

EDUARDO MEIRELLES MARCON

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA INFLAMAÇÃO, COM O USO DE TRÊS
CURATIVOS, NO REPARO DE ÚLCERAS
EM CALVÁRIAS DE RATOS**

CAMPO GRANDE
2013

EDUARDO MEIRELLES MARCON

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA INFLAMAÇÃO, COM O USO DE TRÊS
CURATIVOS, NO REPARO DE ÚLCERAS
EM CALVÁRIAS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia Prof. Albino Coimbra Filho da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior

CAMPO GRANDE
2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

EDUARDO MEIRELLES MARCON

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA INFLAMAÇÃO, COM O USO DE TRÊS CURATIVOS,
NO REPARO DE ÚLCERAS EM CALVÁRIAS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia Prof. Albino Coimbra Filho da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado Final: Aprovado

Campo Grande (MS), 26 de julho de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior
FAODO-UFMS

Prof. Dr. Elifas Levy Nunes
UNESP

Prof. Dr. Pedro Gregol da Silva
FAODO-UFMS

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **José Roberto** e **Cinira**, pela minha criação, formação e educação. Pela confiança e apoio em todos os momentos da minha vida. Pelos exemplos de caráter, honestidade e fé.

À minha esposa **Vânia** pelo apoio, dedicação e companheirismo em todos os momentos de minha caminhada.

À minha querida filha **Isadora**, minha vida, minha paixão, por simplesmente existir.

Ao meu sempre professor, orientador e amigo **Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior** pelos ensinamentos, confiança, amizade e também pelos exemplos de caráter e humildade, frente a sua sabedoria e grande capacidade profissional.

Ao meu amigo **Prof. Dr. Alan Augusto Kalife Coelho**, pela dedicação, apoio e ensinamentos presentes em minha trajetória profissional.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos e companheiros **Prof. Ms. Achilles Parma Neto e Prof. Ms. Eduardo Fialho de Almeida Braga**, por esses anos de convivência, aprendizados e ensinamentos.

Aos meus **companheiros de turma**, por esses anos de convívio e amizade, tornando a jornada uma fantástica e inesquecível fase de minha vida.

Ao **Prof. Dr. Pedro Gregol da Silva**, coordenador deste programa de pós-graduação, pelo apoio e amizade, possibilitando a realização de um grande sonho.

Ao Prof. **Dr. Elifas Levy Nunes**, membro da Banca, por ter prontamente aceito o convite, enriquecendo o trabalho com suas sugestões através de grande conhecimento científico.

Ao **Prof. Dr. Anísio Lima da Silva** por participar da Banca de Qualificação desse Trabalho, tornando possível sua Defesa.

À **Prof.^a Dr.^a Nára Rejane Santos Pereira** que além de participar da Banca de Qualificação, colaborou de forma fundamental na correção final da Dissertação.

À **Prof.^a Dr.^a Cármen Regina Coldebella** pelo grande Trabalho Estatístico realizado.

À **Prof.^a Dr.^a Rosana Mara Giordano de Barros** pelos ensinamentos nas leituras das lâminas.

À acadêmica e amiga **Isabella Ferrão** pelo apoio e colaboração nas pesquisas.

Aos meus colegas **Bruno Magalhães, Valter Souza e Emily Nakamura** pela colaboração nas pesquisas.

À funcionária **Vera Lúcia** da Pós-graduação (FAODO), pela paciência, atenção e apoio.

À funcionária **Osvalda** da (FAODO), pela atenção, ajuda e orientações.

A todos os **funcionários da FAODO, do Biotério e do Laboratório de Histologia da UFMS** que ajudaram direta e indiretamente na realização desse trabalho.

Ao **Programa de Pós-graduação de Mestrado em Odontologia**, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram essa grande conquista.

“Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará assim uma máquina utilizável e não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento, senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Marcon, EM. Análise histológica da inflamação, com o uso de três curativos, no reparo de úlceras em calvárias de ratos. Campo Grande; 2013. [Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia Prof. Albino Coimbra Filho da Universidade Federal de Mato Grosso Sul].

O objetivo desse trabalho foi avaliar a processo inflamatório de lesões em calvárias de ratos, frente a três curativos, HemCon, Colla Cote e Biocure. Foram utilizados 40 ratos Wistar adultos. Em cada animal foram feitas quatro lesões em calvárias, medindo 5mm de diâmetro e 2mm de profundidade utilizando os curativos e uma lesão controle. Os animais foram divididos em quatro tempos de sacrifícios; 1, 3,12, e 24 horas. Realizou-se um estudo comparativo entre os 4 tempos através de um score. Os resultados mostraram que após 24 horas todos os três curativos apresentaram resultados melhores que o grupo controle. E que o curativo HemCon apresentou resultados superiores quando comparados aos outros materiais testados.

Palavras chave: Lesões; Epitelial; Homeostasia.

ABSTRACT

Marcon, EM. **Histological analysis of inflammation, with the use of three dressings, in the repair of ulcers in rat calvaria.** Campo Grande; 2013. [Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia Prof. Albino Coimbra Filho da Universidade Federal de Mato Grosso Sul].

The aim of this study was to evaluate the inflammatory lesions in rat calvaria, given three dressings, HemCon, Colla Cote and Biocure. The study was performed in 40 adult Wistar rats. Four lesions in calvaria were made in each animal, measuring 5mm in diameter and 2mm in depth, using dressings and injury control. The animals were divided into four times of sacrifice, 1, 3, 12, and 24 hours. We conducted a comparative study between the four different times through a score. The results demonstrated that after 24 hours all three dressings showed better results than the control group. Also, the HemCon bandage showed superior results when compared to the other materials tested.

Keywords: Lesions; Epithelial; Homeostasis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EGL – Enxerto Gengival Livre

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

CEUA – Comitê de Ética em Uso de Animais

CCBS – Centro de Ciências Biológicas e de Saúde

HE – Hematoxilina e Eosina

LISTA DE SÍMBOLOS

% - percentual

H – hora

cm – centímetro

cm³ - centímetro cúbico

°C – grau Celsius

W – watts

ml – mililitros

g – grama

kg – quilograma

mg – miligrama

µm – micrometro

T – tempo

G - grupo

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Valores da mediana dos scores do grau de inflamação dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.....38
- Tabela 2: Valores da mediana dos scores do grau de hiperemia dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.....39
- Tabela 3: Valores da mediana dos scores do grau de degeneração dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.....40
- Tabela 4: Valores da mediana dos scores do grau de hemorragia dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.....41
- Tabela 5: Valores da mediana dos scores para cada material nos diferentes períodos de avaliação.....42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gaiolas com os animais.....	27
Figura 2: Armazenamento das gaiolas.....	27
Figura 3: Anestesia por via intraperitoneal.....	28
Figura 4: Anestésico.....	28
Figura 5: Tricotomia da calvária.....	28
Figura 6: Bisturi circular.....	29
Figura 7: Contra-ângulo.....	29
Figura 8: Motor cirúrgico.....	29
Figura 9: Lesões provocadas em calvárias.....	29
Figura 10: Lesão protegida com Biocure.....	30
Figura 11: Biocure.....	30
Figura 12: Lesão protegida com HemCon.....	30
Figura 13: HemCon.....	30
Figura 14: Lesão protegida com Colla Cote.....	30
Figura 15: Colla Cote.....	30
Figura 16: Lesão com coágulo (controle).....	31
Figura 17: Antimicrobiano.....	31
Figura 18: Analgésico.....	31
Figura 19: Remoção das peças.....	32
Figura 20: Peça com os curativos.....	33
Figura 21: Remoção dos curativos.....	33
Figura 22: Separação das lesões.....	33
Figura 23: Bloco de cêra.....	34
Figura 24: Micrótomo rotativo.....	34

Figura 25: Microtomia das lesões.....	34
Figura 26: Inflamação intensa (3). Controle (T3).....	35
Figura 27: Hiperemia moderada (2). Colla Cote (T2).....	35
Figura 28: Degeneração moderada (2). Biocure (T2).....	36
Figura 29: Hemorragia leve (1). HemCon (T4).....	36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Resultados para o grau de inflamação dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.....	37
Gráfico 2	Resultados para o grau de hiperemia dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.....	38
Gráfico 3	Resultados para o grau de degeneração dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.....	39
Gráfico 4	Resultados para o grau de hemorragia dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.....	40
Gráfico 5	Resultados de cada material em relação aos diferentes tempos de avaliação.....	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Enxerto Gengival Livre.....	18
2.2 HemCon.....	19
2.3 Colla Cote.....	22
2.4 Biocure.....	24
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2 Objetivo Específico.....	26
4 MATERIAL E MÉTODO.....	27
4.1 Procedimentos cirúrgicos.....	27
4.2 Procedimentos histológicos.....	31
4.3 Procedimentos estatísticos.....	36
5 RESULTADOS.....	37
5.1 Variáveis.....	37
5.2 Tempo.....	41
6 DISCUSSÃO.....	43
7 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXO 1 – COMITÊ DE ÉTICA	52

1 INTRODUÇÃO

A homeostasia do periodonto de proteção requer algumas condições mínimas para que possa ser estabelecida. Dentre elas, uma faixa de mucosa queratinizada na área marginal, em satisfatória qualidade e quantidade, é extremamente importante (RESENDE et al., 2009).

