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

FELIPE LUCAS DA SILVA NEVES

EFEITO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NO RETALHO POSICIONADO CORONARIAMENTE PARA TRATAMENTO DE RECESSÕES GENGIVAIS: estudo clínico controlado randomizado

2019

FELIPE LUCAS DA SILVA NEVES

EFEITO DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NO RETALHO POSICIONADO CORONARIAMENTE PARA TRATAMENTO DE RECESSÕES GENGIVAIS: estudo clínico controlado randomizado

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

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

Orientador: Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria

São José dos Campos

2019

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2019]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

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

Neves, Felipe Lucas da Silva
Efeito de estimulação elétrica no retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais: estudo clínico controlado randomizado / Felipe Lucas da Silva Neves. - São José dos Campos : [s.n.], 2019.
91 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2019.
Orientador: Mauro Pedrine Santamaria.

1. Retração gengival. 2. Cirurgia plástica. 3. Estimulação elétrica. I. Santamaria, Mauro Pedrine, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

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

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardini
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Sérgio Lúcio de Castro Lopes
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

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

Profa. Dra. Emanuela Prado Ferraz
Universidade de São Paulo (USP)
Faculdade de Odontologia
São Paulo

São José dos Campos, 06 de fevereiro de 2019.

DEDICATÓRIA

A Deus acima de tudo, que nunca me deixou faltar força e coragem para trilhar novos caminhos e enfrentar o desconhecido na busca de uma vida cada vez mais repleta e digna.

Aos meus amados pais, Robson e Lucy, por todas as formas de apoio imprescindíveis para meu desenvolvimento até aqui e por terem sacrificado suas vidas para assegurar que meus irmãos e eu alcançássemos o verdadeiro êxito na vida. Amo vocês incondicionalmente e lhes dedico mais essa conquista.

Aos meus queridos irmãos Gabriel, Vinícius, Victor e Pedro, obrigado pela convivência divertida e pelas lições de vida, porque mesmo ainda tão jovens vocês me ensinam muito. Obrigado irmãos por preencherem minha existência de aventuras e fraternidade. Amo vocês imensamente!

Ao meu orientador, Prof. Mauro Pedrine Santamaria, que figura em minha vida como um dos principais responsáveis pelo meu desenvolvimento não somente acadêmico como também pessoal. Agradeço pela paciência ao orientar e pelos conselhos oportunos que me guiaram de forma sábia e eficaz. Obrigado pela amizade e por inspirar em mim o desejo de aprender cada dia mais.

AGRADECIMENTOS

À UNESP - Univ Estadual Paulista, na pessoa do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Estevão Tomomitsu Kimpara e da vice-diretora Profª. Rebeca Di Nicoló.

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

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal.

Aos meus grandes amigos dentro dessa emocionante jornada pela pós-graduação: Camila, Naira, Manuela, Nídia, Cássia, Amanda e Laís não tenho palavras para agradecer o apoio e os momentos compartilhados entre nós, que por muitas vezes abrandaram as dificuldades e suavizaram o caminho até aqui, obrigado meus amigos por fazerem parte dessa vitória!

Ao Prof. Dr. Marcio Antônio Mathias e ao Estevão dos Santos Gedraite pela orientação e montagem do equipamento de estimulação elétrica. Sem a assistência deles essa tese não aconteceria.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado (processo: 2016/07528-9) e o auxílio à pesquisa (processo: 2016/16102-5) que possibilitaram a aquisição dos materiais necessários para a realização deste trabalho.

"Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota".
(Madre Teresa de Calcutá)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 8
LISTA DE TABELAS 10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 12
RESUMO 14
ABSTRACT 15
1 INTRODUÇÃO 16
2 PROPOSIÇÃO 22
3 MATERIAL E MÉTODOS 23
3.1 População do estudo 23
3.1.1 Tamanho da amostra 23
3.1.2 Critérios de inclusão 24
3.1.3 Critérios de exclusão 25
3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa 25
3.2 Delineamento do estudo 26
3.3 Plano de pesquisa 26
3.3.1 Terapia inicial 26
3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento 27
3.3.3 Tratamento 28
3.3.4 Procedimento cirúrgico 28
3.3.5 Protocolo de estimulação elétrica 31
3.4 Avaliações clínicas 34
3.5 Medidas estéticas 38
3.5.1 Avaliação RES 39
3.5.2 Avaliação cosmética qualitativa (ACQ) 40
3.6 Medidas dos parâmetros centrados no paciente 41

3.7 Coleta das amostras e avaliação imunológica **42**
3.8 Análise estatística **43**
4 RESULTADOS **44**
4.1 Análise clínica **45**
4.1.1 RG **45**
4.1.2 PS **46**
4.1.3 NICR **46**
4.1.4 ATQ e ETQ **47**
4.1.6 RecRed **48**
4.1.7 Porcentagem de Recobrimento Radicular **49**
4.1.8 Frequência de Recobrimento Radicular Completo (RRC) **49**
4.2 Desconforto de pós-operatório **51**
4.3 Estética **52**
4.4 Análise imunológica **54**
4.5 Análise de correlação de Pearson **59**
4.6 Análise de regressão linear múltipla **61**
5 DISCUSSÃO **64**
6 CONCLUSÃO **79**
REFERÊNCIAS **80**
ANEXO **90**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Recessões gengivais afetando diversos dentes 17

Figura 2 – Possíveis resultados estéticos após 6 meses de recobrimento radicular pelo CAF 19

Figura 3 – Sequência cirúrgica. 31

Figura 4 – O produtor de sinal elétrico e aparelho 33

Figura 5 – Esquema representativo do método de estimulação 33

Figura 6 – Aplicação do estímulo elétrico durante o pós-operatório imediato 34

Figura 7 – Simulação da distribuição da corrente elétrica através dos tecidos moles periodontais 34

Figura 8 – Monitoramento da corrente elétrica e visualização da onda senoidal com os parâmetros adequados, através do osciloscópio Keysight EDUX1002G 35

Figura 9 – Stent individualizado e representação esquemática de algumas das medidas que foram realizadas. 38

Figura 10 – Escala VAS para análise estética e desconforto pós-operatório..... 42

Figura 11 – Diagrama de fluxo do estudo. 45

Figura 12 – Casos ilustrativos de cada grupo no pré-operatório e 180 dias após os procedimentos. 54

Figura 13 – Variação na concentração das citocinas em função do tempo para ambos os grupos (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25).. 59

Figura 14 – Correlações lineares entre os parâmetros clínicos e mediadores inflamatórios para o grupo teste (CAF+E n=25)... 61

Figura 15 – Correlações lineares entre os parâmetros clínicos e mediadores inflamatórios para o grupo controle (CAF+E n=25)... 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos dos pacientes incluídos na pesquisa (n=60)..... 46

Tabela 2 - Parâmetros clínicos no baseline (BL), 3 meses e 6 meses (n=60)..... 49

Tabela 3 - Mudanças nos parâmetros clínicos após 6 meses (n=60) 51

Tabela 4 - Mudanças nos parâmetros clínicos após 6 meses de recessões maiores que 3mm (n=38) 51

Tabela 5 - Desconforto no pós-operatório de 7 dias (n=60) 52

Tabela 6 - Valores de média e desvio-padrão para a avaliação estética (n=60).. 53

Tabela 7 - Concentração (pg/ml) de citocinas e fatores de crescimentos coletados do fluído crevicular (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25) 56

Tabela 8 - Concentração (pg/ml) de MMPs e TIMPs coletados do fluído crevicular (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)..... 58

Tabela 9 - Regressão Linear Múltipla utilizando as concentrações de marcadores inflamatórios (pg/ml) aos 7 dias pós-operatório como variáveis independentes para RecRed, Porcentagem de recobrimento, Dor e RES (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)..... 63

Tabela 10 - Regressão Linear Múltipla utilizando as concentrações de TIMPs e MMPs (pg/ml) aos 7 dias pósoperatório como variáveis independentes para RecRed, Porcentagem de recobrimento, Dor e RES (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25) 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACO	Altura da crista óssea
ACQ	Avaliação cosmética qualitativa
ALMG	Alinhamento da junção mucogengival
AP	Altura da papila
ATQ	Altura de tecido queratinizado
CAF	Coronally advanced flap
CEJ	Junção cemento-esmalte
CG	Cor do tecido gengival
CMG	Contorno da margem gengival
E	Eletroestimulação
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
ETQ	Espessura de tecido queratinizado
FCG	Fluido crevicular gengival
FGF-β	Fator de crescimento fibroblástico beta
HD	Hipersensibilidade dentinária
IL-1β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IP	Índice de placa
KHz	Kilohertz
LRG	Largura da recessão gengival
MCP-1α	Proteína quimiotática para monócitos 1-alfa
MG	Margem gengival
µA	Microampére

mA	Miliampére
mV	Milivolts
MIP-1α	Proteína inflamatória de macrófagos 1-alfa
MMP	Metaloproteinase da matriz
PI3K	Fosfatidilinusitol-3-quinase
PMPOI	Posição da margem gengival no pós-operatório imediato
pten	Fosfatase e homólogo da tensina
OS	Profundidade de sondagem
RES	Root scale coverage
RG	Recessão gengival
RRC	Recobrimento radicular completo
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TIMP	Inibidor tecidual de metaloproteinase
TNF-α	Fator de necrose tecidual alfa
TTG	Textura do tecido gengival
VAS	Visual analog scale
VEGF	Fator de crescimento endotélio-vascular

Neves FLS. Efeito de estimulação elétrica no retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais: estudo clínico controlado randomizado [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2019.

RESUMO

A recessão gengival é um problema muito comum na clínica odontológica, podendo afetar até 100% da população. Mesmo as melhores técnicas cirúrgicas para recobrimento radicular apresentam certa variação em seus resultados, e muitas estratégias são usadas para acelerar o processo de cicatrização. Uma delas é a aplicação de uma estimulação elétrica local para ativar o reparo tecidual. O objetivo deste estudo foi avaliar clinicamente e através da quantificação de diversos biomarcadores, os resultados de 6 meses do retalho posicionado coronalmente (CAF), associado ou não à um protocolo de eletroestimulação (E) para o tratamento de recessões gengivais. Para isso, 60 pacientes portadores de recessões gengivais unitárias Classe I e II de Miller, foram divididos em 2 grupos: CAF+E (n=30): retalho avançado coronalmente seguido de estimulação elétrica e grupo CAF (n=30): retalho avançado coronalmente e estimulação SHAM. Os resultados clínicos e centrados no paciente foram avaliados no baseline e 6 meses após os procedimentos. O fluido crevicular dos sítios tratados foi analisado para citocinas, colagenases e seus inibidores. Aos seis meses, ambos os grupos obtiveram porcentagem significativa de recobrimento e redução da recessão, sendo de 79,4 ±27,2% para o CAF e 85,9±17,4% para o CAF+E (p=0,6). O recobrimento radicular completo foi obtido em 53% e 56% dos defeitos tratados com CAF e CAF+E, respectivamente (p=0,9). Aos 7 dias, pacientes do grupo CAF+E relataram menor desconforto pós-operatório (p=0,04). A expressão de IL-1β, IL-6, TNF-α e VEGF foi reduzida significantemente no grupo CAF+E aos 7 e 14 dias (p<0,05), já a concentração das MMPs e TIMPs não mostrou diferença entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados. A estimulação elétrica não apresentou benefícios adicionais quando associada ao CAF em termos de recobrimento radicular para o tratamento de recessões gengivais. Entretanto, o protocolo de eletroterapia utilizado promoveu menor desconforto pós-operatório e modulação favorável dos marcadores inflamatórios durante a primeira semana de reparo.

Palavras-chave: Retração gengival. Cirurgia plástica. Estimulação elétrica.

Neves FLS. Electrical stimulation effect on coronally advanced flap for the treatment of gingival recession: randomized controlled clinical trial. [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2019.

ABSTRACT

Gingival recession is a very common problem in dentistry and can affect up to 100% of the population. Even the best surgical techniques for root coverage have some variation in their results, and many strategies are used to accelerate the healing process. The objective of this study was to evaluate clinically and through the quantification of several biomarkers, the 6-month results of the coronally advanced flap (CAF), associated or not to an electrostimulation protocol (E) for the treatment of gingival recessions. For this, 40 patients with Miller Class I and II gingival recessions were divided into 2 groups: CAF+E (n=20): advanced flap coronally followed by electrical stimulation and CAF group (n=20): advanced flap coronally and SHAM stimulation. Clinical and patient-centered outcomes were assessed at baseline and 6 months post-procedure. The crevicular fluid of the treated sites was analyzed for cytokines, collagenases and their inhibitors. At six months, both groups had a significant percentage of root coverage and recession reduction, being 79.4±27.2% for CAF and 85.9 ± 17.4% for CAF+E (p=0.6). Complete root coverage was obtained in 53% and 56% of the defects treated with CAF and CAF+E, respectively (p=0.9). At 7 days, patients in the CAF+E group reported less postoperative discomfort (p=0.04). The expression of IL-1β, IL-6, TNF-α and VEGF was significantly reduced in the CAF+E group at 7 and 14 days (p<0.05), whereas the concentration of MMPs and TIMPs showed no difference between groups in any of the evaluated periods. Electrical stimulation did not present additional benefits when associated with CAF in terms of root coverage for the treatment of gingival recessions. However, the electrotherapy protocol used promoted less postoperative discomfort and favorable modulation of inflammatory markers during the first week of healing.

Keywords: Gingival recession. Plastic surgery. Electrical stimulation.

1 INTRODUÇÃO

Recessão gengival é definida como o posicionamento apical da margem gengival em relação à junção cemento-esmalte, o que resulta na exposição radicular. Alguns estudos têm indicado que a escovação traumática e inflamação causada pelo biofilme são os principais fatores etiológicos para esta condição (Serino et al., 1994; Löe et al., 1992). A presença de recessão gengival pode trazer muitos efeitos negativos, como a hipersensibilidade dentinária, as queixas estéticas e predisposição para a cárie radicular e lesões cervicais não cariosas (Figura 1) (Goldstein et al., 2002; Toffenetti et al., 1998).

Figura 1 - Recessões gengivais afetando diversos dentes

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como resultado dos problemas clínicos causados pela presença da recessão gengival, mais de 750 estudos clínicos na literatura utilizaram várias técnicas para elucidar melhores opções de tratamento. Os resultados de revisões sistemáticas confirmam que o retalho posicionado coronariamente (CAF) sozinho ou combinado com biomateriais (proteínas derivadas da matriz do esmalte) e enxerto de tecido conjuntivo são as técnicas mais previsíveis para o recobrimento radicular em casos de defeitos gengivais do tipo recessão (Buti et al., 2013; Cairo et al., 2014; Sanz et al., 2014; Tonetti et al., 2014; Chambrone, Tatakis, 2015).

No entanto, mesmo as técnicas mais previsíveis demonstram alguma variabilidade nos resultados entre os estudos, com médias que variam entre 60% e 96% de recobrimento radicular. Esta variabilidade nos resultados é comum, mesmo em ensaios que apresentam rigorosos critérios de inclusão e exclusão para padronizar os defeitos de recessão, perfis dos participantes e cirurgiões altamente experientes a fim de eliminar a possível influência de outros fatores que não o efeito das terapias testadas. Adicionalmente a esta variabilidade em relação ao recobrimento radicular, podem ocorrer problemas estéticos, e alguns casos podem apresentar resultados estéticos indesejáveis (Figura. 2).

Figura 2 – Possíveis resultados estéticos após 6 meses de recobrimento radicular pelo CAF

Legenda: A figura superior esquerda e inferior esquerda mostram os elementos 13 e 14 apresentando retração gengival que foram tratadas com o CAF. A imagem superior direita mostra o resultado final de 6 meses após a cirurgia do elemento 13, apresentando ótimos resultados estéticos e de cobertura de raiz. A figura inferior direita mostra o elemento 14 após 6 meses de recobrimento pelo CAF, o resultado estético final é pobre, com presença de tecido cicatricial e o recobrimento parcial da raiz. Fonte: Elaborado pelo autor.

Essas variantes em termos de porcentagem de recobrimento radicular e os resultados estéticos podem ser explicados por diversos fatores: 1) diferentes níveis de treinamento dos operadores; 2) fatores anatômicos locais das recessões (tais como a altura e largura da papila, bem como espessura do tecido); e 3) diferenças no processo de cicatrização da ferida de cada paciente (Cortellini et

al., 2012; Santamaria et al., 2010; Vignoletti et al., 2015). Apenas o grau de experiência do operador pode ser abordado, restando assim os outros dois fatores que podem influenciar os resultados dos procedimentos de cirurgia periodontal. Portanto, a compreensão do processo de cicatrização de feridas que ocorre após uma cirurgia plástica periodontal pode ser crucial para o desenvolvimento de novas estratégias, bem como dispositivos que aceleram a cicatrização de feridas, o que pode melhorar os resultados de procedimentos para o recobrimento radicular e permitir resultados mais previsíveis.

Muitas estratégias têm sido utilizadas numa tentativa de acelerar e melhorar a reparação de feridas cirúrgicas, uma delas é a aplicação de um estímulo elétrico para ativar o reparo tecidual (Olyaee-Manesh et al., 2006). O corpo humano possui um sistema bioelétrico endógeno possibilitado pela carga assimétrica de íons presentes nos tecidos. A interação e movimentação de diferentes cargas nos tecidos favorecem a geração de potenciais elétricos. Com o advento de uma injúria tecidual, o potencial elétrico transepitelial sofre uma alteração local. A perda de integridade tecidual resulta, fisiologicamente, em um pequeno circuito elétrico de 10 a 60 mV, composto de cargas elétricas provindas principalmente dos íons como Ca2+, Na+, K+ e Cl-. A partir desse momento, o centro da ferida passa a exercer o papel de polo positivo (anodo), e o polo negativo (cátodo) passa a se localizar nas margens dos tecidos lesados. Essa disposição atrai células e fatores de crescimento em direção à área lesada, atribuindo um direcionamento à reparação tecidual. Tal fluxo direcional de partículas carregadas eletricamente é chamado de “corrente da injuria”, podendo ser medida a um raio de 2-3 mm do local lesado (Hunckler, de Mel, 2017). Acredita-se que a aplicação de campos elétricos semelhantes àqueles gerados naturalmente intensifica o processo de cicatrização, propiciando benefícios para a recuperação da forma e função tecidual. O aumento da migração celular ao local injuriado relaciona-se à ativação de vias de sinalizações intracelular

assimétricas, principalmente relacionadas às moléculas fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e pten (Fosfatase e Homólogo da Tensina). O aumento de receptores de fator de crescimento epidérmico (EGFR), integrinas e receptores de fator de crescimento endotélio-vascular (VEGFRs) são coadjuvantes no fluxo reparador direcionado à ferida (Zhao et al., 2010). Isto proporciona uma vantagem única para aplicação do estímulo elétrico como uma modalidade terapêutica, uma vez que a condução direcional da resposta de reparação é mantida enquanto o estímulo está presente, ao contrário da aplicação tópica de fatores de crescimento ou outros compostos de estimulação, que normalmente tem dificuldade de manter gradientes estáveis para sustentar respostas direcionais migratórias ou proliferativas. É importante notar que a sinalização elétrica parece ser um mecanismo de sinalização predominante para orientar a migração celular epitelial na cicatrização de feridas (Zhao et al., 2010).

