



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

KLEBER VINÍCIUS RODRIGUES DOS SANTOS

**Análise topográfica e histológica de enxertos de mucosa
ceratinizada removidos com mucótomo ou bisturi
convencional: estudo ex-vivo em mandíbula suína**

GOIÂNIA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS FACULDADE DE
ODONTOLOGIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BIBLIOGRÁFICO

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. NOME COMPLETO DO AUTOR

Kleber Vinícius Rodrigues dos Santos

3. TÍTULO DO TRABALHO

Análise topográfica e histológica de enxertos de mucosa ceratinizada removidos com mucótomo ou bisturi convencional: estudo ex-vivo em mandíbula suína.

4. INFORMAÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO (ESTE CAMPO DEVE SER PREENCHIDO PELO ORIENTADOR)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Cláudio Rodrigues Leles, Professor do Magistério Superior**, em 18/10/2022, às 15:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **KLEBER VINICIUS RODRIGUES DOS SANTOS, Discente**, em 18/10/2022, às 15:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3191390** eo código CRC **83FE32D2**.

KLEBER VINÍCIUS RODRIGUES DOS SANTOS

Análise topográfica e histológica de enxertos de mucosa ceratinizada removidos com mucótomo ou bisturi convencional: estudo ex-vivo em mandíbula suína

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica

Linha de pesquisa: Perspectivas em Odontologia Clínica

Orientador: Professor Doutor Cláudio Rodrigues Leles

GOIÂNIA
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Santos, Kleber Vinícius Rodrigues dos

Análise topográfica e histológica de enxertos de mucosa ceratinizada removidos com mucótomo ou bisturi convencional: estudo ex-vivo em mandíbula suína. [manuscrito] / Kleber Vinícius Rodrigues dos Santos. - 2022.

CIX, 109 f.: il.

Orientador: Prof. Cláudio Rodrigues Leles.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Odontologia (FO), Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Goiânia, 2022.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Enxerto de mucosa ceratinizada. 2. Mandíbula suína. 3. Mucótomo. I. Leles, Cláudio Rodrigues, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **256** da sessão de Defesa de Dissertação de **Kleber Vinícius Rodrigues dos Santos**, que confere o título de Mestre em **Odontologia**, na área de concentração em **Clínica Odontológica**.

Aos **quatorze dias do mês de setembro de dois mil e vinte e dois**, a partir das **16:00**, na **Sala virtual GoogleMeet**, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “**Análise topográfica e histológica de enxertos de tecido conjuntivo removidos com mucótomo e técnica convencional**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor **Cláudio Rodrigues Leles (PPGO/UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor Doutor **José Luiz Rodrigues Leles (UNIP/GO)**, membro titular externo; Professor Doutor **Virgílio Moreira Roriz (PPGO-UFG)**, membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor **Cláudio Rodrigues Leles**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, **aos quatorze dias do mês de setembro de dois mil e vinte e dois**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Análise topográfica e histológica de enxertos de mucosa ceratinizada removidos com mucótomo ou bisturiconvencional: estudo ex-vivo em mandíbula suína.



Documento assinado eletronicamente por **Cláudio Rodrigues Leles, Professor do Magistério Superior**, em 14/10/2022, às 10:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Luiz Rodrigues Leles, Usuário Externo**, em 14/10/2022, às 15:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Virgílio Moreira Roriz, Professor do Magistério Superior**, em 17/10/2022, às 13:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3230470** e o código CRC **1FE28932**.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Maria do Carmo e ao meu pai Justino Neto (in memoriam), com todo o meu amor e gratidão por sempre acreditarem em mim e nunca medir esforços para me garantir uma educação de qualidade e uma formação ética e altruísta. Essas são algumas de suas maiores qualidades. Essa conquista é nossa!

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre me deu saúde e disposição para buscar os meus objetivos e batalhar por eles.

Aos meus pais Maria do Carmo e Justino Neto, que torcem por mim e me estimulam a não desistir dos meus objetivos.

Agradeço ao meu orientador Prof Dr. Cláudio Rodrigues Leles por sempre ser acessível, paciente e ter acreditado em mim. Se hoje posso dizer que sou um profissional melhor é graças ao senhor que contribuiu enormemente para a minha formação.

Ao Prof Dr. José Luiz Leles que desde o início do mestrado esteve comigo discutindo inúmeras ideias e possibilidades de projeto de pesquisa e pela contribuição científica ao trabalho.

À Profa. Dra. Nádia do Lago Costa, pelo trabalho impecável à frente do programa de pós-graduação em odontologia da Universidade Federal de Goiás (PPGO UFG) e por ser solícita todas as vezes que necessitei de sua colaboração. A sua ajuda e orientação nos laboratórios foi essencial para a realização deste trabalho. Tenho grande admiração por você!

Ao Prof. Dr. Virgílio M. Roriz que se prontificou a colaborar com o desenvolvimento deste trabalho e que sempre contribuiu com a minha formação como cirurgião-dentista e pesquisador.

Ao Prof. Dr. Túlio Eduardo Nogueira por ser esse inspirador e excelente profissional. Por ser tão dedicado à pesquisa científica e às suas maravilhosas aulas que tive o prazer de assistir durante as disciplinas do mestrado. E por ser esse ser humano empático e amigo que sempre tem a acrescentar por todos os lugares que passa.

Aos professores do PPGO UFG com os quais tive a oportunidade de aprender e me inspirar ainda mais em relação à docência e pesquisa científica. Apesar das disciplinas terem acontecido através da modalidade remota durante a pandemia, eu sentia um enorme prazer ao estar presente nas aulas e me esforçava para absorver ao máximo as contribuições de cada um. Obrigado!

À Prof. Dra. Maria Alves Garcia Santos Silva que durante a fase de iniciação científica, ainda na graduação, despertou em mim um olhar crítico e reflexivo e me fez apaixonar pela pesquisa científica e docência e me inspirou a realizar o mestrado.

Aos colegas do Núcleo de Pesquisa em Prótese e Implante (NPPI) e aos demais colegas da pós-graduação pela oportunidade de conhecê-los e pelas inúmeras trocas de experiências que tivemos durante essa jornada.

À UFG que é a universidade que eu sempre sonhei em estudar e que por meio dela tive e tenho inúmeras oportunidades de crescimento profissional, pessoal, networking. E tenho orgulho em dizer que realizei a minha graduação e pós-graduação nesta casa. E agradeço também a todas as pessoas que contribuem para a formação deste ambiente: docentes, técnico-administrativos, discentes. De alguma forma a troca com vocês contribuiu para a formação do profissional que sou hoje.

Aos laboratórios LabMic e CRTI da UFG e em especial ao Dr. Vinícius Guimarães e a Dra. Hanna Larissa Siqueira Matos Pimentel que realizaram as inúmeras análises de microscopia confocal por varredura e foram essenciais para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Dr. Henrique Bertulino que tanto me incentivou a finalizar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), concessão da bolsa durante o mestrado.

Agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indireta tenham contribuído para que esse trabalho se concretizasse. Muito obrigado!

*“A educação é um ato de amor, por isso, um ato de coragem.”
- Paulo Freire*

RESUMO

Objetivo: Avaliar a superfície e qualidade tecidual de EMC obtidos pela técnica com bisturi convencional e do mucótomo. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental *in vitro/ ex vivo*. Foram utilizadas seis hemi-mandíbulas suínas que apresentavam condição de tecido queratinizado favorável para remoção dos espécimes na região anterior da mandíbula. Os espécimes foram obtidos por meio de mucótomo e bisturi convencional. Com a finalidade de uma maior precisão, o procedimento de remoção dos espécimes das mandíbulas foi realizado por um cirurgião-dentista especializado e previamente treinado, oferecendo as mesmas condições para remoção do enxerto por ambas as técnicas. O processo de randomização foi realizado por meio de sorteio aleatório para determinação da técnica a ser realizada para remoção dos tecidos. Os espécimes foram preparados de acordo com os protocolos pré-estabelecidos pelos laboratórios e em seguida foram levados para análise em microscopia óptica para avaliação do epitélio e tecido conjuntivo e em microscopia eletrônica de varredura para análise da topografia e perfilometria 3D. **Resultados:** Foram analisadas duas áreas por amostra com dimensões de 1920 x 2560 μm . Foi possível notar a presença de tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado e tecido conjuntivo denso modelado nas lâminas de tecidos removidos com mucótomo e bisturi. Nos tecidos removidos com mucótomo nota-se uma linearidade na base do tecido e na espessura do tecido como um todo, presença de submucosa, tecido conjuntivo fibroso que é ideal para o sucesso do enxerto. Diferenças na superfície das amostras removidas pelas duas técnicas foram observadas ao realizar o comparativo das imagens obtidas através dos dois tipos de microscopia. **Conclusão:** Enxertos de mucosa ceratinizada quando removidos pela técnica do mucótomo apresentam maior uniformidade e menor presença de células indesejáveis em comparação com a técnica do bisturi favorecendo maior chance de sucesso nos procedimentos cirúrgicos de enxerto de tecido mole.

Palavras-chave: Enxerto de mucosa ceratinizada; mandíbula suína; mucótomo.

ABSTRACT

Aim: To evaluate the surface and tissue quality of EMC obtained by the technique with conventional scalpel and mucotome. **Methods:** This is an experimental in vitro/ex vivo study. Six swine hemi-mandibles that had a favorable keratinized tissue condition were used for specimen removal in the anterior region of the mandible. Specimens were obtained using mucotome and conventional scalpel. For the purpose of greater precision, the procedure for removing specimens from the jaws was performed by a specialized and previously trained dental surgeon, offering the same conditions for graft removal by both techniques. random drawing to determine the technique to be performed for tissue removal. The specimens were prepared according to the protocols pre-established by the laboratories and then they were taken for analysis in optical microscopy to evaluate the epithelium and connective tissue and in scanning electron microscopy for analysis of topography and 3D profilometry. **Results:** Two areas were analyzed per sample with dimensions of 1920 x 2560 μm . It was possible to notice the presence of keratinized stratified squamous epithelial tissue and dense connective tissue modeled on the tissue slides removed with mucotome and scalpel. In the tissues removed with mucotome, there is a linearity in the tissue base and in the thickness of the tissue as a whole, presence of submucosa, fibrous connective tissue that is ideal for the success of the graft Differences in the surface of the samples removed by the two techniques were observed when to compare the images obtained through the two types of microscopy. **Conclusion:** Keratinized mucosa grafts when removed by the mucotome technique present greater uniformity and lower presence of undesirable cells compared to the scalpel technique, favoring a greater chance of success in surgical procedures for soft tissue grafting.

Keywords: Keratinized mucosa grafts; mucotome; swine jaw.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anteparo para suporte dos espécimes para análise no MEV.....	28
Figura 2 - A: mucótomo, peça de mão; B: Remoção do enxerto utilizando omucótomo; C: Espécime removido; D: Medição do tamanho do espécime removido e já seccionado seccionado.....	31
Figura 3 – Remoção de EMC utilizando mucótomo.....	32
Figura 4 - Retirada do enxerto pela técnica convencional. A: lâmina de bisturi realizando a incisão do tecido. B: tecido removido por lâmina de bisturi.....	32
Figura 5 – Remoção de EMC utilizando bisturi.....	33
Figura 6 - Dimensões dos espécimes retirados para enxerto (16 x 8mm). As áreas A1 e A2 foram utilizadas para análise em MEV e óptica aleatoriamente, com dimensões (4 x 5mm).	33
Figura 7 - Sistema de secagem de amostras pelo ponto crítico de CO ₂ ,Autosamdri®, 815, Series A, com um porta amostra de 4 cavidades cilíndricas.....	36
Figura 8 - Sistema de recobrimento com carbono, Jeol, JEE-420.....	37
Figura 9 - Amostras de EMC após preparação ao ponto crítico. A: amostras removidas com bisturi; B: amostras removidas com mucótomo.....	38
Figura 10 - Avaliação topográfica 3D em duas perspectivas – vista diagonal (A) e vista superior (B) do espécime de EMC (projeto piloto).	39
Figura 11 - Avaliação perfilométrica 3D horizontal (A) e diagonal (B) do espécime de EMC (projeto piloto).	40
Figura 12 - Imagens obtidas através de microscopia óptica, lente objetiva, aumento 5x e 40x. Enxertos removidos de mandíbulas suínas com mucótomo (A, B, C, D) e bisturi (E, F, G, H) corados com hematoxilina e eosina. F: → irregularidades na base do tecido; H: ^ células de tecido adiposo.	46
Figura 13 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 1M.	47
Figura 14 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 2M.	48
Figura 15 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 3M.	49
Figura 16 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 1B.....	51
Figura 17- Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 2B.....	52
Figura 18 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 3B.....	53