Quando há necessidade de reparar uma área onde a gengiva queratinizada é estreita ou até ausente pode-se empregar técnicas cirúrgicas de enxertia. O enxerto gengival livre (EGL) é o procedimento mais utilizado para formação de uma nova faixa de gengiva queratinizada (SHIBAYAMA e FUJI, 2000). O EGL é um procedimento que envolve a remoção da gengiva (tecido epitelial) de um leito doador e sua transferência para um leito receptor onde a área eleita como doadora, geralmente, é o palato duro (MONNET-CORTI e BORGUETTI, 2002). Entretanto, por ser removido o epitélio, a região torna-se cruenta, deixando o paciente susceptível à dor e a hemorragia tardia (SILVA et al., 2008). Apesar disso, não existem grandes mudanças no procedimento ou na proteção da área doadora que possibilitem o conforto do paciente (BOSCO et al., 1996). Alguns materiais foram propostos para proteger a área, dentre eles os mais recentes são a membrana de látex com polilisina a 0,1%, curativo com quitosana e colágeno.

A membrana de látex natural é extraída da seringueira *Hevea brasiliensis* e fabricada por um processo diferente da técnica convencional utilizada nas indústrias de borracha por ser o látex banhado após o processamento pela proteína de polilisina (MRUE et al., 2004; XAVIER et al., 2008). Essa proteína tem a capacidade de induzir a aceleração dos processos de cicatrização por estimular a angiogênese, a proliferação fibroblástica e a reconstituição tecidual, então melhorando o pós-operatório, pela aceleração da reparação (PAULO et al., 2005).

A membrana com quitosana, um polímero biocompatível e naturalmente degradada no organismo, é um autoadesivo que estabiliza o coágulo sanguíneo, atraindo células vermelhas do sangue, sem a necessidade de sutura, que protege o leito cirúrgico, aliviando a dor e que é degradada em 48 horas, deixando o local livre para uma cicatrização natural (COSTA et al., 2006).

A membrana de colágeno ajuda a controlar o sangramento, estabiliza o coágulo, protege o leito da ferida melhorando o processo de cicatrização e é

totalmente absorvida em até 14 dias (FREITAS et al., 2008). Curativos à base de colágeno têm sido empregados na Odontologia, com diversos objetivos. Durante alguns anos, na tentativa de criar protocolos de Regeneração Óssea Guiada (ROG), alguns autores chegaram a propor o uso de curativos de colágeno associado a enxertos ósseos liofilizados, tendo sua utilização para este fim decaído em favor da utilização de membranas de colágeno com maior tempo de reabsorção (CALLAN et al., 2000; JACKSON e MORCOS, 2007).

Espera-se que os resultados dessa pesquisa possam mostrar os estímulos desses curativos frente ao processo inflamatório das lesões protegidas por eles, pois os relatos da utilização de curativos de colágeno em áreas doadoras de enxerto em cirurgias mucogengivais, ainda são escassos na literatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Enxerto gengival livre

Para Bosco et al. (1996) pouca ênfase tem sido dada para a área doadora e novas alternativas com objetivo de favorecer a cicatrização da área e diminuir o desconforto pós-operatório devem ser pesquisadas.

Quanto à preparação, conforme a técnica, o tecido enxertado deve ser trabalhado para conter epitélio e conjuntivo (GENNARO et al., 2007).

A necessidade desta intervenção cirúrgica para obtenção do enxerto autógeno traz uma limitação à técnica quanto à morbidade pós-operatória, uma vez que a área doadora fica cruenta e desprotegida, causando grande desconforto, doloroso ao paciente e risco de hemorragia tardia (FEITOSA et al., 2008).

Em um periodonto com boas condições, não se pode precisar sobre o papel da gengiva queratinizada para a saúde desse meio. As intervenções para a recuperação da faixa perdida ou ausente de gengiva queratinizada são recomendadas a partir do momento em que há o comprometimento da higiene oral, inflamações e/ou o aumento de recessões (SILVA et al., 2008).

Alguns materiais são aplicados no intuito de promover uma proteção mecânica na área doadora (cimento cirúrgico, placa de acetato, micropore, etc.), no entanto, nenhum deles é capaz de induzir a aceleração da reparação (RESENDE et al., 2009).

Mesmo que não seja possível convencionar qual a faixa ideal para a indicação de intervenções, considera-se que níveis inferiores a 2mm sejam preditivos da necessidade de ação cirúrgica para seu aumento, visando a saúde bucal do paciente (SCHROTT, 2009).

Geralmente a área doadora é o palato, pela boa qualidade e quantidade da camada de revestimento de queratina da região, mas bons enxertos também podem ser retirados da tuberosidade ou crista edêntula (CAMIO et al., 2010).

O aumento da faixa de gengiva queratinizada na presença de comprometimentos à saúde periodontal é orientado pelo papel de barreira que ela exerce, com efeito, protetivo às agressões teciduais (SANTAMARIA, 2011).

Junto aos efeitos dolorosos dessas condições e das eventuais alterações funcionais, o impacto estético das deformidades ou alterações mucogengivais é uma

das principais motivações entre os pacientes para a busca por tratamento especializado (GERMINIANI et al., 2011).

Para Costa et al.(2011) a recessão é marcada pelo deslocamento vertical do tecido da gengiva rumo ao terço apical. Traz desconforto ao paciente e tem dentro de suas opções de tratamento o enxerto gengival livre (EGL).

O procedimento consiste na remoção de tecido epitelial de uma região doadora e sua inserção na área receptora, com um período de reestabelecimento que costuma não ir além de 15 dias e resultados estéticos em curto prazo (PACHECO e HENRIQUES, 2011).

A importância da presença de uma faixa de tecido queratinizado na manutenção da saúde periimplantar é um tema que já gerou muitas controvérsias na literatura. No entanto, diversos estudos têm demonstrado que a presença de gengiva queratinizada ao redor de implantes osseointegrados de fato apresenta seus benefícios, contribuindo para o selamento e prevenção da inflamação periimplantar, imobilização e diminuição da probabilidade de colapso dos tecidos moles, simplificação do processo de moldagem e principalmente, na facilitação da higienização da área do implante pelo paciente (ESPER et al., 2012).

O EGL é uma técnica com bons resultados para vários problemas do periodonto, dentre os quais a recuperação da faixa de gengiva queratinizada e reestabelecimento da margem gengival (WENNSTRÖM e DERKS, 2012).

O EGL tem resultados seguros e previsíveis na melhoria da faixa de gengiva queratinizada e dentre outros benefícios, recupera a barreira gengival contra eventuais agressões teciduais (ALMEIDA et al., 2012).

Comumente, em duas semanas, o paciente está recuperado e, nesse espaço de tempo, a queixa mais comum é em relação à dor e desconforto na área doadora do enxerto (FERRÃO JUNIOR et al., 2012).

2.2 HemCon

A quitosana é produzida a partir do processamento da carapaça de crustáceos, (principalmente camarões e caranguejos), e apresentam um grande valor comercial devido a sua alta porcentagem de hidrogênio (SUH e MATHEW, 2000).

A quitosana é um polímero natural que apresenta reconhecida propriedade antimicrobiana (bactericida, bacteriostática, fungicida, fungistática) e também cicatrizante. Foi descoberta em 1859 por Rouget, quando do contato da quitina com uma solução de hidróxido de potássio em ebulição (DALLAN, 2005).

Hemcon é fabricado a partir de quitosana, derivado de um biopolímero chamado quitina, que sofre um processo de secagem por congelamento e remodelação para formar um material altamente esponjoso (BURKATOVSKAYA et al., 2006).

A principal causa de mortes em combate é a hemorragia descontrolada seguida de choque. Para minimizar este risco, o curativo HemCon era carregado por todos os soldados do exército dos EUA em seu kit individual de primeiros socorros (IFAK) quando estavam em combate. Cada médico do exército americano carregava cinco bandagens Hemcon em seu kit. Foi utilizado para tratar ferimentos em combate, envolvendo grande sangramento arterial e venoso, resultante de feridas de projétil de alta velocidade, explosão, esmagamento e dilaceração (WEDMORE et al., 2006).