Outro mecanismo pelo qual a estimulação elétrica induz remodelação do tecido é através da regulação dos fatores de crescimento. Um estudo revelou que a microcorrente foi efetiva em promover o fechamento de incisões em derme, associado a um alto nível de VEGF liberado nos primeiros 7 dias de reparo (Asadi et al., 2011). Portanto, a estimulação elétrica pode acelerar a remodelação do tecido através do aumento da produção de VEGF. No entanto, ainda não está claro como a estimulação elétrica afeta o tecido gengival inflamado. Em outro estudo, Tomofuji et al. (2013) avaliaram os efeitos da estimulação elétrica na remodelação do tecido gengival em um modelo de ratos com periodontite. Eles utilizaram 28 ratos machos, que foram divididos em quatro grupos. O grupo controle não recebeu qualquer tratamento por 6 semanas. Nos demais grupos, a periodontite foi induzida por ligadura durante 4 semanas. Após 4 semanas, os ratos com periodontite receberam estimulação eléctrica diária de 0, 50, ou 100 μA durante 2 semanas. O grupo com periodontite estimulado com 0 μA mostrou uma maior densidade de leucócitos

polimorfonucleares e uma menor densidade de colágeno no tecido gengival em comparação com o grupo de controle ($p < 0,05$). Os dois grupos restantes tratados com 50 ou 100 μA de estimulação elétrica exibiram uma densidade menor de leucócitos polimorfonucleares ($p < 0,05$) e uma maior densidade de colágeno do que o grupo estimulado com 0 μA ($p < 0,05$). Eles também mostraram menor expressão de genes para metaloproinases (MMPs) e inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs) que o grupo tratado com 0 μA de estimulação elétrica ($p < 0,05$). Os autores concluíram que a estimulação elétrica pode oferecer uma nova abordagem para promover a remodelação do tecido gengival em lesões periodontais.

Em uma recente revisão sistemática que investigou o efeito da estimulação elétrica na cura das úlceras dérmicas em relação ao tratamento habitual e/ou estimulação sham, os autores incluíram 21 RTCs. Após a realização de uma meta-análise, os autores concluíram que a estimulação elétrica parece aumentar a taxa de cicatrização da úlcera e podem ser superiores ao tratamento padrão (Barnes et al., 2014). Entretanto, apesar destes efeitos benéficos bem reconhecidos da estimulação elétrica em relação à cura de feridas em pele e no periodonto de ratos, com o melhor de nosso conhecimento, não há nenhum estudo clínico randomizado na literatura que avalia os seus efeitos no periodonto de humanos ou associados a procedimentos de cirurgia plástica periodontal bem como para o recobrimento radicular.

2 PROPOSIÇÃO

Assim os objetivos do presente estudo foram:

a) avaliar a partir do ponto de vista clínico, estético e de parâmetros centrados no paciente, os resultados da aplicação da estimulação elétrica associada à técnica de retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais;
b) avaliar a concentração de diversos marcadores inflamatórios, citocinas e fatores de crescimento durante o período de cicatrização de feridas de enxerto de tecido conjuntivo associado ou não a um protocolo de estimulação elétrica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta investigação foi desenhada como um estudo clínico randomizado de superioridade, paralelo e duplo-cego. O protocolo do estudo foi submetido ao ClinicalTrial.org (NCT02987231) e ao Comitê de Ética Institucional da Universidade Estadual Paulista (CEP-UNESP). O consentimento informado foi assinado por cada sujeito depois de uma explicação da natureza, riscos e benefícios da investigação clínica. A metodologia do presente estudo seguiu as normas do novo CONSORT-statement de 2010 (Moher et al., 2010).

3.1 População do estudo

Sessenta (60) pacientes da Clínica de Periodontia da Universidade Estadual Paulista-UNESP (São José dos Campos, Brasil), apresentando 60 recessões gengivais vestibulares em seus caninos ou pré-molares em maxila/mandíbula foram incluídos no estudo.

3.1.1 Tamanho da amostra

Para este estudo, foi considerada uma população de 60 pacientes apresentando recessão gengival que obedecessem aos critérios pré-estabelecidos (inclusão e exclusão). Para se chegar a essa amostra, o cálculo foi realizado da seguinte forma. Foi considerada uma diferença de 0,6mm entre os grupos

(clinicamente relevante) para a variável primária de recobrimento radicular depois de 6 meses. Com um power (poder) de 80%, alfa =0,05 e um desvio padrão esperado de 0,8 mm como descrito em estudos anteriores (Jepsen et al., 2013), uma amostra de 28 indivíduos por grupo seria necessária para atingir esse fim, usando o teste de variância como análise. Com uma amostra de 30 indivíduos por grupo, o estudo teve um poder maior que 80%.

3.1.2 Critérios de inclusão

a) pacientes entre 18 e 70 anos de ambos os sexos; que não apresentassem periodontites, índices de placa e sangramento de boca toda ≤ 20%;
b) pacientes que apresentassem recessão gengival classe I ou II de Miller, em caninos ou pré-molares; com vitalidade pulpar e raízes intactas, sem a presença de desgaste cervical ou cáries;
c) no dente incluído no estudo e nos elementos adjacentes as seguintes características foram observadas: profundidade de sondagem menor do que 3 mm; sem sangramento à sondagem (saúde periodontal) e sem perda de inserção nas áreas proximais e palatina;
d) assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios (Código de Ética Odontológico – C.F.O. Resolução n°. 118 de 11 maio de 2012).

3. 1.3 Critérios de Exclusão

a) pacientes com problemas sistêmicos (alterações cardiovasculares, discrasias sanguíneas, imunodeficiência, diabetes entre outras), que contra-indicassem o procedimento cirúrgico e de eletroestimulação;
b) pacientes que fizessem uso de medicação que sabidamente interferem na cicatrização ou que contraindiquem o procedimento cirúrgico, como drogas relacionadas ao crescimento gengival: fenitoína ciclosporina A, bloqueadores de canais de cálcio e drogas imunossuprerssoras como o Azathioprine e o Prednidolene;
c) pacientes gestantes ou lactantes;
d) pacientes fumantes;
e) pacientes já submetidos à cirurgia periodontal na área de interesse do presente estudo;
f) terapia ortodôntica em andamento.

3.1.4 Aspectos éticos da pesquisa

O estudo foi conduzido de acordo com o Código de Ética Profissional Odontológico, dentro do estabelecido pela Resolução número 118/12 do Conselho Nacional de Saúde/MS, para experimentos em humanos, após a devida aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição (ANEXO A).

Os pacientes foram esclarecidos quanto às características da recessão gengival, dos riscos e benefícios da terapia instituída pelo pesquisador. Apenas

os pacientes que concordaram com as condições pré-estabelecidas do estudo, confirmando a aceitação em consentimento formal, foram incluídos no mesmo.

3.2 Delineamento do estudo

Este foi um estudo do tipo clínico controlado duplo cego prospectivo com acompanhamento de 6 meses.

3.3 Plano de pesquisa

3.3.1 Terapia inicial

Todos os pacientes foram instruídos sobre as causas e consequências da recessão gengival, bem como sobre técnicas de prevenção. Os fatores relacionados com a formação da recessão gengival como escovação traumática e inflamação causada pelo biofilme foram controlados através de instrução da técnica de escovação padronizada para evitar a influência de métodos de higiene capazes de promover trauma nos tecidos moles. Para que a escovação deixe de ser traumática, é necessário readequar o hábito de escovar. Para isso os mesmos receberam informações sobre a etiologia do problema de recessão gengival e que a escovação desempenha um papel fundamental na sua formação e por consequência no tratamento. Os pacientes foram instruídos a realizarem a técnica de Fones (Fones, 1934), pois essa técnica é de fácil execução e pode ser

dominada mais facilmente pelos pacientes. Também foi recomendado evitar o excesso de pressão da escova contra os dentes, o que pode tornar qualquer técnica de escovação traumática. Além disso, foram fornecidos fio dental e escovas dentais macias padronizadas.

Os fatores de retenção de biofilme (cavidades de cárie, excesso de restaurações e cálculo supragengival) foram removidos nas visitas iniciais. Coleta dos parâmetros clínicos, realização de fotografia digital e de radiografias periapicais pela técnica do paralelismo também foram realizadas.

3.3.2 Randomização, ocultamento da alocação e cegamento

A randomização foi realizada da seguinte forma: uma pessoa externa ao projeto gerou uma sequência aleatória em computador para alocar os pacientes em cada grupo. Essa sequência foi colocada em envelopes pardos/opacos selados. Dentro de cada envelope havia o número do paciente e o tratamento, que foi revelado somente após o procedimento cirúrgico (na sequência de recrutamento). Essa medida teve como objetivo ocultar a sequência de randomização do pesquisador responsável pelas aferições dos parâmetros. Além do ocultamento da randomização (allocation concealment), os pacientes e o pesquisador responsável pelas medidas não sabiam qual tratamento cada indivíduo recebera, caracterizando o cegamento do estudo. As medidas de randomização e ocultamento da randomização estão de acordo com as normas do CONSORT 2010 (Moher et al., 2010).

3.3.3 Tratamento

a) grupo CAF+E (n=30): retalho posicionado coronariamente para recobrimento radicular por meio de retalho trapezoidal (de Sanctis, Zucchelli, 2007) associado à estimulação elétrica local;
b) grupo CAF (n=30): retalho posicionado coronariamente para recobrimento radicular por meio de retalho trapezoidal (de Sanctis, Zucchelli, 2007) e estimulação elétrica SHAM.

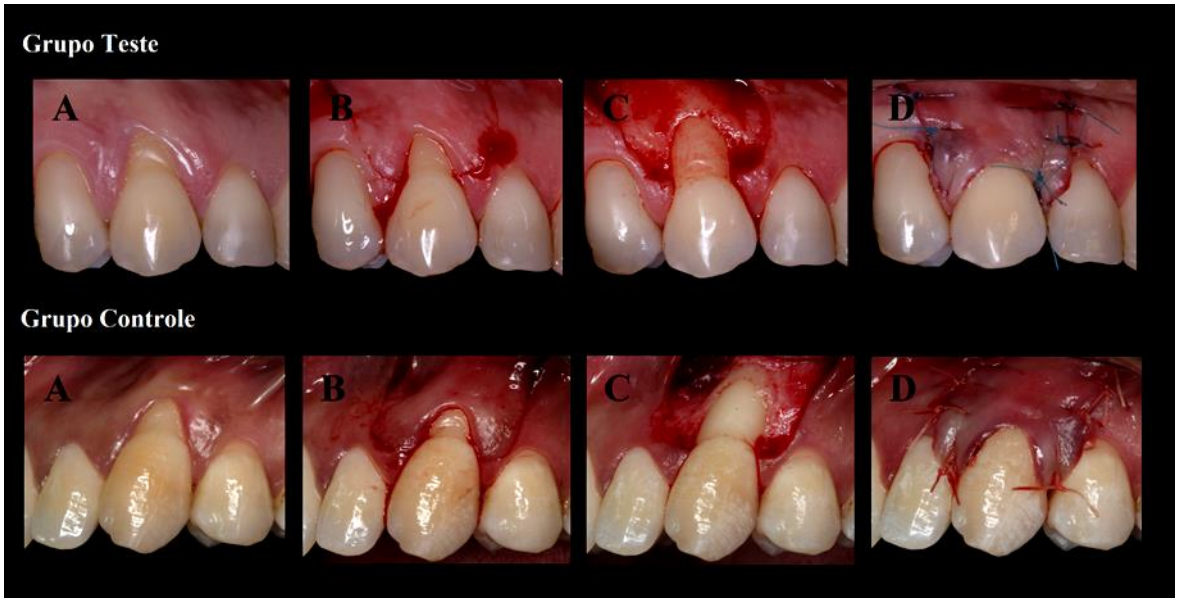
3.3.4 Procedimento cirúrgico

O tratamento cirúrgico foi realizado por um único operador (Felipe Lucas da Silva Neves) A seguinte sequência foi obedecida:

Os pacientes receberam medicação pré-operatória. Foi prescrito dexametesona 4 mg (Decadron®, Ache Laboratórios Farmacêuticos S.A. – Guarulhos – SP) uma hora antes do procedimento cirúrgico. Previamente ao procedimento cirúrgico foi realizada a antissepsia do paciente. Na região facial, foi passado Digluconato de Clorexidina 2% em gaze estéril na pele perioral. Também foi fornecida uma solução para bochecho de Digluconato de Clorexidina 0.12% (Periogard®, Colgate Palmolive Ltda – Osasco – SP) 10 ml, durante 1 minuto para antissepsia intra-oral. Após os procedimentos pré-operatórios, o paciente recebeu anestesia local injetável com Mepivacaina 2% com adrenalina 1:100.000 (Mepivacaina®, DFL – Rio de Janeiro – RJ) através de técnica infiltrativa. A técnica foi realizada da seguinte forma:

Com uma lâmina 15c (Surgi Blade® - Miami, FL – USA) montada em cabo de bisturi no3 foram feitas duas incisões horizontais nas bases das papilas mesial e distal do dente, em direção aos dentes adjacentes, tomando o cuidado para não tocar nos dentes vizinhos. A partir do final das incisões nas bases das papilas, duas incisões relaxantes partiram verticalmente oblíquas em direção apical que ultrapassaram a linha mucogengival para que o retalho tivesse mobilidade para o tracionamento coronário, dando um aspecto trapezoidal ao retalho. Em seguida, uma incisão sulcular foi feita para que as duas incisões horizontais nas papilas possam ser unidas. O retalho então foi deslocado com espessura parcial nas áreas das papilas cirúrgicas até 2 mm apicalmente da margem gengival, seguida de espessura total até exposição de 3 a 4mm da crista óssea e em seguida novamente dividido para conferir mobilidade ao retalho. Essa técnica está de acordo com de Sanctis e Zucchelli, (2007). Após o rebatimento do retalho, a raiz foi raspada e aplainada para propiciar uma boa adaptação do retalho sobre a mesma. Após a execução dos procedimentos de aplainamento da raiz, foi executada a remoção da camada epitelial das papilas incisionadas para que o tecido conjuntivo ficasse exposto. Antes que o retalho fosse posicionado coronariamente, a região foi lavada copiosamente com solução fisiológica para a remoção do coágulo permitindo um íntimo contato do retalho com o leito receptor. Então o retalho foi posicionado coronariamente em relação à posição inicial. Foi feita uma sutura suspensória para tração coronal do retalho e suturas simples nas incisões relaxantes. As suturas foram dadas com fio Vicryl® 6.0 (Ethicon Johnsons do Brasil SA, São José dos Campos). A figura 3 ilustra a sequência cirúrgica de caso de cada grupo.

Figura 3 - Sequência cirúrgica



Legenda: A) Pré-operatório; B) Incisões do retalho; C) Liberação do retalho; D) Reposicionamento do retalho coronariamente e suturas.
Fonte: Elaborado pelo autor.

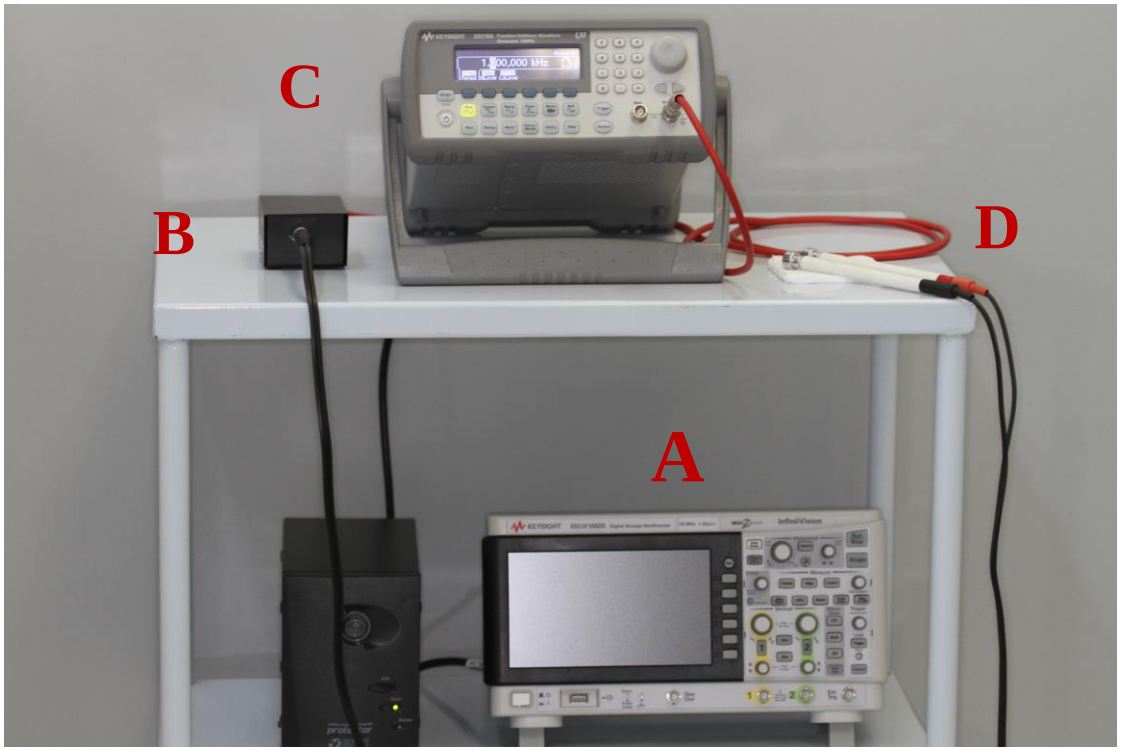
Após o procedimento cirúrgico, os pacientes receberam as seguintes recomendações pós-operatórias:

a) não ingerir bebidas alcóolicas;
b) evitar mexer na ferida cirúrgica;
c) não escovar a região por 14 dias;
d) nas primeiras 24 horas, ingerir somente alimentos, frios ou gelados (sorvete, iogurte, sulcos e gelatina);
e) fazer bochecho com digluconato de clorexidina 0.12% - Periogard® - de 12 em 12 horas, durante 14 dias;
f) tomar 1 comprimido de dipirona sódica 500mg a cada 4 horas somente em caso de dor.
g) as suturas foram removidas 14 dias após as cirurgias.

