63-72.
15. Floriano JF, de Barros NR, Cinman JLF, da Silva RG, Loffredo AV, Borges FA, et al. Ketoprofen Loaded in Natural Rubber Latex Transdermal Patch for Tendinitis Treatment. *Journal of Polymers and the Environment*. 2018;26(6):2281-9.
16. Krupp T, Dos Santos BD, Gama LA, Silva JR, Arrais-Silva WW, de Souza NC, et al. NATURAL RUBBER - PROPOLIS MEMBRANE IMPROVES WOUND HEALING IN SECOND-DEGREE BURNING MODEL. *International journal of biological macromolecules*. 2019;131:980-8.
17. Silva AJ, Silva JR, Souza NCd, Souto PCSJML. Membranes from latex with propolis for biomedical applications. 2014;116:235-8.
18. Possamai MM, Honório-França AC, Reinaque APB, França EL, Souto PCdS. Brazilian propolis: a natural product that improved the fungicidal activity by blood phagocytes. *Biomed Res Int*. 2013;2013:541018-.
19. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:1259510.
20. Martinotti S, Ranzato E. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns Trauma*. 2015;3:9-.
21. Zancanela DC, Herculano RD, Funari CS, Marcos CM, Almeida AMF, Guastaldi AC. Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. *Materials Letters*. 2017;209:39-42.
22. Dias SB, Fonseca MV, Dos Santos NC, Mathias IF, Martinho FC, Junior MS, et al. Effect of GaAIA's 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.
23. Romeiro Miranda M, Prezotti F, Azevedo Borges F, Barros N, Cury BSF, Herculano R, et al. Porosity effects of natural latex (*Hevea brasiliensis*) on release of compounds for biomedical applications. *Journal of biomaterials science Polymer edition*. 2017;28:1-27.

24. Herculano R, Brunello C, Graeff C. Optimization of a Novel Nitric Oxide Sensor Using a Latex Rubber Matrix. *Journal of Applied Sciences*. 2007;7.
25. Herculano RD, Silva CP, Ereno C, Guimaraes SAC, Kinoshita A, Graeff CFdO. Natural rubber latex used as drug delivery system in guided bone regeneration (GBR). *Materials Research*. 2009;12:253-6.
26. Ereno C, Guimarães SAC, Pasetto S, Herculano RD, Silva CP, Graeff CFO, et al. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010;95A(3):932-9.
27. Funari CS, Carneiro RL, Creese ME, Leme GM, Cavaleiro AJ, Hilder EF. On Track for a Truly Green Propolis—Fingerprinting Propolis Samples from Seven Countries by Means of a Fully Green Approach. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2016;4(12):7110-7.
28. Zancanela DC, Funari CS, Herculano RD, Mello VM, Rodrigues CM, Borges FA, et al. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;97:576-82.
29. Silva CO, Ribeiro Edel P, Sallum AW, Tatakis DN. Free gingival grafts: graft shrinkage and donor-site healing in smokers and non-smokers. *J Periodontol*. 2010;81(5):692-701.
30. Ettlin DA, Hitz T, Ramel C, Meier ML, Roos M, Gallo LM, et al. Quantitative sensory testing of intraoral open wounds. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(3):401-5.
31. Andrade TA, Iyer A, Das PK, Foss NT, Garcia SB, Coutinho-Netto J, et al. The inflammatory stimulus of a natural latex biomembrane improves healing in mice. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44(10):1036-47.
32. Araujo MM, Massuda ET, Hyppolito MA. Anatomical and functional evaluation of tympanoplasty using a transitory natural latex biomembrane implant from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012;27:566-71.
33. Dias Murbach H, Jaques Ogawa G, Azevedo Borges F, Romeiro Miranda MC, Lopes R, Roberto de Barros N, et al. Ciprofloxacin Release Using Natural Rubber Latex Membranes as Carrier. *International Journal of Biomaterials*. 2014;2014:157952.
34. Lima AdF, Pegorin GSA, Miranda MCR, Cachaneski-Lopes JP, Silva WdM, Borges FA, et al. Ibuprofen-loaded biocompatible latex membrane for drug release: Characterization and molecular modeling. 2021;19:22808000211005383.
35. Dawson W, Boot JR, Harvey J, Walker JR. The pharmacology of benoxaprofen with particular to effects on lipoxigenase product formation. *European journal of rheumatology and inflammation*. 1982;5(2):61-8.

36. Machado GC, Maher CG, Ferreira PH, Day RO, Pinheiro MB, Ferreira ML. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for spinal pain: a systematic review and meta-analysis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;76(7):1269-78.
37. Wongrakpanich S, Wongrakpanich A, Melhado K, Rangaswami J. A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging and disease*. 2018;9(1):143-50.
38. Baudot S, Milpied B, Larousse C. [Cutaneous side effects of ketoprofen gels: results of a study based on 337 cases]. *Therapie*. 1998;53(2):137-44.
39. Coaccioli S. Ketoprofen 2.5% gel: a clinical overview. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2011;15(8):943-9.
40. Sardana V, Burzynski J, Zalzal P. Safety and efficacy of topical ketoprofen in transfersome gel in knee osteoarthritis: A systematic review. *Musculoskeletal care*. 2017;15(2):114-21.
41. Ibrahim N, Wong SK, Mohamed IN, Mohamed N, Chin KY, Ima-Nirwana S, et al. Wound Healing Properties of Selected Natural Products. *International journal of environmental research and public health*. 2018;15(11).
42. Hozzein WN, Badr G, Al Ghamdi AA, Sayed A, Al-Waili NS, Garraud O. Topical Application of Propolis Enhances Cutaneous Wound Healing by Promoting TGF-Beta/Smad-Mediated Collagen Production in a Streptozotocin-Induced Type I Diabetic Mouse Model. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015;37(3):940-54.
43. Boufadi YM, Soubhye J, Riazi A, Rousseau A, Vanhaeverbeek M, Nève J, et al. Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(2):2327-45.
44. Falcão SI, Vale N, Cos P, Gomes P, Freire C, Maes L, et al. In vitro evaluation of Portuguese propolis and floral sources for antiprotozoal, antibacterial and antifungal activity. *Phytotherapy research : PTR*. 2014;28(3):437-43.
45. McLennan SV, Bonner J, Milne S, Lo L, Charlton A, Kurup S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2008;16(5):706-13.
46. Henshaw FR, Bolton T, Nube V, Hood A, Veldhoen D, Pfrunder L, et al. Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study. *Journal of diabetes and its complications*. 2014;28(6):850-7.

47. Lotfy M, Badra G, Burham W, Alenzi FQ. Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep, infected wound in a patient with diabetes mellitus. *British journal of biomedical science*. 2006;63(4):171-3.
 48. Mirza RE, Fang MM, Weinheimer-Haus EM, Ennis WJ, Koh TJ. Sustained inflammasome activity in macrophages impairs wound healing in type 2 diabetic humans and mice. *Diabetes*. 2014;63(3):1103-14.
 49. Righi AA, Alves TR, Negri G, Marques LM, Breyer H, Salatino A. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of the science of food and agriculture*. 2011;91(13):2363-70.
 50. Graikou K, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I. Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *LWT - Food Science and Technology*. 2016;65:261-7.
 51. Tobaldini-Valerio FK, Bonfim-Mendonça PS, Rosseto HC, Bruschi ML, Henriques M, Negri M, et al. Propolis: a potential natural product to fight *Candida* species infections. 2016;11(8):1035-46.
 52. Wallace HA, Basehore BM, Zito PM. *Wound Healing Phases*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
53. Childs DR, Murthy AS. Overview of Wound Healing and Management. *The Surgical clinics of North America*. 2017;97(1):189-207.
 54. McCormack K, Brune K. Dissociation between the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A survey of their analgesic efficacy. *Drugs*. 1991;41(4):533-47.
 55. Aravindaram A, Nandan R, Gowda D, Khan MJSRL. Development and evaluation of Ketoprofen loaded biopolymer based transdermal film. 2011;3:233-44.
 56. Mazières B. Topical ketoprofen patch. *Drugs in R&D*. 2005;6(6):337-44.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo desse estudo foi avaliar qual o efeito da aplicação de uma membrana de látex natural, sobre o reparo de feridas em palato duro decorrentes da captação de enxerto gengival livre. De forma geral, a utilização das membranas não trouxe prejuízos para a cicatrização do palato além de diminuir a dor relatada pelos pacientes, seja com a incorporação de compostos ou não.

Em relação ao estudo 1, onde avaliamos a redução da área da ferida, epitelização e dor relatada, foi observado que sobre a epitelização da ferida, não houve diferença estatística entre os grupos. Aos 3 dias observamos um halo esbranquiçado nas bordas das feridas do grupo com membrana de látex, processo comum encontrado no fechamento de feridas decorrente de uma proliferação epitelial na região da injúria, podendo estar relacionado com a alta atividade angiogênica do látex¹¹⁶, além de aumento na permeabilidade vascular durante o processo de cicatrização⁴. Embora os resultados na epitelização da ferida do grupo látex não tenham sido superiores ao grupo controle, o relato de dor pelo paciente através da escala de VAS, apresentou uma diminuição significativa, o que pode estar relacionado algumas proteínas encontradas no látex, como a heveína, que possui atividade antimicrobiana e antifúngica^{117,118}, diminuindo o processo inflamatório e com isso, diminuindo a sensação de dor pelo paciente. Embora os resultados não tenham apresentado superioridade na cicatrização com o uso do látex, este primeiro estudo foi fundamental para possibilitar um novo trabalho para avaliar a incorporação de compostos na membrana de látex. Isso foi possível pelo fato da membrana de látex permitir um controle de porosidade durante sua fabricação, característica mecânica que promove a liberação compostos¹¹⁹, importante na integração entre o tecido vivo e o material implantado¹²⁰, corroborando com o que encontramos em nosso trabalho através dos testes de caracterização da membrana.

No estudo 2, teve-se como objetivo avaliar os mesmos parâmetros do estudo 1, porém com a associação de compostos, Cetoprofeno e própolis, à membrana de látex. O uso da membrana de látex para essa aplicação já é difundido na literatura por conta de suas propriedades físico-químicas favoráveis^{70,71,81}.