Figura 19– Perfil da superfície composto por forma e rugosidade (monocromática). Comparação MEV. As imagens (A, B, C) são das amostras removidas com bisturi e as imagens (D, E, F) são das amostras removidas com mucótomo.....	54
Figura 20- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 1M.	56
Figura 21 - Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 2M.	57
Figura 22 Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 3M.....	58
Figura 23- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 1B.	59
Figura 24- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 2B.	60
Figura 25- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 3B.	61
Figura 26 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 1M.....	63
Figura 27 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 2M.....	64
Figura 28 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 3M.....	65
Figura 29 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 1B.	66
Figura 30 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 2B.	67
Figura 31 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 3B.	68

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - Percentual ou porcentagem

® - Marca registrada

µm – Micrômetros

2D – Duas dimensões

3D – Três dimensões

CPD - Critical Point Dryer

CEUA UFG - Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Federal de Goiás

CRTI - Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação

EGL – Enxerto gengival livre

EMC – Enxerto de mucosa ceratinizada

ETC - Enxerto de tecido conjuntivo

LabMic - Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

mm – Milímetros

N/cm² - Newton por centímetro quadrado

nm – Nanômetros

PPGO - Programa de pós-graduação em odontologia

Ra - Rugosidade

Sa - Rugosidade superficial

UFG - Universidade Federal de Goiás

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	25
2.1	OBJETIVO GERAL.....	25
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3	HIPÓTESE	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	PROJETO PILOTO	27
4.2	DELINEAMENTO E AMOSTRA DO ESTUDO	28
4.3	OBTENÇÃO E PREPARO DOS ESPÉCIMES	30
4.4	TÉCNICA DO MUCÓTOMO	30
4.5	TÉCNICA COM BISTURI CONVENCIONAL.....	32
4.6	MICROSCOPIA ÓPTICA	34
4.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	35
4.7.1	<i>Preparação das amostras para análise em MEV.....</i>	<i>35</i>
4.7.2	<i>Preparação da amostra ao ponto crítico</i>	<i>35</i>
4.7.3	<i>Análise em microscópio eletrônico de varredura.....</i>	<i>38</i>
4.8	COLETA E ANÁLISE DE DADOS.....	41
4.9	DESCARTE DOS RESÍDUOS.....	42
4.10	ANÁLISE DOS RISCO E BENEFÍCIOS	42
4.11	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	42
5	RESULTADOS	44
5.1	MICROSCOPIA ÓPTICA	44
5.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	46
6	DISCUSSÃO	69
7	CONCLUSÃO	73
8	REFERÊNCIAS	74
9	APÊNDICES	81
10	ANEXOS	110

1 INTRODUÇÃO

É chamado de enxerto uma peça de tecido com células viáveis, retirado de uma área doadora e inserido em uma área receptora, obtido e utilizado no mesmo tempo cirúrgico, com o intuito de reconstruir a área receptora. Os enxertos podem autógeno (quando sua origem é do próprio indivíduo), alógeno (quando sua origem é de indivíduos da mesma espécie), xenógeno (quando sua origem é de indivíduos de espécies diferentes) e também podem ser utilizados biomateriais a base de matriz colágena (CARVALHO *et al.* 2010). De acordo com Misch (1987), o enxerto autógeno é considerado o padrão ouro comparado aos demais.

Os tipos de enxerto gengival que tem sido mais utilizados e bem descritos na literatura para ganho de tecido queratinizado são: enxerto gengival livre (EGL), enxerto de tecido conjuntivo (ETC). E além desses pode-se utilizar também matriz dérmica acelular que é um biomaterial. Esses demonstraram aumento estatisticamente significativo na quantidade de tecido queratinizado obtido. (HARRIS, 1992; WU *et al.* 2015; CAIRO; NIERI, PAGLIARO, 2014).

Dentre os tipos de enxerto utilizados para obtenção de uma faixa satisfatória de tecido queratinizado, o enxerto gengival livre (EGL) é frequentemente utilizado. Entretanto essa técnica que foi descrita por Sullivan e Atkins (1968) apresenta algumas limitações, como: contração do enxerto entre 12 e 58% durante o período de cicatrização (PENNEL *et al.* 1969); WARD, 1974; SOEHREN, *et al.* 1973; EGLI, *et al.* 1975; YUKNA, *et al.* 1977; RATEISTCHAK, *et al.* 1979; WEI, *et al.* 2000; CORTELLINI, *et al.* 2012). Limitação estética (KERNER, *et al.* 2009; CORTELLINI, *et al.* 2012). E a dor pós-operatória nas áreas doadoras e receptoras (WESSEL; TATAKIS, 2008; ZUCHELLI, *et al.* 2014; WYREBEK, *et al.* 2018).

A técnica de EGL ainda é considerada a abordagem de escolha para aumento de tecido mole e mucosa queratinizada em dentes e região peri-implantar. Enquanto, o ETC apresenta maior previsibilidade em casos de cobertura completa de raiz e deiscência e corrobora com resultados estéticos favoráveis. (ZUCHELLI, *et al.* 2020)

Posteriormente, Duarte e Castro (2011) sugerem uma modificação da técnica onde o enxerto primeiramente é estabilizado e depois coberto por um retalho de

espessura parcial. Como vantagens os enxertos apresentam menor contração, melhor coloração e os pacientes relatam menor dor e desconforto pós-operatório.

Enxerto autógeno de tecido conjuntivo tem sido utilizado em inúmeros procedimentos clínicos, como recobrimento radicular em casos de recessão gengival (GUNAY; DOGAN; GEURTSSEN, 2008), preservação ou aumento de rebordo, para reconstrução de papilas e preparação da região receptora de implante (BASSETTI *et al.* 2017). Este procedimento promove ganho de volume e de gengiva queratinizada, estando associado a perdas ósseas significativamente menores em regiões peri-implantares (EDEL, 1998; THOMA *et al.* 2018; STUDER *et al.* 2000).

Além disso a presença de gengiva queratinizada garante maior facilidade em procedimentos restauradores, possibilita uma melhor estética e melhor manutenção da higiene oral com menor desconforto e irritação das mucosas do paciente. (CHUNG *et al.* 2006; GARCIA *et al.* 2008; PARK *et al.* 2010).

Para a remoção de enxertos de tecido mole é utilizado habitualmente lâmina de bisturi (SULLIVAN, ATKINS, 1968; LANGER & LANGER, 1985; VENTURIM, 2011; HARRIS, 1992; BRUNO, 1994; ZUCHELLI *et al.* 2010). Uma outra alternativa para retirada de enxertos é a utilização do mucótomo que é um contra-ângulo com lâmina cortante e acionado por motor elétrico. Possui alta precisão, com lâmina oscilante e é utilizado como peça de mão, capaz de produzir enxertos lisos e de espessura uniforme (MÖRMANN, SCHAER, 1977).

De acordo com o manual do fabricante NOUVAG (2016) a estrutura do mucótomo é composta por uma lâmina de corte de espessura de 0,5 mm e largura de 6 mm. Além disso, a técnica de remoção de enxertos não depende majoritariamente da experiência e habilidade do operador como na técnica convencional devido à padronização na espessura e largura dos cortes realizados pelo dispositivo.

Este é um estudo primário e não consta na literatura científica estudos que comparem a nível microscópico a superfície de enxertos de mucosa ceratinizada (EMC) avaliando a sua topografia, rugosidade, uniformidade e tipos de células presentes, retirados pela técnica convencional e pela técnica do mucótomo. O intuito foi avaliar se EMC retirados pela técnica do bisturi convencional em comparação com a técnica do mucótomo apresentam superfície com variações em relação a rugosidade e uniformidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a superfície e qualidade tecidual de EMC obtidos pela técnica do mucótomo e bisturi convencional.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar, por meio da microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), EMC de mandíbulas suínas (*Sus scrofa domesticus*) obtidas pela técnica do mucótomo e bisturi convencional.

Comparar, por meio da MEV as características topográficas e a perfilometria 3D de EMC de mandíbulas suínas (*Sus scrofa domesticus*) obtidas pela técnica do mucótomo e bisturi convencional.

3 HIPÓTESE

Enxertos removidos utilizando o mucótomo apresentam maior uniformidade de superfície e melhor qualidade tecidual do espécime em comparação com a técnica convencional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Projeto piloto

O projeto piloto foi realizado com o objetivo de testar a metodologia proposta e diminuir o risco de viés. Os tecidos foram removidos por cirurgião-dentista especialista que passou por treinamento e removeu espécimes de 18 mandíbulas suínas utilizando o mucótomo e bisturi.

Em seguida, foram utilizadas duas hemi-mandíbulas das quais foram removidos os espécimes por meio da técnica convencional (bisturi) e pela técnica do mucótomo. Esses foram levados ao MEV para a realização das análises, mas o tecido sofreu desidratação durante a análise e conseqüentemente interfere na qualidade das imagens obtidas.

Para solucionar a questão da desidratação dos tecidos foi proposta uma nova metodologia. Novos espécimes foram removidos e em seguida foram fixados em um dispositivo de armazenamento e leitura da peça e inseridos em formaldeído 10% para fixação das propriedades físicas e químicas do tecido.

Para confecção do dispositivo de armazenamento e leitura da peça, foi utilizado um pedaço de espuma recortada de forma a manter a peça úmida e em contato com o formaldeído. Sob a espuma foi grampeado um anteparo de plástico perfurado nas mesmas dimensões da espuma para que se mantenha o espécime estendido. Sobre a espuma foi grampeada a peça de enxerto, fixada ao conjunto espuma-plástico e inserida em uma matriz cassete (usada em processamento histológico) e vedada com resina autopolimerizável para armazenar o formaldeído. (Figura 1)

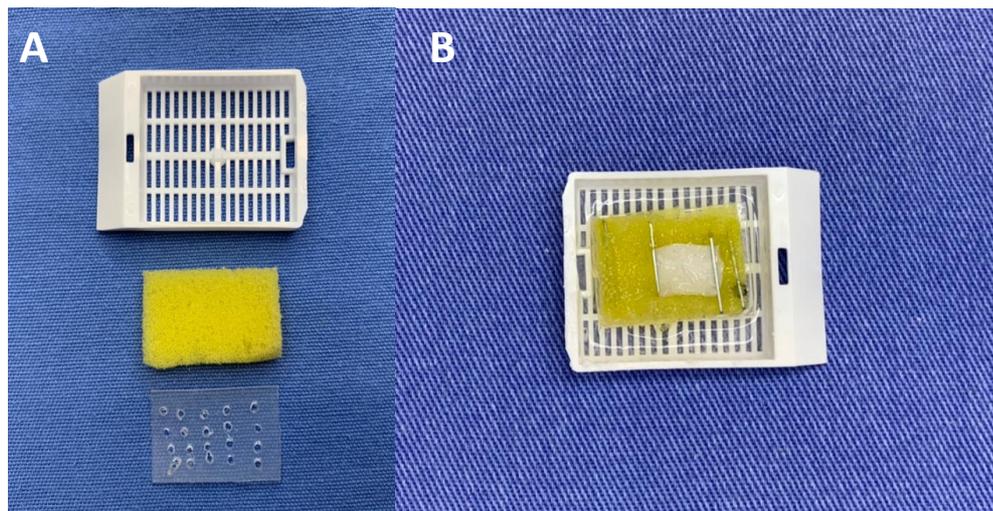


Figura 1 - Anteparo para suporte dos espécimes para análise no MEV.

Dessa forma, acreditou-se que a peça de enxerto poderia manter-se estendida e umedecida, com superfície adequada para leitura, durante todo o tempo de exposição necessário para análise em MEV. Entretanto, após a realização das análises a qualidade das imagens obtidas não foram satisfatórias.

Para obtenção de melhor qualidade de imagem e características fundamentais para o estudo optou-se por atualizar a metodologia. Em seguida foi realizada nova remoção de dois espécimes das mandíbulas suínas utilizando as duas técnicas e optou-se pela preparação das amostras para ponto crítico de acordo com o protocolo estabelecido pelo Labmic UFG (Anexo 2). Essas amostras foram levadas ao MEV e novas análises foram realizadas obtendo boa qualidade de imagem e visualização das características teciduais que permitiram comparação entre as técnicas de remoção de enxerto.

4.2 Delineamento e amostra do estudo

A presente pesquisa trata-se de um estudo experimental *in-vitro/ex-vivo*. E teve início após aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais – CEUA UFG sob o número MB 029/21.

Foram utilizadas seis hemi-mandíbulas suínas da família: *suidae*; gênero: *sus*, espécie: *S. domesticus*; raça: *Landrace* e nome científico: *Sus scrofa domesticus*; As peças apresentavam condição de tecido queratinizado favorável para remoção na

face interna em região anterior de mandíbula. Essa foi a região de escolha para a remoção dos espécimes por apresentar maior quantidade e melhor qualidade de tecido em comparação com a região média ou posterior dessas peças.