3.3.5 Protocolo de estimulação elétrica

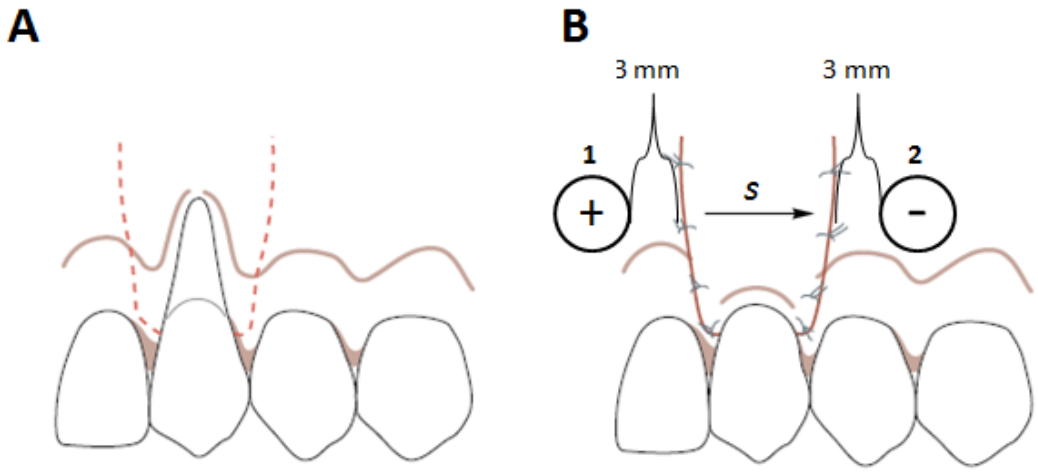
Para a estimulação elétrica, foi montada uma unidade consistindo de um gerador de sinal (Keysight Technologies., Inc., Santa Rosa-CA, USA), uma fonte de alimentação e placa de circuito, como demonstrado na Figura 4. Eletrodos condutores para aplicação de corrente elétrica foram aplicados na gengiva vestibular de cada lado do retalho, a uma distância média de 3 mm das incisões relaxantes e uma corrente alternada com intensidade de 100 μA em 9 kHz, foi distribuída de modo a travessar a região operada (Figuras 5 e 6). A figura 7 mostra uma simulação da distribuição da corrente elétrica e seu trajeto no tecido gengival (software GetDP 2.0.0; Onelab, 2010). Os pacientes receberam aplicações do estímulo durante 120 segundos, uma vez por dia durante 5 dias consecutivos. A corrente elétrica teve sua visualização otimizada através de um osciloscópio (Figura 8) (Keysight Technologies., Inc., Santa Rosa-CA, USA). Todas as aplicações foram realizadas por um único pesquisador envolvido no estudo (Camila Augusto Silveira). Os pacientes randomizados para o Grupo SHAM receberam a simulação do processo de estimulação elétrica.

Figura 4 – Unidade de eletroestimulação



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

Figura 5 - Esquema representativo do método de estimulação

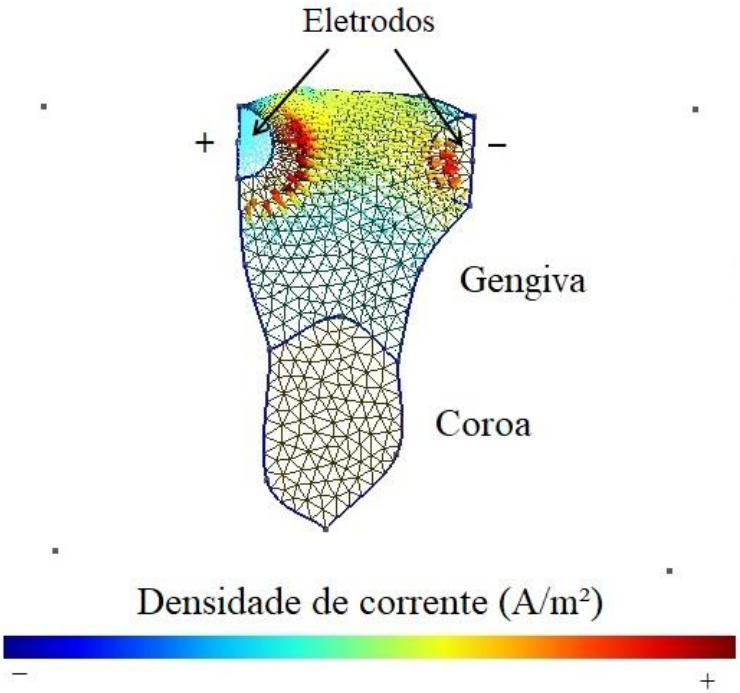


Legenda: A) recessão gengival no baseline. B) recessão gengival no pós-operatório imediato e posicionamento dos eletrodos. *S*: sentido da corrente elétrica aplicada.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 - Aplicação do estímulo elétrico durante o pós-operatório imediato

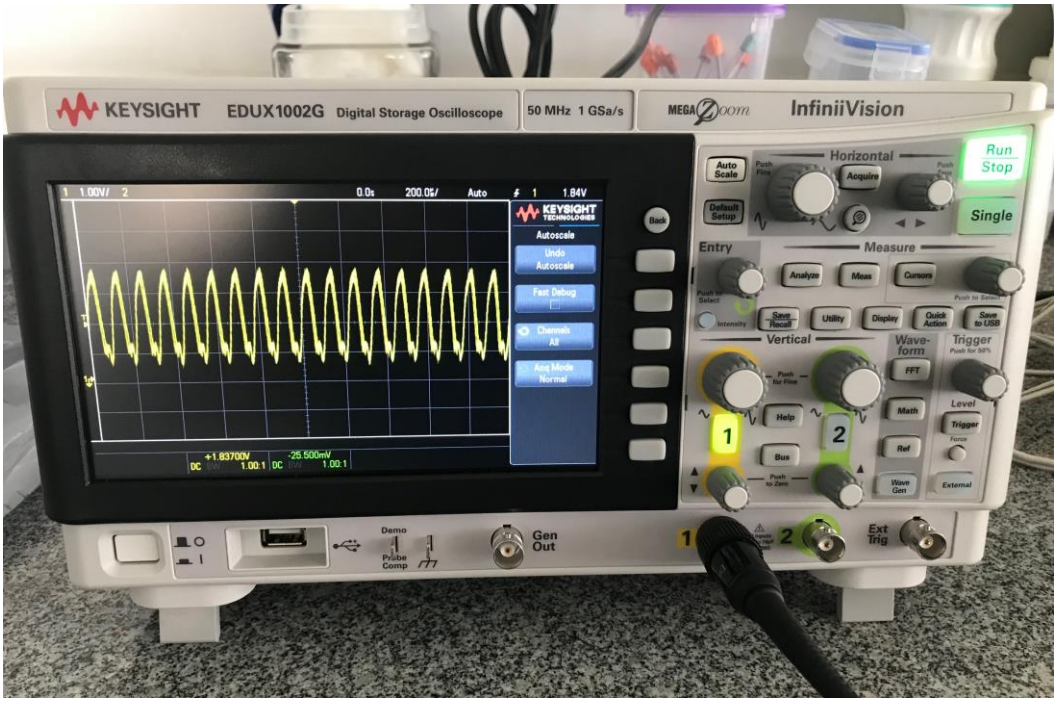
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7 – Simulação da distribuição da corrente elétrica através dos tecidos moles periodontais



Legenda: sinal positivo: cátodo; sinal negativo: anodo; cabeças de seta indicam o direcionamento do fluxo de elétrons; A/m²: Ampére por metro quadrado; Software GetDP 2.0.0; Onelab, 2010.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 - Monitoramento da corrente elétrica e visualização da onda senoidal com os parâmetros adequados, através do osciloscópio Keysight EDUX1002G



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Avaliações clínicas

Um único pesquisador (Manuela Maria Viana Miguel) ficou responsável pelas medidas dos parâmetros clínicos dos pacientes. O examinador do presente estudo foi julgado calibrado para a realização do mesmo. A calibração foi feita da seguinte forma: o examinador mediu os parâmetros de profundidade de sondagem e recessão gengival relativa de 10 pacientes duas vezes em um prazo de 24 horas. O teste Kappa foi utilizado para verificar a reprodutibilidade intra-examinador das medidas de profundidade de sondagem, cujo valor atingido foi

superior a 0,8. O teste de correlação intraclasse foi calculado para as medidas de recessão gengival relativa e o resultado foi superior a 0,8 de reprodutibilidade.

As seguintes medidas foram realizadas previamente ao procedimento cirúrgico (medidas iniciais) 3 e 6 meses após o procedimento cirúrgico. Para padronização da localização do exame e um ponto fixo para o mesmo, os pacientes foram moldados (moldagem parcial do dente incluído no estudo e dentes adjacentes) e com o modelo, foram confeccionados aparelhos orientadores com placas de acrílico rígidas de 1 mm de espessura em plastificador a vácuo (Stents).

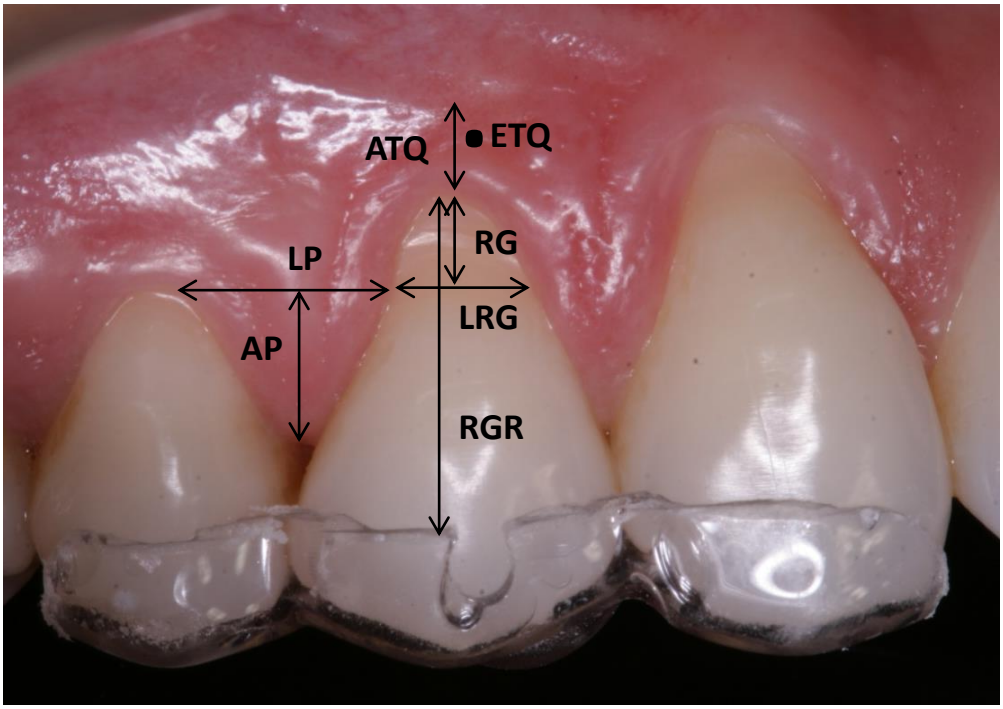
a) índice de placa – IP (Ainamo, Bay, 1975): Avaliação de presença e ausência de placa num padrão dicotômico: 0 – ausência de placa visível; 1 – presença de placa visível;
b) índice de sangramento gengival – IS (Ainamo, Bay, 1975): Avaliação da presença e ausência de sangramento na margem gengival num padrão dicotômico na boca toda e no dente incluído no estudo: 0 – ausência de sangramento; 1 – presença de sangramento;
c) altura da recessão gengival relativa - RGR: Distância em milímetros da margem gengival livre a um ponto de referência fixa (borda apical do stent de acrílico) no meio da face vestibular dos dentes incluídos no estudo;
d) largura recessão gengival - LRG: Distância em milímetros da margem mesial até a margem distal da recessão gengival na altura da junção cemento-esmalte.
e) profundidade de sondagem – PS: Distância em milímetros da margem gengival livre à base do sulco;
f) nível de inserção clínico relativo – NICR: Somatória entre RGR e PS;

g) altura de tecido queratinizado – ATQ: Distância vertical em milímetros medida a partir da margem gengival no centro da face vestibular dos dentes incluídos no estudo até a linha mucogengival;
h) espessura de tecido queratinizado – ETQ: Espessura da gengiva queratinizada medida na face vestibular dos dentes incluídos no estudo no ponto médio entre a linha mucogengival e a margem gengival;
i) altura das papilas – AP: Distância em milímetros entre as bases das papilas mesial e distal, adjacente ao defeito, até as pontas das mesmas.
j) largura das papilas – LP: Distância em milímetros entre a borda mesial e distal de cada papila adjacente ao defeito, na altura da junção cemento-esmalte;
k) altura da crista óssea – ACO: Distância em milímetros entre a crista óssea no centro da face vestibular até a junção cemento-esmalte, medida durante o procedimento cirúrgico;
l) posição da margem gengival no pós-operatório imediato – PMPOI: Medida em milímetros da distância da margem gengival logo após a sutura do retalho ter sido finalizada e a borda do stent;
m) hipersensibilidade dentinária- HD: Os indivíduos foram submetidos a uma rajada de jato de ar frio, durante 5 segundos, sobre a raiz exposta. Uma escala VAS (0 = sem dor, 10 = dor extrema) foi usada para registrar a HD relacionada com a presença do estímulo.

A presença de placa, SS, PS, RGR, NIC, e HD foram medidas no baseline, 3 e 6 meses após a cirurgia. ATQ e ETQ foram medidos no início do estudo e nos 6 meses de pós-operatório. Além disso, edema tecidual (ET) foi avaliado após sete dias do procedimento cirúrgico com o escore: 1 = ausente; 2 = ligeiro; 3 = moderado; ou 4 = grave (Sanz-Moliner et al., 2013).

As medidas referentes aos parâmetros clínicos foram feitas da seguinte forma: a profundidade de sondagem (PS) e a altura da crista óssea (ACO) foram feitas com sonda periodontal padronizada 15 mm – University North Carolina – UNC® (Hu-Friedy, Jacarepaguá - Rio de Janeiro). A espessura do tecido queratinizado (ETQ) foi feita com espaçador n°30 e cursor endodôntico (DentsplyMaillefer® Instruments S.A. - Balagues - Suíça) e quantificadas por um paquímetro digital com precisão centesimal. As medidas de recessão gengival relativa (RGR), largura da recessão gengival (LRG), altura da papila (AP), largura da papila (LP) e altura de tecido queratinizado (ATQ) foram obtidas com compasso de ponta seca e quantificadas por um paquímetro digital com precisão centesimal (Mitutoyo – Brasil).

Figura 9 - Stent individualizado e representação esquemática de algumas das medidas que foram realizadas



Legenda: RGR: recessão gengival relativa; RG: recessão gengival; LRG: largura da recessão gengival; ATQ: altura de tecido queratinizado; ETQ: espessura de tecido queratinizado; LP: largura da papila; AP: altura da papila.
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.5 Medidas estéticas

A avaliação estética foi realizada através de dois métodos que utilizaram fotografias pré e pós-operatória dos casos tratados. As tomadas fotográficas foram feitas de maneira padronizada por um único membro da equipe, utilizando o mesmo equipamento fotográfico seguindo as seguintes especificações: 1. Aumento da objetiva: 1:1 (macro 100). Isso gerou uma distância focal semelhante para todas as tomadas; 2 Condição de Luminosidade: As tomadas estão foram feitas sempre no mesmo local sobre condições de luz artificial, com o flash em módulo manual e regulado em potência de 1:16; 3. Velocidade de fechamento: 1/100; 4. Abertura: 29 (AV); 5. Resolução 18 mgp.

As fotografias de antes e após o procedimento foram montadas em um programa de apresentação (Microsoft PowerPoint 2010) para as avaliações. Previamente à realização das avaliações, três examinadores realizaram uma sessão de calibração com 20 defeitos tratados. Os examinadores foram julgados calibrados quando ambos atingiram um índice de concordância inter e intra-examinadores de 90% ou maior (K=0,9). Além disso, os examinadores estavam cegos aos tratamentos realizados em cada dente avaliado. As avaliações foram feitas pelo método RES (Cairo et al., 2009) modificada para esse estudo e pela Avaliação Cosmética Qualitativa (ACQ) (Kerner et al., 2009).

3.5.1 Avaliação RES

A primeira avaliação que foi feita é uma adaptação do método – RES - descrito por Cairo et al. (2009), o método RES utiliza um “score” que avalia os seguintes parâmetros:

a) margem gengival - MG: zero pontos: falha no recobrimento radicular (margem gengival na mesma posição antes do tratamento ou colocada apicalmente à posição inicial): 3 pontos: recobrimento parcial do defeito; 6 pontos: recobrimento total do defeito;
b) contorno da margem gengival - CMG: zero pontos: contorno irregular, sem seguir o padrão arqueado dos dentes vizinhos; 1 ponto: contorno gengival normal, seguindo o padrão em arcos dos dentes vizinhos;
c) textura do tecido Gengival – TTG: zero pontos: presença de cicatriz na área da incisão ou presença de queloide; 1 ponto: ausência de cicatriz na área da incisão ou presença de queloide;
d) Alinhamento da Junção Mucogengival - ALMG: zero pontos: a linha mucogengival não está alinhado com a linha dos dentes vizinhos; 1 ponto: a linha mucogengival está alinhado com a linha dos dentes vizinhos;
e) cor do tecido gengival – CG: zero pontos: a cor do tecido gengival do dente que recebeu o tratamento não é a mesma da cor do tecido dos dentes vizinhos; 1 ponto: a cor do tecido gengival do dente que recebeu o tratamento é a mesma da cor do tecido dos dentes vizinhos.

Os dentes incluídos no presente estudo receberam a pontuação de cada item analisado. Foram considerados estéticos os dentes que receberem pontuação igual a 10 pontos, parcialmente estéticos de 1 a 9 pontos e sem estética nenhuma 0 pontos. Além disso, foram considerados como 0 (zero) ou totalmente sem estética os dentes que apresentaram perda de papila (espaços negros interdentais) após os tratamentos.