O Cetoprofeno é bastante citado na literatura como o anti-inflamatório de escolha em muitos casos de inflamações agudas e crônicas⁷¹, porém, seus efeitos colaterais envolvendo o sistema gastrointestinal também são bastante discutidos⁷³, mesmo quando aplicado localmente⁹⁸. Em nosso estudo, o grupo com associação de Cetoprofeno não apresentou nenhum tipo prejuízo ao processo cicatricial, da mesma forma não trouxe nenhuma manifestação sistêmica indesejada. Além disso, esse grupo apresentou menor dor em todos os períodos quando comparado com os grupos controle e com látex associado à própolis. Quanto a área da ferida, aos 15 dias o grupo com Cetoprofeno possuía menor área de ferida em relação ao grupo com própolis, onde para a análise de redução da ferida (variável quantitativa), houve diferença significativa de 3 para 7 dias entre o grupo látex + própolis e o grupo látex + Cetoprofeno. Da mesma forma, para a epitelização, aos 15 dias o grupo com Cetoprofeno também se mostrou superior. Uma explicação para esses achados pode estar relacionada ao exsudato encontrado aos 3 dias de pós-operatório, onde para o desafio inflamatório presente, a concentração de própolis utilizada não atinja a eficácia esperada, sendo assim, novos estudos estão sendo feitos com novas caracterizações da própolis em diferentes modelos de feridas¹²¹.

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o uso da membrana de látex não prejudicou o processo de cicatrização do palato, estando relacionada com o menor relato de dor pelos pacientes. A incorporação de cetoprofeno na membrana de latex não interferiu na cicatrização da ferida e diminuiu a dor no pós operatório.

Referências*

1. Griffin TJ, Cheung WS, Zavras AI, Damoulis PD. Postoperative complications following gingival augmentation procedures. *J Periodontol*. 2006; 77(12): 2070-9.
2. Ereno C, Guimarães SAC, Pasetto S, Herculano RD, Silva CP, Graeff CFO et al. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2010; 95A(3): 932-9.
3. Dowell P, Addy M. Dentine hypersensitivity - A review. *J Clin Periodontol*. 1983;10(4):341-50.
4. Mendonça RJ, Maurício VB, de Bortolli Teixeira L, Lachat JJ, Coutinho-Netto J. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Phytother Res*. 2010; 24(5): 764-8.
5. Dorfman HS, Kennedy JE, Bird WC. Longitudinal evaluation of free autogenous gingival grafts. A four year report. *J Periodontol*. 1982; 53(6): 349-52.
6. Chambrone L, Sukekava F, Araujo MG, Pustiglioni FE, Chambrone LA, Lima LA. Root coverage procedures for the treatment of localised recession-type defects. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009(2): CD007161.
7. Agudio G, Nieri M, Rotundo R, Cortellini P, Pini Prato G. Free Gingival Grafts to Increase Keratinized Tissue: A Retrospective Long-Term Evaluation (10 to 25 years) of Outcomes. *J Periodontol*. 2008; 79(4): 587-94.
8. Hatipoglu H, Yamalik N, Berberoglu A, Eratalay K. Impact of the distinct sampling area on volumetric features of gingival crevicular fluid. *J Periodontol*. 2007; 78(4): 705-15.
9. Cortellini P, Pini Prato G. Coronally advanced flap and combination therapy for root coverage. Clinical strategies based on scientific evidence and clinical experience. *Periodontol 2000*. 2012; 59(1): 158-84.
10. Goyal L, Gupta ND, Gupta N, Chawla K. Free Gingival Graft as a Single Step Procedure for Treatment of Mandibular Miller Class I and II Recession Defects. *World J Plast Surg*. 2019; 8(1): 12-7.
11. Bjorn H. Free transplantation of gingiva propria: Sveriges tandlakarforbrinds Tidning. 1963; 22: 684.
12. Pennel BM, Tabor JC, King KO, Towner JD, Fritz BD, Higgason JD. Free Masticatory Mucosa Graft. *J Periodontol*. 1969; 40(3): 162-6.
13. Fernandes JBVD, Nunes TP, Matayoshi S, Moura EdM. Enxerto de mucosa do palato duro: complicações na área doadora - Relato de casos. *Arq Bras Oftalmol*. 2003; 66: 884-6.
14. Farnoush A. Techniques for the protection and coverage of the donor sites in free soft tissue grafts. *J Periodontol*. 1978; 49(8) :403-5.
15. Burkhardt R, Lang NP. Fundamental principles in periodontal plastic surgery and mucosal augmentation--a narrative review. *J Clin Periodontol*. 2014; 41 Suppl 15: S98-107.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

16. Silva CO, Ribeiro Edel P, Sallum AW, Tatakis DN. Free gingival grafts: graft shrinkage and donor-site healing in smokers and non-smokers. *J Periodontol*. 2010; 81(5): 692-701.
17. Dias Murbach H, Jaques Ogawa G, Azevedo Borges F, Romeiro Miranda MC, Lopes R, Roberto de Barros N, et al. Ciprofloxacin Release Using Natural Rubber Latex Membranes as Carrier. *International Journal of Biomaterials*. 2014; 7.
18. Fahimipour F, Mahdian M, Houshmand B, Asnaashari M, Sadrabadi AN, Farashah SE, et al. The effect of He-Ne and Ga-Al-As laser light on the healing of hard palate mucosa of mice. *Lasers Med Sci*. 2013; 28(1): 93-100.
19. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*. 2009; 37(5): 1528-42.
20. Wilgus TA, Roy S, McDaniel JC. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(7): 379-88.
21. Ettlin DA, Hitz T, Ramel C, Meier ML, Roos M, Gallo LM et al. Quantitative sensory testing of intraoral open wounds. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013; 42(3): 401-5.
22. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med*. 2014; 6(265): 265sr6.
23. Brandao ML, Reis PR, Araujo LA, Araujo AC, Santos MH, Miguel MP. Evaluation of wound healing treated with latex derived from rubber trees and Aloe Vera extract in rats. *Acta Cir Bras*. 2016; 31(9): 570-7.
24. Iyyam Pillai S, Palsamy P, Subramanian S, Kandaswamy M. Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharm Biol*. 2010; 48(11): 1198-206.
25. Malpartida-Carrillo V, Tinedo-Lopez P-L, Guerrero M-E, Huamani-Echaccaya J-L, Özcan M, Rösing C-K. Outcome measurements following palatal soft tissue graft harvesting: A review. *J Clin Exp Dent*. 2021; 13(5): e527-e35.
26. Baghani Z, Kadkhodazadeh M. Periodontal dressing: a review article. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2013; 7(4): 183-91.
27. Kathariya R, Jain H, Jadhav T. To pack or not to pack: the current status of periodontal dressings. *J Appl Biomater*. 2015; 13(2): e73-86.
28. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins ML, Neiva R, Cochran DL, Mellonig JT, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva: results from a randomized, within-patient, controlled trial. *J Periodontol*. 2011; 82(10): 1414-23.
29. Andrade TA, Iyer A, Das PK, Foss NT, Garcia SB, Coutinho-Netto J, et al. The inflammatory stimulus of a natural latex biomembrane improves healing in mice. *Braz J Med Biol Res*. 2011; 44(10): 1036-47.
30. Edel A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. *J Clin Periodontol*. 1974; 1(4): 185-96.
31. Wirthlin MR, Yeager JE, Hancock EB, Gaugler RW. The Healing of Gingival Wounds in Miniature Swine. *J Periodontol*. 1980; 51(6): 318-27.
32. Jain V, Triveni MG, Kumar AB, Mehta DS. Role of platelet-rich-fibrin in enhancing palatal wound healing after free graft. *Contemp Clin Dent*. 2012; 3(Suppl 2): S240-3.
33. Shayesteh YS, Eshghyar N, Moslemi N, Dehghan MM, Motahhary P, Ghobadi Z, et al. The Effect of Platelet-Rich Plasma on Healing of Palatal Donor Site following Connective Tissue Harvesting: A Pilot Study in Dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012; 14(3): 428-33.

34. Almeida AL, Esper LA, Sbrana MC, Ribeiro IW, Kaizer RO. Utilization of low-intensity laser during healing of free gingival grafts. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27(4): 561-4.
35. Skopin MD, Molitor SC. Effects of near-infrared laser exposure in a cellular model of wound healing. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2009; 25(2): 75-80.
36. Demirtas Y, Yagmur C, Soylemez F, Ozturk N, Demir A. Management of split-thickness skin graft donor site: a prospective clinical trial for comparison of five different dressing materials. *Burns.* 2010; 36(7): 999-1005.
37. Harle S, Korhonen A, Kettunen JA, Seitsalo S. A randomised clinical trial of two different wound dressing materials for hip replacement patients. *Orthop Nurs.* 2005; 9(4): 205-10.
38. Kaiser D, Hafner J, Mayer D, French LE, Lauchli S. Alginate dressing and polyurethane film versus paraffin gauze in the treatment of split-thickness skin graft donor sites: a randomized controlled pilot study. *Adv Skin Wound Care.* 2013; 26(2): 67-73.
39. Shanmugam M, Kumar TS, Arun KV, Arun R, Karthik SJ. Clinical and histological evaluation of two dressing materials in the healing of palatal wounds. *J Indian Soc Periodontol.* 2010; 14(4): 241-4.
40. Siritientong T, Angspatt A, Ratanavaraporn J, Aramwit P. Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. *Pharm Res.* 2014; 31(1): 104-16.
41. Parmar JD, Hunjan PS, Brown AN, Telfer MR. Honey dressing use for the management of split thickness skin graft donor sites: a technical note. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 51(3): e40-e1.
42. Visavadia BG, Honeysett J, Danford MH. Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 46(1): 55-6.
43. Mrue F, Netto JC, Ceneviva R, Lachat JJ, Thomazini JA, Tambelini H. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. *Mater Res.* 2004; 7: 277-83.
44. Araujo MM, Massuda ET, Hyppolito MA. Anatomical and functional evaluation of tympanoplasty using a transitory natural latex biomembrane implant from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2012; 27: 566-71.
45. Almeida GFB, Cardoso MR, Zancanela DC, Bernardes LL, Norberto AMQ, Barros NR, et al. Controlled drug delivery system by fs-laser micromachined biocompatible rubber latex membranes. *Appl Surf Sci.* 2020; 506: 144762.
46. SADER SL, COUTINHO NETTO J, BARBIERI NETO J, MAZZETTO SA, ALVES JR. P, VANNI JC, et al. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2000; 15: 338-44.
47. Paulo NM, Lima FGd, Siqueira Júnior JTd, Fleury LFF, Sant' Ana FJFd, Borges AC, et al. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2005; 20: 305-10.
48. Pinho ECCMd, Sousa SJdFe, Schaud F, Lachat J-J, Coutinho-Netto J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. *Arq Bras Oftalmol.* 2004; 67: 27-32.
49. Balabanian CA, Coutinho-Netto J, Lamano-Carvalho TL, Lacerda SA, Brentegani LG. Biocompatibility of natural latex implanted into dental alveolus of rats. *J Oral Sci.* 2006; 48(4): 201-5.