As mandíbulas suínas foram obtidas em açougue com registro e alvará atualizado da vigilância sanitária da cidade de Goiânia, Goiás, Brasil. E foram acondicionadas em caixa térmica com gelo para conservar as peças e facilitar o transporte até o local de realização dos procedimento de remoção dos tecidos. O período entre a obtenção das mandíbulas e início do procedimento foi de 1 hora.

Com a finalidade de uma maior precisão, o procedimento de remoção dos espécimes das mandíbulas foi realizado por um cirurgião-dentista especializado e previamente treinado, oferecendo as mesmas condições para remoção do enxerto através da técnica do mucótomo e técnica convencional.

O processo de randomização foi realizado por meio de sorteio aleatório para determinação da técnica a ser realizada para remoção do EMC (técnica convencional ou técnica do mucótomo) e para determinação da região do enxerto removido da face interna em região anterior de mandíbula e que seria destinada a análise por microscopia óptica ou MEV (região anterior ou posterior do enxerto).

O resultado da randomização foi o seguinte:

Tabela 1 – Randomização das mandíbulas suínas, região e método utilizado para remoção de EMC.

Amostras (mandíbula suína) – MEV					
1	2	3	4	5	6
Bisturi	Mucótomo	Mucótomo	Mucótomo	Bisturi	Bisturi
Região anterior: análise MEV	Região anterior: análise por microscopia óptica	Região anterior: análise MEV	Região anterior: análise por microscopia óptica	Região anterior: análise MEV	Região anterior: análise por microscopia óptica

Região posterior: análise por microscopia óptica	Região posterior: análise MEV	Região posterior: análise por microscopia óptica	Região posterior: análise MEV	Região posterior: análise por microscopia óptica	Região posterior: análise MEV
---	----------------------------------	---	----------------------------------	---	-------------------------------------

4.3 Obtenção e preparo dos espécimes

Para a padronização das dimensões das amostras foi utilizado um molde confeccionado em papel cartão proveniente de embalagem de fio de sutura nylon 4-0 com a medida de 6 x 16mm, simulando a forma como geralmente são feitos os guias de referência para realização de cirurgias de enxerto na clinica odontológica. O molde foi utilizado em toda a amostra para delimitação do tamanho dos espécimes removidos pelas diferentes técnicas. Foram delimitadas as extremidades do molde utilizando bisturi de lâmina 15, servindo como um guia para remoção do espécime da área doadora. Após a delimitação foi iniciada a remoção do espécime de acordo com a randomização previamente estabelecida.

4.4 Técnica do mucótomo

O procedimento foi realizado com o uso do mucótomo (Mucotome Ref. 1970, Nouvag, Goldach, Switzerland) (Figura 5) que possui lâmina de largura de 6 mm e profundidade de corte de 0,5 mm. O mucótomo foi acoplado em um motor elétrico para implantes Neodent (NeoSurg Pro, Curitiba, Paraná, Brasil) acionado na velocidade de 1000 rotações por minuto (rpm) e torque de 50 N/cm². De acordo com o manual do fabricante Nouvag o mucótomo pode ser acionado até 8000 rpm,

entretanto durante a realização do projeto piloto optou-se pela padronização de 1000 rpm e 50 N/cm² para a remoção das amostras, afim de garantir que os tecidos seriam removidos com integridade.

A remoção dos 3 espécimes foi realizada com pressão moderada de aproximadamente 20 a 25 N/cm² sobre o tecido, com movimento anteroposterior contínuo e foi utilizado lâmina de bisturi número 15C para a completa separação do espécime da mandíbula suína. Em nenhum dos 3 espécimes havia presença de tecidos excedentes macroscopicamente e nenhum tratamento da superfície interna do espécime foi realizado. Em seguida foi utilizado o molde feito em papel cartão com as dimensões 6x16mm para delimitar o tamanho da amostra e essa foi dividida em duas partes (região anterior e região posterior) resultando em 6 partes com dimensões 6 x 8 mm, conforme mostra as Figuras 2 e 3.

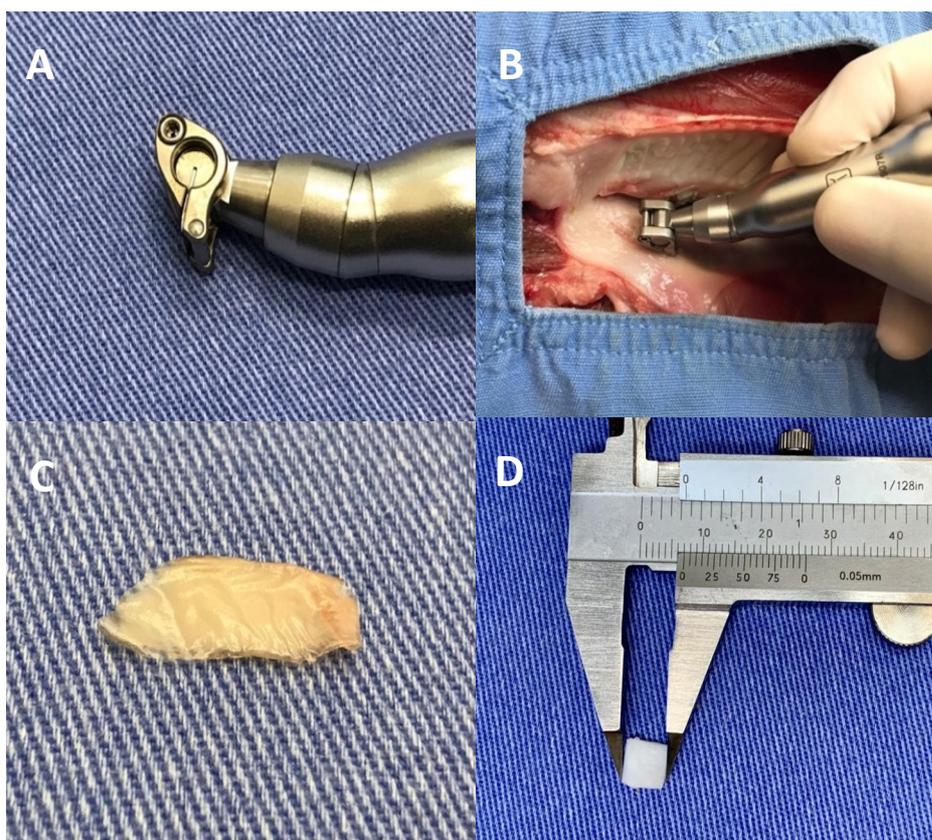


Figura 2 - A: mucótomo, peça de mão; B: Remoção do enxerto utilizando omucótomo; C: Espécime removido; D: Medição do tamanho do espécime removido e já seccionado seccionado.

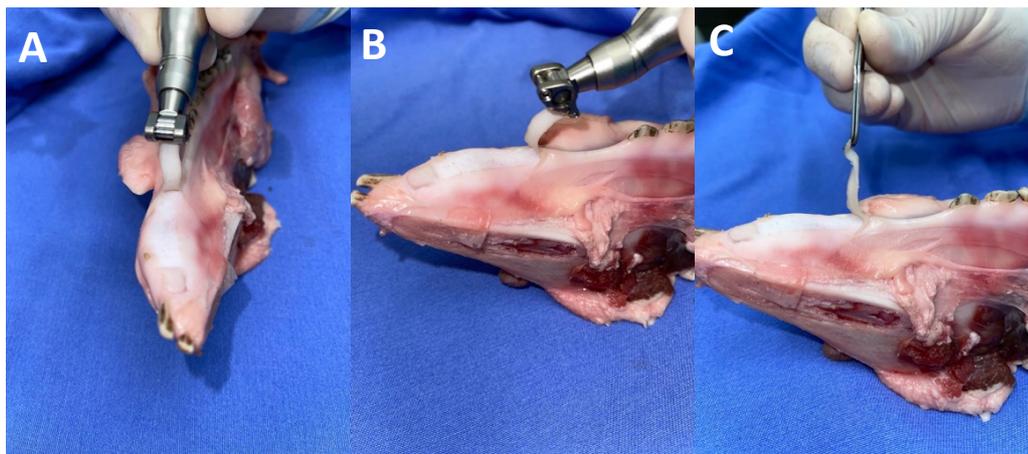


Figura 3 – Remoção de EMC utilizando mucótomo.

4.5 Técnica com bisturi convencional

Para a técnica convencional foi utilizada uma lâmina nova de bisturi 15C (Solidor, Anhui Easyway Medical, China) com incisão inicial perpendicular ao espécime e, em seguida, realizando incisão com ângulo ente 30° e 45°. Após esta incisão inicial, a lâmina de bisturi foi dirigida paralelamente à superfície epitelial, separando o tecido conjuntivo subjacente e obtendo uma peça laminar em formato retangular de tecido epitelizado com dimensões 16 x 8 mm (Figuras 4 e 5).

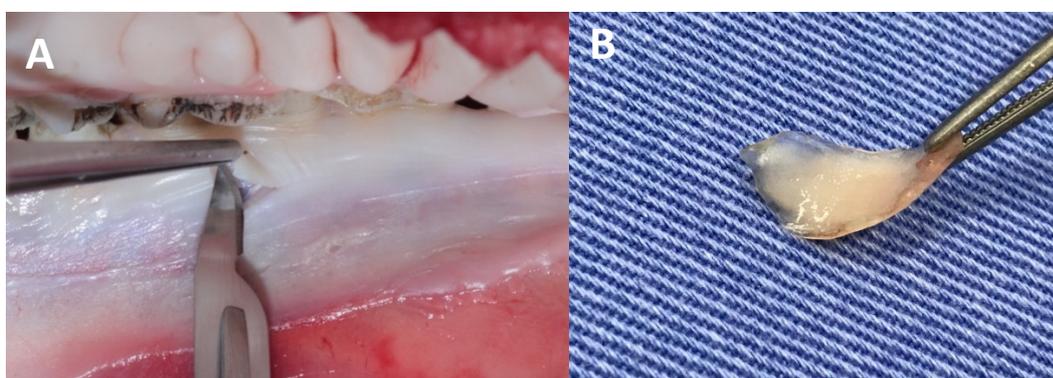


Figura 4 - Retirada do enxerto pela técnica convencional. A: lâmina de bisturi realizando a incisão do tecido. B: tecido removido por lâmina de bisturi.

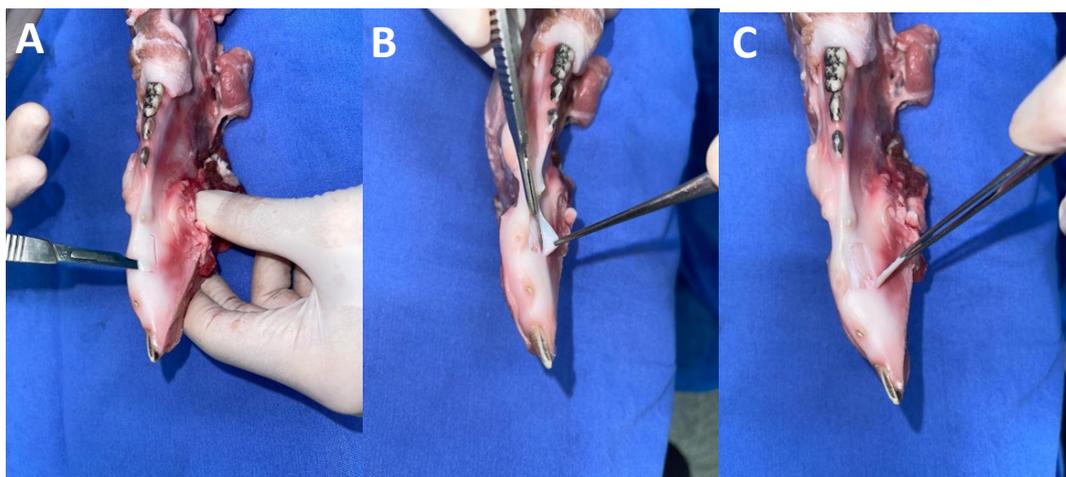


Figura 5 – Remoção de EMC utilizando bisturi.

Em seguida, o espécime obtido foi avaliado quanto à presença de tecidos indesejáveis como tecido adiposo. Em nenhum dos 3 espécimes havia presença de tecidos excedentes macroscopicamente. Os tecidos foram acomodados em papel cartão por 1 minuto e em seguida foi novamente utilizado o molde para dividir em duas partes (região anterior e região posterior do espécime) resultando em 6 partes com dimensões 8 x 6 mm, conforme mostra a Figura 6.