3.5.2 Avaliação cosmética qualitativa (ACQ)

O segundo método de avaliação estética que foi utilizado é a Avaliação Cosmética Qualitativa de Kerner et al. (2009).

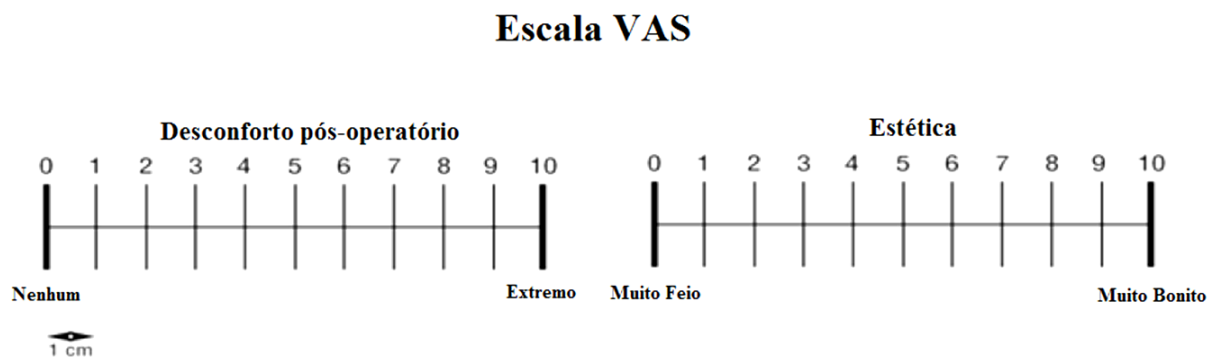
As fotos antes e após os procedimentos foram apresentadas simultaneamente no mesmo slide de forma aleatória de acordo com os procedimentos realizados. A apresentação foi feita em uma seção onde todos os avaliadores estavam presentes sendo que esses estavam cegos em relação aos procedimentos realizados. A estética final do caso foi pontuada pelos examinadores seguindo um “score” de acordo com a seguinte escala ordinal: 1) Ruim; 2) Regular; 3) Bom; 4) Muito bom; 5) Excelente. Os examinadores tiveram que julgar a estética global de cada defeito ao final do tratamento comparando com a foto do defeito antes do tratamento. Os examinadores tiveram a oportunidade de se recusarem a julgar a estética dos casos onde a documentação não permitir uma avaliação da estética.

3.6 Medidas de parâmetros centrados no paciente

Estética: Além da medida profissional da estética, que foi mensurada por meio da escala RES e ACQ acima descrito, a estética também foi aferida pelo ponto de vista do paciente envolvido na pesquisa. Com auxílio de um espelho de mão, o paciente visualizou a recessão gengival antes e após seis meses do procedimento sendo solicitado a marcar em uma escala VAS a estética do elemento em questão, onde o extremo esquerdo da escala representou “muito feio” e o direito “muito bonito” (Figura 10).

Desconforto pós-operatório: Ao final da primeira semana pós-operatório (7 dias) os pacientes receberam um questionário, onde questões acerca de ocorrência de desconforto e dor pós-operatória foram avaliadas por meio de uma escala VAS, onde os extremos da escala foram “nenhuma” e “extrema”. Além disso, os pacientes foram solicitados a relatar o número de analgésicos ingeridos durante aquela semana.

Figura 10 - Escala VAS para análise estética e desconforto pós-operatório



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.7 Coleta das amostras e avaliação imunológica

A coleta da amostra foi feita como descrito anteriormente (Santamaria et al., 2010). Resumidamente, fluido crevicular gengival (FCG) foi coletado a partir da região vestibular do local que recebeu o CAF. A amostragem foi realizada com a colocação de tiras de papel de filtro (PerioPaper, Oraflow, Plainview, NY, EUA) no sulco até que uma ligeira resistência fosse percebida e em seguida deixado no local por 45s. As tiras foram colocadas em tubos estéreis contendo 300 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS) com 0,05% de Tween-2. Tiras contaminadas por sangue visível foram descartadas. Todas as amostras de fluido crevicular gengival (FCG) foram armazenadas imediatamente a -80° C. As amostras foram coletadas no início (antes da cirurgia), e, 7, 14, 30, 60 e 90 dias após a cirurgia.

Níveis de Cito/quimiocinas e fatores de crescimento foram determinados por um imunoensaio de multiplex. Alíquotas de cada amostra FCG foram testadas usando um kit comercial humano (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA), a fim de avaliar os níveis dos seguintes marcadores inflamatórios: IL1β, IL6, IL10, TNFα, proteína inflamatória de macrófagos 1α (MIP-1α), proteína quimiotática para monócitos 1α (MCP-1α). Além disso, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 e VEGF também foram avaliados. Todos os ensaios foram realizados e analisados no laboratório da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP – Unicamp, SP), através do sistema Luminex (MiraiBio, Alameda, CA, EUA) e seguiram as instruções do fabricante. As concentrações das amostras (antígenos em amostras de fluido crevicular gengival) foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando proteínas padrão do kit e expressos como pg/mL.

3.8 Análise estatística

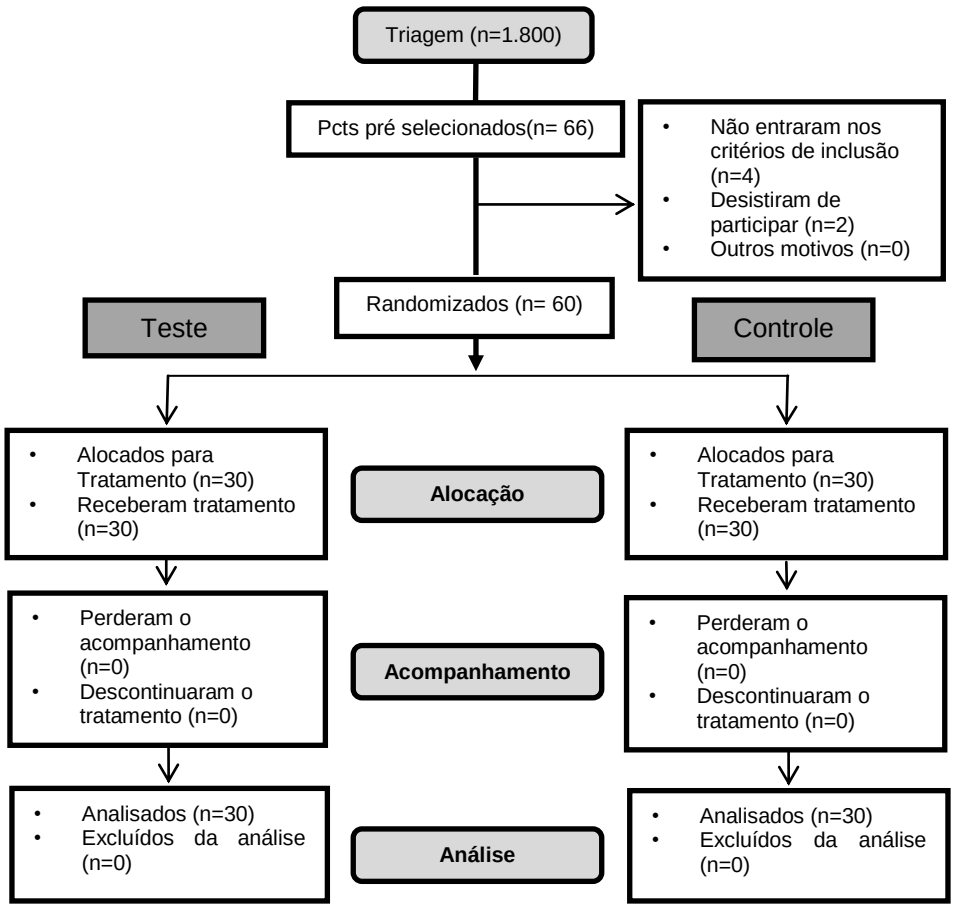
A estatística descritiva foi expressa como média ± desvio padrão (SD), e a normalidade foi testada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Valores referentes à PS, RGR, NIC, ETQ, ATQ, HD, e os marcadores inflamatórios / fatores de crescimento foram examinados por ANOVA de medidas repetidas para avaliar as diferenças dentro e entre os grupos, seguidas de um teste de Tukey para comparações múltiplas quando o valor de p Shapiro-Wilk $\geq 0,05$. Aqueles que apresentaram valores de p Shapiro-Wilk $<0,05$ foram analisados por meio do teste de Friedman (para comparações intragrupos) e teste de Mann-Whitney (para comparações intergrupos). Os valores de RES, os valores estéticos dos pacientes e as medidas de desconforto usando VAS foram analisados através do Teste T. A frequência de recobrimento radicular completo, o índice de sangramento, e a presença ou ausência da placa no local foi comparada usando testes $\chi 2$.

A relação linear entre as variáveis clínicas e citocinas foi avaliada através da correlação de Pearson. Além disso, os valores de cada biomarcador (inflamatório / fatores de crescimento marcadores) foram utilizados como variáveis independentes em um modelo de regressão linear múltipla para avaliar a sua influência sobre a porcentagem de recobrimento radicular e o valor final da RES. Um nível de significância de 0,05 foi adotado.

4 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 60 pacientes, sendo 39 mulheres e 21 homens. Dos 60 pacientes incluídos e tratados na pesquisa, 23 apresentavam recessões em caninos e 37 em pré-molares superiores e inferiores, totalizando 60 recessões. Os pacientes tinham idades entre 19 e 66 anos (média 41,13±11,4) (Tabela 1). O índice de placa e o índice gengival se mantiveram em níveis relativamente baixos durante todo o período de acompanhamento (<25%). A figura 11 mostra o diagrama de fluxo do estudo.

Figura 11 – Diagrama de fluxo do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 - Dados demográficos dos pacientes incluídos na pesquisa (n=60)

	CAF (n=30)	CAF+E (n=30)	p
Idade	42,4 ± 12,8	39,8 ± 10,14	0,3*
Gênero	12 homens 18 mulheres	9 homens 21 mulheres	0,5†
Dentes	12 Caninos (40%) 18 Pré-molares (60%)	11 Caninos (36,6%) 19 Pré-molares (63,4%)	0,8†

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

4.1 Análise clínica

A cada parâmetro avaliado, os dados foram expressos como média e desvio padrão. No período inicial não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos nos parâmetros avaliados (Tabela 2).

4.1.1 RG

Quando o parâmetro RG foi avaliado, os resultados mostraram haver diferença estatisticamente significante entre o baseline e o período de 6 meses de pós-operatório em ambos os grupos ($p < 0,001$), demonstrando recobrimento radicular significante ao longo do período de avaliação para ambos os grupos. Porém, quando a análise intergrupo foi realizada, não houve diferença

estatisticamente significante entre os grupos em qualquer período (p = 0,340). As médias ± dp para RG e as diferenças intra e intergrupo são apresentadas na tabela 2.

4.1.2 PS

O valor médio da PS foi de 1.7±0.42mm para o grupo controle e de 2.5±0.9mm para o grupo teste ao final do período de acompanhamento do estudo. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre o baseline e os períodos pós-operatórios em ambos os grupos (análise intragrupo). A análise intergrupo também revelou uma diferença estatisticamente significante aos 6 meses com relação a essa variável (p < 0,001) (Tabela 2).

4.1.3 NICR

Em relação ao nível de inserção clínico relativo, a análise intragrupo mostrou diferença estatística (p < 0,001) entre baseline e os outros tempos avaliados em ambos os grupos, com ganho significante no nível clínico de inserção. Quando a análise intergrupo foi realizada aos 6 meses, a diferença não foi estatisticamente significante (p = 0,2). Os valores estão apresentados na tabela 2.

4.1.4 ATQ e ETQ

Quando os valores iniciais (baseline) de ETQ foram comparados com os valores finais (6 meses) ficou constatado que nenhum dos grupos apresentou aumento estatisticamente significante de espessura de tecido queratinizado ($p > 0,05$). Da mesma forma, quando a análise entre os grupos foi realizada, nenhuma diferença foi vista no baseline ou aos 6 meses de pós-operatório ($p = 0,3$).

Com relação à ATQ, quando se realizou a análise intragrupo, não se observou diferença estatisticamente significante entre o baseline e o período de 6 meses para ambos os grupos ($p > 0,05$), demonstrando não haver um ganho significativo na altura de tecido queratinizado. Quando análise intergrupo foi realizada, também não observamos diferença significante entre os grupos ($p = 0,2$). As médias ± desvio-padrão para ETQ e ATQ estão dispostas na tabela 2.

4.1.5 HD

Quando o parâmetro HD foi avaliado, a análise intragrupo demonstrou que ambos os tratamentos foram eficazes em promover a redução estatisticamente significante desse parâmetro ao longo do período total de acompanhamento, conforme verificado através do valor médio de VAS e pelo percentual de episódios de desconforto relatados pelos pacientes. Na análise intergrupo não se observou diferença estatisticamente significante entre os períodos de baseline, 3 e 6 meses de acompanhamento ($p = 0,5$). As médias ± dp para HD são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros clínicos no baseline (BL), 3 meses e 6 meses (n=60)

Média±DP	CAF (n=30)			CAF+E (n=30)		
	BL	**3M**	**6M**	**BL**	**3M**	**6M**
RG (mm)	3,09±0,41Aa	0,55±0,6Ba	0,63±0,8Ba	3,26±0,6Aa	0,55±0,73Ba	0,47±0,61Ba
PS (mm)	1,38±0,38Aa	1,81±0,42Ba	1,7±0,42Ba	1,58±0,52Aa	2,35±0,86Bb	2,5±0,93Bb
NICR (mm)	11,01±1,7Aa	9,69±1,21Ba	9,65±1,23Ba	10,82±1,3Aa	9,04±1,76Ba	10,14±1,7Ba
HD (VAS)	3,03±2,6Aa	0,56±1,54Ba	0,16±0,46Ba	3,4±2,76Aa	0,86±1,97Ba	0,46±0,93Ba
% de episódio de HD (sim/não)	22/8 Aa*	7/23 Ba*	7/23 Ba*	22/8 Aa*	6/24 Ba*	4/26 Ba*
ATQ (mm)	2,1±1,28 Aa	--	2,13±1,3 Aa	1,93±0,9 Aa	--	2,38±1,3Aa
ETQ (mm)	1,0±0,46Aa	--	1,2±0,25Aa	1,06±0,33Aa	--	1,15±0,3Aa

Legenda: RG, Recessão Gengival; PS, Profundidade de Sondagem; NICR, Nível de Inserção Clínica Relativa; HD, Hipersensibilidade dentinária; ATQ, Altura do tecido queratinizado; ETQ, espessura do tecido queratinizado. Letras maiúsculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas; Letras minúsculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas; * Teste de Qui-Quadrado.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.6 RecRed

A RecRed representa a redução média da recessão gengival (em milímetros) dos dentes tratados em cada grupo. Essa redução foi observada tanto no grupo CAF (2,46 ± 0,90) como no grupo CAF+E (2,79± 0,72). Quando essas médias foram comparadas, não foi observada diferença estatisticamente significante na redução da RG em 6 meses de pós-operatório (p = 0,1) (Tabela 3). Entretanto, uma análise adicional envolvendo somente as recessões ≥ 3 mm

incluídas no estudo revelou uma diferença estatisticamente significante a favor do grupo teste (p = 0,04) (Tabela 4).

4.1.7 Porcentagem de Recobrimento Radicular

Em 6 meses, a porcentagem média de recobrimento radicular foi de 79,47±27,2% para o grupo CAF e 85,97±17,4% para o grupo CAF+E. Essa diferença não foi estatisticamente significante entre os grupos (p = 0,6) (Tabela 3).

4.1.8 Frequência de Recobrimento Radicular Completo (RRC)

A Frequência de recobrimento radicular completo representa o percentual de casos dentro de cada grupo onde a completa cobertura da RG foi obtida. Em 6 meses, verificamos que 16 casos (53,33%%) do grupo controle obtiveram recobrimento radicular completo (RRC) e 17 casos (56,66%) do grupo teste obtiveram RRC. Essa diferença intergrupo não foi estatisticamente significante (p = 0,9) (Tabela 3). A comparação da porcentagem de RRC das recessões ≥ 3mm também não revelou diferença entre os grupos quanto a essa variável (p > 0,05) (Tabela 4).

Tabela 3 - Mudanças nos parâmetros clínicos após 6 meses (n=60)

	CAF (n=30)	**CAF+E (n=30)**	***P***
RecRed (mm)	2,46 ± 0,90	2,79± 0,72	0,1*
% de recobrimento radicular	79,47±27,2%	85,97±17,4%	0,6†
Frequência de recobrimento radicular completo (RRC)	16 (53,33%)	17 (56,66%)	0,9∫

Legenda: RecRed, redução da recessão gengival;
* P Value – Teste T; † Mann-Whitney Rank Sum Test; ∫ P Value – Teste de Qui-Quadrado
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4 - Mudanças nos parâmetros clínicos após 6 meses de recessões maiores que 3 mm (n=38)

	CAF (n=18)	**CAF+E (n=20)**	***p***
Recessão gengival (mm)	3,36 ± 0,3	3,5 ± 0,5	0,4†
RecRed (mm)	2,55 ± 0,9	3,03± 0,73	0,09*
% de recobrimento radicular	75,9±24,5%	85,8±16,6%	0,2†
Frequência de recobrimento radicular completo	7 (38,9%)	11 (55%)	0,4∫

Legenda: RecRed, redução da recessão gengival; * P Value – Teste T; † Mann-Whitney Rank Sum Test
∫ P Value – Teste de Qui-Quadrado
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Desconforto pós-operatório

A avaliação da dor feita pelos próprios pacientes (escala *VAS)* aos 7 dias de pós-operatório demonstrou que o grupo teste experimentou um menor grau de desconforto na primeira semana quando comparado com o grupo controle (p = 0,04). Entretanto, com relação ao número de analgésicos ingeridos durante o mesmo período, não foi observada diferença estatisticamente significante entre os grupos (p = 0,53) (Tabela 5). Além disso, o edema tecidual (ET) foi avaliado após sete dias do procedimento cirúrgico com o escore: 1 = ausente; 2 = ligeiro; 3 = moderado; ou 4 = grave (Sanz-Moliner et al., 2013). A análise comparativa mostrou que não houve diferença intergrupo com relação à proporção de pacientes com presença/ausência de edema (p = 0,6).