50. Ganga MVM, Coutinho-Netto J, Colli BO, Marques Junior W, Catalão CHR, Santana RT, et al. Sciatic nerve regeneration in rats by a nerve conduit engineering with a membrane derived from natural latex. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012; 27: 885-91.
51. Oliveira JAAd, Hyppolito MA, Coutinho Netto J, Mrué F. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2003; 69: 649-55.
52. Frade MAC, Assis RVCd, Coutinho Netto J, Andrade TAMd, Foss NT. The vegetal biomembrane in the healing of chronic venous ulcers. *An Bras Dermatol*. 2012; 87: 45-51.
53. Cursi I, Andrade F, Netto J, Barbetta F, Foss N, Frade M. Management of diabetic skin wounds with a natural latex biomembrane. *Med Cutan Ibero Lat Am*, ISSN 0210-5187, Vol 32, Nº 3-4, 2004, pages 157-162. 2003; 32.
54. Frade M, Assis R, Netto J, Andrade T, Foss N. The vegetal biomembrane in the healing of chronic venous ulcers. *An Bras Dermatol*. 2012; 87: 45-51.
55. Tsai M-T, Lee IC, Lee Z-F, Liu H-L, Wang C-C, Choia Y-C, et al. In vivo investigation of temporal effects and drug delivery induced by transdermal microneedles with optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2016; 7(5): 1865-76.
56. Pichl CM, Dunkl B, Brauner B, Gabor F, Wirth M, Neutsch L. Biomimickry of UPEC Cytoinvasion: A Novel Concept for Improved Drug Delivery in UTI. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 2016; 5(1).
57. Yasmin R, Shah M, Khan SA, Ali R. Gelatin nanoparticles: a potential candidate for medical applications. *J Nanotechnology Reviews*. 2017; 6(2): 191-207.
58. Guerra NB, Sant'Ana Pegorin G, Boratto MH, de Barros NR, de Oliveira Graeff CF, Herculano RD. Biomedical applications of natural rubber latex from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Mater Sci Eng C*. 2021; 126: 112126.
59. Tanaka JL, Costa-Orlandi CB, Burd BS, Pegorin GS, da Silva TV, Guerra NB, et al. Natural rubber dressing loaded with silver sulfadiazine for the treatment of burn wounds infected with *Candida* spp. *Int J Biol Macromol*. 2021; 189: 597-606.
60. Rosa SdSRF, Rosa MFF, Fonseca MAM, Luz GVdS, Avila CFD, Domínguez AGD, et al. Evidence in Practice of Tissue Healing with Latex Biomembrane: Integrative Review. *J Diabetes Res*. 2019; 2019: 7457295.
61. Frade MAC. Atualização. *Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy*. 2004; 2(4).
62. Carvalho F, Uchina H, Azevedo Borges F, Oyafuso M, Herculano R, Gremiao M, et al. Natural membranes of *Hevea brasiliensis* latex as delivery system for *Casearia sylvestris* leaf components. *Rev Bras Farmacogn*. 2017; 28.
63. Saska S, Teixeira LN, Tambasco de Oliveira P, Minarelli Gaspar AM, Lima Ribeiro SJ, Messaddeq Y, et al. Bacterial cellulose-collagen nanocomposite for bone tissue engineering. *J Mat Chem B*. 2012; 22(41): 22102-12.
64. Phaechamud T, Issarayungyuen P, Pichayakorn W. Gentamicin sulfate-loaded porous natural rubber films for wound dressing. *Int J Biol Macromol*. 2016; 85: 634-44.
65. Barros N, Romeiro C, Azevedo Borges F, Mendonça R, Cilli E, Herculano R. Oxytocin Sustained Release Using Natural Rubber Latex Membranes. *Int J Pept Res Ther*. 2016; 22.
66. Barros NRd, Miranda MCR, Borges FA, Gemeinder JLP, Mendonça RJd, Cilli EM, et al. Natural rubber latex: Development and in vitro characterization of a future transdermal patch for enuresis treatment. *Int J Polym Mater*. 2017; 66(17): 871-6.

67. Cambraia Garms B, Azevedo Borges F, Santos R, Nigoghossian K, Romeiro C, Miranda I, et al. Characterization and Microbiological Application of Ciprofloxacin Loaded in Natural Rubber Latex Membranes. *Br J Pharm Res*. 2017; 15: 1-10.
68. Guidelli EJ, Ramos AP, Zaniquelli ME, Baffa O. Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Spectrochimica acta Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*. 2011; 82(1): 140-5.
69. Cabrera F, Agostini D, dos Santos R, Teixeira S, Rodríguez-Pérez M, Job A. Characterization of natural rubber/gold nanoparticles SERS-active substrate. *J Appl Polym Sci*. 2013; 130.
70. Spin JR, de Oliveira GJPL, Spin-Neto R, Herculano RD, Marcantonio RAC. Effect of natural latex membranes on wound repair of palate donor areas: A pilot randomized controlled trial study, including the membranes characterization. *Mater Today Commun*. 2021; 27: 102390.
71. Floriano JF, de Barros NR, Cinman JLF, da Silva RG, Loffredo AV, Borges FA, et al. Ketoprofen Loaded in Natural Rubber Latex Transdermal Patch for Tendinitis Treatment. *J Polym Environ*. 2018; 26(6): 2281-9.
72. Maestrelli F, Zerrouk N, Cirri M, Mura P. Comparative evaluation of polymeric and waxy microspheres for combined colon delivery of ascorbic acid and ketoprofen. *Int J Pharm*. 2015; 485(1-2): 365-73.
73. Rahbek I. Gastroscopic evaluation of the effect of a new anti-rheumatic compound, ketoprofen (19.583 R.P.), on the human gastric mucosa. A double-blind cross-over trial against acetylsalicylic acid. *Scand J Rheumatol Suppl*. 1976; 1976(0): 63-72.
74. Zancanela DC, Herculano RD, Funari CS, Marcos CM, Almeida AMF, Guastaldi AC. Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. *Mater. Lett*. 2017; 209: 39-42.
75. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 2002; 73 Suppl 1: S1-6.
76. Sehn E, Hernandez L, Franco SL, Gonçalves CC, Baesso ML. Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. *Analytica chimica acta*. 2009; 635(1): 115-20.
77. Boisard S, Le Ray AM, Landreau A, Kempf M, Cassisa V, Flurin C, et al. Antifungal and antibacterial metabolites from a French poplar type propolis. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2015; 2015: 319240.
78. Herculano R, Silva C, Ereno C, Guimaraes S, Kinoshita A, Graeff C. Natural Rubber Latex Used as Drug Delivery System in Guided Bone Regeneration (GBR). *J Mater*. 2009; 12: 253-6.
79. Herculano R, Guimarães S, Belmonte G, Duarte M, Oliveira O, Kinoshita A, et al. Metronidazole Release Using Natural Rubber Latex as Matrix. *J Mater*. 2010; 13: 57-61.
80. Frade M, Salathiel A, Mazzucato E, Nettob J, Foss M. A natural biomembrane as a new proposal for the treatment of pressure ulcers Biomembrana natural como uma nova proposta de tratamento para as úlceras de pressão. 2022.
81. Krupp T, Dos Santos BD, Gama LA, Silva JR, Arrais-Silva WW, de Souza NC, et al. NATURAL RUBBER - PROPOLIS MEMBRANE IMPROVES WOUND HEALING IN SECOND-DEGREE BURNING MODEL. *Int J Biol Macromol*. 2019; 131: 980-8.
82. Silva AJ, Silva JR, Souza NCd, Souto PCSJML. Membranes from latex with propolis for biomedical applications. 2014; 116: 235-8.

83. Possamai MM, Honório-França AC, Reinaque APB, França EL, Souto PCdS. Brazilian propolis: a natural product that improved the fungicidal activity by blood phagocytes. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 541018-.
84. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Longevity OMAC*. 2017; 2017: 1259510.
85. Martinotti S, Ranzato E. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns Trauma*. 2015; 3: 9-.
86. Dias SB, Fonseca MV, Dos Santos NC, Mathias IF, Martinho FC, Junior MS, et al. Effect of GaAlAs low-level laser therapy on the healing of human palate mucosa after connective tissue graft harvesting: randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2015; 30(6): 1695-702.
87. Romeiro Miranda M, Prezotti F, Azevedo Borges F, Barros N, Cury BSF, Herculano R, et al. Porosity effects of natural latex (*Hevea brasiliensis*) on release of compounds for biomedical applications. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2017; 28: 1-27.
88. Herculano R, Brunello C, Graeff C. Optimization of a Novel Nitric Oxide Sensor Using a Latex Rubber Matrix. *J Appl Sci*. 2007; 7.
89. Herculano RD, Silva CP, Ereno C, Guimaraes SAC, Kinoshita A, Graeff CFdO. Natural rubber latex used as drug delivery system in guided bone regeneration (GBR). *Mater Res*. 2009; 12: 253-6.
90. Funari CS, Carneiro RL, Creese ME, Leme GM, Cavalcheiro AJ, Hilder EF. On Track for a Truly Green Propolis—Fingerprinting Propolis Samples from Seven Countries by Means of a Fully Green Approach. *ACS Sustain Chem Eng*. 2016; 4(12): 7110-7.
91. Zancanela DC, Funari CS, Herculano RD, Mello VM, Rodrigues CM, Borges FA, et al. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. *Mater Sci Eng C*. 2019; 97: 576-82.
92. Dias Murbach H, Jaques Ogawa G, Azevedo Borges F, Romeiro Miranda MC, Lopes R, Roberto de Barros N, et al. Ciprofloxacin Release Using Natural Rubber Latex Membranes as Carrier. *Int J Biomater*. 2014; 2014: 157952.
93. Lima AdF, Pegorin GSA, Miranda MCR, Cachaneski-Lopes JP, Silva WdM, Borges FA, et al. Ibuprofen-loaded biocompatible latex membrane for drug release: Characterization and molecular modeling. 2021; 19: 22808000211005383.
94. Dawson W, Boot JR, Harvey J, Walker JR. The pharmacology of benoxaprofen with particular to effects on lipoxigenase product formation. *Eur J Rheumatol*. 1982; 5(2): 61-8.
95. Machado GC, Maher CG, Ferreira PH, Day RO, Pinheiro MB, Ferreira ML. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for spinal pain: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76(7): 1269-78.
96. Wongrakpanich S, Wongrakpanich A, Melhado K, Rangaswami J. A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging and disease*. 2018; 9(1): 143-50.
97. Baudot S, Milpied B, Larousse C. [Cutaneous side effects of ketoprofen gels: results of a study based on 337 cases]. *Therapie*. 1998; 53(2): 137-44.
98. Coaccioli S. Ketoprofen 2.5% gel: a clinical overview. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011; 15(8): 943-9.