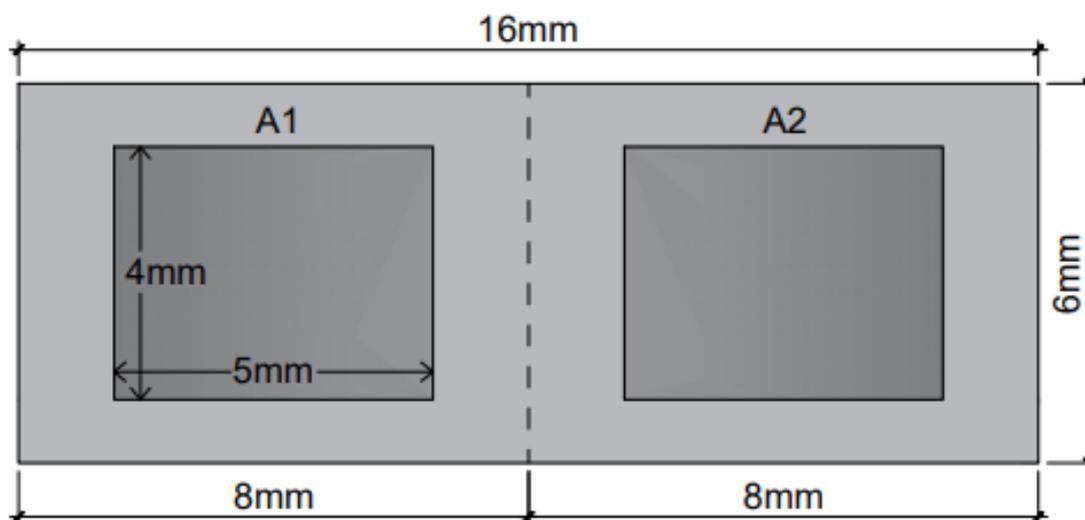


Figura 6 - Dimensões dos espécimes retirados para enxerto (16 x 8mm). As áreas A1 e A2 foram utilizadas para análise em MEV e óptica aleatoriamente, com dimensões (4 x 5mm).

Três espécimes foram fixados em solução de paraformaldeído (formol) tamponado a 10% durante 24 horas para fixação das propriedades físicas e químicas

dos tecidos e mantidos em álcool 70%. Posteriormente esses tecidos foram processados e incluídos em parafina. Na sequência foram confeccionados cortes de 3 a 5mm, estes distendidos em lâminas histológicas e corados por hematoxilina e eosina para a avaliação histomorfológica em microscopia óptica.

Os outros 3 tecidos foram inseridos em solução de glutaraldeído 2,5% e levados ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da UFG para preparação da amostra ao ponto crítico e posteriormente foram realizadas análises em MEV pelo Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI) da UFG.

4.6 Microscopia óptica

Os espécimes do tecido coletado com dimensões 6x8 mm foram fixados em solução tamponada de formaldeído 10% pH 7.0. Após a fixação, as amostras foram processadas em histotécnico automático para desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Posteriormente, a peça foi seccionada em micrótomo (Leica RM2165), obtendo-se de cada bloco cortes consecutivos de 5µm, colocados sobre lâminas histológicas e corados pelo método de Hematoxilina-eosina (HE). Esses cortes foram utilizados para caracterização microscópica e histomorfométrica das amostras.

A captura das imagens foi realizada com o auxílio de uma câmera digital acoplada ao microscópio óptico (Fluo Biológico Opticam O500R) na lente objetiva de 40x, devidamente calibrada para o estudo histomorfométrico. As análises das lâminas foram realizadas através do software OPTHD (Opticam). Foram registradas 2 fotos de campos alternados em cada amostra a fim de obter a melhor visualização de imagem que permitisse a descrição das características do tecido estudado.

O processo de análise de microscopia óptica foi realizado através da observação dos tipos de células presentes em cada amostra e as principais características do tecido na região de corte em análise. Deste modo, foi possível a avaliação da superfície da amostra, região subepitelial e base disponíveis nas lâminas.

4.7 Microscopia eletrônica de varredura

4.7.1 Preparação das amostras para análise em MEV

Anteriormente à realização das análises em MEV é necessário a preparação das amostras para a obtenção de boas imagens. Essa preparação envolve os processos de fixação, lavagem, desidratação, secagem das amostras que é realizada pelo aparelho de ponto crítico utilizando gás carbônico e metalização (etapa não realizada, pois não se enquadra no intuito da pesquisa e comprometeria a integridade dos tecidos influenciando nas análises em MEV) que torna o material condutivo por meio de deposição de um metal sobre a amostra, geralmente ouro ou platina.

A preparação das amostras foi realizada de acordo com o protocolo de preparo de tecidos para MEV disponibilizado pelo LabMic (Anexo 2). A solução de glutaraldeído 2,5% foi utilizada para o armazenamento e transporte dos tecidos até ao laboratório onde foram realizadas as demais etapas de preparação das amostras para análise em MEV. Essa solução foi produzida utilizando as seguintes proporções: 30ml de glutaraldeído 25%; 150ml de tampão fosfato 0,1M, pH 7,2; 120ml de água destilada 0,1M, pH 7,2, resultando em 300ml de solução glutaraldeído 2,5%.

4.7.2 Preparação da amostra ao ponto crítico

Após a realização das etapas prévias de preparação da amostra, a secagem final para observação no MEV aconteceu sob condições em que não ocorre um menisco de transição de fases evitando as forças resultantes da tensão superficial. Utilizou-se dióxido de carbono como agente de troca na câmara de ponto crítico (Critical Point Dryer - CPD). Sabe-se que para cada fluido, existe uma condição de temperatura e pressão característica, em que as fases líquida e gasosa do fluido não podem coexistir; esta combinação corresponde ao ponto crítico do fluido. Para se fazer o ponto crítico, as amostras foram levadas já fixadas e completamente

desidratadas, à câmara de CPD, em um pequeno volume de acetona. Com a câmara isolada injetou-se o CO₂ líquido, e para isso a câmara estava a uma temperatura de 4-5°C, fazendo-se várias substituições até remoção total da acetona. Com o posterior aquecimento controlado da câmara o CO₂ torna-se gasoso a uma determinada pressão sem que se forme o menisco de transição e sem que exista a modificação na estrutura do material biológico (Figuras 7 e 8).



Figura 7 - Sistema de secagem de amostras pelo ponto crítico de CO₂, Autosamdri®, 815, Series A, com um porta amostra de 4 cavidades cilíndricas.

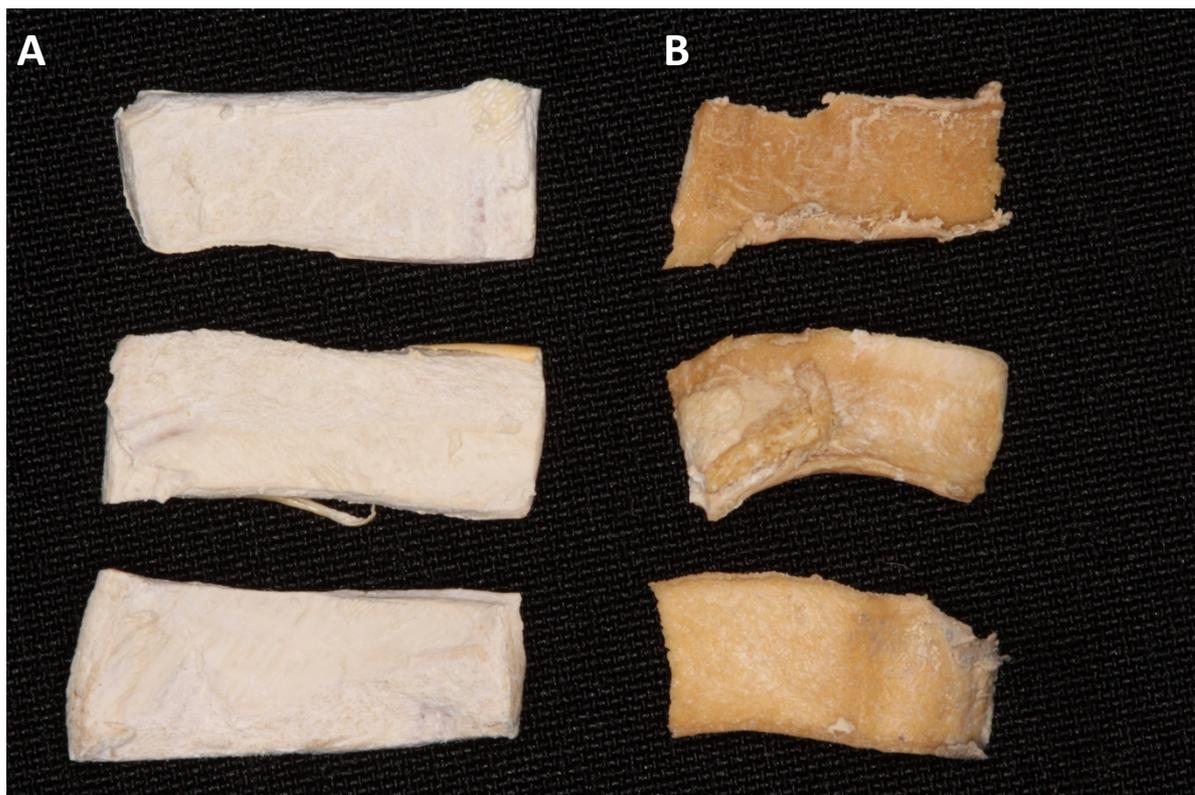


Figura 9 - Amostras de EMC após preparação ao ponto crítico. A: amostras removidas com bisturi; B: amostras removidas com mucótomo.

4.7.3 Análise em microscópio eletrônico de varredura

Os espécimes foram analisados por meio de MEV Zeiss AXIO IMAGER Z2 (Zeiss, Jena, Alemanha) acoplado a um sistema de varredura laser LSM700 equipado com laser de diodo (405 nm). O tamanho da área de varredura de cada espécime foi de 400x 500 μm e foi utilizada lente objetiva EC PLAN-NEOFLUAR 10x/0,3 HD M27 para obtenção da melhor qualidade de imagem que permite comparação dos eixos $x(\mu\text{m})$, $y(\mu\text{m})$ e $z(\mu\text{m})$ entre os espécimes. As imagens obtidas foram apresentadas com avaliação de topografia (Figura 10A e 10B) e perfilometria 3D horizontal e diagonal (Figuras 11A e 11B).

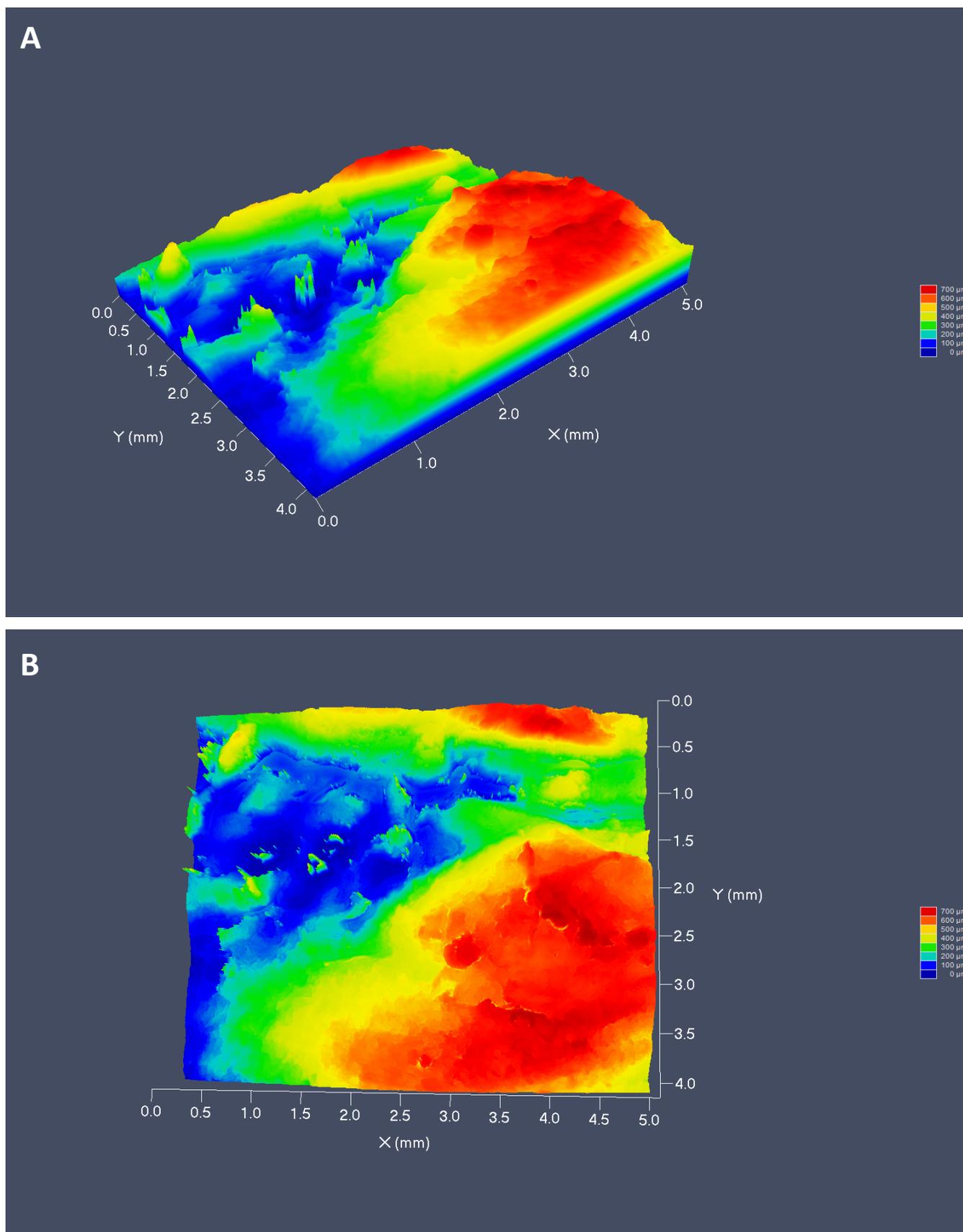


Figura 10 - Avaliação topográfica 3D em duas perspectivas – vista diagonal (A) e vista superior (B) do espécime de EMC (projeto piloto).