Soldados em combate e com alergia a frutos do mar, incluindo aqueles com feridas orais, foram tratados com sucesso com o HemCon. Mais de 1.000.000 de unidades dos curativos HemCon foram entregues para os militares dos EUA e não foi relatado nenhum evento alérgico. Esta falta de reatividade é provavelmente devida à eliminação de proteína de antígenos de reações alérgicas durante o processamento de gelificação da quitosana antes de ser utilizado para fazer tanto o HemCon curativo como o HemCon dental dressing. O exército dos EUA aprovou o uso de HemCon em pacientes que tinham alergia a frutos do mar (WEDMORE et al., 2006).

No caso da quitosana, corrobora o fato de ser um material obtido principalmente do exoesqueleto de crustáceos, abundante em áreas de costa marítima e que tem, na produção da quitosana, sua reciclagem com viabilidade econômica e ecológica. O avanço nas pesquisas torna esta membrana cada vez mais utilizada, além disso, feridas tratadas com quitosana mostraram menor grau de fibroplasia, favorecendo a reepitelização com formação de cicatriz lisa. A propriedade imunomoduladora da quitosana é devida a sua capacidade de ativar quase que exclusivamente o macrófago e explica não somente seu papel na aceleração da cicatrização de lesões, mas também a biodegradabilidade desse polímero no organismo (SILVA et al., 2006).

A HemCon Industries em colaboração com o Providence St. Vincent's Hospital e o Oregon Medical Laser Center todos em Portland, Oregon, Estados Unidos, teve suas pesquisas patrocinadas pelas forças armadas americanas para que desenvolvesse curativos para os soldados utilizarem no campo de batalha. Estes curativos foram usados nas guerras do Iraque e Afeganistão, salvando inúmeras vidas devido suas propriedades de controlar a hemorragia em poucos minutos e aliviar a dor dos soldados. O HemCon Dental Dressing é um dispositivo médico hemostático que pode ser usado em cirurgias orais para atingir a hemostasia precoce e melhorar a cura pós-operatória, tendo a capacidade de selar cavidades pós extrações. Na periodontia é utilizado na região doadora de enxerto gengival para que haja uma cicatrização mais rápida e com um maior conforto ao paciente, diminuindo a dor. Como ele adere na ferida, não há necessidade de sutura e será reabsorvido num período de 48h, melhorando assim a cicatrização do leito doador, garantindo um maior conforto ao paciente (MALMQUIST et al., 2008).

A quitosana é conhecida por acelerar a granulação durante a fase proliferativa da cicatrização de feridas. Curativos bioativos são relatados como superior ao convencional e sintético, tais como curativos de gaze e hidrogel respectivamente. Estes biomateriais têm a vantagem de fazer parte da matriz de tecido natural, são biodegradáveis e alguns desempenham um papel ativo na cicatrização de feridas e a formação de tecido novo. Essas características os tornam opções atraentes de biocompatibilidade e do ponto de vista toxicológico (BOATENG et al., 2008).

Os curativos tornam-se aderentes ao entrar em contato com o meio da ferida oral e fornecem uma camada protetora, podendo ser cortado de tamanho personalizado para atender às necessidades do paciente. Proporciona uma barreira física para proteger a superfície da ferida, reduzindo a dor (CUI XU et al., 2009).

A quitosana ativa os macrófagos e as células mononucleadas e induz a produção de uma variedade de fatores de crescimento. Além disso, ela tem recebido atenção como eficaz sistema de transporte para a liberação de agentes bioativos, particularmente proteínas morfogenéticas do osso, para melhorar a formação óssea *in vitro* e *in vivo*. É um potencial como um novo mecanismo terapêutico, pois se acredita que as células mesenquimais são capazes de diferenciarem-se em osteoblastos, quando estimulado por fatores locais, tais como proteínas morfogênicas do osso o que leva à regeneração óssea (GEFFRE et al., 2011).

Um estudo em coelhos teve como objetivo avaliar o efeito hemostático do Hemcon e sulfato férrico nos locais das feridas ósseas e medir o potencial de cicatrização de feridas e porcentagem de formação de novo osso em criptas ósseas tratadas com HemCon e sulfato férrico. Os resultados mostraram que a hemorragia intermitente foi obtida com um valor médio de 1 minuto tanto para o HemCon como para o sulfato férrico, enquanto que a hemostase completa foi obtida em 2,17 min. para HemCon e 2,33 para sulfato férrico. A avaliação da neoformação óssea revelou que HemCon mostrou significativamente mais deposição óssea dentro das criptas ósseas em comparação ao controle (AZARGOON et al., 2011).

Kale et al.(2012) realizaram um estudo com 40 pacientes dentre eles nove diabéticos e pacientes com distúrbios plaquetários, tomando medicações antiplaquetárias e anticoagulantes. Avaliaram o uso de HemCon em locais de extração e descobriram que todos esses sítios, incluindo os nove pacientes que tomam anticoagulantes orais tratados com o HemCon, alcançaram hemostasia em menos de 1 minuto versus controle feridas em 9,53 minutos. Comprovaram que a Hemcon facilita a hemostasia e reduz a dor, diminui os riscos de trombose, pois permite ao paciente continuar com sua medicação, mostrando-se eficaz no combate a infecções e qualquer tipo de manifestação na ferida. A HemCon desempenha importante papel na hemostase, porém de maneira independente ao sistema clássico da cascata de coagulação. Tem carga positiva (+) e atrai as células vermelhas do sangue e plaquetas que têm carga negativa (-). Após esta atração forma-se uma forte ligação que permite ao organismo formar um coágulo natural, cessando a hemorragia e aliviando a dor.

2.3 Colla Cote

Levando em conta o fato de que, na técnica do EGL, o risco de hemorragia após a remoção do enxerto e a alta sensibilidade dolorosa na área doadora são fatos que deixam o paciente e, em alguns casos, o próprio profissional receosos, em um relato de caso clínico publicado em 1984, Stein et al. utilizaram um curativo à base de colágeno para proteção da área doadora, obtendo desta forma uma boa hemostasia na região, eliminando o risco de uma hemorragia no local.

Os curativos de colágeno têm sido usados dentro da área da Implantodontia, na reparação de pequenas perfurações acidentais da membrana do seio maxilar em cirurgias de levantamento do seio maxilar para a colocação de implantes (McALLISTER, 1999).

Pikos (1999) relatou um caso clínico com o objetivo de demonstrar a utilização de curativos de colágeno (Colla Cote), para perfurações da membrana do seio maxilar em cirurgias de levantamento de seio. O autor concluiu que em casos de perfurações pequenas da membrana do seio (de 5 a 10mm de diâmetro), o curativo de colágeno (Colla Cote), mostrou um ótimo resultado na proteção prévia ao preenchimento ósseo.

Tonhi e Plepis (2002) relataram que o colágeno é uma proteína fibrosa presente na pele, tendões, ossos, dentes, vasos sanguíneos, intestinos e cartilagens, correspondendo a 30% da proteína total do corpo humano. Essa proteína é amplamente utilizada em aplicações biomédicas e está intimamente associada à cicatrização. É facilmente degradada e reabsorvida pelo corpo permitindo uma boa adesão celular.

Em um estudo clínico controlado com 48 pacientes, Vy et al. (2004) testaram a eficiência hemostática do curativo de colágeno (Colla Cote), em cirurgias parendodônticas, obtendo excelente hemostasia dos sítios cirúrgicos.

Johnson et al. (2006) em um estudo *in vitro*, avaliaram a utilização de um curativo de colágeno reabsorvível (Colla Cote) na prevenção ou diminuição de extravasamento de material obturador endodôntico em pulpectomias de molares decíduos. Os autores concluíram que o uso do curativo de colágeno não preveniu completamente, mas diminuiu significativamente o risco de extravasamento de material obturador, ressaltando, no entanto a necessidade de mais pesquisas antes da aplicação clínica desta técnica.

Landsberg (2008) relatou dois casos clínicos descrevendo detalhadamente os passos cirúrgicos de selamentos alveolares, tendo como objetivo o preparo dos locais para a confecção de pôneicos estéticos, utilizando um curativo de colágeno na área doadora palatina para comprimir os vasos sanguíneos e promover a hemostasia do local. A utilização do curativo de colágeno na área doadora contribuiu para uma boa capacidade hemostática e na estabilização do coágulo, prevenindo assim, hemorragias locais transcirúrgicas e pós-operatórias.

A Colla Cote é um curativo de colágeno disponível como um material poroso absorvível para cobrir áreas doadoras palatais. É indicado para ajudar a absorver o sangue e exsudato da ferida e promover a hemostasia, auxiliando a cicatrização de feridas, enquanto ao mesmo tempo aumenta o conforto do paciente. Tem sido amplamente utilizado no campo da medicina e da odontologia, devido a sua capacidade de conseguir a hemostase, para quimiotaxia de fibroblastos e de plaquetas, e indução da proliferação e diferenciação mesenquimal (SHANMUGAM et al., 2010).