99. Sardana V, Burzynski J, Zalzal P. Safety and efficacy of topical ketoprofen in transfersome gel in knee osteoarthritis: A systematic review. *Musculoskeletal care*. 2017; 15(2): 114-21.
 100. Ibrahim N, Wong SK, Mohamed IN, Mohamed N, Chin KY, Ima-Nirwana S, et al. Wound Healing Properties of Selected Natural Products. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(11).
 101. Hozzein WN, Badr G, Al Ghamdi AA, Sayed A, Al-Waili NS, Garraud O. Topical Application of Propolis Enhances Cutaneous Wound Healing by Promoting TGF- β /Smad-Mediated Collagen Production in a Streptozotocin-Induced Type I Diabetic Mouse Model. *Cell Physiol Biochem*. 2015; 37(3): 940-54.
 102. Boufadi YM, Soubhye J, Riazi A, Rousseau A, Vanhaeverbeek M, Nève J, et al. Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(2): 2327-45.
 103. Falcão SI, Vale N, Cos P, Gomes P, Freire C, Maes L, et al. In vitro evaluation of Portuguese propolis and floral sources for antiprotozoal, antibacterial and antifungal activity. *Phytother Res*. 2014; 28(3): 437-43.
 104. McLennan SV, Bonner J, Milne S, Lo L, Charlton A, Kurup S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2008; 16(5): 706-13.
 105. Henshaw FR, Bolton T, Nube V, Hood A, Veldhoen D, Pfrunder L, et al. Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study. *J Diabetes Complications*. 2014; 28(6): 850-7.
 106. Lotfy M, Badra G, Burham W, Alenzi FQ. Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep, infected wound in a patient with diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci*. 2006; 63(4): 171-3.
 107. Mirza RE, Fang MM, Weinheimer-Haus EM, Ennis WJ, Koh TJ. Sustained inflammasome activity in macrophages impairs wound healing in type 2 diabetic humans and mice. *Diabetes*. 2014; 63(3): 1103-14.
 108. Righi AA, Alves TR, Negri G, Marques LM, Breyer H, Salatino A. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *J Sci Food Agric*. 2011; 91(13): 2363-70.
 109. Graikou K, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I. Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *LWT - Food Science and Technology*. 2016; 65: 261-7.
 110. Tobaldini-Valerio FK, Bonfim-Mendonça PS, Rosseto HC, Bruschi ML, Henriques M, Negri M, et al. Propolis: a potential natural product to fight *Candida* species infections. 2016; 11(8): 1035-46.
 111. Wallace HA, Basehore BM, Zito PM. *Wound Healing Phases*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
112. Childs DR, Murthy AS. Overview of Wound Healing and Management. *Surg Clin N Am*. 2017; 97(1): 189-207.
 113. McCormack K, Brune K. Dissociation between the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A survey of their analgesic efficacy. *Drugs*. 1991; 41(4): 533-47.

114. Aravindaram A, Nandan R, Gowda D, Khan MJSRL. Development and evaluation of Ketoprofen loaded biopolymer based transdermal film. 2011; 3: 233-44.
115. Mazières B. Topical ketoprofen patch. *Drugs in R&D*. 2005; 6(6): 337-44.
116. Politis C, Schoenaers J, Jacobs R, Agbaje JO. Wound Healing Problems in the Mouth. *Front Physiol*. 2016; 7(507).
117. Kanokwiroon K, Teanpaisan R, Wititsuwannakul D, Hooper AB, Wititsuwannakul R. Antimicrobial activity of a protein purified from the latex of *Hevea brasiliensis* on oral microorganisms. *Mycoses*. 2008; 51(4): 301-7.
118. Van Parijs J, Broekaert WF, Goldstein IJ, Peumans WJ. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*. 1991; 183(2): 258-64.
119. Miranda MCR, Prezotti FG, Borges FA, Barros NR, Cury BSF, Herculano RD, et al. Porosity effects of natural latex (*Hevea brasiliensis*) on release of compounds for biomedical applications. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2017; 28(18): 2117-30.
120. Machado EG, Issa JP, Figueiredo FA, Santos GR, Galdeano EA, Alves MC, et al. A new heterologous fibrin sealant as scaffold to recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) and natural latex proteins for the repair of tibial bone defects. *Acta Histochem*. 2015; 117(3): 288-96.
121. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomed Pharmacother*. 2018; 98: 469-83.

APÊNDICE A

MATERIAL E MÉTODOS DOS ESTUDOS 1 E 2

ESTUDO 1

Esse projeto clínico, duplo-cego, controlado e randomizado foi aprovado pelo comitê de ética de pesquisa em humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr Unesp) (CEP: 1.215.131, em anexo) e submetido ao ReBEC (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos) sob o número U1111-1204-1637.

Seleção dos Pacientes

Os pacientes foram selecionados na Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista (UNESP). Foram selecionados 24 pacientes, com idade entre 30 e 70 anos que deveriam apresentar como critérios de inclusão:

- Indicação para realização de técnica de enxerto gengival livre; apresentar boa higiene oral (índice de placa e gengival <20%); ausência de periodontite; apresentar boa saúde sistêmica; possibilidade de retornar nos períodos pré-estabelecidos para realização de exames e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Como critérios de exclusão os pacientes deveriam apresentar as seguintes características: serem fumantes e/ou ex-fumantes; com problemas sistêmicos que contra indicasse a realização de cirurgia e/ou interferisse com a cicatrização (diabéticos, imunodeficiências, discrasias sanguíneas, entre outras); portadores de qualquer tipo de periodontite; pacientes que faziam uso crônico de medicamentos que influenciam na resposta biológica do tecido conjuntivo como por exemplo fármacos indicado para artrite, bloqueadores de cálcio e anticonvulsivos; pacientes que utilizavam cronicamente anti-inflamatórios e/ou antibióticos; portadores de bruxismo; etilistas; dependentes químicos; grávidas e lactantes; histórico de tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço ou quimioterápico.

Grupos e Tamanho da Amostra

Os pacientes desse estudo, ao concordarem em participar do trabalho e assinarem o termo de consentimento, foram divididos randomicamente em dois grupos, com 14 pacientes no grupo controle e 10 pacientes no grupo látex, diferindo de acordo com o tipo de proteção que foi aplicada ao leito doador no palato duro, proveniente da remoção do enxerto gengival livre: Grupo controle(GC): a ferida foi recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico; Grupo Látex(GL): a ferida foi recoberta com a membrana de látex e sobre ela foi colocada a placa acrílica associada ao cimento cirúrgico, como no grupo controle.

Confecção das Placas Acrílicas

Antes da realização do procedimento cirúrgico, dois meses antes foi realizado o tratamento básico periodontal, onde se incluía procedimentos de raspagem e instrução de higiene oral, bem como avaliação da forma como o paciente escovava os dentes, onde se orientava a forma correta de o fazer para garantir a saúde periodontal.^{[1][2][3][4][5][6][7][8][9][10][11][12][13][14][15][16][17][18][19][20][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30][31][32][33][34][35][36][37][38][39][40][41][42][43][44][45][46][47][48][49][50][51][52][53][54][55][56][57][58][59][60][61][62][63][64][65][66][67][68][69][70][71][72][73][74][75][76][77][78][79][80][81][82][83][84][85][86][87][88][89][90][91][92][93][94][95][96][97][98][99][100]} Todos os pacientes foram moldados uma semana antes ao procedimento cirúrgico, onde sob os moldes, foram confeccionadas placas de acrílico, no modelo de Hawley modificadas (Figura 1). Na região interna da placa, na altura de primeiros, segundo pré molares e primeiro molar foi criado um alívio para colocação do cimento cirúrgico.

Figura 1 - Placa acrílica confeccionada para proteção da região da ferida no palato



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Síntese da Membrana Natural de Látex

A membrana de látex natural utilizada nesse estudo foi sintetizada através da mistura de diferentes clones (RRIM 600 e PB 235) extraídos das árvores seringueiras (*Hevea brasiliensis*) (BDF Comércio de Produtos Agrícolas LTDA, Guaratã, São Paulo, Brasil). Após a extração, o látex foi centrifugado juntamente com amônia a 8000rpm para que posteriormente houvesse o isolamento e remoção das proteínas que estão relacionadas com as reações alérgicas. A confecção das membranas, realizada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara da Universidade Estadual Paulista – UNESP (FCFAR) no departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, foi executada pelo método de simples deposição, onde 2mL do látex foi depositado sobre uma placa circular de 5.00 ± 0.05 cm de diâmetro de inox. As membranas eram polimerizadas em temperatura ambiente sob luz ultravioleta por 48 horas. Ao final, essas apresentavam uma espessura de 0.512 ± 0.005 mm e poros menores que 50nm de diâmetro e as membranas eram então esterilizadas por gás de óxido de etileno.

Figura 2 - Membrana de látex para ser utilizada na ferida

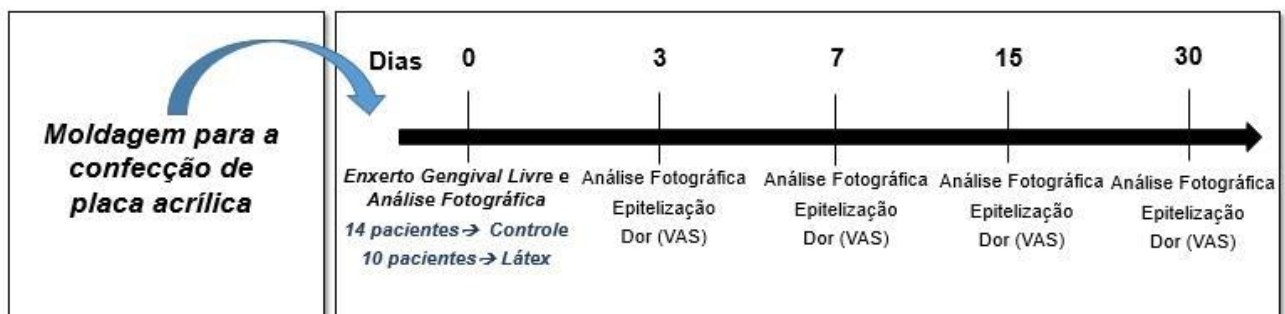


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Remoção dos Enxertos e Preparo do Leito Doador