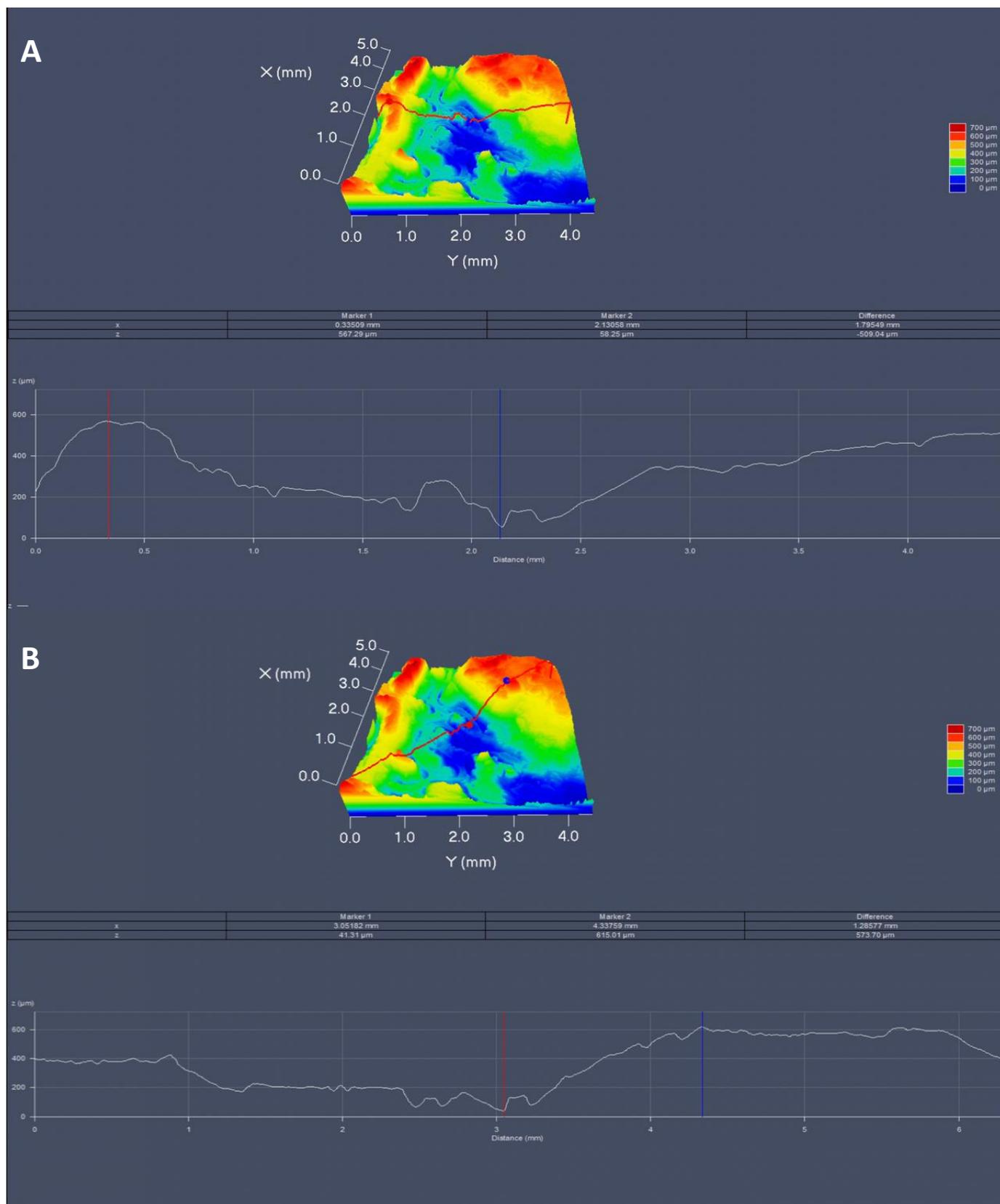


Figura 11 - Avaliação perfilométrica 3D horizontal (A) e diagonal (B) do espécime de EMC (projeto piloto).

Para a captura das imagens e obtenção dos valores da perfilometria 3D dos tecidos, removidos pelas diferentes técnicas, foi utilizado o software de análise e processamento Zeiss Zen Black (Zeiss, Jena, Alemanha) presente no Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI) da UFG.

A análise de MEV foi realizada por meio da avaliação dos picos e vales das amostras a partir da perfilometria 3D horizontal e diagonal. Foram realizadas duas perfilometrias horizontais dividindo a amostra em terços iguais, além de uma perfilometria diagonal da amostra. Os dados de topografia da superfície das amostras foram obtidos calculando as porcentagens que representam cada área de segmento topográfico em relação a dimensão total do espécime avaliado.

O perfilômetro digital, também conhecido como rugosímetro, é um equipamento que fornece características topográficas das superfícies, cuja imagem tridimensional (3D) é de maior estabilidade, confiabilidade e mais representativa que a bidimensional (2D). Consiste de um grande número de perfis, em áreas preestabelecidas e não somente por meio de medidas lineares, gerando uma imagem em 3D, a partir de dados registrados como uma distribuição de alturas (picos e vales), por meio de softwares específicos que fornecem parâmetros matemáticos para identificar as propriedades superficiais das amostras (rugosidade) (SAITO; LOVADINO; KROLL, 2000). O parâmetro rugosidade superficial (S_a) é baseado na média do desvio padrão entre picos e vales em uma superfície. (XAVIER *et al.* 2012).

4.8 Coleta e análise de dados

Os dados coletados após análise das amostras em microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica foram avaliados, relacionados e descritos.

4.9 Descarte dos resíduos

Após a realização dos procedimentos de retirada de EMC as hemi-mandíbulas suínas foram descartadas conforme Resolução nº 306/2004 do Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O descarte das hemi-mandíbulas e os demais resíduos aconteceu de acordo com o tipo de resíduo e seu grupo de classificação: as mandíbulas foram descartadas no lixo destinado ao Grupo A (resíduos potencialmente infectantes); as soluções de glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 10% foram descartadas no lixo do Grupo B (resíduos químicos); os papeis, plásticos, embalagens foram descartados no lixo do Grupo D (resíduos comuns); as lâminas de bisturi utilizadas foram descartadas no lixo do Grupo E (resíduos perfurocortantes).

4.10 Análise dos risco e benefícios

Alguns dos riscos potenciais associados a realização do estudo foram: acidente com instrumentais perfurocortantes, acidente com compostos químicos falta de atenção às diretrizes para realização de pesquisas com animais. Esses riscos foram minimizados com a utilização de equipamentos de proteção individual (EPIs) completos pelos profissionais, treinamento e seguimento de todas as normas e diretrizes preconizadas pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) UFG.

4.11 Considerações éticas

Os procedimentos foram realizados por um cirurgião-dentista com experiência e previamente treinado. O procedimento de remoção dos espécimes com bisturi e mucótomo foi realizado no Núcleo de Pesquisa em Prótese e Implante (NPPI) da

Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (UFG). O presente trabalho teve início somente após aprovação e emissão do parecer consubstanciado pela CEUA da UFG.

5 RESULTADOS

5.1 Microscopia óptica

As imagens das lâminas abaixo foram obtidas através de microscopia óptica. É possível notar a presença de tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado e tecido conjuntivo denso modelado nas lâminas de tecidos removidos com mucótomo e bisturi (Figura 14). Nos tecidos removidos com mucótomo nota-se uma linearidade na base do tecido e na espessura do tecido como um todo, presença de submucosa, tecido conjuntivo fibroso que é ideal para o sucesso do enxerto (Figuras 14A e 14B). Já nos tecidos removidos com bisturi existe maior anfractuosidade, apresentando aprofundamento durante a remoção do tecido e grande irregularidade na base do enxerto (Figura 14E e 14F). Além disso, nota-se a presença de tecidos indesejados como tecido adiposo (Figura 14G e 14H).

Os tecidos removidos com mucótomo apresentam microscopicamente características mais favoráveis e que são esperadas para garantir maior chance de sucesso dos enxertos. No entanto, para regiões muito delgadas o uso do mucótomo apresenta como limitação a possibilidade de remover tecidos indesejáveis, por possuir alto poder de corte. Dessa forma o operador deve controlar a força aplicada ao manusear o mucótomo. Enquanto os tecidos removidos por bisturi apresentam limitações em relação a maior irregularidade na base do tecido, quanto a profundidade de enxerto removido e presença de tecidos indesejados.

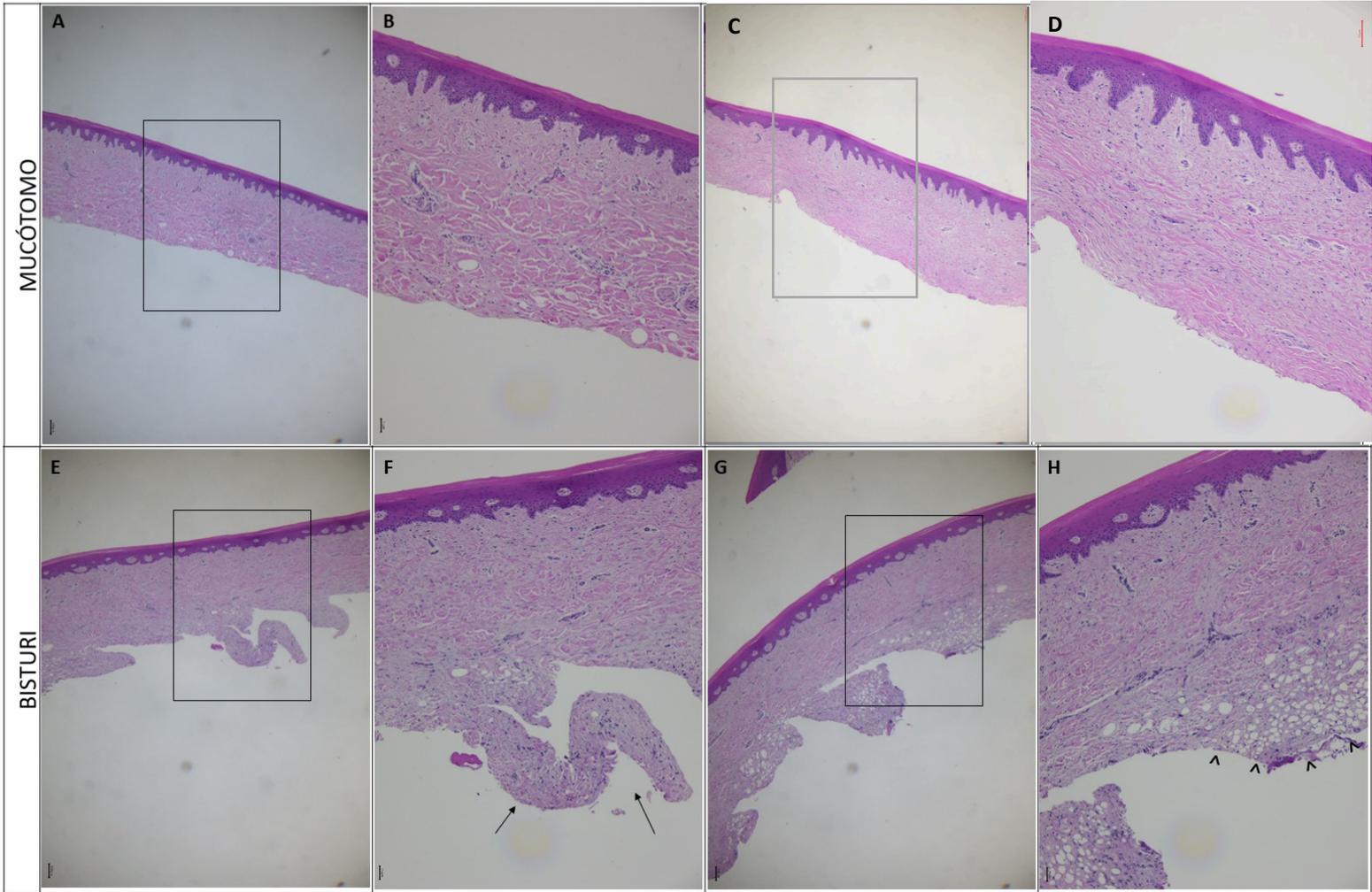


Figura 12 - Imagens obtidas através de microscopia óptica, lente objetiva, aumento 5x e 40x. Enxertos removidos de mandíbulas suínas com mucótomo (A, B, C, D) e bisturi (E, F, G, H) corados com hematoxilina e eosina. F: → irregularidades na base do tecido; H: ^ células de tecido adiposo.