2.4 Biocure

A Biocure é uma biomembrana de látex natural, extraída da seringueira *Hevea brasiliensis* e fabricada por um processo diferente do tradicional, usada nas indústrias de borracha, porque é banhada pela proteína de polilisina a 0,1%, que aumenta a permeabilidade e o fluxo microvascular. Foi desenvolvida pelo departamento de bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de Ribeirão Preto em 1994, e desde então vem sendo pesquisada (MRUE et al., 2004).

Acredita-se que a biomembrana de látex com polilisina apresente importantes propriedades biológicas, tais como: atividade neoangiogênica, promoção de adesão celular e formação de matriz extracelular. Em estudos experimentais, a biomembrana favoreceu o reparo de defeitos parciais de esôfago e de ressecções extensas de parede abdominal, demonstrando inclusive capacidade de substituição parcial de pericárdio. Também já foi utilizada com sucesso em cirurgias reconstrutoras de membrana timpânica e em úlceras de membros inferiores. Esse material demonstrou ser biocompatível em todos os experimentos já realizados, sem nenhum tipo de reação alérgica (PINHO et al., 2004).

A polilisina é uma poliamina sintética usada rotineiramente em histologia com a finalidade de facilitar a adesão celular sobre superfícies vítreas. Este produto é, carregado positivamente e as células normalmente não têm receptores específicos para ele. Acredita-se que a adsorção celular forçada pela polilisina seja promovida pelas interações eletrostáticas entre a membrana celular e a superfície da poliamina, mimetizando os eventos adesivos que ocorrem naturalmente entre as membranas

celulares e seus receptores específicos. As alterações nas cargas elétricas superficiais vão assim alterar a estrutura e a função celular (PAULO et al., 2005).

A biomembrana, produzida do látex extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* pode ser usada em reparo de defeito parcial de esôfago, ressecções extensas de parede abdominal, substituição parcial de pericárdio, meringoplastias, reconstituição de tímpanos e reconstrução conjuntival; e também na cicatrização de feridas crônicas, tais como: úlceras por insuficiência vascular, diabética, de pressão, vasculogênicas, feridas cirúrgicas e traumáticas limpas ou infectadas (FUGIMOTO et al., 2007).

Em um relato de caso clínico Xavier et al. (2008) avaliaram os benefícios do uso de uma membrana de látex com polilisina a 0,1% como curativo, realizando duas cirurgias de enxerto gengival livre utilizando áreas doadoras palatinas, tendo sido colocada a membrana de látex sob o cimento cirúrgico de proteção em uma delas, enquanto na outra foi aplicado apenas o cimento cirúrgico. Houve aceleração na epitelização, associada a um aumento da hemostasia e diminuição da sensibilidade pós-operatória na área que recebeu o curativo.

Silva e Maniscalco (2013) provocaram um defeito no palato secundário de sete cães, dos quais, cinco foram recobertos com a biomembrana de látex com polilisina a 1%, e os outros (dois) foram escolhidos como controle e tiveram o fechamento por segunda intenção. No período pós-operatório foram realizadas observações clínicas e macroscópicas para avaliação dos resultados. A membrana foi um fator de aceleração do processo de reparação, visto que os animais do grupo controle demoraram mais tempo para ter o defeito totalmente fechado em relação aos outros.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliação histológica do processo inflamatório de feridas, em calvária de ratos, pelo uso da biomembrana de látex com polilisina a 0,1%, da membrana com quitosana e da membrana de colágeno.

3.2 Objetivo Específico

Avaliação do estímulo que os biomateriais exercem sobre o tecido durante o processo inflamatório inicial, analisando qualitativamente os achados histológicos, comparando os resultados aos encontrados nos grupos controles.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Procedimentos cirúrgicos

Foram utilizados 40 ratos Wistar machos, de procedência do biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus Campo Grande, com peso de aproximadamente 350g. Os animais foram mantidos em gaiolas unitárias (Figura 1) de 25cm³ - 45x30x15cm de comprimento, largura e altura respectivamente, com tampa gradeada de metal e mantidos, a uma temperatura de 24°C e com iluminação artificial por lâmpada fluorescente (modelo luz do dia, 40W), possibilitando espaço suficiente para sua movimentação e descanso, sob higiene controlada; alimentados com ração balanceada (Nuvilab CR - 1®) e água a vontade durante todo o experimento. Os animais permaneceram isolados (Figura 2), para certificar que ficassem estáveis e saudáveis, mantendo contato apenas com as pessoas envolvidas no trabalho.



Figura 1: Gaiolas com os animais



Figura 2: Armazenamento das gaiolas

Os procedimentos só foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UFMS sob o protocolo de número 394. Todo o procedimento cirúrgico foi realizado no biotério da Universidade Federal do Mato

Grosso do Sul, sob a supervisão de um veterinário responsável. Os medicamentos usados nos animais, bem como sua posologia, foram indicados pela médica veterinária responsável pelo Biotério. Para a aplicação de anestésicos e medicação pós-operatória, os animais foram pesados e suas doses individualizadas.

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (Figura 3) com associação de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam (Zoletil®50, Virbac, São Paulo, Brasil), (Figura 4) na dosagem de 0,1ml/100g de peso corporal, com tamanho de agulha (30x7). Foi feita antissepsia com gluconato de clorexidina a 2% (Farmácia de Manipulação Orgânica, Mato Grosso do Sul, Brasil) na região e a tricotomia de toda a calvária (Figura 5).



Figura 3: Anestesia por via intraperitoneal



Figura 4: Anestésico



Figura 5: Tricotomia da calvária

Na calvária, foram realizadas quatro lesões de 5x2mm de extensão e profundidade com bisturi circular (Conexão®, São Paulo, Brasil) (Figura 6). Para padronizar a rotação e conseqüentemente o trauma na confecção das lesões, foi utilizado um contra-ângulo com redução 20:1 (NSK, Japão) (figura 7) e um motor cirúrgico (NSK, Japão) na rotação 1:1 (Figura 8). As lesões foram divididas conforme o tratamento em quatro tipos: G1 – superior esquerda, G2 – superior direita, G3 – inferior esquerda e G4 – inferior direita (Figura 9).



Figura 6: Bisturi circular



Figura 7: Contra-ângulo



Figura 8: Motor de implante



Figura 9: Lesões provocadas em calvárias

Na lesão superior esquerda (G1) foi protegida pela membrana de látex com polilisina a 0,1% (Biocure) (Figuras 10 e 11); na lesão superior direita (G2), a proteção ocorreu com a membrana de quitosana (HemCon) (Figuras 12 e 13); na lesão inferior direita (G3), a proteção se deu pelo curativo de colágeno (Colla Cote) (Figura 14 e 15) e a lesão inferior esquerda (G4), sem nenhum curativo para proteção, sendo o controle (Figura 16).



Figura 10: Lesão protegida com Biocure



Figura 11: Biocure



Figura 12: Lesão protegida com HemCon



Figura 13: HemCon



Figura 14: Lesão protegida com Collla Cote



Figura 15: Collla Cote



Figura 16: Lesão com coágulo (controle)

Os curativos foram fixados somente nas bordas através da cola de cianoacrilato (Super Bonder®, Loctite, Brasil).

Finalizando, aplicou-se uma dose de antimicrobiano de amplo espectro (Pentabiótico Veterinário Reforçado®, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, Estados Unidos), via parenteral, com posologia de 1ml/kg (Figura 17) e uma dose de analgésico butorfanol (Torbugesic®) na dosagem de 0,1ml/300g peso (Figura 18), com agulha com tamanho (30x7) .



Figura 17: Antimicrobiano



Figura 18: Analgésico

Os animais foram recolocados em suas gaiolas de origem, em ambiente limpo até a recuperação anestésica e foram observados até a hora do sacrifício.

Os animais foram divididos em quatro grupos, T1, T2, T3 e T4 com dez animais cada, sendo cada grupo sacrificado nos tempos de uma, três, doze e vinte e quatro horas respectivamente após a primeira cirurgia, pela superdosagem do anestésico associação de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam (Zoletil®50, Virbac, São Paulo, Brasil), na dosagem de 0,3ml/100g de peso corporal. As peças (tecido), das calvárias dos ratos, contendo as lesões com os curativos, foram removidas (Figura 19), e imersas em solução de formol tamponado a 10%, catalogadas e encaminhadas para os procedimentos histológicos.



Figura 19: Remoção das peças

4.2 Procedimentos histológicos

O processo de confecção das lâminas, para sua análise qualitativa, foi por fixação dos tecidos com formaldeído tamponado a 10% (Fosfato de Sódio 0,1 molar) por 48 horas, em seguida foi realizada a remoção dos curativos e a separação das lesões (Figuras 20, 21 e 22). Após, foi realizada a desidratação das lesões com a série de álcoois (70%, 80%, 95% e absoluto), por 30 minutos em cada concentração.