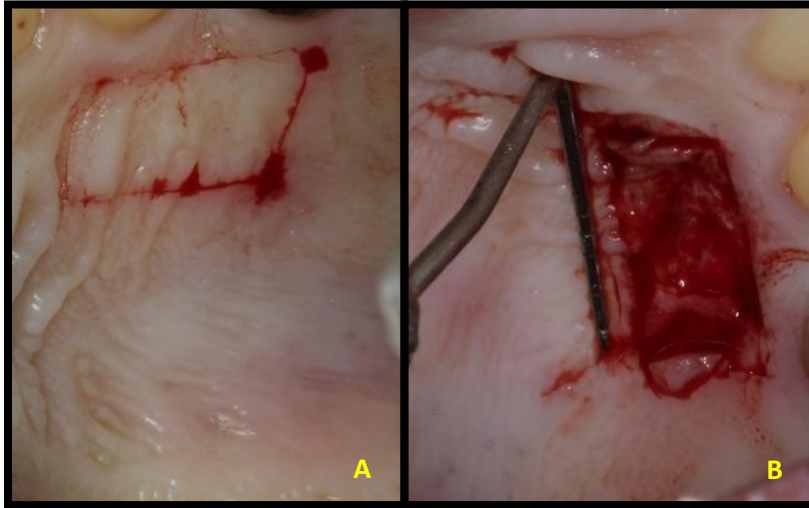
Imediatamente anterior ao procedimento cirúrgico, foi realizada uma antissepsia no campo operatório por meio de bochechos com digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard - Colgate, São Paulo) por 1 minuto e aplicação tópica na pele peri-oral de solução de iodo- povidina a 10%. Logo após, foi realizada anestesia local com Mepivacaína 3% (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e Epinefrina 1:200000 (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e o preparo dos leitos receptores e doadores. Na região palatina entre o primeiro pré-molar e o primeiro molar superior, 2mm abaixo das margens gengivais foi demarcada a região para remoção do enxerto, onde foi colocado um molde confeccionado de papel alumínio, que foi obtido de acordo com o tamanho do enxerto que deveria ser removido. Com o molde em posição, utilizando uma lâmina de bisturi 15C (Solidor - LAMEDID, Barueri - SP) foi feita a demarcação do tamanho do enxerto. Com a utilização de uma sonda milimetrada do modelo Williams (Golgran, São Caetano do Sul - SP) foi obtida a espessura do tecido a ser removido, padronizado em 2mm. Para a captação do enxerto, a lâmina de bisturi foi inserida cuidadosamente na margem anterior da área delimitada no palato duro e, então, levemente inclinada para que se pudesse iniciar o destacamento do enxerto da área doadora até que a lâmina alcançasse a margem posterior da incisão e o enxerto fosse removido. O sangramento da área doadora foi controlado por meio de pressão digital associada a utilização de gaze estéril embebida em soro fisiológico. Após o controle do sangramento foram executadas as primeiras medidas da área do leito cirúrgico.

Figura 3 - Diagrama dos grupos e períodos de observação



Fonte: Elaboração própria.

Figura 4 - Representação da obtenção da ferida cirúrgica nos pacientes



(A) Delimitação da área a ser retirada do palato, baseado no tamanho do leito receptor;
(B) Ferida remanescente no palato.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Um único examinador, calibrado realizou todos os exames e as tomadas fotográficas. Foram realizadas tomadas fotográficas padronizadas, usando a câmera Canon Rebel T5i com lente Canon Ef 100mm f/2.8 Macro Usm e flash Canon Macro Ring Light MR-14 EX II, das regiões das feridas nos períodos de baseline, 3, 7, 15 e 30 dias após o procedimento cirúrgico. No momento da obtenção das fotos uma sonda milimetrada do tipo Williams (Golgran, São Caetano do Sul - SP) foi colocada lateralmente a ferida de tal maneira que no momento da avaliação o tamanho das feridas pudessem ser padronizados independente do aumento utilizado (Figura 4 – B).^[SEP] Após a obtenção das fotos os pacientes foram distribuídos randomicamente através de sorteio, em 2 grupos:

- Grupo controle (GC): na parte interna da placa de acrílico foi colocado cimento cirúrgico (Pericem – Technew, Rio de Janeiro - RJ) e esta foi adaptada na região do palato de cada paciente.^[SEP]
- Grupo látex (GL): sobre a ferida cirúrgica foi adaptada uma membrana de látex (figura 2) que ultrapassava o defeito em 2mm em toda sua extensão e depois foi colocada a placa de acrílico como no grupo controle.

Após os períodos de 3, 7, 15 e 30 dias os pacientes retornavam para a realização de novos exames. Nos períodos de 3 e 7 dias a placa acrílica era removida e a ferida era lavada com soro fisiológico. Nestes períodos, após os exames, uma nova membrana de látex era colocada no grupo látex e a placa acrílica recolocada. No grupo controle, após a limpeza da ferida, a placa era recolocada. Após 15 dias de pós-operatório as placas foram removidas de todos os pacientes independente do grupo.

Avaliação Clínica

Análise fotográfica

As análises dos leitos doadores foram executadas nos períodos de baseline, 3, 7, 15, e 30 dias de pós-operatório. Uma sonda periodontal milimetrada do tipo Williams (Golgran, São Caetano do Sul - SP), foi posicionada ao lado da ferida no momento da obtenção das fotos. Essa imagem possibilitou que no momento da análise das fotos das feridas, utilizasse a sonda como uma escala e com isso calibrar o software de análise de imagens (Image J NIH, Bethesda, USA), facilitando dessa forma o cálculo da área total da região doadora.^[1] A porcentagem de redução da ferida foi executada por meio de análises fotográficas. As fotos obtidas foram agrupadas por paciente e codificadas. Um examinador não conhecedor dos grupos e calibrado (RSN) realizou a avaliação clínica.

Área de superfície epitelizada por meio da utilização da água oxigenada aplicada na região

A análise da epitelização foi executada utilizando de gaze molhada com peróxido de oxigênio a 3% para observar a presença de formação de bolhas na ferida. Quando do contato do peróxido de oxigênio produzisse a formação de bolhas, indicava a ausência de epitélio na região. Esse parâmetro foi anotado de forma dicotômica (Presença/ausência de bolhas), sendo anotado como sim ou não, respectivamente, na ficha do paciente.

Avaliação do auto relato de sensação dolorosa por meio da aplicação da escala de dor VAS

Para a análise de dor, nos períodos de acompanhamento de 3, 7, 15, e 30 dias os pacientes recebiam uma escala analógica visual (VAS), numerada de 0-10 na qual o valor 0 indica ausência total de dor e o valor 10 indica valor de dor extrema. Para a análise estatística dos dados os valores obtidos foram expressos em percentagem, sendo que o valor de 0 foi considerado 0% e de 10 considerado 100%. A escala foi apresentada ao paciente onde ele respondia o grau de dor nos diferentes períodos experimentais.

Protocolo de Cuidados Pós-operatório

Foi prescrito para todos os pacientes durante o período pós-operatório, Nimesulida (100mg) e Dipirona (500mg) por 3 dias, além de Amoxicilina (500mg) por 7 dias para consumo por via oral. Adicionalmente foi prescrito o colutório a base de gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard - Colgate, São Paulo - SP) por 14 dias. Junto ao protocolo, cuidados quanto à alimentação e a manutenção do curativo eram orientados aos pacientes, bem como as eventuais consequências do não seguimento de tais orientações, podendo haver desconfortos exacerbados, maior sensibilidade dolorosa e dificuldade de cicatrização.

Análise Estatística

Os dados da redução da ferida foram numéricos e devido a isso o teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar se os dados se distribuíram de acordo com o teorema da distribuição central. Caso os dados estivessem de acordo com a normalidade o teste t-não pareado seria aplicado para avaliar as diferenças entre os grupos em cada período de avaliação, enquanto que o teste Anova complementado por Tukey foi aplicado para avaliar longitudinalmente os dados dentro de cada grupo. Os dados da análise sangramento e da epitelização foram dicotômicos, e caso distribuídos de acordo com a normalidade seriam aplicados os testes do qui quadrado para a análise entre os grupos em cada período e pelo teste exato de Fischer dentro de cada grupo longitudinalmente. O software GraphPad Prism 6 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para execução das análises estatísticas. Todos os testes foram aplicados ao nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

ESTUDO 2

Esse projeto clínico, duplo-cego, controlado e randomizado foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CAAE: 01692818.8.0000.5416). Após a orientação sobre os riscos, benefícios da investigação clínica, todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Para todos os procedimentos foram asseguradas as normas da Biossegurança da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Seleção dos pacientes

Foram selecionados pacientes da Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, com idade entre 20 e 65 anos que tiveram indicação para realização do procedimento cirúrgico de enxerto gengival livre. Para inclusão na pesquisa, os pacientes deviam apresentar as seguintes características: ausência de periodontite e boa higiene oral (índice de placa e gengival <20%), boa saúde sistêmica, indicação para realização de técnica de enxerto gengival livre, possibilidade de retornar nos períodos pré-estabelecidos para realização de exames e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEPE da FOAr – UNESP. Como critérios de exclusão, os pacientes deveriam estar dentro das seguintes características: pacientes com problemas sistêmicos que contraindique a realização de cirurgia e/ou tenha interferência na cicatrização (pacientes com diabetes, imunodeficiências, discrasias sanguíneas, entre outras), pacientes fumantes e/ou ex-fumantes, pacientes que façam uso crônico de medicamentos que influenciam na resposta biológica do tecido conjuntivo como por exemplo fármacos indicados para artrite, bloqueadores de cálcio e anticonvulsivantes, pacientes que utilizam cronicamente anti-inflamatórios e/ou antibióticos, portadores de bruxismo, etilistas, dependentes químicos, grávidas e lactantes, histórico de tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço ou quimioterápico e pacientes alérgicos a própolis e/ou cetoprofeno.