5.2 Microscopia eletrônica de varredura

Foram analisadas duas áreas por amostra (a e b) com dimensões de 1920 x 2560 μm (eixos x e y). As alturas analisadas no eixo z em cada amostra são mostradas na Tabela 2. As imagens obtidas, assim como os perfis coletados em dois pontos de cada eixo (x e y) estão disponíveis nos anexos.

Tabela 2 - Condições de análise das amostras analisadas no MEV.

NOME	1B a	1B b	2B a	2B b	3B a	3B b	1M a	1M b	2M a	2M b	3M a	3M b
Z (μm)	462	318	501	375	327	312	918	804	477	489	507	527

a: área a / b: área b / B: bisturi / M: mucótomo.

As imagens abaixo são das amostras removidas com mucótomo e demonstram a topografia das amostras de EMC analisadas pelo MEV e perfilometria 3D em diagonal e horizontal em diferentes áreas. Pode-se observar nas imagens abaixo que o efeito “rampa” que acontece devido ao ângulo e pressão aplicados no mucótomo sobre a mandíbula (Figuras 15 a 17).

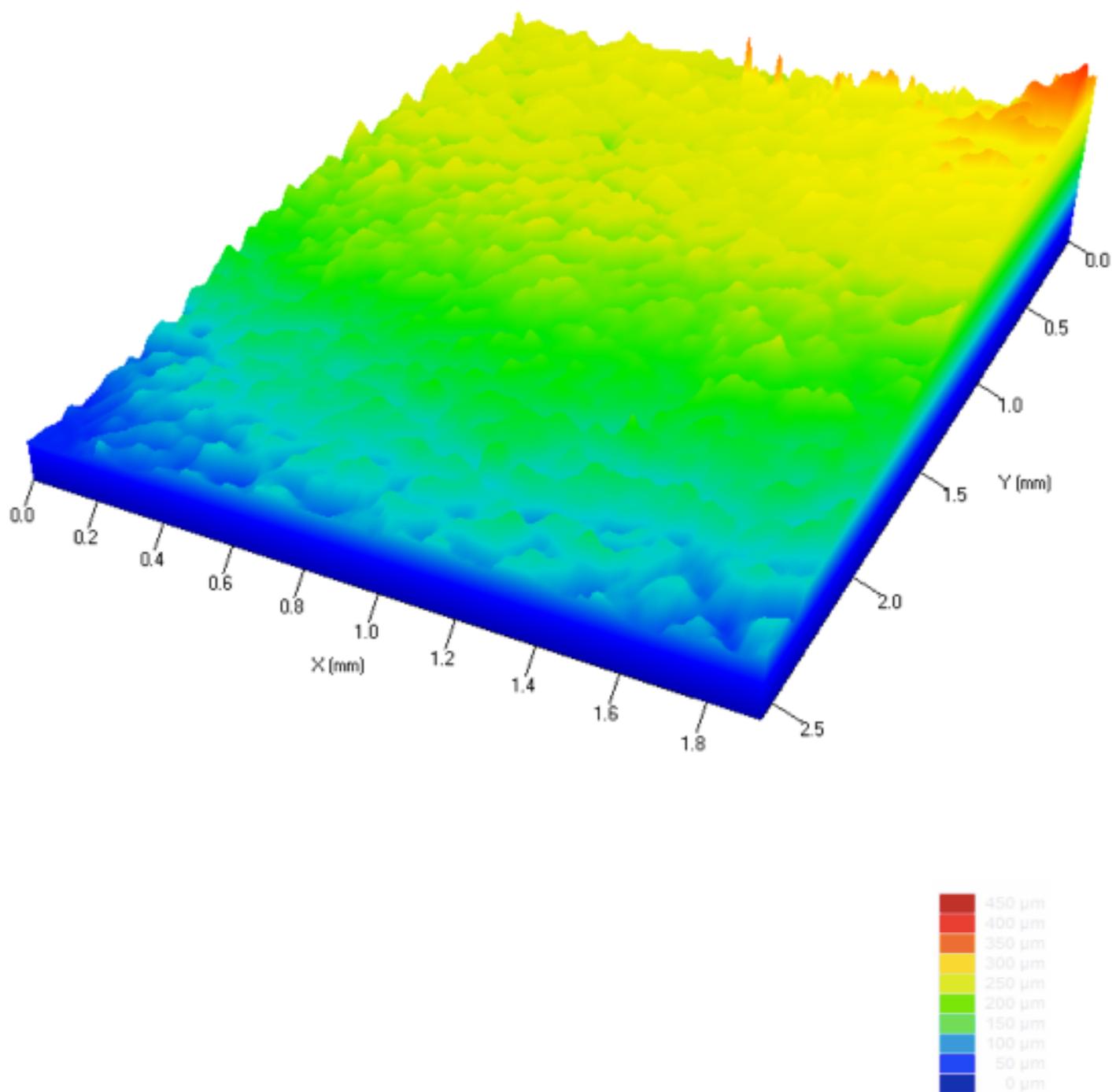


Figura 13 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 1M.

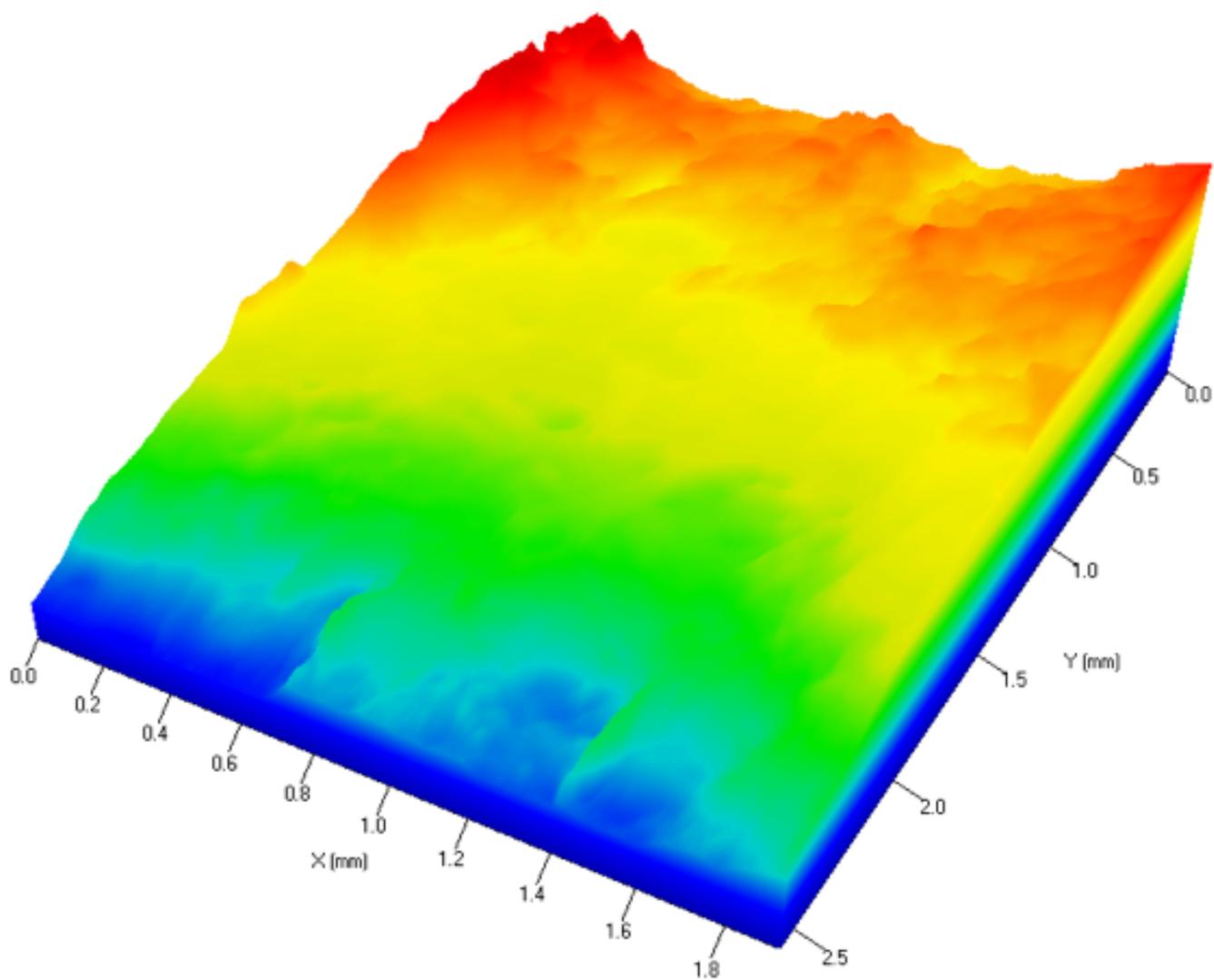


Figura 14 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 2M.

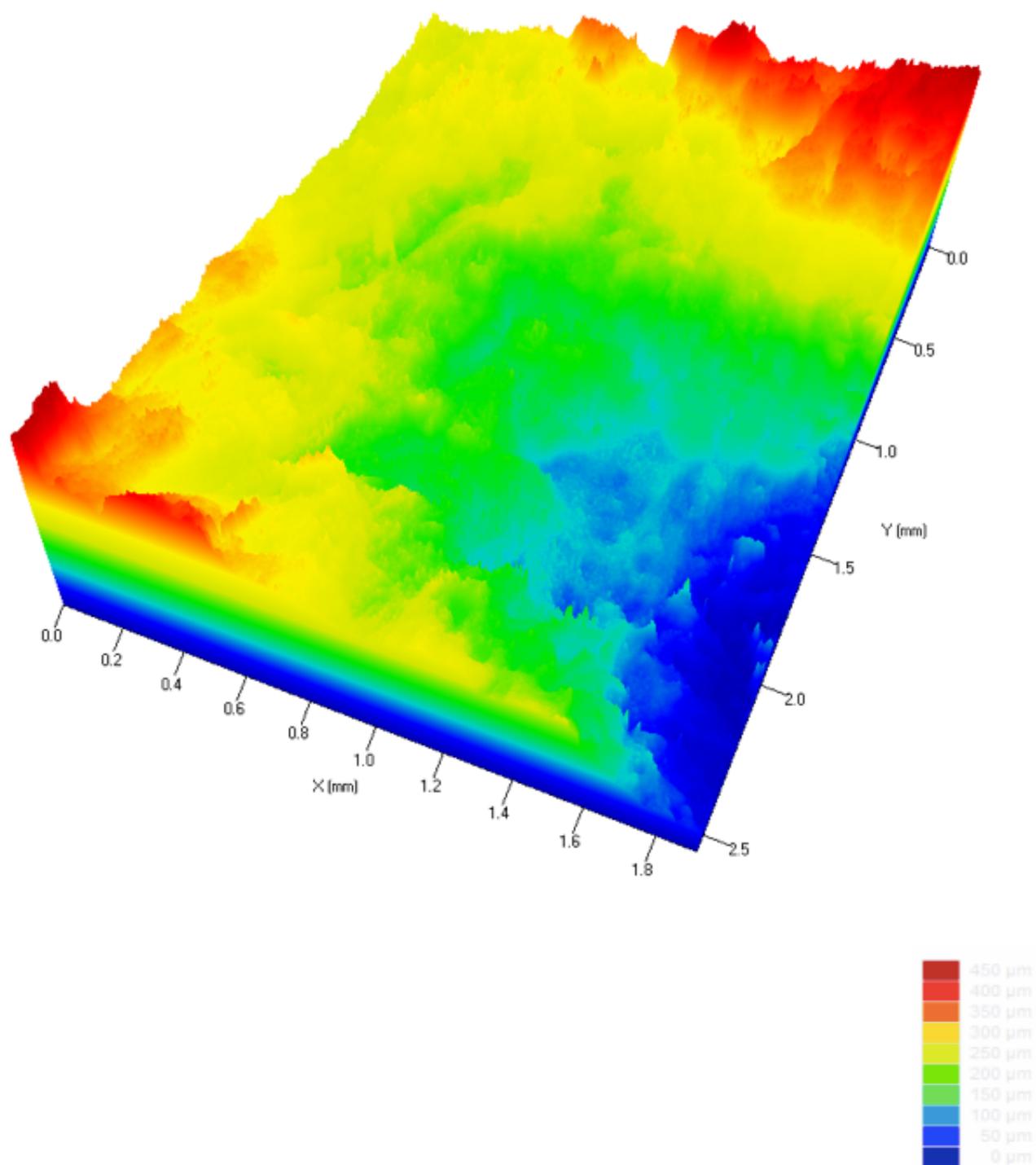


Figura 15 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 3M.