Tabela 5 - Desconforto no pós-operatório de 7 dias (n=60)

	CAF (n=30)		**CAF+E (n=30)**		***P***
Número de Analgésicos	1,26±1,9		1,16±1,9		0,5*
Dor (VAS)	3,03±2,6		2,03±2,5		0,04*
Edema Tecidual (ET)	Ausente	Presente	Ausente	Presente	
	1	29	3	27	0,6†

Legenda: VAS: escala analógica visual; * P Value - Mann-Whitney Rank Sum Test; † P Value – Fisher Exact Test.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Estética

Os resultados da avaliação estética realizada pelos pacientes através da escala VAS demonstraram haver melhora estética estatisticamente significante para ambos os grupos após os 180 dias de pós-operatório ($p < 0,001$). Quando análise intergrupo foi realizada, não observamos diferença estatística significante entre o grupo teste e o grupo controle ($p = 0,4$).

Os resultados da avaliação estética profissional através da escala RES não mostraram diferença estatística entre as pontuações totais alcançadas pelos grupos teste e controle ($p = 0,5$). A avaliação cosmética qualitativa (ACQ) também não mostrou diferença estatística entre os grupos que revelaram porcentagens semelhantes para a soma de casos considerados como "muito bom" e "excelente" (Tabela 6).

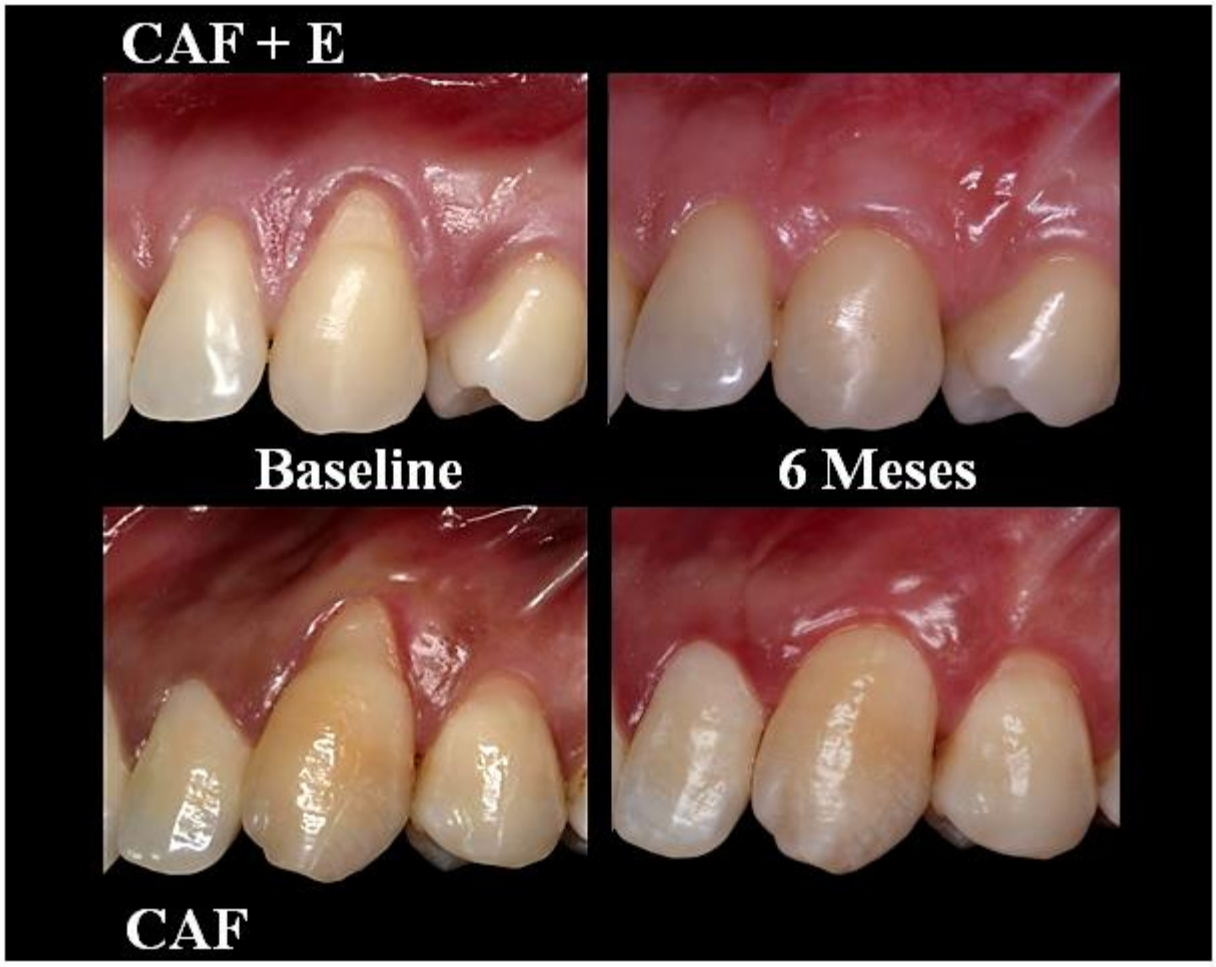
Tabela 6 - Valores de média e desvio-padrão para a avaliação estética (n=60)

Estética	**CAF (n=30)**		**CAF+E (n=30)**		***Valor de p*** (Intergrupo)
	Inicial	Final	Inicial	Final	
VAS	2,56±2,29 Aa	8,96±1,4 Ba	2,06±2,1 Aa	9,33±1,6 Ba	0,4*
RES	8,03±0,37		7,9±0,23		0,5†
ACQ	81,6%		71,6%		0,8∫

Legenda: VAS, escala analógica visual; RES, escala estética de recobrimento; ACQ, avaliação cosmética qualitativa; * Letras maiúsculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Letras minúsculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas. † Teste Mann-Whitney Rank Sum; ∫Teste Qui-quadrado.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Durante todo o período de acompanhamento a cicatrização ocorreu de forma satisfatória para ambos os grupos. Não foi observada a ocorrência de necrose tecidual ou qualquer outro tipo de complicação pós-operatória em nenhum dos pacientes operados. Os pacientes não apresentaram nenhuma reação adversa durante ou após o protocolo de eletroestimulação. A figura 12 mostra o pré-operatório e o resultado de 180 dias de um caso de cada grupo.

Figura 12 - Casos ilustrativos de cada grupo no pré-operatório e 180 dias após os procedimentos



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Análise Imunológica

O fluido crevicular gengival (FCG) dos sítios tratados nos grupos teste e controle foi coletado no baseline (BL), 7, 14, 30, 60 e 90 dias após os procedimentos. A análise intragrupo do CAF mostrou que aos 7 dias de pós-operatório, todas as onze citocinas avaliadas tiveram suas concentrações significantemente elevadas em comparação ao baseline ($p< 0,001$), ao passo que no grupo CAF+E somente IL-1β, IL-10, MIP-1 e TNF-α tiveram expressão significativa em comparação às concentrações iniciais. Aos 14 dias de pós-operatório, IL1β e VEGF ainda mantinham concentrações elevadas no grupo CAF em relação ao baseline ($p< 0,05$). Já no grupo CAF+E, nenhuma das citocinas avaliadas teve sua concentração elevada de forma significante nesse período, observando-se ainda que IL-6 sofreu uma redução significativa em sua expressão quando comparada ao baseline ($p = 0,006$). Não foram observadas diferenças intragrupo estatisticamente significantes nos outros períodos avaliados em nenhum dos grupos ($p> 0,05$).

A análise intergrupo mostrou que no baseline ambos os grupos apresentaram concentrações similares para todas as citocinas avaliadas, sem diferença estatisticamente significante entre os grupos ($p = 0,7$). Aos 7 dias de pós-operatório, o grupo CAF apresentou concentrações significantemente mais elevadas de IL-1β, IL-6, MCP-1, TNF-α e VEGF quando comparado com o grupo CAF+E ($p< 0,05$). Aos 14 dias foi observada diferença estatisticamente significante entre os grupos em relação à concentração de IL-1β, IL-6, TNF-α e VEGF, que continuaram a ser mais expressas no grupo controle. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos nos outros períodos avaliados ($p = 0,6$). A tabela 7 mostra as concentrações das citocinas alvo para os sítios teste e controle nos diversos períodos.

Tabela 7 - Concentração (pg/ml) de citocinas e fatores de crescimentos coletados do fluído crevicular (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)

Grupos	Marcador	Tempo					
		BL	7	14	30	60	90
	IL-1β						
CAF		5,3±4,3Aa	30±29,5Ba	14,7±16,1Ba	7,9±8,1Aa	7,3±7Aa	10,4±11Aa
CAF+E		4,7±4,6Aa	20,5±26Bb	6,0±5,0Ab	4,0±3,6Aa	6,1±7,5Aa	8,5±10,7Aa
	IL-6						
CAF		4,7±3,1Aa	18,9±11,7Ba	7,75±10Aa	6,2±6Aa	6,2±6,2Aa	8,6±12Aa
CAF+E		3,9±4,5Aa	6,2±6,9Ab	1,7±1,1Bb	2,2±2,5Aa	5,1±7,2Aa	6,2±6Aa
	IL10						
CAF		10,5±6,8Aa	21,2±14,4Ba	13,7±15,8Aa	12,3±12Aa	11,9±9,5Aa	10.9±9,4Aa
CAF+E		8,1±8,3Aa	17,6±15,6Ba	8,1±9Aa	8,9±21,6Aa	9,9±14,9Aa	8,5±7,41Aa
	MCP-1						
CAF		11,5±7,7Aa	42,6±20,5Bb	14,9±19,5Aa	10,3±9Aa	12,9±11,3Aa	14,7±12Aa
CAF+E		8,5±7,6Aa	15,2±12,9Aa	8,29±7,5Aa	12±26,3Aa	9,65±8,6Aa	14,8±13Aa
	MIP-1α						
CAF		2,3±1,64Aa	8,8±9,5Ba	3±4,1Aa	2,4±1,9Aa	2,6±2,4Aa	5,0±6,7Aa
CAF+E		3,9±5,3Aa	10±14Ba	3,2±4,2Aa	4,9±6,4Aa	3,5±4,5Aa	5,0±5,1Aa
	TNF- α						
CAF		4,26±1,6Aa	18,8±8,6Ba	7,5±9,7Aa	5,9±5,5Aa	6,7±6,7Aa	5,7±4,7Aa
CAF+E		3,1±3,7Aa	6,7±7,6Bb	1,7±1.3Ab	3,8±7.9Aa	4,9±6,7Aa	5,8±5,7Aa
	VEGF						
CAF		70,4±46,6Aa	464,1±308,7Ba	196,3±289Ba	144±142Aa	105,1±68Aa	85,3±73Aa
CAF+E		67,5±89,9Aa	89,1±130,1Ab	27,9±39,9Ab	71,9±195Aa	71,3±135Aa	79,3±10Aa

Legenda: Letras maiúsclas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas;
Letras minúculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A concentração das metaloproteinases 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9) e dos inibidores teciduais de metaloproteinases 1 e 2 (TIMP-1 e TIMP-2) também foram avaliadas no presente estudo. Não foram observadas diferenças entre os grupos com relação às concentrações iniciais dessas citocinas. A análise intragrupo mostrou que a concentração de MMP-2 aumentou de forma progressiva no grupo controle, porém sem diferença estatisticamente significante em relação ao baseline ($p > 0,05$). Em contrapartida, no grupo teste essa citocina sofreu progressiva redução ao longo do período de cicatrização até os 30 dias de pós-operatório, onde foi observada uma diferença significante em relação ao baseline e uma diferença significativa em relação ao grupo controle nesse período ($p<0,001$). A concentração de MMP-9 apresentou aumento aos 7 dias, tanto no grupo controle quanto no grupo teste, com diferença estatisticamente significante em relação ao baseline ($p = 0,01$), mas sem diferença estatística entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados.

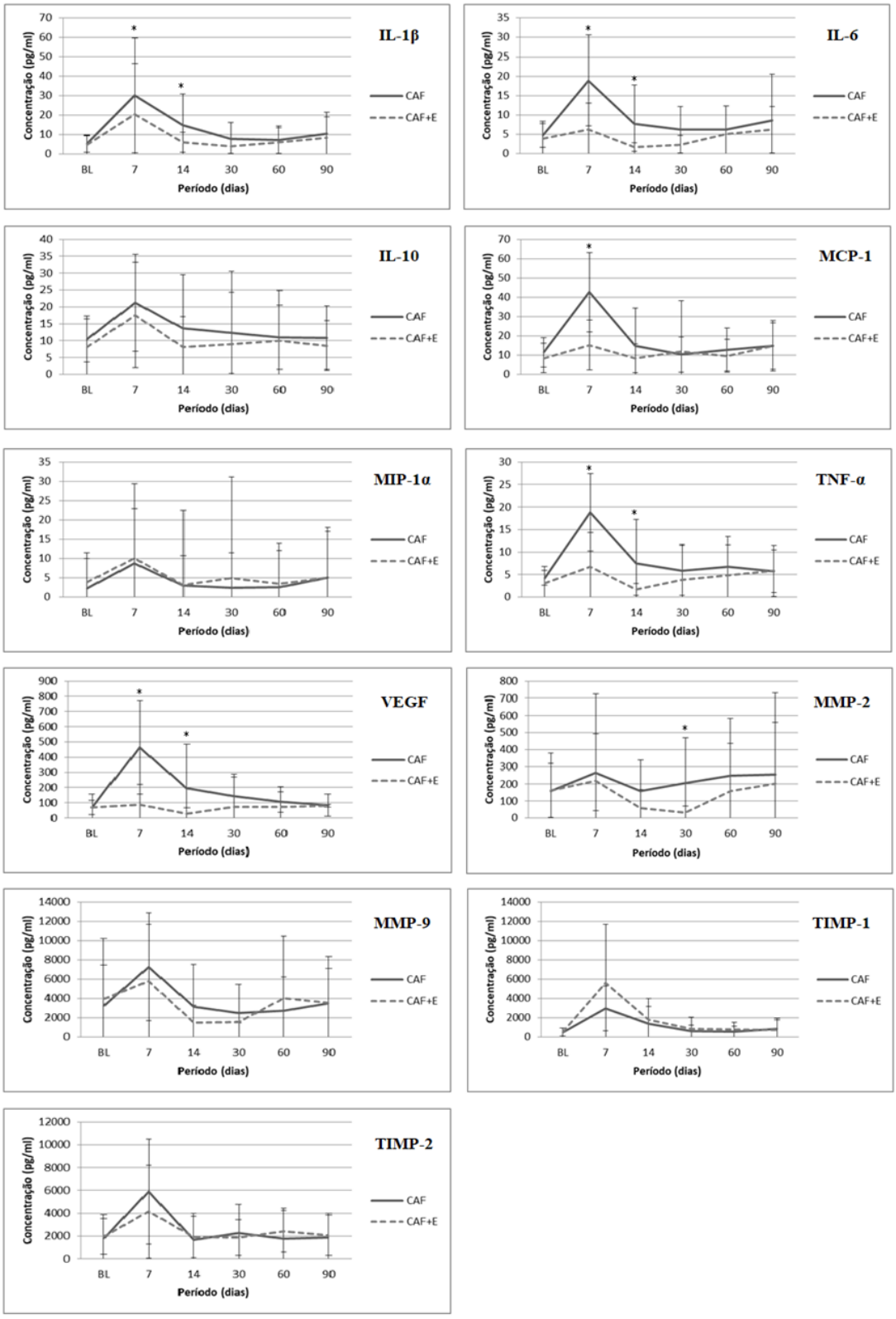
Do mesmo modo, as concentrações de TIMP-1 e TIMP-2 sofreram um discreto aumento ao longo do período de cicatrização, tendo seu pico aos 7 dias tanto no grupo controle quanto no teste, onde ambos os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação aos níveis iniciais dessas citocinas ($p<0,001$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em nenhum dos tempos de avaliação. As concentrações das MMPs e TIMPs avaliadas durante o período de acompanhamento do estudo estão dispostas na tabela 8. A figura 13 compara de forma ilustrativa os grupos quanto à variação na concentração de cada uma das citocinas avaliadas em relação aos períodos de coleta realizados no estudo.