Figura 20: Peça com curativos



Figura 21: Remoção dos curativos

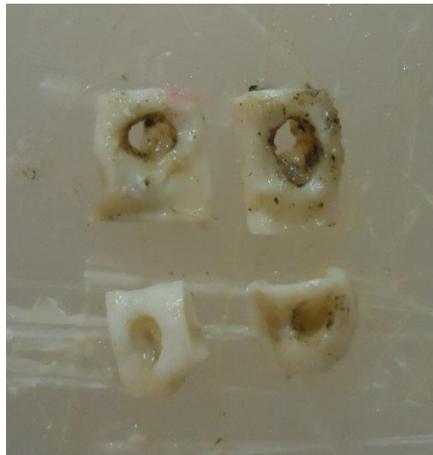


Figura 22: Separação das lesões

Em seguida, realizou-se a diafamação pelo xylol, por 30 minutos e impregnação com parafina à 60°C, por 30 minutos para inclusão dos blocos (Figura 23).



Figura 23: Bloco de cera

A microtomia dos blocos foi realizada em um micrótomo rotativo (Micron HM 325-ZEISS- Brasil) (Figura 24), com navalhas descartáveis (LEICA 818 perfil alto – Alemanha) com secção de 5 μ m de espessura, semi-seriada, com intervalo de 20 μ m (Figura 25), sendo confeccionadas três cortes de cada lesão, somando um total de 12 cortes de cada animal.



Figura 24: Micrótomo rotativo



Figura 25: Microtomia das lesões

Esses cortes foram corados com hematoxilina (30 segundos) – eosina (1 minuto) (HE). Em seguida foi feita a montagem dos cortes com resina (Entelan – MERCK – Brasil) em lamínolas. Todo este processo foi realizado no Laboratório de Histologia do CCBS da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

Após a confecção das lâminas, as mesmas foram avaliadas por um histologista experiente, através de uma análise cega, seguindo um score pré-definido para inflamação, hiperemia, degeneração e hemorragia, em relação ao preenchimento dos cortes:

Ausente	= 0
Leve	= 1 (25%)
Moderado	= 2 (50%)
Intenso	= 3 (75%)
Severo	= 4 (100%)

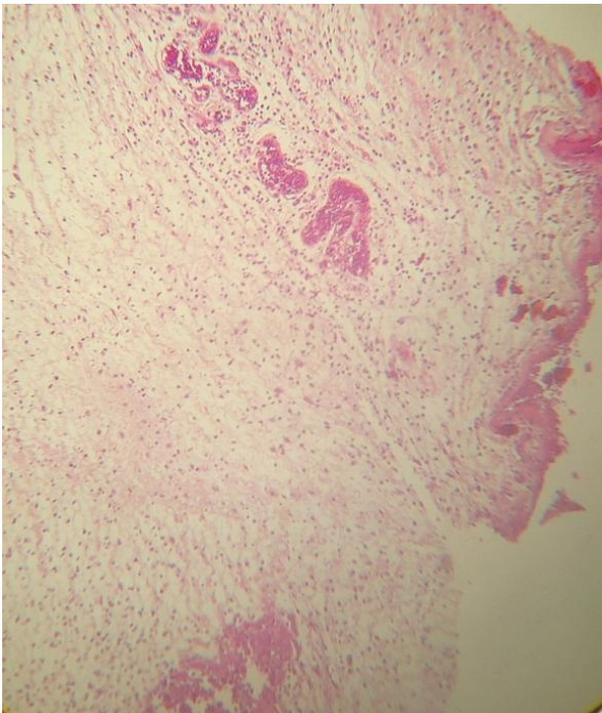


Figura 26: Inflamação intensa (3). Controle (T3).

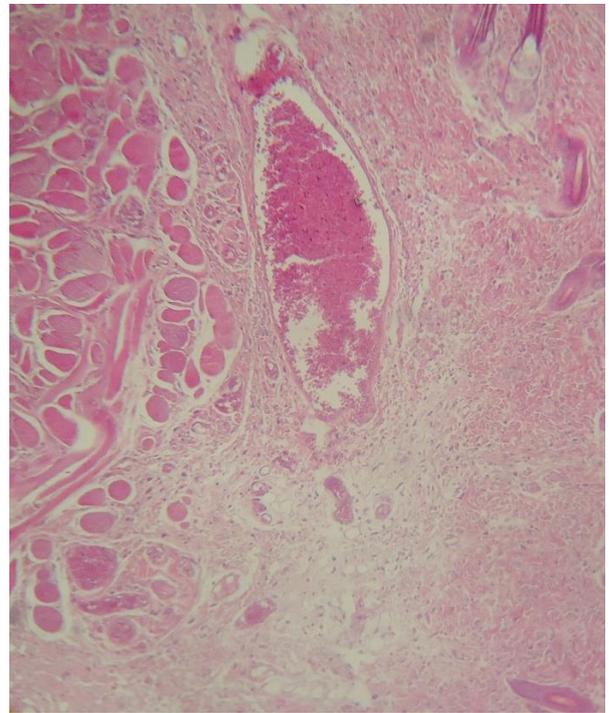


Figura 27: Hiperemia moderada (2). Colla Cote (T2).

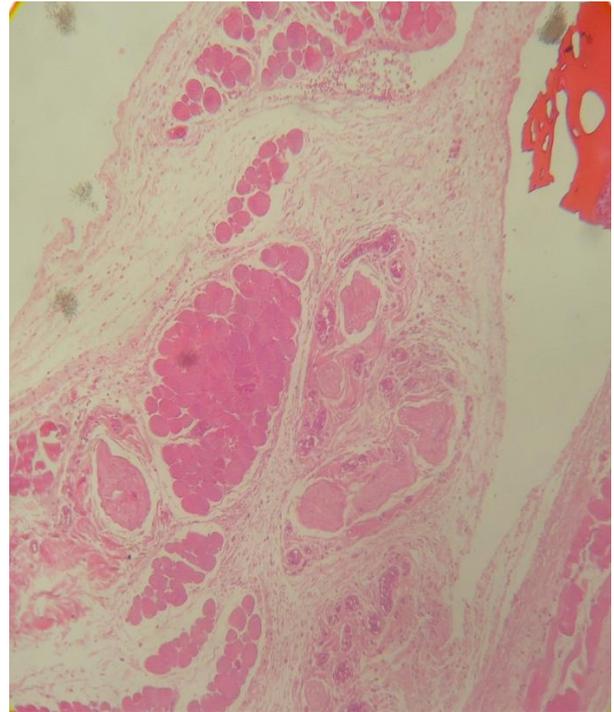
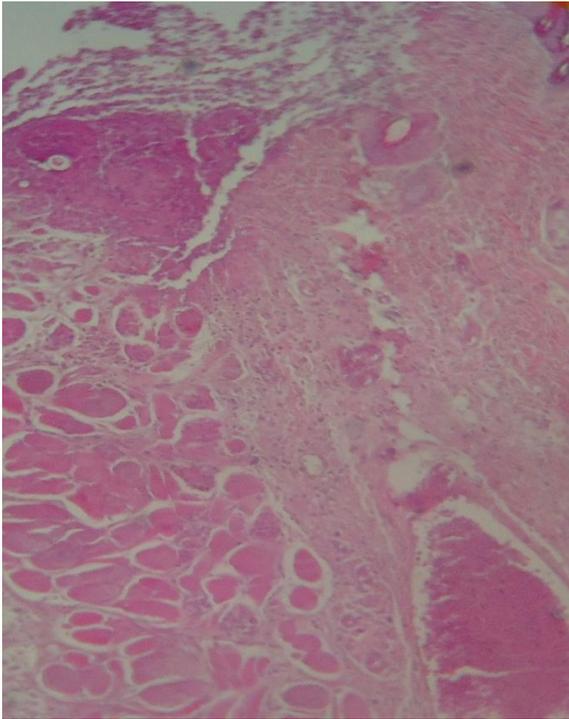


Figura 28: Degeneração moderada (2). Figura 29: Hemorragia leve (1). HemCon (T4). Biocure (T2).

4.3 Procedimentos estatísticos

Para analisar os dados referentes às variáveis: inflamação, hiperemia, degeneração e hemorragia foram utilizadas o teste não paramétrico Kruskal- Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn, todos com nível de significância de 5%. Com o intuito de facilitar o entendimento, os resultados foram divididos de acordo com a variável estudada.

Para avaliar os tempos estudados T1 (1 hora), T2 (3 horas), T3 (12 horas) e T4 (24 horas) foram utilizados os testes Kruskal-Wallis e Dunn como pós-teste ($p < 0,05$).