As imagens abaixo são das amostras removidas com bisturi e demonstram a topografia das amostras de EMC analisadas pelo MEV e perfilometria 3D em diagonal e horizontal em diferentes áreas. Nessas imagens o efeito “rampa” não foi observado e dessa forma tem-se enxertos mais volumosos e com maior presença de tecido conjuntivo (Figuras 18 a 20).

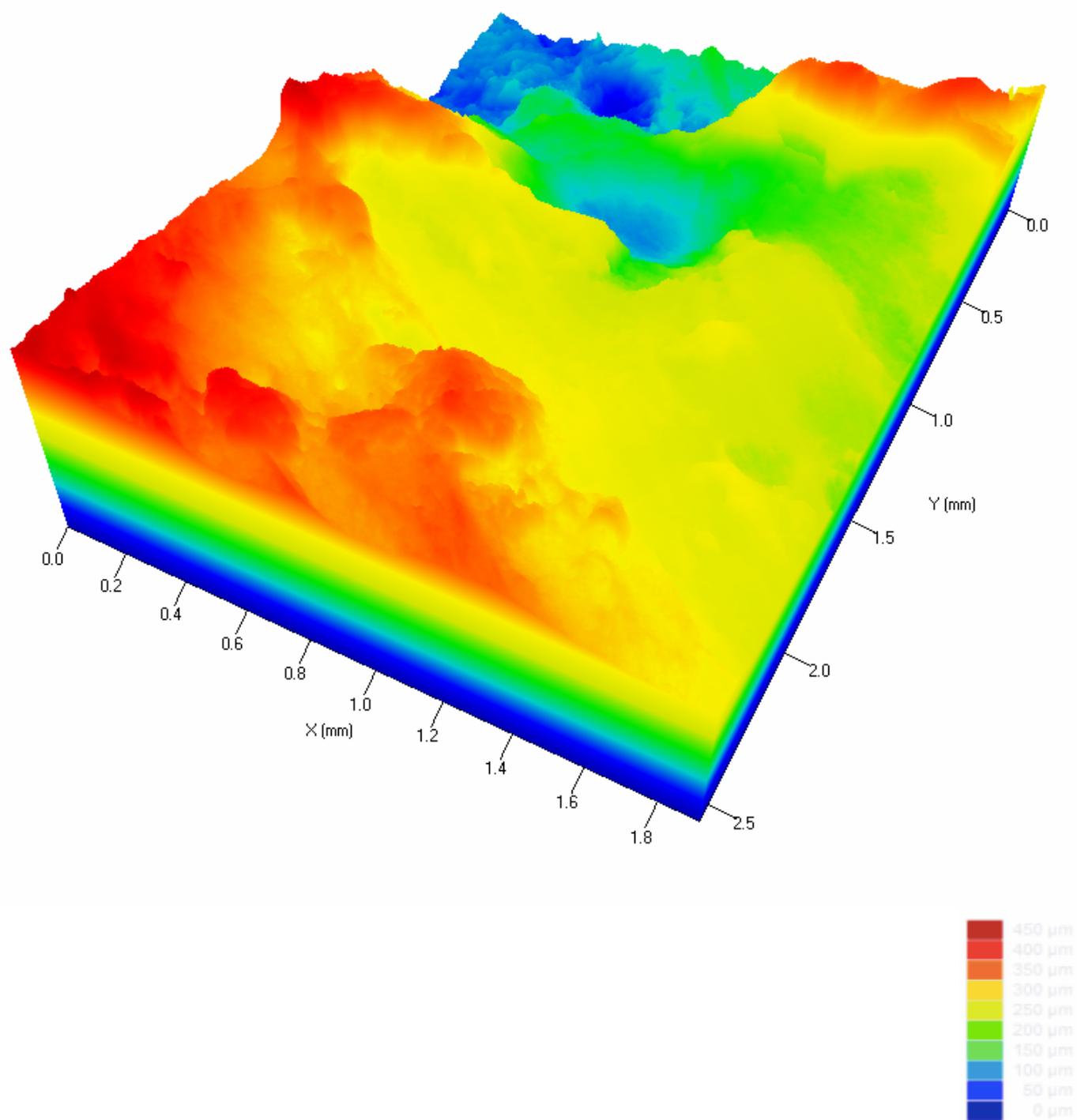


Figura 16 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 1B

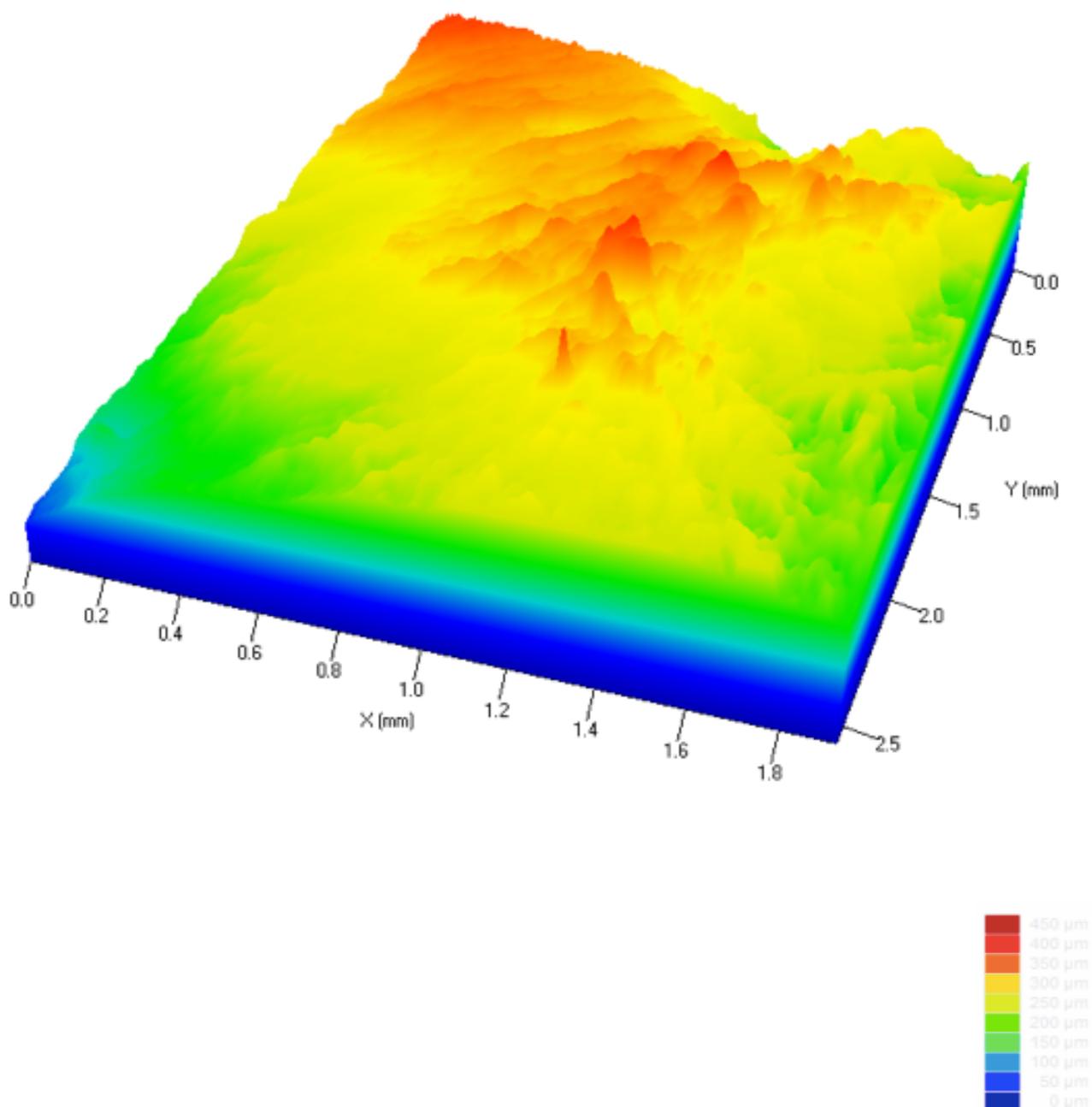


Figura 17- Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 2B.

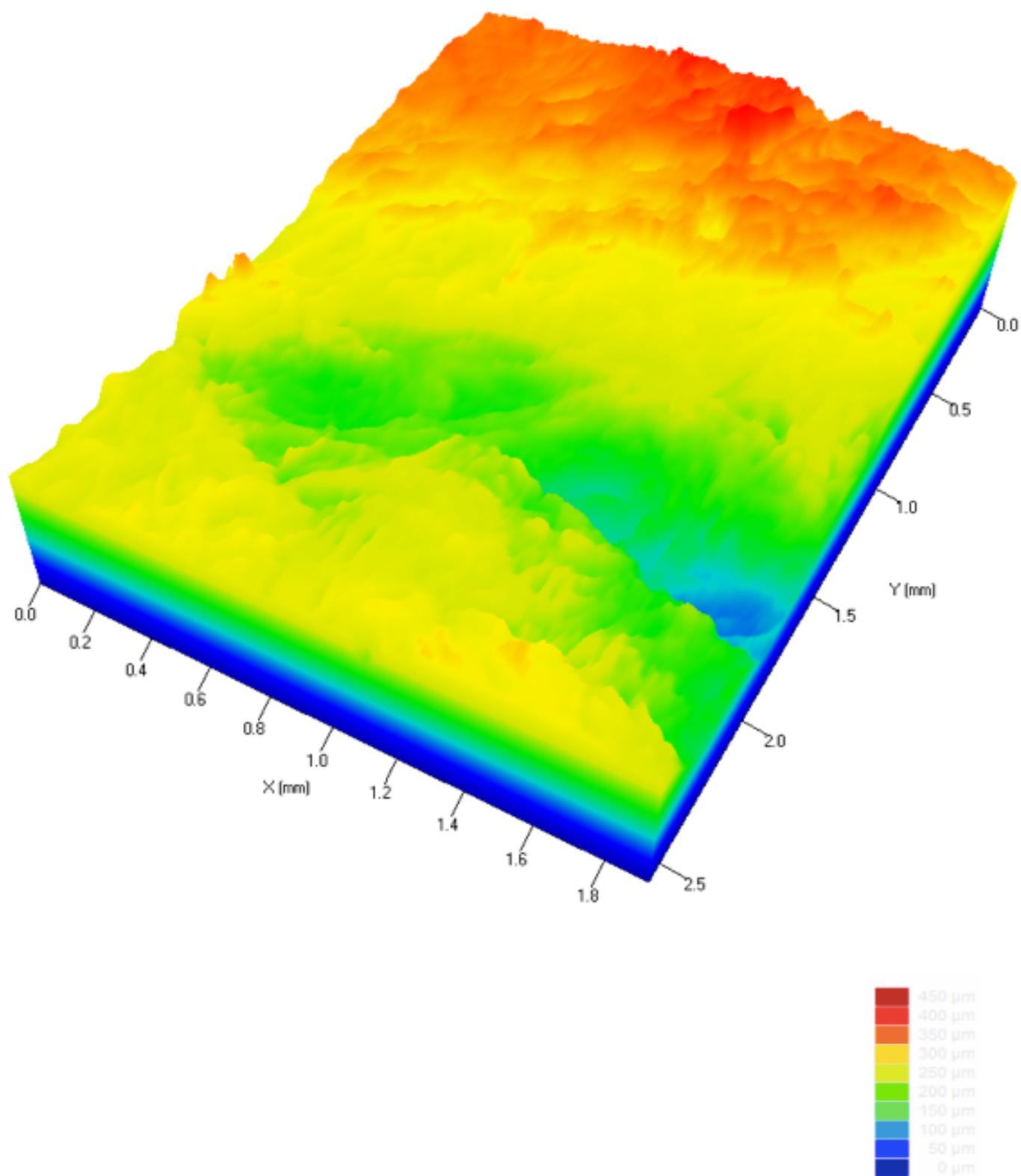


Figura 18 - Perfil da superfície composto por forma e rugosidade amostra 3B.