Grupos e tamanho da amostra

O cálculo de amostra foi obtido tomando como por base o estudo de Dias e colaboradores em 2015¹, que avaliou o efeito da laserterapia sobre o fechamento do leito doador do palato proveniente da remoção de um enxerto gengival livre. No cálculo realizado nesse estudo os autores determinaram que o mínimo de variação para detecção de diferenças entre os grupos deveria ser de 30% com desvio padrão de 5%, e que determinando o poder β em 0.8 e o poder α em 0.05 em um teste estatístico bilateral seria necessária uma amostra mínima de 12 pacientes por grupo para receber os tratamentos. Os pacientes desse estudo foram divididos randomicamente em três grupos de acordo com o material que foi aplicado no leito doador no palato duro proveniente da remoção do enxerto gengival livre. Os grupos foram definidos como:

- Grupo controle (GC): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico;
- Grupo Látex + Cetoprofeno (LC): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex natural incorporada com cetoprofeno;
- Grupo Látex + Própolis (LP): A ferida foi recoberta com placa acrílica associada a membrana de látex natural com incorporação de própolis;

Confecção das placas acrílicas

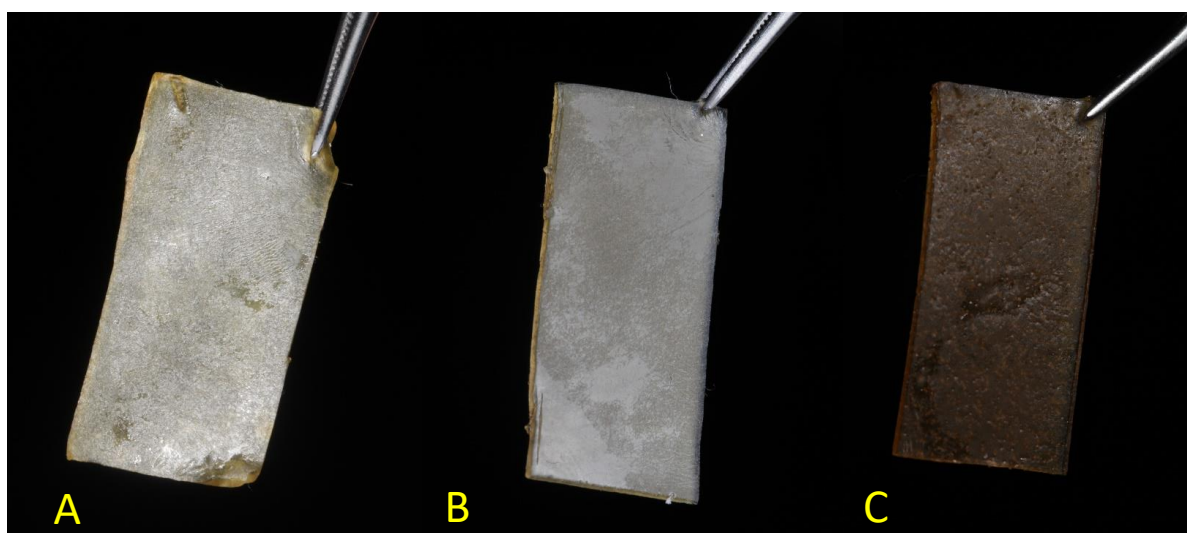
Uma semana antes da realização do procedimento cirúrgico, todos os pacientes foram moldados e sobre os moldes foram confeccionadas placas de acrílico, no modelo de Hawley modificadas. Na região interna da placa, na altura de primeiros, segundo pré-molares e primeiro molar foi realizado um alívio para colocação do cimento cirúrgico.

Fabricação da membrana de látex

As membranas utilizadas nesse estudo foram sintetizadas pela mistura de alguns clones (RRIM 600 e PB 235) extraídos das árvores seringueiras (*Hevea brasiliensis*) (BDF Comércio de Produtos Agrícolas LTDA, Guaratã, São Paulo, Brasil).

Após a extração, o látex foi centrifugado juntamente com amônia a 19.000 rpm para que, o isolamento e remoção das proteínas que estão relacionadas com as reações alérgicas ocorresse posteriormente. A confecção das membranas ocorreu pelo método de simples deposição, onde 2mL do látex foi depositado sobre uma placa circular de 5.00 ± 0.05 cm de diâmetro de inox. A polimerização das membranas ocorreu em temperatura ambiente sob luz ultravioleta por 48 horas, apresentando uma espessura de 0.512 ± 0.005 mm e poros menores que 50nm de diâmetro após o processo. Em seguida, as membranas eram então esterilizadas^{2,3}.

Figura 2 - Membranas de látex a serem utilizadas na ferida



A – Membrana de látex sem incorporação de compostos, apenas para comparação. B – Membrana com associação de cetoprofeno. C – Membrana com associação de própolis.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Incorporação da própolis ao látex

Um extrato de própolis (ApisFlora, Brasil) em solução de EtOH-H₂O (7:3 v/v) foi utilizado e a membrana própolis-látex foi obtida pela adição de 1 mL de extrato de própolis a 3 mL de látex natural em uma placa de petri e assim mantida em estufa por 24 horas⁴.

Incorporação do cetoprofeno ao látex

O fármaco foi incorporado pela mistura de 6 mL de látex natural com 4 mL de solução de cetoprofeno (10 mg/mL⁻¹). Estas membranas foram preparadas derramando a solução de látex + 4 mL de solução de cetoprofeno (10 mg mL⁻¹) numa placa de aço inoxidável com 5,00 ± 0,05 cm de diâmetro e 1,00 ± 0,01 mm de espessura, deixando a mistura dessa forma por 2 dias para garantir a polimerização total antes do uso.

Tratamento inicial pré-cirúrgico

Durante 2 meses anteriores à realização da cirurgia foi realizado tratamento periodontal básico onde todos os pacientes receberam orientação de higiene oral, raspagem e alisamento radicular de todos os dentes e controle de placa bacteriana.

Procedimentos cirúrgicos

Preparo do leito receptor

Os pacientes a serem submetidos aos procedimentos cirúrgicos apresentaram a combinação de vestibulo raso e/ou inserção alta de freio associado à ausência de faixa de gengiva queratinizada e relataram dificuldade ou desconforto durante os procedimentos de higienização em regiões associadas aos incisivos inferiores. Imediatamente anterior ao procedimento cirúrgico, foi realizada antissepsia no campo operatório com digluconato de clorexidina a 0,12%. Logo após, foi executada anestesia local com Mepivacaína 3% (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e Epinefrina 1:200000 (NOVA DFL, Rio de Janeiro - RJ) e o preparo dos leitos receptores e doadores. Na região do leito receptor do enxerto, foram feitas incisões na mesial e distal do defeito delimitando sua região. Uma incisão horizontal foi realizada para obter um retalho dividido, obtendo com isso o tamanho necessário para o enxerto gengival livre. Após o preparo do leito receptor, uma gaze embebida em soro fisiológico é mantida na região até o momento da adaptação do enxerto.

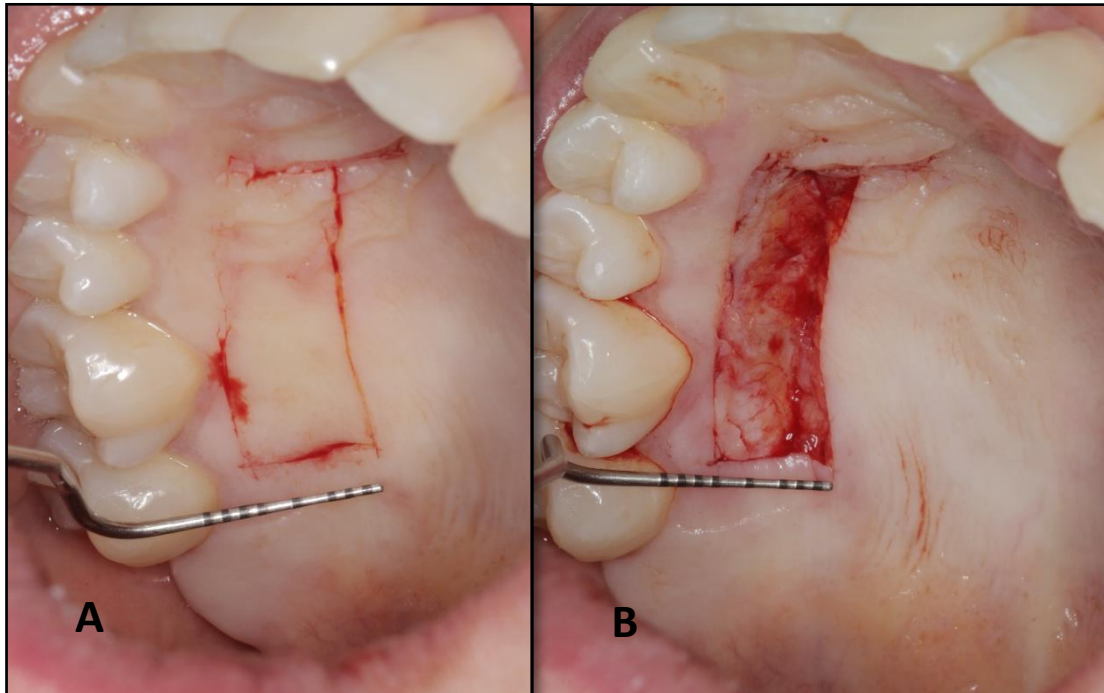
Remoção do enxerto e preparo do leito doador

Na região palatina, entre o primeiro pré-molar e o primeiro molar superior, 2 mm abaixo das margens gengivais é demarcada uma região para remoção do enxerto, onde foi colocado um molde confeccionado de papel alumínio, obtido de acordo com o tamanho do preparo do leito receptor. Com o molde em posição, utilizando uma lâmina de bisturi 15C (Solidor - LAMEDID, Barueri - SP) foi feita a demarcação do tamanho do enxerto.

Para a captação do enxerto, a lâmina de bisturi foi inserida cuidadosamente na margem anterior da área delimitada no palato duro e, então levemente inclinada para que se possa iniciar o destacamento do enxerto da área doadora até que a lâmina alcance a margem posterior da incisão. O sangramento da área doadora foi controlado por meio de pressão digital associada à utilização de gaze estéril embebida em soro fisiológico. O enxerto foi removido e estabilizado na área receptora por meio de fios de Nylon (5.0). A área é protegida por uma lâmina de alumínio esterilizada associada à inserção de cimento cirúrgico. O cimento foi trocado após 7 dias e totalmente removido, juntamente com as suturas no 14º dia de período pós-operatório.

Na região do palato, após o controle do sangramento, foram realizadas as primeiras medidas da área do leito cirúrgico e uma tomada fotográfica da região. As medidas foram realizadas com uma sonda periodontal tipo Willians (Golgran) que é utilizada para medir o tamanho e profundidade da ferida. Após a obtenção dos dados foi realizada uma tomada fotográfica com a sonda posicionada lateralmente a ferida. Essa imagem possibilita que no momento da análise das fotos das feridas, a sonda seja utilizada como uma escala para calibrar o software de análise de imagens (Image J NIH, Bethesda, USA), facilitando dessa forma o cálculo da área total da região doadora.

Figura 3 - Representação da obtenção do enxerto nos pacientes



(A) – Delimitação da área a ser retirada do palato, baseado no tamanho do leito receptor;
(B) – Ferida remanescente no palato.

Fonte: Arquivo pessoal do autor.