Tabela 8 - Concentração (pg/ml) de MMPs e TIMPs coletados do fluído crevicular (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)

Grupos	Marcador	Tempo					
		BL	7	14	30	60	90
	MMP-2						
CAF		160,9±156,5Aa	267,1±225,3Aa	159,2±180Aa	204,7±265Aa	249±335Aa	258±473Aa
CAF+E		162,3±215,2Aa	219,7±506Aa	57,3±111Aa	31,4±39,6Bb	159,5±276Aa	204±357Aa
	MMP-9						
CAF		3237±4224Aa	7274±5565Ba	3143±4387Aa	2495±2967Aa	2750±3456Aa	3468±3639Aa
CAF+E		3955±6274Aa	5756±5947Ba	1518±1764Aa	1541±103Aa	4023±6421Aa	3536±4813Aa
	TIMP-1						
CAF		469,6±456,4Aa	2974±2323Ba	1379±1788Aa	617,1±613,7Aa	570,4±568,7Aa	843,9±895Aa
CAF+E		552,8±412,3Aa	5579±6080Ba	1784±2199Aa	841±1205Aa	760,9±763,2Aa	747,7±1164Aa
	TIMP-2						
CAF		1832±2050Aa	5911±4600Ba	1667±2321Aa	2259±2523Aa	1767±2656Aa	1884±2117Aa
CAF+E		1970±1567Aa	4143±4080Ba	1906±1811Aa	1870±1550Aa	2425±1814Aa	2075±1775Aa

Legenda: MMP: Metaloproteinase da matriz; TIMP: Inibidor tecidual de metaloproteinase.
Letras maiúsclas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intragrupo –Two Way ANOVA de medidas repetidas;
Letras minúculas distintas - diferença estatisticamente significante (p=0,05) na comparação intergrupo – Two Way ANOVA de medidas repetidas.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13 – Variação na concentração das citocinas em função do tempo para ambos os grupos (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)

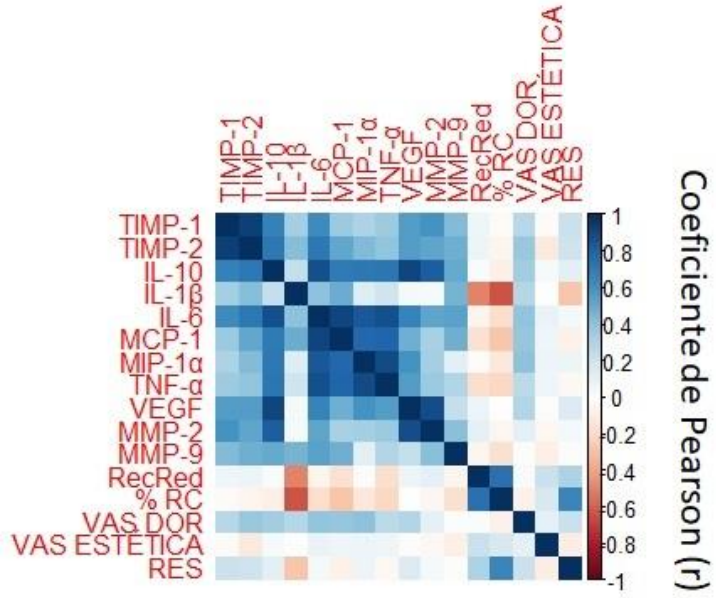


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Análise de correlação linear de Pearson

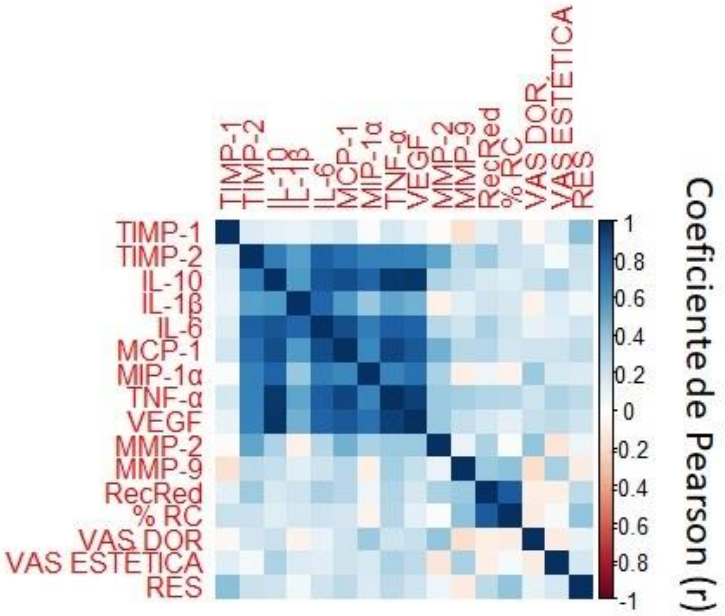
Uma análise de correlação foi realizada para verificar possíveis relações entre o desfecho clínico de 6 meses e os diversos marcadores inflamatórios avaliados aos 7 dias de pós-operatório. As comparações foram realizadas de modo linear entre as variáveis clínicas (RecRed; porcentagem de recobrimento; VAS de dor; VAS de estética; média final da RES) e a concentração das citocinas (pg/ml) IL1β, IL6, IL10, TNFα, MIP-1α, MCP-1α, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 e VEGF. No grupo teste foi observada uma correlação inversa moderada entre a concentração de IL-1β aos 7 dias e a porcentagem de recobrimento radicular obtida ($r = -0,64$), sendo esse resultado estatisticamente significante ($p < 0,001$). Outra correlação inversa significante dentro desse grupo ocorreu entre a IL-1β e a redução média das recessões gengivais ($r = - 0,49$; $p = 0,01$). Foi verificada uma relação fraca direta entre IL-10, IL-6, MIP-1 α, MCP-1 e TIMP-2 e o desconforto. Não foram observadas outras correlações significantes entre as variáveis do grupo teste. Para o grupo controle, não foi encontrada nenhuma correlação linear entre os parâmetros clínicos e os marcadores avaliados. Os gráficos apresentados nas figuras 14 e 15 mostram as correlações múltiplas entre as variáveis analisadas, onde cada quadrado marca o ponto onde ocorre a correlação entre duas variáveis, a cor do quadrado indica se a correlação é inversa (vermelho) ou direta (azul) e a intensidade da cor indica a força da correlação conforme o coeficiente de Pearson (r) (Figuras 14 e 15).

Figura 14 – Correlações lineares entre os parâmetros clínicos e mediadores inflamatórios para o grupo teste (CAF+E n=25)



Fonte: Elaborado pelo autor através do software R 3.5.2; R Core Team, 2018.

Figura 15 – Correlações lineares entre os parâmetros clínicos e mediadores inflamatórios dentro do grupo controle (CAF n=25)



Fonte: Elaborado pelo autor através do software R 3.5.2; R Core Team, 2018.

4.6 Análise de regressão linear múltipla

A análise de regressão linear múltipla foi realizada no presente estudo utilizando as concentrações dos diversos marcadores inflamatórios (pg/ml) aos 7 dias de pós-operatório como variáveis independentes para os parâmetros clínicos: redução da recessão gengival (RecRed), Porcentagem de recobrimento (% Rec), Dor (VAS) e estética profissional e baseada no paciente (RES e VAS). Não foi observada influencia da concentração de MMPs e TIMPs sobre os parâmetros clínicos (r^2 = 0,4). A análise de regressão revelou haver correlação moderada (r^2 = 0,6) e estatisticamente significante entre as concentrações de IL1β, MIP-1α e VEGF sobre o resultado de desconforto apresentado pelos pacientes do grupo CAF+E. Não foi observada influencia significante desses marcadores sobre os outros parâmetros clínicos do grupo teste e sobre nenhum parâmetro do grupo controle. Esses resultados estão dispostos nas tabelas 9 e 10.

Tabela 9 – Regressão Linear Múltipla utilizando as concentrações de marcadores inflamatórios (pg/ml) aos 7 dias pós-operatório como variáveis independentes para RecRed, Porcentagem de recobrimento, Dor e RES (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)

		Recred			% de Rec			Dor			RES		
		p	SE	R^2	p	SE	R^2	p	SE	R^2	p	SE	R^2
CAF													
	IL-1β	0,1	0,03		0,4	1,1		0,2	0,1		0,5	0,08	
	IL-6	0,9	0,06		0,8	1,9		0,7	0,1		0,8	0,1	
	IL-10	0,6	0,01		0,3	0,4		0,5	0,04		0,5	0,03	
	MCP-1	0,1	0,02	0,24	0,09	0,8	0,1	0,4	0,08	0,3	0,6	0,06	0,0
	MIP-1α	0,1	0,05		0,5	1,6		0,06	0,1		0,5	0,1	
	TNF- α	0,02	0,09		0,02	2,8		0,6	0,2		0,9	0,1	
	VEGF	0,03	0,00		0,05	0,06		0,9	0,1		0,8	0,04	
CAF+E													
	IL-1β	0,6	0,3		0,1	2,3		0,01	0,02		0,1	0,01	
	IL-6	0,03	0,1		0,8	0,1		0,1	0,4		0,6	0,2	
	IL-10	0,3	0,01		0,7	2,1		0,9	0,4		0,4	0,03	
	MCP-1	0,8	0,01	0,25	0,5	2,3	0,4	0,4	0,08	0,6	0,6	0,5	0,0
	MIP-1α	0,05	0,04		0,7	0,1		0,4	0,2		0,5	0,1	
	TNF- α	0,1	0,06		0,9	1,1		0,1	0,3		0,6	0,2	
	VEGF	0,4	0,00		0,6	0,8		0,01	0,00		0,8	0,4	

Legenda: RecRed, redução da recessão gengival; % Rec, porcentagem de recobrimento radicular; RES, Root Coverage Esthetic Score. p, valor de p pela Multiple Linear regression; SE, erro padrão; R^2, coeficiente de regressão.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 10 – Regressão Linear Múltipla utilizando as concentrações de TIMPs e MMPs (pg/ml) aos 7 dias pósoperatório como variáveis independentes para RecRed, Porcentagem de recobrimento, Dor e RES (n=50; CAF n=25; CAF+E n=25)

		RecRed			% de Rec			Dor			RES		
		p	SE	R^2	p	SE	R^2	p	SE	R^2	p	SE	R^2
CAF													
	MMP-2	0,00	0,00		0,5	0,0		0,7	0,0		0,4	0,00	
	MMP-9	0,04	0,00		0,03	0,0		0,2	0,0		0,7	0,00	
	TIMP-1	0,08	0,00	0,4	0,04	0,0	0,4	0,07	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0
	TIMP-2	0,9	0,00		0,7	0,0		0,4	0,00		0,2	0,00	
CAF+E													
	MMP-2	0,5	0,00		0,9	0,0		0,5	0,1		0,9	0,00	
	MMP-9	0,9	0,00		0,9	0,0		0,5	0,0		0,7	0,0	
	TIMP-1	0,6	0,00	0,03	0,9	0,0	0,0	0,02	0,0	0,2	0,8	0,00	0,0
	TIMP-2	0,8	0,00		0,8	0,0		0,5	0,00		0,8	0,00	

Legenda: RecRed, redução da recessão gengival; % Rec, porcentagem de recobrimento radicular; RES, Root Coverage Esthetic Score. p, valor de p pela Multiple Linear regression; SE, erro padrão; R2, coeficiente de regressão.
Fonte: Elaborado pelo autor.

5 DISCUSSÃO

A busca por terapias adjuntas que auxiliem no reparo tecidual após procedimentos cirúrgicos sempre foi encorajada no campo da cirurgia plástica periodontal. Diversos estudos clínicos publicados nos últimos anos objetivaram avaliar diferentes abordagens e tecnologias que pudessem favorecer o processo de cicatrização da mucosa oral, denotando que essa ainda é uma questão de grande importância e que necessita de maiores investigações (Ozcelik et al., 2008; Ozturan et al., 2011; Tomofuji et al., 2013; Fernandes-Dias et al., 2015). Com o melhor do nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo clínico controlado randomizado que avaliou o uso da eletroterapia de baixa intensidade em mucosa oral. A estimulação elétrica foi testada como auxiliar ao processo de reparo após o tratamento de recessões gengivais classe I e II de Miller em caninos e pré-molares superiores / inferiores, onde a técnica de retalho trapeizoidal foi empregada como tratamento para ambos os grupos, sendo associada ou não ao protocolo de estimulação elétrica local. Nossos resultados mostraram que ambos foram eficazes no tratamento da recessão gengival e hipersensibilidade dentinária com estética satisfatória, entretanto eles não mostraram uma superioridade significativa da eletroestimulação em proporcionar maiores taxas de recobrimento radicular ou o completo recobrimento da raiz quando comparado ao grupo controle.

Essa ausência de diferença clínica estatisticamente significante entre os grupos pode provavelmente estar relacionada a algumas características inerentes ao modelo de ferida utilizado, características do tecido estimulado ou mesmo parâmetros escolhidos para o tratamento. Revisões sistemáticas da literatura médica apresentam décadas de evidências dos benefícios da estimulação elétrica no fechamento de feridas crônicas em derme (Balakatounis et al., 2008; Barnes

et al., 2014; Kawasaki et al., 2014). As feridas crônicas tais como úlceras dérmicas são profundas e arredondadas, com bordas afastadas e bem definidas e caracterizadas por um baixo aporte de sangue, oxigênio e células de defesa para a região, o que dificulta de forma significativa o completo fechamento da ferida por segunda intenção (Barnes et al., 2014). As feridas cirúrgicas resultantes dos procedimentos de recobrimento radicular por outro lado, são confeccionadas para cicatrizar de forma rápida e ordenada. As margens cuidadosamente justapostas garantem uma cicatrização facilitada por primeira intenção e o desenho do retalho permite uma adequada vascularização da região operada (Roccuzzo et al., 2002; Lindhe, 2010; Cortellini, Pini-Prato, 2012). Dessa forma, os benefícios promovidos pela estimulação elétrica local nesse tipo de ferida podem não ser tão expressivos clinicamente quando comparados a feridas crônicas abertas.

Outra possível razão para a ausência de diferença no presente estudo quando comparado com estudos em derme, pode estar relacionada a propriedades intrínseca da própria mucosa oral. O processo de fechamento de feridas é influenciado por diversos fatores locais e sistêmicos, sendo complexo e com uma variedade de vias biomoleculares, mas sempre compreende quatro fases relacionadas, ainda que distintas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (Christian et al., 2006; Guo, Dipietro, 2010; Hunckler, de Mel, 2017). As fases de reparo mencionadas acima se fazem presentes de modo similar tanto em mucosa oral quanto em derme, porém os estudos indicam que a mucosa oral possui uma capacidade de reparo mais rápida e com menos tecido cicatricial do que feridas cutâneas (Sculean et al., 2014). Os mecanismos para tal fenômeno continuam a ser uma questão de especulação, mas podem incluir aspectos únicos presentes na cavidade oral, como a presença de saliva, e diferenças no comportamento das células da mucosa oral (Lee, Eun, 1999; Sculean et al., 2014). Iglesias-Bartolome et al. (2018) realizaram uma análise

transcricional em biópsias orais e de pele sequenciais e pareadas de indivíduos humanos saudáveis. Em comparação com o baseline, as amostras de pele mostraram um número maior de genes super-regulados ao longo do processo de reparo do que as amostras orais, indicando que a cura não havia sido resolvida. As feridas orais cicatrizaram mais rapidamente que as feridas da pele, e certos fatores de transcrição foram consistentemente expressos nas feridas orais, mas não nas feridas cutâneas. Os autores sugerem que a assinatura molecular da mucosa oral tem características únicas, sendo responsável por uma cicatrização tecidual mais rápida (Iglesias-Bartolome et al., 2018). Nesse contexto, os benefícios da aplicação de um estímulo elétrico exógeno em feridas cutâneas, podem ser bem mais expressivos do que nas feridas presentes na mucosa oral em virtude da alta capacidade de reparo que a mucosa naturalmente possui.

Por fim, uma terceira razão possível para o grupo estimulado não ter apresentado superioridade em relação ao grupo controle pode estar relacionada ao protocolo de eletroestimulação e parâmetros utilizados. Clinicamente, estimulação por corrente contínua (CD), corrente contínua pulsada (CP) e estimulação por corrente alternada (CA) foram testadas para a cicatrização de feridas (Tomofuji et al., 2013; Kawasaki et al., 2013; Spadari et al., 2017). A estimulação elétrica vem com um grande número de escolhas de diferentes amplitudes, frequências, ciclos de trabalho, durações e intensidades (Zhao et al., 2010). Correntes diretas e pulsos monofásicos são caracterizados por um fluxo unidirecional de partículas carregadas. Por outro lado, a corrente alternada é um fluxo bidirecional cíclico ininterrupto de partículas carregadas. Correntes bidirecionais são aquelas em que ocorre uma polaridade inversa. Isso significa alternar as partículas carregadas que são atraídas para a área sob o eletrodo, o que evitará ou diminuirá efeitos eletroquímicos adversos, representando uma vantagem no uso desse tipo de corrente (Martínez-Rodríguez et al., 2013). Embora o uso de correntes elétricas de baixa intensidade tenha sido estudado por

muito tempo em feridas cutâneas (Houghton et al., 2010; Ud-Din et al., 2012; Barnes et al., 2014), seu uso em tecidos gengivais e os melhores parâmetros a serem usados requerem uma investigação mais detalhada. Até a presente data não há estudos relatando o uso da corrente elétrica em humanos para remodelação de tecidos periodontais e apenas alguns estudos relataram os efeitos da estimulação elétrica no periodonto de ratos e cães (Hashimoto, 1990; Kaynak et al., 2005; Tomofuji et al., 2013; Spadari et al., 2017). Esses estudos apresentaram bons resultados com microcorrentes variando de 10 a 100 μA e freqüências de 1 a 5 KHz até 60 KHz, os benefícios parecem ser diretamente proporcionais à intensidade utilizada. Em relação ao tempo e à frequência da eletroterapia, os estudos em modelo animal observaram níveis significativos de remodelação do tecido periodontal após aplicações diárias de 10 segundos a 5 minutos, em um período de 3 a 14 dias. Tomofuji et al. (2013) avaliaram os efeitos da estimulação elétrica na remodelação do tecido gengival em ratos. Os animais receberam estimulação elétrica diária com uma corrente alternada numa frequência de 9 KHz e intensidades variando entre 50 e 100 μA. Os autores observaram que a estimulação elétrica na intensidade de 100 μA promoveu uma maior remodelação do tecido gengival em lesões periodontais. Esse resultado difere do observado no presente estudo, onde a utilização dos mesmos parâmetros de estimulação não gerou efeitos clínicos adicionais ao processo de remodelação. Assim nossos achados mostram que apesar de eficaz em modelo animal, o protocolo utilizado foi insuficiente para promover resultados clínicos significativos no periodonto de humanos, sugerindo que uma adequação dos parâmetros para a estimulação possa ser necessária.

De fato, os estudos em pele de humanos envolvendo a eletroterapia de baixa intensidade fazem uso de protocolos mais extensos e parâmetros mais elevados do que aqueles utilizados no presente estudo. De acordo com uma revisão feita por Balakatounis et al. (2008), correntes com intensidade entre 200

e 800 μA por pelo menos 30 minutos diários são as mais efetivas em promover e acelerar o reparo de feridas cutâneas. Outros estudos que avaliem diferentes protocolos de estimulação elétrica no tecido periodontal de humanos são necessários nesse aspecto para a obtenção de um protocolo terapêutico ideal.

Em uma visão geral, as taxas de recobrimento obtidas no presente estudo estão dentro da janela de recobrimento apresentada pela literatura quando o CAF sozinho é utilizado (79,47% no grupo controle e 85,97% no grupo teste). Apesar da ligeira superioridade no recobrimento do grupo teste, esse resultado mostra que a estimulação elétrica não teve efeito significante sobre essa variável, mesmo quando uma análise envolvendo somente recessões grandes (≥ 3mm) foi realizada. A literatura tem apresentado resultados notavelmente heterogêneos a respeito da taxa de recobrimento para retalhos posicionados coronariamente, variando de 62,5% até 96,6% de acordo com revisões sistemáticas e estudos clínicos que avaliaram o desempenho do retalho trapezoidal (Zucchelli et al., 1998; Cortellini, Pini-Prato, 2012; Cairo et al., 2014; Chambrone, Tatakis, 2015). Esta alta variabilidade de resultados pode ser atribuída a diversos fatores como, por exemplo, o tipo de técnica utilizada, desenho do estudo, treinamento dos operadores ou mesmo fatores anatômicos locais das recessões (altura da recessão, altura e largura da papila, nível ósseo interdental, entre outros) (Cortellini, Pini-Prato, 2012; Santamaria et al., 2010; Vignoletti et al., 2015).

Nossos resultados apontaram ganhos no nível de inserção clínica tanto no grupo controle (1,65 ± 1,35 mm) como no grupo teste (0,68 ± 1,40 mm) após 6 meses, porém não observamos diferença estatisticamente significante entre os grupos. A profundidade de sondagem apresentou diferença entre os grupos aos 3 e 6 meses, com aumento menor que 1 mm após os tratamentos. Apesar desse aumento estatisticamente significante, a importância clínica desses resultados pode ser questionada porque em ambos os grupos o valor médio da PS permaneceu < 3 mm e sem sangramento à sondagem ao longo do período

estudado em acordo com os achados de outros estudos envolvendo o CAF sozinho (de Queiroz-Cortes et., 2006; Moreira et al., 2016).