O programa estatístico rodado foi o GRAPH PAD INSTAT. 3.

5 RESULTADOS

5.1 Variáveis

Inflamação:

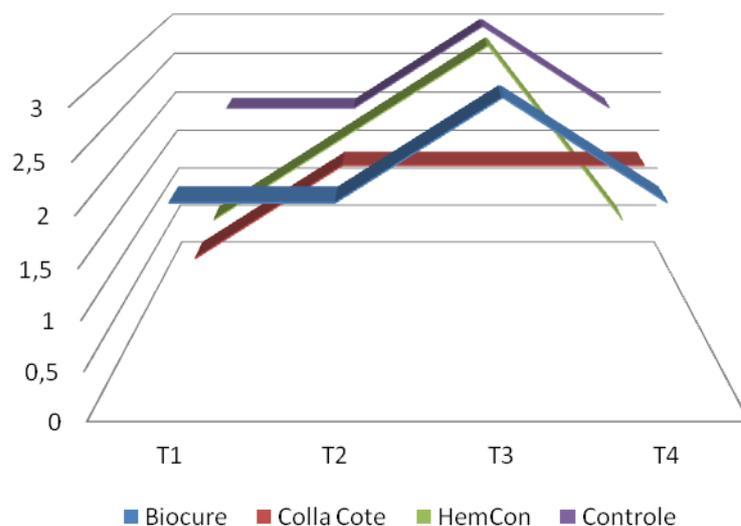


Gráfico 1 - Resultados para o grau de inflamação dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.

Pôde-se observar no T1 que o Biocure e o Controle apresentaram diferença estatística dos demais ($p < 0,001$), tendo um valor maior, considerado como moderado. Ao avaliar o T2, todos apresentaram inflamação moderada, sem diferença estatística entre os materiais. A análise do T3 demonstrou Biocure e Controle com grau de inflamação intensa, apresentando diferença estatística da Colla Cote e HemCon ($p < 0,001$), com inflamação moderada. Após 24 horas (T4), os Biocure, Colla Cote e Controle apresentaram grau moderado, enquanto o HemCon grau leve, sendo estatisticamente diferentes ($p < 0,001$) (Tabela 1).

Tabela 1: Valores da mediana dos scores do grau de inflamação dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	Biocure	Colla Cote	HemCon	Controle
T1	2 ^a	1 ^b	1 ^b	2 ^a
T2	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a
T3	3 ^a	2 ^b	2 ^b	3 ^a
T4	2 ^a	2 ^a	1 ^b	2 ^a

Medianas seguidas de letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente.

Hiperemia:

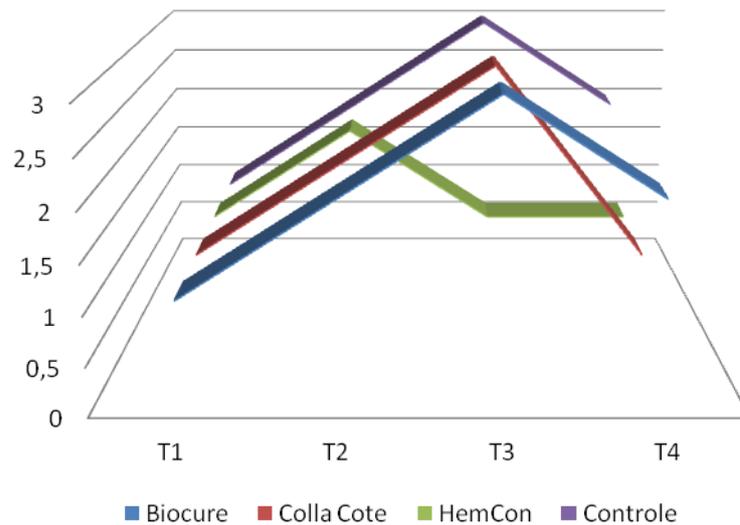


Gráfico 2 - Resultados para o grau de hiperemia dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.

A análise estatística demonstrou que não houve diferença entre os materiais tanto no T1 quanto no T2, apresentando grau leve e moderado, respectivamente. No T3, o curativo HemCon apresentou diferença estatística dos demais ($p < 0,001$), com melhores resultados (grau leve), enquanto o restante hiperemia intensa. Já no T4, o Biocure e Controle apresentaram maior hiperemia (grau moderado) comparado aos demais (grau leve) (Tabela2).

Tabela 2: Valores da mediana dos scores do grau de hiperemia dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	Biocure	Colla Cote	HemCon	Controle
T1	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a
T2	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a
T3	3 ^a	3 ^a	1 ^b	3 ^a
T4	2 ^a	1 ^b	1 ^b	2 ^a

Medianas seguidas de letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente.

Degeneração:

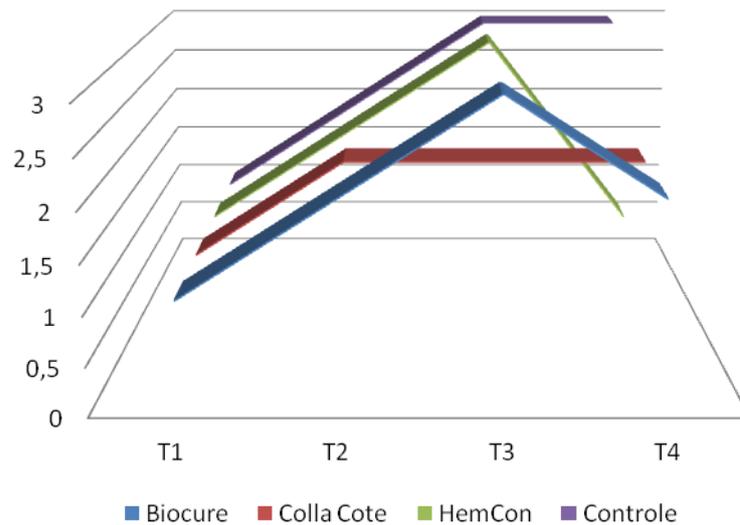


Gráfico 3: Resultados para o grau de degeneração dos materiais avaliados nos diferentes intervalos de tempo.

Tanto no T1 quanto no T2 não houve diferença estatística entre os materiais, sendo, respectivamente, os graus leve e moderado. Na análise de T3, a HemCon apresentou diferença estatística dos demais ($p < 0,01$), considerada moderada, enquanto os outros demonstraram grau intenso. Ao avaliar T4 foi observado que o Biocure e a Colla Cote, com grau moderado, foram diferentes estatisticamente ($p < 0,001$) da HemCom (grau leve) e Controle (intenso) (Tabela 3).

Tabela 3: Valores da mediana dos scores do grau de degeneração dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	Biocure	Colla Cote	HemCon	Controle
T1	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a
T2	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a
T3	3 ^a	3 ^a	2 ^b	3 ^a
T4	2 ^a	2 ^a	1 ^b	3 ^c

Medianas seguidas de letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente.

Hemorragia:

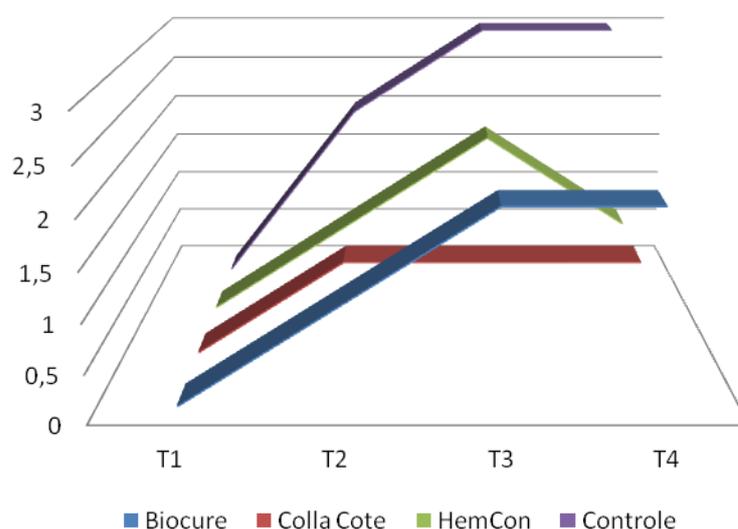


Gráfico 4 - Resultados para o grau de hemorragia dos materiais avaliados nos diferentes tempos.

Ao analisar o grau de hemorragia constatou-se semelhança estatística entre os materiais para o T1 (ausente), enquanto para T2 os curativos apresentaram uma hemorragia leve e o Controle apresentou moderada. No T3, a HemCon apresentou melhores resultados (leve), com diferença estatística ($p < 0,001$) para o Biocure e Cola Cote (moderado) que também apresentou diferença ($p < 0,001$) para o Controle (intenso). No T4, o Biocure, com grau moderado, foi estatisticamente diferente ($p < 0,001$) da Colla Cote e HemCon que obtiveram grau leve e o Controle (intenso) (Tabela 4).