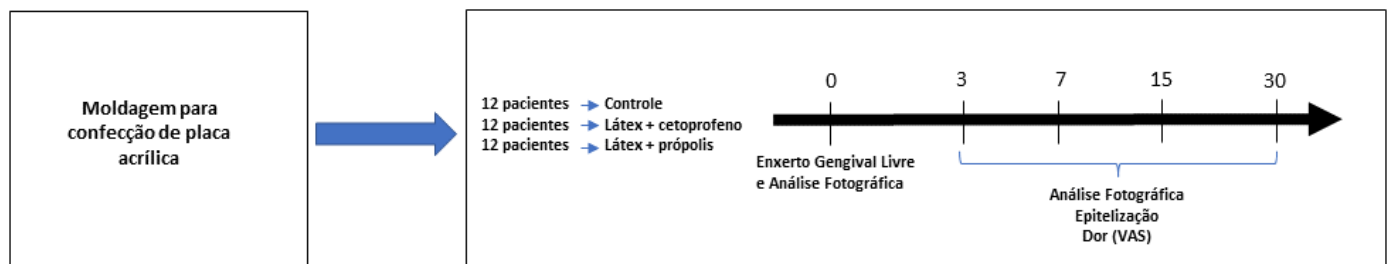
Randomização e cegamento

A randomização foi feita previamente aos procedimentos clínicos. Tal procedimento foi realizado no dia anterior aos tratamentos, quando do preparo das fichas clínicas e do equipamento que seria utilizado no momento dos procedimentos cirúrgicos. Utilizando-se um programa de computador foi obtida uma sequência de alocação aleatória. A sequência foi colocada em envelopes lacrados com o número do paciente e o grupo a que pertencia. O paciente e o pesquisador responsável pelas avaliações clínicas não tiveram conhecimento do tratamento que cada indivíduo recebeu.

Caracterização dos grupos

Após o sorteio os pacientes foram relocados em cada grupo, onde no grupo controle, na parte interna da placa de acrílico é colocado cimento cirúrgico (Pericem – Technew, Rio de Janeiro - RJ) e então a placa acrílica foi adaptada na região do palato de cada paciente. Nos grupos látex com associação dos fármacos, a membrana foi adaptada sobre a placa acrílica com cimento cirúrgico e então colocada sobre a ferida no palato. Após os períodos de 3, 7, 15 e 30 dias os pacientes retornam para a realização de novos exames. Nos períodos de 3 e 7 dias a placa acrílica foi removida e a ferida lavada com soro fisiológico. Nestes períodos, após os exames, uma nova membrana de látex foi colocada e a placa acrílica recolocada associada ao cimento cirúrgico. No grupo controle, após a limpeza da ferida, a placa é recolocada somente com novo cimento cirúrgico. Após 15 dias de pós-operatório as placas são removidas de todos os pacientes independente do grupo.

Figura 4 – Diagrama dos grupos e períodos de observação



Fonte: Elaboração própria.

Avaliação clínica

Um único pesquisador, não conhecedor dos grupos, realizou as avaliações clínicas e foi calibrado para os parâmetros utilizados. As análises clínicas foram: análise do fechamento da ferida, área de superfície epitelizada, avaliação do autorrelato de sensação dolorosa e da quantidade de medicamentos utilizados.

Análise do fechamento da ferida

As análises do fechamento da ferida foram realizadas nos períodos de 3, 7, 15, e 30 dias de pós-operatório. A porcentagem de redução do tamanho da ferida foi executada por meio de análises fotográficas. As fotos foram realizadas com uma câmera Canon Rebel T5i com a lente Ef 100mm f/2.8 Macro Usm e flash Canon Macro Ring Light MR-14 EX II. Foram feitas fotografias da região da ferida nos períodos de 3, 7, 15 e 30 dias após o procedimento cirúrgico. As fotos obtidas foram agrupadas por paciente e codificadas. Um examinador, não conhecedor dos grupos e calibrado (RSN) realizou a avaliação clínica. Para calibração, 10 fotos com diferentes períodos de análise, foram analisadas duas vezes com intervalo de 10 dias. Os valores obtidos foram analisados pelo teste Kappa para avaliar a reprodutibilidade intra-examinador na medida de tamanho da ferida. O valor obtido deveria ser maior que 0,8.

Área de superfície epitelizada após utilização de água oxigenada aplicada na região

A análise da epitelização da ferida foi feita utilizando-se uma gaze molhada com peróxido de oxigênio a 3% para observar a presença de formação de bolhas na ferida. Quando do contato do peróxido de oxigênio há produção de bolhas, indicando-se a ausência de epitélio na região¹⁶. Esse parâmetro foi anotado de forma dicotômica (Presença/ausência de bolhas), sendo anotado como sim ou não, respectivamente, na ficha do paciente.

Avaliação do autorrelato de sensação dolorosa

Para a análise de dor, foi entregue aos pacientes, nos períodos de acompanhamento de 3, 7, 15, e 30 dias uma escala analógica visual (VAS)²¹, numerada de 0-10 na qual o valor 0 indicava ausência total de dor e 10 indicava dor extrema. Para a análise estatística dos dados os valores obtidos são expressos em porcentagem, sendo que o valor 0 é considerado 0% e 10 considerado 100%. A escala era apresentada ao paciente onde ele respondia o grau de dor nos diferentes períodos experimentais.

Protocolo de Cuidados Pós-operatório

Foram prescritos para todos os pacientes durante o período pós-operatório, Nimesulida (100mg) e Dipirona (500mg) por 3 dias, além de Amoxicilina (500mg) por 7 dias para consumo por via oral. Adicionalmente foi prescrito colutório à base de gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard - Colgate, São Paulo - SP) por 14 dias. Junto ao protocolo, cuidados quanto à alimentação e a manutenção do curativo foram informados aos pacientes, bem como as eventuais consequências do não seguimento de tais orientações, podendo haver desconfortos exacerbados, maior sensibilidade dolorosa e dificuldade de cicatrização.

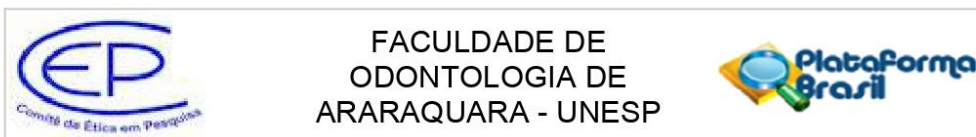
Análise estatística

Os parâmetros de área da ferida, redução da área da ferida, epitelização, avaliação do autorrelato de dor dos pacientes e avaliação de questionário referente aos medicamentos utilizados pelos pacientes, foram avaliados. Dados da área da ferida, epitelização e autorrelato dor (VAS) foram anotados em software dedicado (GraphPad Prism 8, GraphPad, San Diego, CA, EUA), que também foi usado para análise estatística. Com base nos dados da área da ferida, foi calculado em milímetros quadrados e a redução da área da ferida em porcentagem. Isso foi feito considerando o quanto restou da área original da ferida em cada período, subtraindo-se a área encontrada naquele período específico da área inicial. A área da ferida e os dados de fechamento da ferida foram avaliados pelo Teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os dados foram distribuídos normalmente. Para as comparações entre os grupos, em um mesmo período e, entre os períodos dentro de um mesmo grupo, foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey. A epitelização avaliada por meio do teste de qui-quadrado, para avaliar as diferenças entre os grupos, em cada período. O teste de McNemar foi usado para avaliar as diferenças entre os períodos, dentro de cada grupo. Os dados de dor autorrelatada foram convertidos em porcentagem, medindo-se a distância do início da escala analógica visual (VAS), até ao ponto marcado pelo paciente (ou seja, 0 foi convertido em 0% e 10 foi convertido para 100%). Para as comparações entre os grupos, em um mesmo período e, entre os períodos dentro de um mesmo grupo, foi utilizado o teste de ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey. Todos os testes foram aplicados com significância nível de 5% ($p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

1. Dias SB, Fonseca MV, Dos Santos NC, Mathias IF, Martinho FC, Junior MS et al. Effect of GaAIs low-level laser therapy on the healing of human palate mucosa after connective tissue graft harvesting: randomized clinical trial. *Lasers Med Sci.* 015; 30(6): 1695-702.
2. Ereno C, Guimarães SAC, Pasetto S, Herculano RD, Silva CP, Graeff CFO et al. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 95^a (3): 932-9.
3. Herculano RD, Silva CP, Ereno C, Guimaraes SAC, Kinoshita A, Graeff CFdO. Natural rubber latex used as drug delivery system in guided bone regeneration (GBR). *Mater Res.* 2009; 12: 253-6.
4. Mendonça RJ, Maurício VB, de Bortolli Teixeira L, Lachat JJ, Coutinho-Netto J. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Phytother Res.* 2010; 24(5): 764-8.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – Estudo 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da membrana de Látex Natural sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre: Estudo clínico, controlado e randomizado

Pesquisador: Elcio Marcantonio Junior

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 42475215.6.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.215.131

Apresentação do Projeto:

“Efeito da membrana de látex natural sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre: estudo clínico, controlado e randomizado”.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral desse ensaio clínico, controlado e randomizado será de avaliar o efeito de uma membrana de látex natural sobre o tempo de reparo completo de feridas no palato duro provenientes da remoção de enxerto gengival livre. Adicionalmente a isso, também serão avaliados os efeitos dessa membrana sobre a epitelização e sobre o auto relato de dor pelos pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos estão relacionados com os procedimentos cirúrgicos e com os efeitos de morbidade dos sítios operados no período pós operatórios. Durante a cirurgia poderá ocorrer reações alérgicas e hemorragias.

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

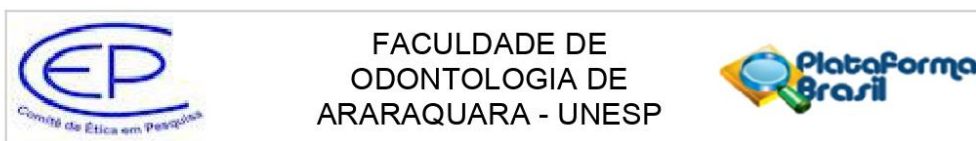
UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.215.131

Existe a possibilidade de dor, hemorragias, infecções e reações alérgicas ao látex no período de pós-operatório.

Benefícios: Como a membrana de látex natural tem demonstrado ser efetiva na cicatrização de feridas cutâneas crônicas em pacientes com comprometimento sistêmico, como o diabetes, sugerimos que essa membrana possa acelerar o processo de cicatrização das áreas doadoras e melhorar o conforto do paciente no período pós-operatório.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto trará excelente contribuição para a área ao qual se aplica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados, os pesquisadores ficaram de avisar ao CEP caso consigam financiamento para a pesquisa, até lá, constará financiamento próprio. Deixaram claro no TCLE e no protocolo que o paciente não terá custos com a cirurgia nem com a membrana de latex.

Recomendações:

Tomar o cuidado da assinatura do TCLE não ficar em página separada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram respondidas

Considerações Finais a critério do CEP:

Atendidas pendências de reunião, considero APROVADO o protocolo.