A avaliação do impacto da eletroterapia sobre a estética tecidual também foi realizada no presente estudo, através do ponto de vista profissional e pelos próprios pacientes. O resultado estético é um parâmetro muito valioso uma vez que a literatura aponta que as exigências estéticas dos pacientes vêm se tornando mais rigorosas (Zaher et al., 2005; Cairo et al., 2009; Cortellini, Pini-Prato, 2012). A pontuação final da escala RES (8,03 e 7,9 para o grupo controle e teste respectivamente) e a porcentagem da QCE (81,6% e 71,6% para o controle e teste respectivamente) obtida por ambos os grupos foi muito semelhante e sem diferença estatística entre eles revelando que ambos os grupos alcançaram uma comparável melhora da estética gengival sem sofrer influência da aplicação da corrente elétrica no local. A aplicação do estímulo elétrico após os procedimentos cirúrgicos promoveria a cicatrização de feridas aumentando atividade de fibroblastos e a epitelização (Zhao et al., 2010; Hunckler, de Mel, 2017). Portanto, diminuiria a formação de cicatriz e, como consequência, melhoraria os resultados estéticos. No entanto, nossos resultados não mostraram esse possível efeito adjuvante da eletroterapia, e outros estudos com diferentes protocolos de estimulação são necessários para testar esta hipótese. Assim como na avaliação profissional, não foi encontrada diferença significante entre ambas as terapias em termos de satisfação estética dos pacientes mensurada pelos valores da escala VAS (8,96 e 9,33 para o grupo controle e teste respectivamente), e todos os pacientes se mostraram altamente satisfeitos com o resultado estético em acordo com os resultados reportados por outros autores que utilizaram o CAF como tratamento (Moreira et al., 2016; Sangiorgio et al., 2017; Santos et al., 2017).

O presente estudo também realizou uma avaliação dos parâmetros centrados no paciente, como a morbidade em decorrência dos procedimentos

cirúrgicos e a eficácia dos procedimentos em reduzir a hipersensibilidade dentinária. Avaliações mais objetivas centradas no paciente podem ser conduzidas através do uso de escalas visuais, dentre as quais a escala analógica visual (VAS) é uma ferramenta que tem sido usada para avaliar os níveis de desconforto e dor subsequente a diferentes modalidades de tratamento periodontal (Chambrone et al., 2010). Os valores médios de VAS para desconforto pós-operatório ao final da primeira semana foram baixos para ambos os grupos (3,03 para o grupo controle e 2,03 para o grupo teste) e o consumo de analgésicos relatado pelos pacientes raramente excedeu 2 comprimidos. Poucos são os estudos que avaliaram o desconforto pós-operatório dos pacientes, mas de uma forma geral as revisões da literatura mostram que dor e complicações após procedimentos para recobrimento radicular são achados incomuns (Curtis et al., 1985; Cairo et al., 2008; Chambrone et al., 2010; Cortellini, Pini-Prato, 2012). Entretanto, apesar de ambos os procedimentos serem pouco desconfortáveis para o paciente, uma análise entre os grupos mostrou que o protocolo de estimulação elétrica reduziu ainda mais a dor dos indivíduos, resultando em um pós-operatório mais confortável. Outros estudos envolvendo feridas cutâneas corroboram com os resultados deste trabalho, demonstrando que a utilização da terapia com microcorrentes (100 a 600 μA) é eficaz nesse quesito e, como tal, pode oferecer uma abordagem não farmacológica para controle da dor (Mercola, Kirsch, 1995; Ojingwa et al., 2003; Ennis et al., 2011). Apesar de o mecanismo fisiológico ainda não estar totalmente esclarecido, é relatado que a corrente elétrica em baixa intensidade estimula os supressores de dor das fibras A-β, os quais competem com os transportadores da dor (fibras A-δ e C). Desta forma, as fibras C e A-δ seriam incapazes de transportar os impulsos de dor dos tecidos periféricos ao sistema nervoso central (de Domenico, 2002; Bowsher, 2003; Kahn, 2004).

A escala VAS também foi utilizada na mensuração da hipersensibilidade dentinária (HD), que é uma condição clínica comum e afeta em torno de 15 % a 74 % da população adulta, sendo frequentemente associada com a recessão gengival (Oliveira et al., 2013). Em nosso estudo 73,3% dos pacientes do grupo controle e o mesmo percentual dos pacientes do grupo teste apresentavam HD no início do tratamento e após os 6 meses de acompanhamento ambos os grupos apresentaram diminuição ou cessação da HD ($p < 0,001$). Ao compararmos o grupo teste com o grupo controle, não encontramos diferença estatisticamente significante em nenhum dos períodos de avaliação.

Poucos estudos avaliaram a HD após procedimentos de recobrimento radicular. Cortellini et al. (2009) avaliaram o efeito do retalho posicionado coronariamente associado ao enxerto de tecido conjuntivo sobre o controle da hipersensibilidade e não observaram diferença estatística significante com relação a hipersensibilidade após 6 meses de acompanhamento. Uma provável explicação para a diminuição da HD nos procedimentos cirúrgicos de recobrimento radicular é o encobrimento dos túbulos dentinários expostos pelo posicionamento coronário do retalho, protegendo-os de estímulos químicos, térmicos, táteis, evaporativos ou osmóticos, diminuindo as áreas associadas à hipersensibilidade dentinária cervical. Uma revisão sistemática realizada por Oliveira e colaboradores (2013) concluiram que ainda não existem evidências suficientes para suportar a ideia de que os procedimentos de recobrimento radicular produzem resultados previsíveis na redução da hipersensibilidade dentinária.

Além dos parâmetros clínicos, o presente estudo realizou uma avaliação imunológica das feridas de CAF através da coleta do fluido crevicular (FCG) no baseline e em diversos períodos do pós-operatório. O aumento pós-operatório no volume de FCG foi observado em ambos os grupos na primeira semana após a cirurgia, seguido de redução gradual ao longo do período de acompanhamento.

Esse aumento de volume do fluido é consistente com os relatos de estudos prévios que realizaram a coleta desse material após cirurgias periodontais (Cattermole, Wade, 1978; Kuru et al., 2004; Emecen-Huja et al., 2013). Os resultados indicam que apesar da ausência de diferença entre os grupos CAF e CAF+E nos parâmetros clínicos, o conteúdo do fluido crevicular exibiu diferenças significantes na expressão de mediadores pró-inflamatórios específicos entre os grupos, revelando uma resposta inflamatória bem mais expressiva no grupo controle do que no grupo tratado com a estimulação elétrica. Esse achado biológico está em acordo com diversos estudos *in vitro* e *in vivo* que verificaram a capacidade da microcorrente elétrica de modular favoravelmente os marcadores inflamatórios durante a fase inicial do reparo tecidual (Kim et al., 2013; Tomofuji et al., 2013; Spadari et al., 2015).

O fluido crevicular é rico em mediadores derivados do plasma local. Dentre as muitas moléculas relacionadas ao processo inflamatório agudo em resposta ao trauma cirúrgico está a IL-1β, um poliptídeo pró-inflamatório relacionado com uma vasta gama de processos biológicos tais como inflamação e colapso tecidual (Tatakis, 1993); IL-6, outra citocina pró-inflamatória associada com elevados níveis de elastase neutrofílica (Baumann, Gauldie, 1994); MCP-1, quimiocina chave para a migração de monócitos e macrófagos para os sítios inflamados (Petkovic et al., 2010); MIP-1, associada à ativação de granulócitos e liberação de citocinas pró-inflamatórias por fibroblastos e macrófagos e o TNF-α, um dos mais importantes mediadores pró-inflamatórios, secretado principalmente por macrófagos e relacionado à vasodilatação, quimiotaxia de leucócitos e amplificação da cascata inflamatória (Petkovic et al., 2010). Todos esses mediadores foram significantemente suprimidos pela aplicação do estímulo elétrico local durante a fase inflamatória do reparo tecidual (7 e 14 dias de pós-operatório). Um efeito semelhante foi observado em um estudo in vitro conduzido por Kim et al. (2013), onde os autores avaliaram o

efeito da microcorrente e campo elétrico sobre células do disco intervertebral previamente estimuladas por IL-1β, observando a redução na produção de alguns mediadores pró-inflamatórios por essas células. Os autores discutem que esse fenômeno provavelmente se dá por uma cascata intracelular que envolve a modulação do factor nuclear kappa B (NF-κB) e de uma via específica de proteinas-quinase (MAPK). Esse mecanismo ainda não foi completamente elucidado, mas pode ajudar a justificar o efeito anti-inflamatório promovido pela estimulação elétrica, uma vez que a supressão de citocinas como IL-1β, IL-6 e TNF-α diminui a quimiotaxia de células de defesa para a região da ferida e consequentemente reduz a amplificação do processo inflamatório por tais células. Além disso, os menores níveis desses mediadores no grupo estimulado também podem ter relação com o efeito analgésico observado nesse grupo. A dor e o sistema imunológico influenciam-se mutuamente, o que torna difícil determinar se o bloqueio da nocicepção contribui para a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, ou vice-versa, com a redução da formação de citocinas pró-inflamatórias resultando em dor menos intensa (Shavit et al., 2006). Entretanto, o estudo do microambiente pós-trauma revela que a migração de leucócitos associados à inflamação é responsável por secretar mediadores químicos que produzem dor. A IL-1β e TNF-α, por exemplo, tem importante função no desenvolvimento e manutenção da dor pós-operatória, e menores níveis dessas citocinas estão associados a um maior conforto após procedimentos cirúrgicos (Zhang, 2007; Raeburn et al., 2002; Wolf et al., 2008).

Em contrapartida à redução das citocinas pró-inflamatórias avaliadas, não foi observado efeito significativo da eletroterapia sobre a produção de IL-10, que foi significantemente expressa aos 7 dias tanto no grupo CAF quanto no grupo CAF+E, entretanto sem diferença entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados. A IL-10 é uma importante citocina anti-inflamatória que tem sido associada a um efeito protetivo dos tecidos durante as fases do reparo,

reduzindo a atividade de macrófagos e inibindo a secreção de alguns mediadores pró-inflamatórios (te Velde et al., 1990). Apesar da ausência de diferença, a produção de IL-10 foi menor no grupo teste, especialmente aos 14 dias, indicando uma tendência de redução desse biomarcador como um reflexo da redução de marcadores pró-inflamatórios. Existe, de fato, um mecanismo homeostático que envolve a IL-10 e as citocinas pró-inflamatórias. Enquanto o TNF-α e outras citocinas estimulam a síntese de IL-10, na vigência de estímulo inflamatório, esta bloqueia a síntese de TNF-α de forma diretamente proporcional, levando à normalização dos níveis séricos das citocinas e restaurando a homeostase (Bone et al., 1997; Borish, Steinke, 2003). Entretanto mais estudos são necessários para elucidar o efeito da eletroterapia sobre a síntese de citocinas anti-inflamatórias.

A avaliação das MMPs 2 e 9 assim como TIMPs-1 e 2 também foi realizada. As MMPs pertencem a uma família de enzimas que necessitam da presença do zinco para realizarem suas funções e são classificadas de acordo com seu domínio e organização estrutural, além do substrato específico para degradação (Visse et al., 2003). As gelatinases (MMP-2 e 9) degradam principalmente colágeno desnaturado (gelatinas) e colágeno tipo IV, apresentando forte relação com a remodelação do periodonto inflamado (Tomofuji et al., 2013). O controle da quantidade de enzima ativa é feito pelos inibidores teciduais das MMP (TIMP). As TIMPs regulam as metaloproteinases de um modo geral, embora haja certa especificidade entre elas, como por exemplo, a TIMP-1 é mais efetiva no controle das MMPs 1,3 e 9 enquanto a TIMP-2 inibe MMP-2 de forma mais eficaz do que outras TIMPs (Bourboulia, Stetler-Stevenson, 2010). Estudos mostram que o balanço entre MMPs e TIMPs desempenha um importante papel na renovação tecidual (Bellayr et al., 2009). No presente estudo, a expressão dessas citocinas dentro dos grupos foi moderada e significativa somente aos 7 dias em relação aos níveis iniciais. Um único

estudo avaliando o efeito da microcorrente sobre MMPs e TIMPs realizado por Tomofuji et al. (2013), observou a supressão significativa dos genes para esses marcadores após a estimulação elétrica, diferindo dos resultados encontrados no presente estudo. Entretanto o estudo supracitado foi realizado em um modelo de doença periodontal, e dessa forma o tipo de ferida tratada pode novamente ter influenciado esses resultados. A literatura aponta que gelatinases de leucócitos poliformonucleares são mais encontradas no FCG de pacientes com gengivite e periodontite, expressando uma maior atividade nos pacientes com doença crônica do que em pacientes saudáveis (Kinane et al., 2001, Gapski et al., 2009).

O presente estudo também avaliou o efeito da estimulação elétrica sobre a produção tecidual do fator de crescimento endotélio-vascular (VEGF). Esse mediador regula múltiplas funções biológicas das células endoteliais, tais como sua formação, proliferação, migração, produção de moléculas vasodilatadoras e aumento da permeabilidade vascular (Yu et al., 2014). Diversos estudos clínicos e em modelo animal tem mostrado que a estimulação elétrica aumenta os níveis de VEGF e número de vasos sanguíneos na ferida (Ferroni et al., 2005; Borba et al., 2011; Ud-Din et al., 2012). Nossos resultados divergem da literatura nesse aspecto, mostrando que o grupo controle apresentou concentrações significantemente mais elevadas de VEGF nas duas primeiras semanas de pós-operatório, quando comparado com o grupo tratado com a eletroterapia. Entretanto esse achado está de acordo com um estudo recente conduzido por Spadari et al. (2017), que avaliaram o uso da eletroestimulação de baixa intensidade durante a movimentação ortodôntica em ratos. Os autores verificaram a expressão reduzida de VEGF no grupo estimulado após 7 dias da terapia e sugerem que esse efeito provavelmente está ligado mais uma vez ao rápido reestabelecimento tecidual que as microcorrentes proporcionam. Durante os primeiros dias da inflamação, a estimulação elétrica induz uma resposta mais acelerada, aumentando o calibre dos vasos sanguíneos e por consequência o

aporte de sangue e oxigênio para os tecidos (Cramp et al., 2000; Goldman et al., 2004; Ud-Din et al., 2012). Essa vasodilatação e oxigenação promovida pela estimulação podem ser responsáveis pela queda na produção de VEGF uma vez que a liberação desse mediador é induzida por células submetidas à hipóxia (Bates, 2008; Bao et al., 2009).

Por fim, análises de correlação e regressão foram realizadas com o intuito de elucidar o papel dos mediadores inflamatórios sobre os principais desfechos clínicos do estudo, tal como recobrimento radicular, estética e dor. Ainda que essas análises sejam interessantes para explorar conexões entre os aspectos clínico e molecular, são raros os estudos clínicos que fizeram essa investigação, o que torna a comparação de resultados difícil. De um modo geral a correlação de Pearson não apontou nenhuma associação forte entre as citocinas e parâmetros clínicos, indicando que o sucesso das cirurgias de recobrimento radicular possa ser mais fortemente associado a variáveis clínicas do que imunológicas. De fato já é bem estabelecido que fatores como nível de treinamento do operador e fatores anatômicos locais das recessões (tais como a altura e largura da papila e espessura do tecido) são muito influentes sobre o recobrimento e estética final independentemente das diferenças no processo de cicatrização dos pacientes (Cortellini et al., 2012; Santamaria et al., 2010; Vignoletti et al., 2015). Entretanto foram verificadas correlações inversas entre algumas citocinas e a porcentagem de recobrimento no grupo CAF+E, dentre elas a IL-1β, cuja correlação chegou a ser moderada. Como discutido anteriormente, a IL-1β representa um potente mediador pró-inflamatório associado à destruição dos tecidos periodontais e sua supressão associada ao reparo e regeneração (Graves, Cochran, 2003). Essa relação inversa entre IL-1β e outras citocinas com recobrimento radicular sugere uma tendência de a eletroestimulação modular esses mediadores em prol de um melhor resultado clínico. Além disso, outra tendência observada dentro do grupo estimulado foi

dada pela correlação positiva entre marcadores inflamatórios e o desconforto pós-operatório, sugerindo que a supressão dessas citocinas pela microcorrente estaria diretamente relacionada à supressão da dor, corroborando com nossos achados. A análise de regressão realizada no presente estudo reforça esse resultado ao mostrar que a concentração dos mediadores teve um peso significativo sobre a variação da dor pós-operatória no grupo estimulado (r^2 = 0,6). O fato de nenhuma relação ter se estabelecido entre as variáveis do grupo controle pode provavelmente ser explicado pela grande variabilidade na resposta imune dos pacientes desse grupo, ao passo que no grupo teste essa resposta foi modulada de forma ordenada, permitindo assim que relações de dependência entre as variáveis pudessem ser estabelecidas. Esse pode ser um benefício importante da estimulação elétrica, uma vez que a modulação da resposta imune do indivíduo pode aumentar de modo significativo a previsibilidade do tratamento.

Sob uma visão geral o presente estudo pode contribuir para o entendimento do efeito da eletroestimulação sobre o tecido mole periodontal e seu custo-benefício. Como mencionado anteriormente, o uso da estimulação elétrica após a cirurgia de recobrimento radicular não proporcionou o recobrimento adicional das recessões gengivais tratadas. Entretanto a avaliação imunológica evidenciou alguns dos efeitos anti-inflamatórios e analgésicos dessa terapia, que refletiram em um pós-operatório mais confortável para os pacientes. Esses resultados devem ser interpretados com cautela baseado nas seguintes considerações: primeiro, os resultados do uso da microcorrente elétrica como terapia adjuvante em cirurgias periodontais dependem das características do protocolo empregado, incluindo as variáveis que podem ser diretamente relacionadas aos efeitos da bioestimulação, como tipo de corrente elétrica, frequência, intensidade, tempo de aplicação e número de aplicações. Segundo, uma observação longitudinal (>24 meses) também é necessária para avaliar a

estabilidade dos resultados e estabelecer o sucesso em longo prazo desta abordagem combinada. Em terceiro lugar, os efeitos clínicos da estimulação elétrica podem ser melhores compreendidos através da avaliação e quantificação de mais marcadores inflamatórios que não observados no presente estudo, o que nos permitirá observar os efeitos da eletroterapia ao nível celular.