Tabela 4: Valores da mediana dos scores do grau de hemorragia dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	Biocure	Colla Cote	HemCon	Controle
T1	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
T2	1 ^a	1 ^a	1 ^a	2 ^b
T3	2 ^a	2 ^a	1 ^b	3 ^c
T4	2 ^a	1 ^b	1 ^b	3 ^c

Medianas seguidas de letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente.

5.2 Tempo

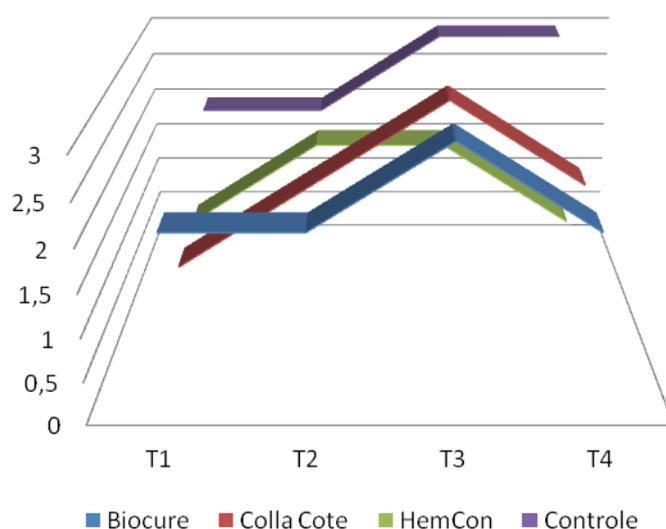


Gráfico 5 - Resultados de cada material em relação aos diferentes tempos de avaliação.

Observou-se que em T1 o Biocure e o Controle apresentaram os piores resultados quando comparado aos demais materiais ($p < 0,001$). Em T2 todos os materiais apresentaram, como mediana, resultado moderado, sem diferença estática entre si. Porém, em T3, a Colla Cote apresentou melhores resultados, com diferença estática entre os outros materiais ($p < 0,001$). Enquanto em T4, foram observados melhores resultados para HemCon seguido da Colla Cote e Biocure, tendo o Controle como pior resultado (Tabela 5)..

Tabela 5: Valores da mediana dos scores para cada material nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	Biocure	Colla Cote	HemCon	Controle
T1	2 ^a	1 ^b	1 ^b	2 ^a
T2	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a
T3	3 ^a	3 ^a	2 ^b	3 ^a
T4	2 ^a	2 ^a	1 ^b	3 ^c

Medianas seguidas de letras iguais na horizontal não diferem estatisticamente.

6 DISCUSSÃO

A dor pós-operatória (SILVA et al., 2008; FERRÃO JÚNIOR et al., 2012) nas áreas doadoras de EGL é uma queixa frequente dos pacientes submetidos a esse procedimento. A lesão permanece com as terminações nervosas e vasos sanguíneos, presentes no tecido conjuntivo, expostas durante sua cicatrização, propiciando grande desconforto relatado, além de possibilidade de hemorragia tardia (SILVA et al., 2008). A preocupação com essa etapa de tratamento existe, e alguns materiais são utilizados sobre a área doadora, como proteção mecânica, na tentativa de amenizar a dor.

O material mais utilizado para proteger a área doadora é o cimento cirúrgico (XAVIER et al., 2008; RESENDE et al., 2009) que tem como única função a de barreira física, não tendo nenhum estímulo para o tecido lesado (BOSCO et al., 1996). Além da proteção mecânica, o material de proteção ideal atuaria modulando o processo inflamatório e, também, acelerando o reparo. A inflamação é um mecanismo de defesa próprio do tecido conjuntivo. Esse tecido se reconstitui a partir de um tecido de granulação, o que remete ao processo de reparo, sendo esse dependente da liberação abundante de mediadores inflamatórios dentre os quais se podem citar: citocinas, quimiotaxias, fatores de crescimento, prostaglandinas e leucotrienes (CONSOLARO, 2009).

Em nosso trabalho, os tempos de sacrifícios dos animais foram baseados nos tempos de absorção dos materiais, pois o do curativo HemCon é de 48 horas (COSTA et al., 2006; MALMQUIST et al., 2008) e a Colla Cote de 10 a 14 dias (FREITAS et al., 2008). Já o curativo Biocure não é absorvível (XAVIER et al., 2008).

O Biocure apresentou inflamação intensa no T3 e moderada no T1, T2 e T4. Para a hiperemia, T1 apresentou leve enquanto os demais categorizados como moderados. Ao observar a degeneração, o material apresentou em T1 (leve), T2 e T4 (moderados) e T3 (intenso). Analisando a hemorragia no T1 (ausente), T2 (leve) e T3 e T4 (moderados). Os resultados em relação à hemorragia diferiram dos encontrados nos experimentos de Frade et al. (2004) e Zimmermman et al. (2007) sobre sua ação na estimulação da neoangiogênese, pois os tempos de avaliação podem ter sido curtos em relação ao tempo da ação desse material que não é bioabsorvível.

Ao avaliar a Colla Cote houve inflamação leve em T1 que foi diferente de T2 e T4, classificados como moderados e T3 (intenso). Considerando a hiperemia T2 (moderado) apresentou diferença dos demais tempos (leve). Na degeneração apresentou como resultado T1 (leve) com diferença dos demais períodos de avaliação no T2 e T4 (moderado) e T3 (intenso). A hemorragia em T1 estava ausente e foi diferente de T2 e T4 (leve) e T3 (moderado). Os resultados aqui obtidos na hemorragia vão de encontro com os achados de Landsberg (2008), que usando este material em área doadora de enxerto, obteve uma boa capacidade hemostática e estabilidade do coágulo.

Analisando o material HemCon pôde-se observar, na inflamação, que T1 e T4 foram classificados como leve e T2 e T3 como moderados. Na hiperemia, T1 e T4 (leves) foram diferentes de T2 e T3 (moderados). A degeneração apresentou resultados nos momentos de T1 e T4 (leves) com diferença de T2 e T3 (moderado). Ao observar a hemorragia, em T1 ela era ausente com diferença no T2, T3 e T4 (leve). Os resultados em relação à hemorragia, conferem com os obtidos por Malmquist et al. (2008), quando utilizou esse curativo e tratamentos de alvéolos pós-exodontia e observaram uma rápida hemostasia da área.

Para o Controle foi observada uma inflamação moderada em T1, T2 e T4 com diferença para T3, considerada intenso. Na hiperemia T1 (leve) foi diferente de T2 e T4 (moderado) e T3 (intenso). Considerando a degeneração observou-se T1 (leve), com diferença para T2 (moderado) e de T3 e T4 (intenso). Ao analisar a hemorragia, em T1 ela era ausente, com diferença para T2 (moderado) e de T3 e T4 (intenso).

Em relação aos Tempos, em T1, a HemCon e a Colla Cote apresentaram os melhores resultados (leve), em T2, todos apresentaram resultados iguais (moderado), em T3 e T4 a HemCon foi o que apresentou melhores resultados.

7 CONCLUSÕES

- Os resultados mostraram que após 24 horas todos os três curativos apresentaram resultados melhores que o grupo controle.

- O curativo HemCon apresentou resultados superiores quando comparados aos outros materiais testados.

REFERÊNCIAS

Almeida JM, Novaes VN, Faleiros PL, Macarimi VC, Bosco AF, Theodoro LH, Garcia VG. Aumento de gengiva queratinizada em mucosa peri-implantar. Rev Odontol UNESP 2012;41(5):365-9.

Azargoon H, Benjamin JW, Sokomon ES, Kessler HP, He J, Spears R. Assessment of hemostatic efficacy and osseous wound healing using HemCon dental dressing. JOE. 2011;37(6):807-11.

Boateng JS, Matthews KH, Stevens HNE. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review, Journal of Pharmaceutical Sciences. 2008;97(8): 2892-3.

Bosco AF, Pereira SLS, Júnior NL, Milanezi LA. Análise Clínica das Áreas Doadoras de Enxerto Gengival Livre. Rev da APCD. 1996; 50(6):515-21.

Burkatovskaya M, Tegos GP, Swietlik E, Demidova TN, Castano A & Hamblin MR. Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice. J. Biomaterials, 2006; 27(2):4157-64.

Callan DP, Salkeld SL, Scarborough N. Histologic analysis of implant sites after grafting with demineralized bone matrix putty and sheets. Implant Dent 2000; 9(1):36-44.

Camio J, Antonio AT, Nakanishi FA. Aumento de gengiva inserida: enxerto livre epitelizado palatal x retalho reposicionado apical modificado. Rev. Perionews. 2010; 4(5):457-63

Consolaro A. *Inflamação e Reparo*. 1ª ed. Maringá: Dental Press; 2009.