O pesquisador deverá encaminhar relatórios parciais a cada 01 (um) ano até o prazo final da pesquisa, quando deverá encaminhar o relatório final.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto-Efeito de uma membrana de latex natural sobre o reparo de feridas no palato.docx	03/03/2015 10:08:51		Aceito
Outros	Autorização Clínica C.pdf	03/03/2015 11:58:37		Aceito

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

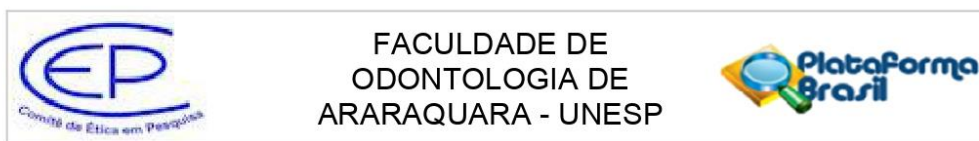
UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.215.131

Outros	Autorização Laboratório de Histopatologia e imagem.pdf	03/03/2015 11:58:45		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto Assinada.pdf	03/03/2015 11:58:26		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_474718.pdf	03/03/2015 11:59:35		Aceito
Outros	Resposta CEP 1.pdf	07/06/2015 22:00:59		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_474718.pdf	07/06/2015 22:01:26		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE Corrigido Elcio Marcantonio 2.doc	03/08/2015 21:58:01		Aceito
Outros	Resposta CEP 2.pdf	03/08/2015 21:58:31		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_474718.pdf	03/08/2015 22:13:30		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARARAQUARA, 04 de Setembro de 2015

Assinado por:

Lígia Antunes Pereira Pinelli
(Coordenador)

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

CEP: 14.801-903

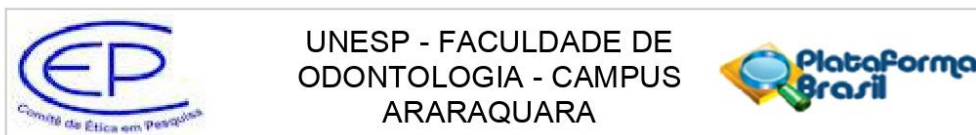
UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep@foar.unesp.br

ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – Estudo 2



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do Blue M® e da membrana de Látex Natural associada ao própolis e ao cetoprofeno sobre o reparo de áreas doadoras para enxerto gengival livre. Estudo clínico, controlado e randomizado

Pesquisador: Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 01692818.8.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.285.477

Apresentação do Projeto:

O objetivo geral desse estudo será avaliar o efeito de uma membrana de látex natural com associação de fármacos sobre o reparo de feridas no palato duro provenientes da captação do enxerto gengival livre e a comparação deste material com o Blue M. Adicionalmente a isso, também serão avaliados os efeitos dessa membrana sobre a epitelização, área da ferida e auto relato de dor pelos pacientes. 80 pacientes, entre 20 e 60 anos que apresentarem indicação para realização de enxerto gengival livre epitelizado participarão desse ensaio clínico, modelo paralelo, duplo-cego, controlado e randomizado. Os pacientes serão submetidos ao procedimento cirúrgico para remoção do enxerto gengival livre da área de palato duro. Após a remoção do enxerto os pacientes serão randomicamente alocados em um dos quatro grupos de acordo com o tratamento a ser utilizado para proteger a região doadora do enxerto: Grupo controle (GC): A ferida será recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico; Grupo Látex + Cetoprofeno (LC): A ferida será recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico e à membrana de látex incorporada com cetoprofeno, Grupo Látex + Própolis(LP): A ferida será recoberta com placa acrílica associada ao cimento cirúrgico e à membrana de látex incorporada com própolis, Grupo Blue M® (GB): 2ml do gel de Blue M será colocado sobre toda a ferida e recoberto com a placa acrílica. Serão feitas tomadas fotográficas padronizadas das regiões das feridas nos períodos de baseline, 3, 7, 15 e 30 dias. Um examinador cego aos grupos experimentais e calibrado irá realizar

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

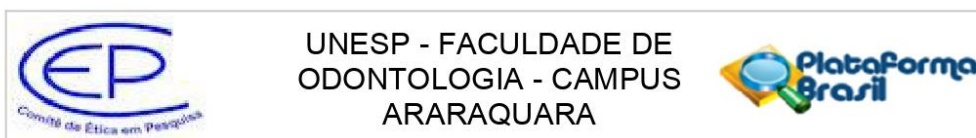
UF: SP

Telefone: (16)3301-6459

Município: ARARAQUARA

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 3.285.477

as avaliações clínicas, levando-se em consideração os parâmetros: 1) área de fechamento da ferida; 2) área de superfície epitelizada por meio da utilização de água oxigenada aplicada na região; 3) avaliação do auto relato de sensação dolorosa por meio da aplicação de uma escala de VAS (Escala analógica visual) e 4) marcadores para reparação tecidual através de coleta do exsudato com periopaper. Todos os dados gerados por esse estudo serão estatisticamente analisados com testes estatísticos que serão aplicados com nível de confiança de 95%.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral desse estudo será avaliar o efeito de uma membrana de látex natural com associação de fármacos sobre o reparo de feridas no palato duro provenientes da captação do enxerto gengival livre e a comparação deste material com o Blue M.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos da cirurgia para remoção de enxerto serão: sangramento durante e no pós-operatório e dor no período pós-operatório. Visando minimizar esses riscos presentes após o procedimento cirúrgico, além do cimento cirúrgico, membrana de látex nos grupos teste e da placa de acrílico, que auxiliam na proteção da ferida e consequente segurança para cicatrização da ferida, alguns cuidados também serão explanados aos pacientes como: não remoção da placa acrílica, ingestão de alimentos frios e gelados nas primeiras 24 horas, bochechos com clorexidina 3 vezes ao dia por 14 dias e não escovar a região que receberá o enxerto por 14 dias. Além disso será receitado Dipirona sódica (500mg), 1 comprimido em caso de dor. Além disso, para tal estudo, serão asseguradas as normas da Biossegurança da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Benefícios: Todos os pacientes são beneficiados, usando ou não os materiais que serão testados, uma vez que, como resultado obtido na dissertação de mestrado realizada pelo aluno, o grupo controle (placa acrílica + cimento cirúrgico) levou o mesmo tempo para ter o fechamento da ferida que o grupo que utilizou a membrana de látex. A proposta do trabalho é testar novos materiais para trazer mais efeitos benéficos aos pacientes, como uma cicatrização mais acelerada da área doadora de enxerto gengival livre e consequente menor sensação dolorosa. Sendo assim, não haverá prejuízo aos pacientes inclusive em um determinado grupo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem relevância e se justifica pela avaliação da relação risco/benefício.

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

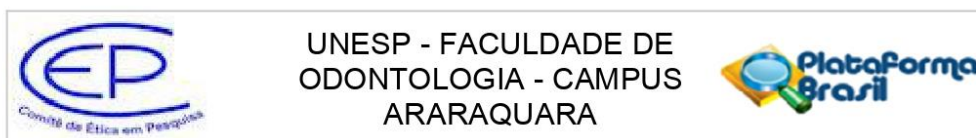
UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 3.285.477

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as solicitações foram devidamente atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Atendidas pendências de reunião, considero APROVADO o protocolo.

O pesquisador deverá encaminhar relatórios parciais a cada 01 (um) ano até o prazo final da pesquisa, quando deverá encaminhar o relatório final.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1141251.pdf	21/04/2019 21:49:27		Aceito
Outros	carta_resposta_abril.pdf	21/04/2019 21:48:51	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	21/04/2019 21:47:13	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final.pdf	21/04/2019 21:45:46	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	28/03/2019 20:05:21	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_nova_assinada.pdf	02/01/2019 14:55:54	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Orçamento	Orcamento_novo.pdf	22/10/2018 16:34:08	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoPesquisador.pdf	17/09/2018 13:12:00	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LabHistopatImagem.pdf	17/09/2018 13:11:12	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LabBiologiCelularMolecular.pdf	17/09/2018 13:10:39	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

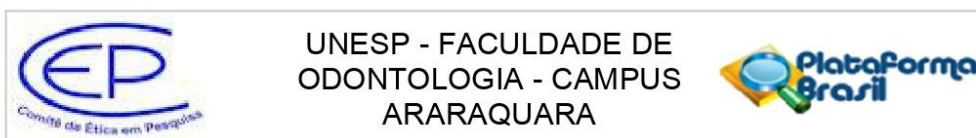
CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep@foar.unesp.br



Continuação do Parecer: 3.285.477

Declaração de Instituição e Infraestrutura	ClinicaC.pdf	17/09/2018 13:08:55	Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio	Aceito
--	--------------	------------------------	--	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARARAQUARA, 25 de Abril de 2019

Assinado por:
Andréa Gonçalves
(Coordenador(a))

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

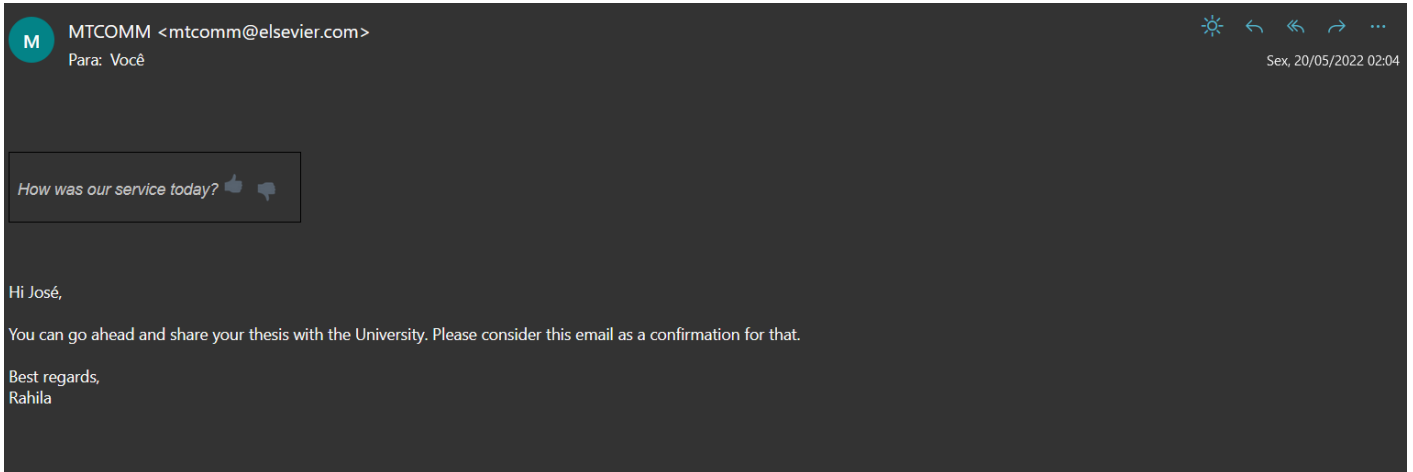
Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br

ANEXO C- AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DO ARTIGO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL



**NÃO AUTORIZO A PUBLICAÇÃO DESTE TRABALHO PELO PRAZO DE 2 ANOS (01 de
abril de 2024)**

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 01 de Abril de 2022.

José Rodolfo Spin