6 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, pode-se concluir que o protocolo de estimulação elétrica utilizado não promoveu maior recobrimento radicular quando associado ao CAF para o tratamento de recessões gengivais Classe I e II de Miller. Entretanto, a aplicação da corrente elétrica de baixa intensidade resultou em um menor desconforto pós-operatório e na modulação favorável das citocinas inflamatórias durante o reparo tecidual, sendo que mais estudos clínicos são necessários para determinar os benefícios exatos da estimulação elétrica após procedimentos de cirurgia periodontal.

REFERÊNCIAS*

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. Int Dent J. 1975 Dec;25(4):229-35.

Asadi MR, Torkaman G, Hedayati M. Effect of sensory and motor electrical stimulation in vascular endothelial growth factor expression of muscle and skin in full-thickness wound. J Rehabil Res Dev. 2011;48(3):195-201.

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

Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vacular endothelial growth factor in wound healing. J Surg Res. 2009; 153:347-358.

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

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

Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immunol Today. 1994 Feb;15(2):74-80.

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

Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest. 1997 Jul;112(1):235-43.

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2016]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Borba GC, Hochman B, Liebano RE, Enokihara MM, Ferreira LM. Does preoperative electrical stimulation of the skin alter the healing process? J Surg Res. 2011 Apr;166(2):324-9. doi: 10.1016/j.jss.2009.08.018.

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

Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. Semin Cancer Biol. 2010 Jun;20(3):161-8. doi: 10.1016/j.semcancer.2010.05.002.

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

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

Cairo F, Nieri M, Pagliaro U. Efficacy of periodontal plastic surgery procedures in the treatment of localized facial gingival recessions. A systematic review. J Clin Periodontol. 2014 Apr;41(15):44-62. doi: 10.1111/jcpe.12182.

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

Cairo F, Rotundo R, Miller PD, Pini Prato GP. Root coverage esthetic score: a system to evaluate the esthetic outcome of the treatment of gingival recession through evaluation of clinical cases. J Periodontol. 2009 Dec;80(4):705-10. doi: 10.1902/jop.2009.080565.

Cattermole AE, Wade AB. A comparison of the scalloped and linear incisions as used in the reverse bevel technique. J Clin Periodontol. 1978 Feb;5(1):41-9.

Chambrone L, Faggion CM Jr, Pannuti CM, Chambrone LA. Evidence-based periodontal plastic surgery: an assessment of quality of systematic reviews in the treatment of recession-type defects. J Clin Periodontol. 2010 Dec;37(12):1110-8. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01634.x.

Chambrone L, Tatakis DN. Periodontal soft tissue root coverage procedures: a systematic review from the AAP regeneration workshop. J Periodontol. 2015 Feb;86(2 Suppl):S8-51. doi: 10.1902/jop.2015.130674.

Christian LM, Graham JE, Padgett DA, Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress and wound healing. Neuroimmunomodulation. 2006;13(5-6):337-46.

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 Jun;59(1):158-84. doi: 10.1111/j.1600-0757.2011.00434.x.

Cortellini P, Tonetti M, Baldi C, Francetti L, Rasperini G, Rotundo R, et al. Does placement of a connective tissue graft improve the outcomes of coronally advanced flap for coverage of single gingival recessions in upper anterior teeth? A multi-centre, randomized, double-blind, clinical trial. J Clin Periodontol. 2009 Jan;36(1):68-79.

Cramp AF, Gilsenan C, Lowe AS, Walsh DM. The effect of high- and low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation upon cutaneous blood flow and skin temperature in healthy subjects. Clin Physiol. 2000 Mar;20(2):150-7.

Curtis JW, McLain JB, Hutchinson RA. The incidence and severity of complications and pain following periodontal surgery. J Periodontol. 1985 Oct;56(10):597-601.

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

de Queiroz Côrtes A, Sallum AW, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA. A two-year prospective study of coronally positioned flap with or without acellular dermal matrix graft. J Clin Periodontol. 2006 Sep;33(9):683-9.

de Sanctis M, Zucchelli G. Coronally advanced flap: a modified surgical approach for isolated recession type defects: three-year results. J Clin Periodontol. 2007 Mar;34:262-8.

Emecen-Huja P, Eubank TD, Shapiro V, Yildiz V, Tatakis DN, Leblebicioglu B. Peri-implant versus periodontal wound healing. J Clin Periodontol. 2013 Aug;40(8):816-24. doi: 10.1111/jcpe.12127.

Ennis WJ, Lee C, Plummer M, Meneses P. Current status of the use of modalities in wound care: electrical stimulation and ultrasound therapy. Plast Reconstr Surg. 2011 Jan;127 Suppl 1:93S-102S. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181fbe2fd.

Fones AC. Mouth hygiene. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1934.

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

Fernandes-Dias SB, de Marco AC, Santamaria M Jr, Kerbauy WD, Jardini MA, Santamaria MP. Connective tissue graft associated or not with low laser therapy to treat gingival recession: randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2015 Jan;42(1):54-61. doi: 10.1111/jcpe.12328.

Gapski R, Hasturk H, Van Dyke TE, Oringer RJ, Wang S, Braun TM, et al. Systemic MMP inhibition for periodontal wound repair: results of a multi-centre randomized-controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2009 Feb;36(2):149-56. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01351.x.

Goldman R, Rosen M, Brewley B, Golden M. Electrotherapy promotes healing and microcirculation of infrapopliteal ischemic wounds: a prospective pilot study. Adv Skin Wound Care. 2004 Jul-Aug;17(6):284-94.

Goldstein M, Nasatzky E, Goultschin J, Boyan BD, Schwartz Z. Coverage of previously carious roots is as predictable a procedure as coverage of intact roots. J Periodontol. 2002 Dec;73:1419-26.

Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. J Periodontol. 2003 Mar;74(3):391-401.

Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Res. 2010 Mar;89(3):219-29. doi: 10.1177/0022034509359125.

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

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

Hunckler J, de Mel A. A current affair: electrotherapy in wound healing. J Multidiscip Healthc. 2017 Apr 20;10:179-194. doi: 10.2147/JMDH.S127207.

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

Jepsen K, Jepsen S, Zucchelli G, Stefanini M, Sanctis M, Baldini N, et al. Treatment of gingival recession defects with a coronally advanced flap and a xenogeneic collagen matrix: a multicenter randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2013 Jan;40(1):82-9. doi: 10.1111/jcpe.12019.

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

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

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

Kerner S, Sarfati A, Katsahian S, Jaumet V, Micheau C, Mora F, et al. Qualitative cosmetic evaluation after root-coverage procedures. J Periodontol. 2009 Jan;80:41-7. doi: 10.1902/jop.2009.080413.

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

Kinane DF, Podmore M, Murray MC, Hodge PJ, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. Periodontol 2000. 2001;26:54-91. Review. Erratum in: Periodontol 2000. 2003;31:181.

Kuru L, Yilmaz S, Kuru B, Köse KN, Noyan U. Expression of growth factors in the gingival crevice fluid of patients with phenytoin-induced gingival enlargement. Arch Oral Biol. 2004 Nov;49(11):945-50.

Lee HG, Eun HC. Differences between fibroblasts cultured from oral mucosa and normal skin: implication to wound healing. J Dermatol Sci. 1999 Nov;21(3):176-82.

Lindhe J, Thorkild K, Lang N. Tratado de periodontia clínica e implantodologia oral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.

Löe H, Anerud A, Boysen H. The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, extent of gingival recession. J Periodontol. 1992 Jun;63(6):489-95.

Martínez-Rodríguez A, Bello O, Fraiz M, Martinez-Bustelo S. The effect of alternating and biphasic currents on humans' wound healing: a literature review. Int J Dermatol. 2013 Sep;52(9):1053-62. doi: 10.1111/j.1365-4632.2012.05836.x.

Mercola JM, Kirsch DL. The basis for microcurrent electrical therapy in conventional medical practice. J Adv Med. 1995; 8(2):107-20.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gotzsche PC, Devereaux PJ, et al. Consort 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. BMJ. 2010 Mar;23:c869. doi: 10.1136/bmj.c869.

Moreira ARO, Santamaria MP, Silvério KG, Casati MZ, Nociti Junior FH, Sculean A, et al. Coronally advanced flap with or without porcine collagen matrix for root coverage: a randomized clinical trial. Clin Oral Investig. 2016 Dec;20(9):2539-49. doi: 10.1007/s00784-016-1757-8.

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

Oliveira DWD, Marques DP, Aguiar-Cantuária IC, Flecha OD, Gonçalves PF. Effect of surgical defect coverage on cervical dentin hypersensitivity and quality of life. J Periodontol. 2013 Jun;84:768-75.

Olyaee-Manesh A, Flemming K, Cullum NA, Ravaghi H. Electromagnetic therapy for treating pressure ulcers. Cochrane Database Syst Rev. 2006 Apr;19(2):CD002930.

Ozcelik O, Cenk Haytac M, Kunin A, Seydaoglu G. Improved wound healing by low-level laser irradiation after gingivectomy operations: a controlled clinical pilot study. J Clin Periodontol. 2008 Mar;35(3):250-4. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01194.x.

Ozturan S, Durukan SA, Ozcelik O, Seydaoglu G, Haytac MC. Coronally advanced flap adjunct with low intensity laser therapy: a randomized controlled clinical pilot study. J Clin Periodontol. 2011 Nov;38(11):1055-62. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01774.x.

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

Raeburn CD, Sheppard F, Barsness KA, Arya J, Harken AH. Cytokines for surgeons. Am J Surg. 2002 Mar;183(3):268-73.

Roccuzzo M, Bunino M, Needleman I, Sanz M. Periodontal plastic surgery for treatment of localized gingival recessions: a systematic review. J Clin Periodontol. 2002;29(Suppl 3):178-94.

Rocha Dos Santos M, Sangiorgio JPM, Neves FLDS, França-Grohmann IL, Nociti FH Jr, Silverio Ruiz KG, et al. Xenogenous Collagen Matrix and/or Enamel Matrix Derivative for Treatment of Localized Gingival Recessions: A Randomized Clinical Trial. Part II: Patient-Reported Outcomes. J Periodontol. 2017 Dec;88(12):1319-28. doi: 10.1902/jop.2017.170127.

Sangiorgio JPM, Neves FLDS, Rocha Dos Santos M, França-Grohmann IL, Casarin RCV, Casati MZ, et al. Xenogenous Collagen Matrix and/or Enamel Matrix Derivative for Treatment of Localized Gingival Recessions: A Randomized Clinical Trial. Part I: Clinical Outcomes. J Periodontol. 2017 Dec;88(12):1309-18. doi: 10.1902/jop.2017.170126.

Santamaria MP, Ambrosano GM, Casati MZ, Nociti FH, Sallum AW, Sallum EA. The influence of local anatomy on the outcome of treatment of gingival recession associated with non-carious cervical lesions. J Periodontol. 2010 Jul;81(7):1027-34. doi: 10.1902/jop.2010.090366.

Sanz M, Simion M, Working Group 3 of European Workshop on Periodontology. Surgical techniques on periodontal plastic surgery and soft tissue regeneration: consensus report of Group 3 of the 10th European Workshop on Periodontology. J Clin Periodontol. 2014 Apr;41(Suppl15):592-7. doi: 10.1111/jcpe.12215.

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

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

Serino G, Wennstrom JL, Lindhe J, Enertoh L. The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with high standard of oral hygiene. J Clin Periodontol. 1994 Jan;21:57-63.

Shavit Y, Fridel K, Beilin B. Postoperative pain management and proinflammatory cytokines: animal and human studies. J Neuroimmune Pharmacol. 2006 Dec;1(4):443-51.

Spadari GS, Zaniboni E, Vedovello SA, Santamaria MP, do Amaral ME, Dos Santos GM, et al. Electrical stimulation enhances tissue reorganization during orthodontic tooth movement in rats. Clin Oral Investig. 2017 Jan;21(1):111-20. doi: 10.1007/s00784-016-1759-6.

Tatakis DN. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. J Periodontol. 1993 May;64(5 Suppl):416-31.

te Velde AA, Huijbens RJ, Heije K, de Vries JE, Figdor CG. Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. Blood. 1990 Oct 1;76(7):1392-7.

Toffenetti F, Vanini L, Tammaro S. Gingival recessions and noncarious cervical lesions: a soft and hard tissue challenge. J Esthet Dent. 1998;10(4):208-20.

Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Endo Y, Kasuyama K, Nagayama M, Morita M. Effects of electrical stimulation on periodontal tissue remodeling in rats. J Periodont Res. 2013;48:177-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01518.x.

Tonetti MS, Jepsen S. Clinical efficacy of periodontal plastic surgery procedures: consensus report of group 2 of the 10th european workshop on periodontology. J Clin Periodontol. 2014 Apr;41 Suppl 15:S36-43. doi: 10.1111/jcpe.12219.

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

Vignoletti F, Nuñez J, de Sanctis F, Lopez M, Caffesse R, Sanz M. Healing of a xenogeneic collagen matrix for keratinized tissue augmentation. Clin Oral Implants Res. 2015 May;26(5):545-52. doi: 10.1111/clr.12441.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res. 2003 May 2;92(8):827-39.

Wolf G, Livshits D, Beilin B, Yirmiya R, Shavit Y. Interleukin-1 signaling is required for induction and maintenance of postoperative incisional pain: genetic and pharmacological studies in mice. Brain Behav Immun. 2008 Oct;22(7):1072-7. doi: 10.1016/j.bbi.2008.03.005.

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

Zaher CA, Hachem J, Puhan MA, Mombelli A. Interest in periodontology and preferences for treatment of localized gingival recessions. J Clin Periodontol. 2005 Apr;32(4):375-82.

Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. Int Anesthesiol Clin. 2007 Spring;45(2):27-37.

Zhao M1, Penninger J, Isseroff RR. Electrical activation of wound-healing pathways. Adv Skin Wound Care. 2010 Jan;1(1):567-73.

Zucchelli G, Clauser C, De Sanctis M, Calandriello M. Mucogingival versus guided tissue regeneration procedures in the treatment of deep recession type defects. J Periodontol. 1998 Feb;69(2):138-45.

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética

UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito de estimulação elétrica no retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais: estudo clínico controlado randomizado.

Pesquisador: Felipe Lucas da Silva Neves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56450016.2.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.579.369

Apresentação do Projeto:

A recessão gengival é um problema muito comum na clínica odontológica, podendo afetar até 100% da população e frequentemente associada à sensibilidade dentinária e problemas estéticos. Mesmo as melhores técnicas cirúrgicas para seu tratamento apresentam uma grande variabilidade nos resultados, e nem todos os pacientes se sentem completamente satisfeitos com o resultado estético final. Uma das razões que podem explicar esta variação é a diferença no processo de cicatrização de cada paciente. Compreender a cicatrização de feridas a nível molecular fornece a base
científica para desenvolver estratégias específicas com a intenção de superar a cicatrização retardada, melhorando os resultados de cirurgias plásticas periodontais. Muitas estratégias têm sido utilizadas na tentativa de acelerar a cicatrização, uma delas é a aplicação de um estímulo elétrico exógeno para ativar o reparo tecidual, cuja compreensão dos efeitos sobre os resultados clínicos e sobre o nível molecular de biomarcadores imunológicos durante a cicatrização gengival pode representar um novo protocolo de tratamento no arsenal da cirurgia plástica periodontal. Assim, o
objetivo do presente estudo é avaliar clinicamente e através da concentração de diversos marcadores inflamatórios, os resultados de 6 meses da estimulação elétrica associada com o

Endereço: Av.Eng° Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais. Para tal, será realizado um ensaio clínico duplo cego, controlado seguindo as normativas do CONSORT-STATEMENT 2010. Serão selecionados 50 pacientes apresentando
recessão gengival que serão divididos nos grupos: CAF: cirurgia periodontal para recobrimento radicular por meio de retalho posicionado coronariamente e simulação da estimulação elétrica (Sham) CAF+E: cirurgia periodontal para recobrimento radicular por meio de retalho posicionado coronariamente e estimulação elétrica. Serão avaliadas a taxa de recobrimento, estética, conforto dos pacientes no baseline e após 3 e 6 meses após o procedimento. A concentração de marcadores inflamatórios e fatores de crescimento serão avaliados previamente ao procedimento e 14, 45 e 180 dias após a cirurgia.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a partir do ponto de vista clínico, estético e de parâmetros centrados no paciente, os resultados da aplicação da estimulação elétrica associada à técnica de retalho posicionado coronariamente para tratamento de recessões gengivais.Será avaliada também a concentração de diversos marcadores inflamatórios e fatores de crescimento durante o período de cicatrização de feridas de enxerto de tecido conjuntivo associado ou não a um protocolo de estimulação elétrica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os possíveis desconfortos (riscos) deste estudo são: dor leve, inchaço e sangramento da região operada. Todas as medidas de segurança necessárias tais como uso de materiais descartáveis e instrumentais esterilizados serão adotadas. Além disso, toda e qualquer ocorrência durante o tratamento será avaliada e tratada pelos pesquisadores envolvidos.

O benefícios serão a diminuição da sensibilidade dentária;- possibilitar a correta escovação, prevenindo a cárie de raiz, a gengivite e a doença periodontal;- Melhora da estética gengival - Diminuição do risco de lesão na raiz do dente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A proposta dos benefícios obtidos com o recobrimento da raiz exposta, provocada pela recessão gengival, é interessante,pois diminui a sensibilidade radicular e as outras queixas dos pacientes que tem recessões gengivais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação estão de acordo, mas gostaria de sinalizar que o termo usual deve ser "não-inclusão" ao invés de "exclusão" que é termo aprovado pelo CONEP.

UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS

Continuação do Parecer: 1.679.369

Recomendações:

As recomendações foram atendidas.

O pesquisador deverá atender a obrigatoriedade de envio de relatório científico (VIA NOTIFICAÇÃO, pelo Sistema da Plataforma Brasil), conforme seu cronograma, para não incorrer na penalidade de não ter submissões analisadas pelo CEPh-ICT-CAMPUS DE SJCAMPOS-UNESP

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram solucionadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado, aprova o parecer da relatora.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_722341.pdf	08/07/2016 11:51:42		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento_livre_e_esclarecido.doc	08/07/2016 11:51:01	Felipe Lucas da Silva Neves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Doutorado_Felipe.docx	25/05/2016 11:24:19	Felipe Lucas da Silva Neves	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	25/05/2016 11:21:02	Felipe Lucas da Silva Neves	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 15 de Agosto de 2016

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)

Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br