Costa TAC, Andrade AL, Binotto TE, Plepis AMG, Bevilacqua L, Souza WM. Avaliações clínica e morfológica da capacidade angiogênica da membrana de quitosana em córnea de coelhos. *Arg Bras Oftalmol*. 2006; 69(6):817-21.

Costa VA, Belmonte GC, Saraiva PP. Enxertos gengivais livres e pediculados indicados para o tratamento das recessões gengivais. *Rev. de Odontologia da UNESP*. 2011;40(4):171-8.

Cui Xu, Zhao D, Zhang B & Gao Y. Osteogenesis mechanism of chitosan-coated calcium sulfate pellets on the restoration of segmental bone defects. *Journal of Craniofacial Surgery*, 2009; 20(5):1445-50.

Dallan PRM. Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele. [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2005.

Esper LA, Ferreira Junior SB, Kaiser ROF e Almeida ALPF. The role of keratinized mucosa in peri-implant health. *Cleft. Palate-Craniofacial Journal*. 2012;49(2):167-71.

Feitosa DS, Santamaria MP, Sallum EA, Nociti Junior FH, Casati MZ, Toledo S. Indicações atuais dos enxertos gengivais livres. *RGO*. 2008; 56(2):1-6.

Ferrão Júnior JP, Coelho AAK, Parma Neto A, Braga EFA, Ferrão IM e Marcon EM. Aumento da faixa de gengiva inserida através de enxerto gengival livre em área de recessão originada pelo uso de piercing: relato de caso. *Rev. Full Dent. Sci*. 2012; 4(3):72-7.

Frade MAC, Cursi IB, Andrade FF, Coutinho-Neto J, Barbeta FM, Foss NT. Management of diabetic skin wounds with a natural látex biomembrane. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2004; 32(4):157-62.

Freitas RM, Spin-Neto R, Campana-Filho SP, Marcantonio RAC, Marcantonio-Junior E; Avaliação preliminar da biocompatibilidade de membranas a base de quitosana de baixo peso molecular. Rev. de Odontologia da UNESP. 2008;37(2): 5-8.

Fugimoto F, Jervásio AC, Misawa AK, Garcia R, Matayoshi S. Uso da membrana de látex em cavidade enxerterada: relato de caso. Arq Bras Oftalmol. 2007;70(5): 854-7.

Geffre CP, Ochoa J, Margolis DS, Szivek JA. Evaluation of the osteogenic performance of calcium phosphate-chitosan bone fillers. Journal of endodontics, 2011;37(6):807-11.

Gennaro G, Alonso FR, Teixeira W, Lopes JFS, Almeida ALPF. A importância da mucosa ceratinizada ao redor de implantes osseointegrados. Salusvita 2007; 26(3):125-34.

Germiniani WIS, Pilatti GL, Santos FA. A importância da mucosa queratinizada na manutenção da saúde peri-implantar: uma revisão da literatura. Rev Dental Press Periodontia Implantol 2011;5(2):59-68.

Jackson BJ, Morcos I. Socket grafting: a predictable technique for socket preservation. J Oral Implantol. 2007;33(6):353-64.

Johnson MS, Britto LR, Guelmann M. Impact of a biological barrier in pulpectomies of primary molars. Pediatr Dent. 2006;28(6):506-10.

Kale TP, Singh AK, Kotrashetti SM, and Kapoor A. Effectiveness of Hemcon Dental Dressing versus Conventional Method of Haemostasis in 40 Patients on Oral Antiplatelet Drugs, Sultan Qaboos Univ Med J. 2012 August; 12(3):330-5.

Landsberg CJ. Implementing socket seal surgery as a socket preservation technique for pontic site development: surgical steps revisited – a report of two cases. J Periodontol. 2008;79:945-54.

Malmquist JP, Clemens SC, Oien HJ. Hemostasis of oral surgery wounds with the HemCon Dental Dressing. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66:1177-83.

McAliister BS, Margolin MD, Cogan AG, Buck D, Hollinger JO, Lynch SE. Eighteen-month radiographic of sinus grafting with anorganic bovine bone in the chimpanzee. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:361-8.

Monnet-Corti V, Borguetti A. Enxerto gengival epitélio-conjuntivo. In: Borguetti A, Monnet-Corti V. *Cirurgia plástica periodontal.* Porto Alegre, Artmed. 2002; 159-80.

Mrue F, Coutinho-Netto J, Ceneviva R, Lachat JJ, Thomazini JÁ, Tambelini H. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. *Materials Research.* 2004; 7(2):277-83.

Pacheco AB, Henriques PSG. Aumento da faixa de tecido ceratinizado ao redor de implante. *Rev Dental Press Periodontia Implantol.* 2011;5(1):29-37.

Paulo, NM. Lima, FG de. Siqueira Júnior, JT de. Fleury, LFF. Sant'Ana, FJF. Borges, AC. Telles, TC. Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de marlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2005; 20(4):305-10.

Pikos MA. Maxillary Sinus Membrane Repair: Report of a Technique for Large Perforations. *Rev. Implant Dentistry.* 1999;8(1):29-34.

Pinho ECCM, Sousa SJF, Schaud F, Lachat JJ, Coutinho Netto J. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. *Arq Bras. Oftalmol.* 2004; 67:27-32.

Resende DRB de, Gregghi SLA, Siqueira AF, Benfatti CAM, Pereira KKY. Avaliação clínica comparativa da sintomatologia após a realização de enxertos gengivais livres autógenos e alógenos para a criação e manutenção de uma faixa de mucosa ceratinizada. *Innov Implant J, Biomater Esthet, São Paulo*, 2009;4(2):31-6.

Santamaria MP. Recessões gengivais: implicações clínicas de um problema prevalente. *Rev. Perionews*. 2011;5(5):462-8.

Schrott AR. Five-year evaluation of the influence of keratinized mucosa on peri-implant soft-tissue health and stability around implants supporting full-arch mandibular fixed prostheses. *Clin Oral Implants Res*. 2009.20(10):1170-7.

Shanmugam M, Kumar TTS, Arun K, Arun R e Kharthik SJ. Clinical and histological evaluation of two dressing materials in the healing of palatal wounds. *J. Indian Soc. Periodontol*. 2010;14(4):241-4.

Shibayama R. Fuji WM. Enxerto gengival livre. *UNOPAR Cient Ciên Biol. Saúde*. 2000; 2(1):107-11.

Silva HSRC, Santos KSCR, Ferreira EI. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços, *Química Nova*. 2006; 29(4):776-85.

Silva CO, Ribeiro EDP, Tatakis DN, Sallum AW. Efeito do tabagismo na taxa de contração do enxerto gengival livre e na reparação da área doadora: um estudo piloto. *Rev. Dental Press Periodontia Implantol*. 2008; 2(2):28-40.

Silva EB, Maniscalco CL. Palatoplastia com biomembrana natural de látex com polilisina a 0,1% em cães com defeito palatino experimentalmente induzido. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 2013;34(2):785-92.

Stein MS, Salkin LM, Glushko V. Collagen sponge as a topical hemostatic agent in mucogingival surgery. *J Periodontol* 1984; 56(1):35-8.

Suh JKF, Matthew HWT. "Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review." *J. Biomaterials*. 2000; 21(4):2589-98.

Tonhi E, Plepis AMG. Obtenção e caracterização de blendas de colágeno-quitosana, *Quím. Nova*. 2002; 25(6):943-8.

Vy CH, Baumgartner JC, Marshall JG. Cardiovascular effects and efficacy of a hemostatic agent in periradicular surgery. *J Endodon*. 2004; 30(6):379-83.

Xavier NL, Ferrão Júnior JP, Magalhães D, Farias FO, Coelho AAK. Aceleração da fase inicial de reparação tecidual em área doadora de enxerto gengival livre utilizando membrana de látex. *Rev Odontol UNESP*. 2008; 37(2):69-73.

Wedmore I, McManus JG, Pusateri AE. A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: Experience in current combat operations. *J Trauma*. 2006; 60:655-6.

Wennström JL, Derks J. Is there a need for keratinized mucosa around mucosa around implants to maintain health and tissue stability? *Clin Oral Implants Res* 2012; 23(6):136-46.

ANEXO 1

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comissão de Ética no Uso de Animais /CEUA

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 394 do Mestrando Eduardo Meirelles Marcon, sob a orientação do Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior referente ao projeto de pesquisa, **“Análise Histológica do reparo epitelial em calvárias de ratos pelo uso de três curativos”**, está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião ordinária de 13 de dezembro de 2011.


Dr.ª Joice Steih

Coordenadora da CEUA
2ª via datada de 2/03/2012

Campo Grande, 14 de dezembro de 2011