As imagens abaixo demonstram a topografia das amostras de EMC analisadas pelo MEV e perfilometria 3D em diagonal e horizontal em diferentes áreas.

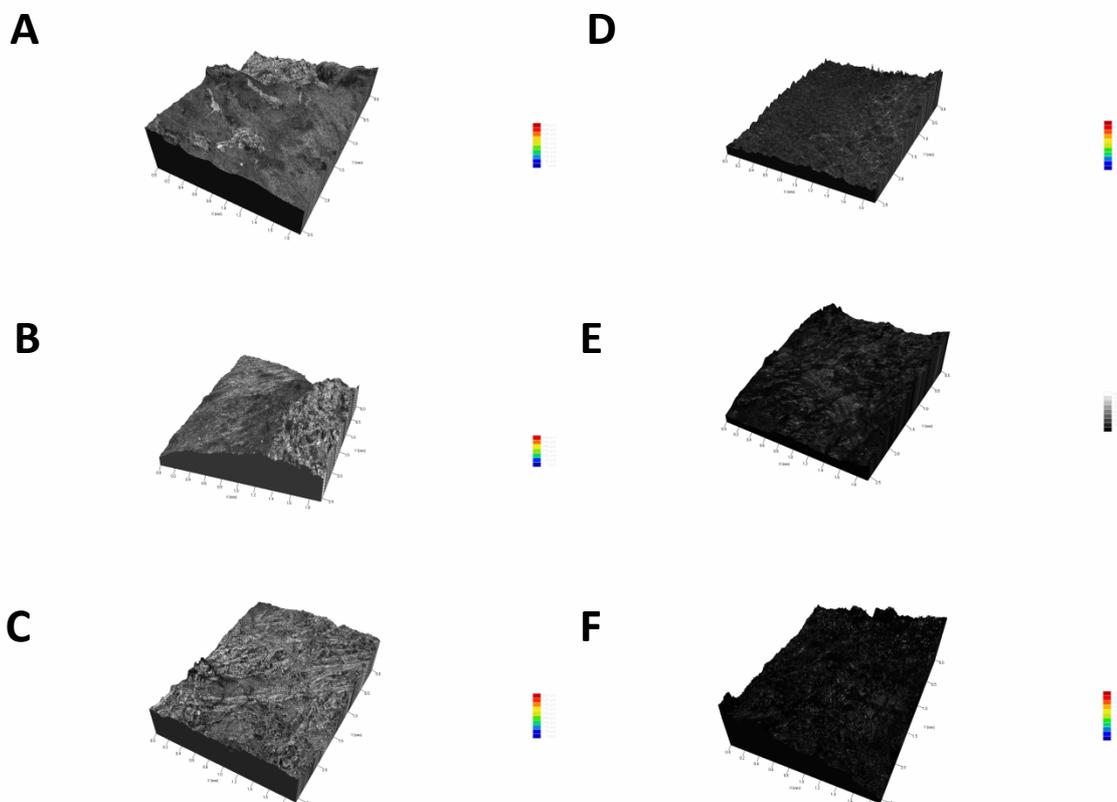


Figura 19– Perfil da superfície composto por forma e rugosidade (monocromática). Comparação MEV. As imagens (A, B, C) são das amostras removidas com bisturi e as imagens (D, E, F) são das amostras removidas com mucótomo.

As Figuras 21 (A a F) revelaram diferenças entre as superfícies das amostras medidas por MEV. Essas diferenças aconteceram devido ao método de escolha para remoção dos tecidos. As superfícies das amostras removidas com bisturi apresentam maiores irregularidades em comparação às superfícies das amostras removidas com mucótomo. É possível notar um padrão de superfície comum entre as amostras removidas com bisturi com grande presença de cristas e vales em toda a dimensão das amostras e entre as amostras removidas com mucótomo pode-se observar maior uniformidade em todas as amostras analisadas sendo quase ausentes a presença de cristas e vales com grandes variações.

As imagens abaixo permitem observar a variação topográfica diagonal das amostras analisadas. Ao observar a representação gráfica da topografia no plano diagonal dos tecidos removidos com bisturi, nota-se maior variação destes quando comparados com as representações gráficas da topografia dos tecidos removidos com mucótomo (Figuras 22 a 27).

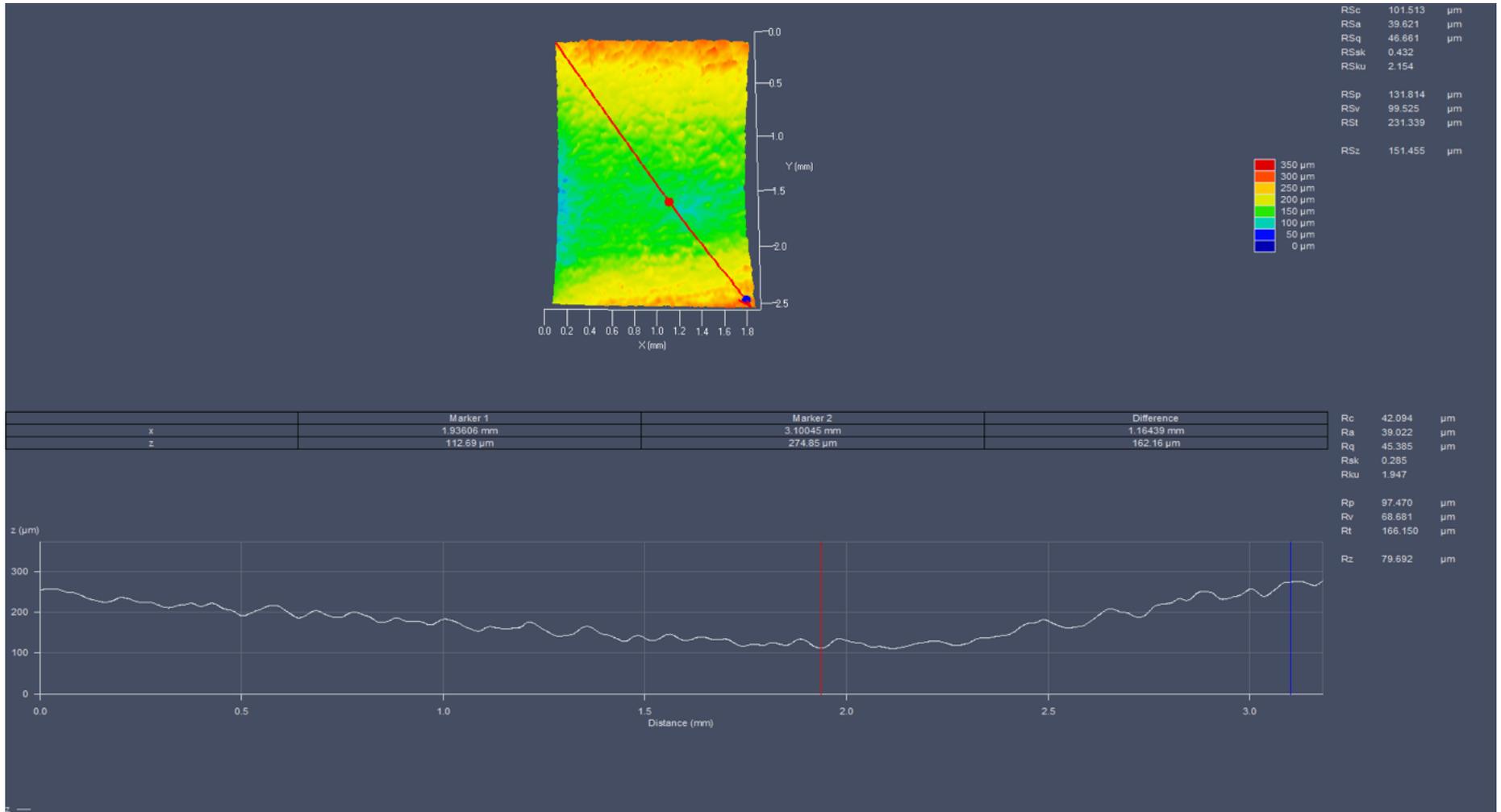


Figura 20- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 1M.

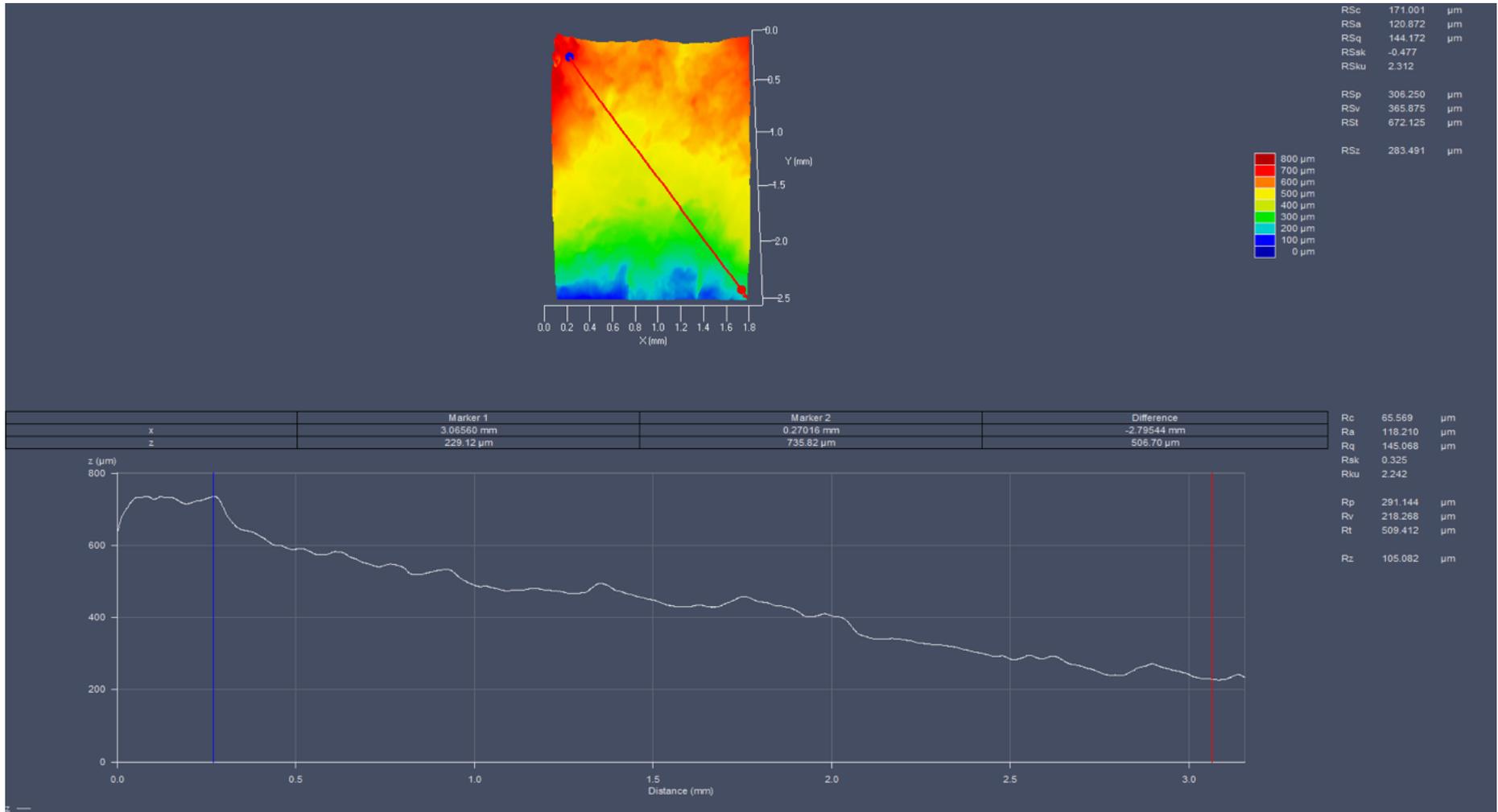


Figura 21 - Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 2M.

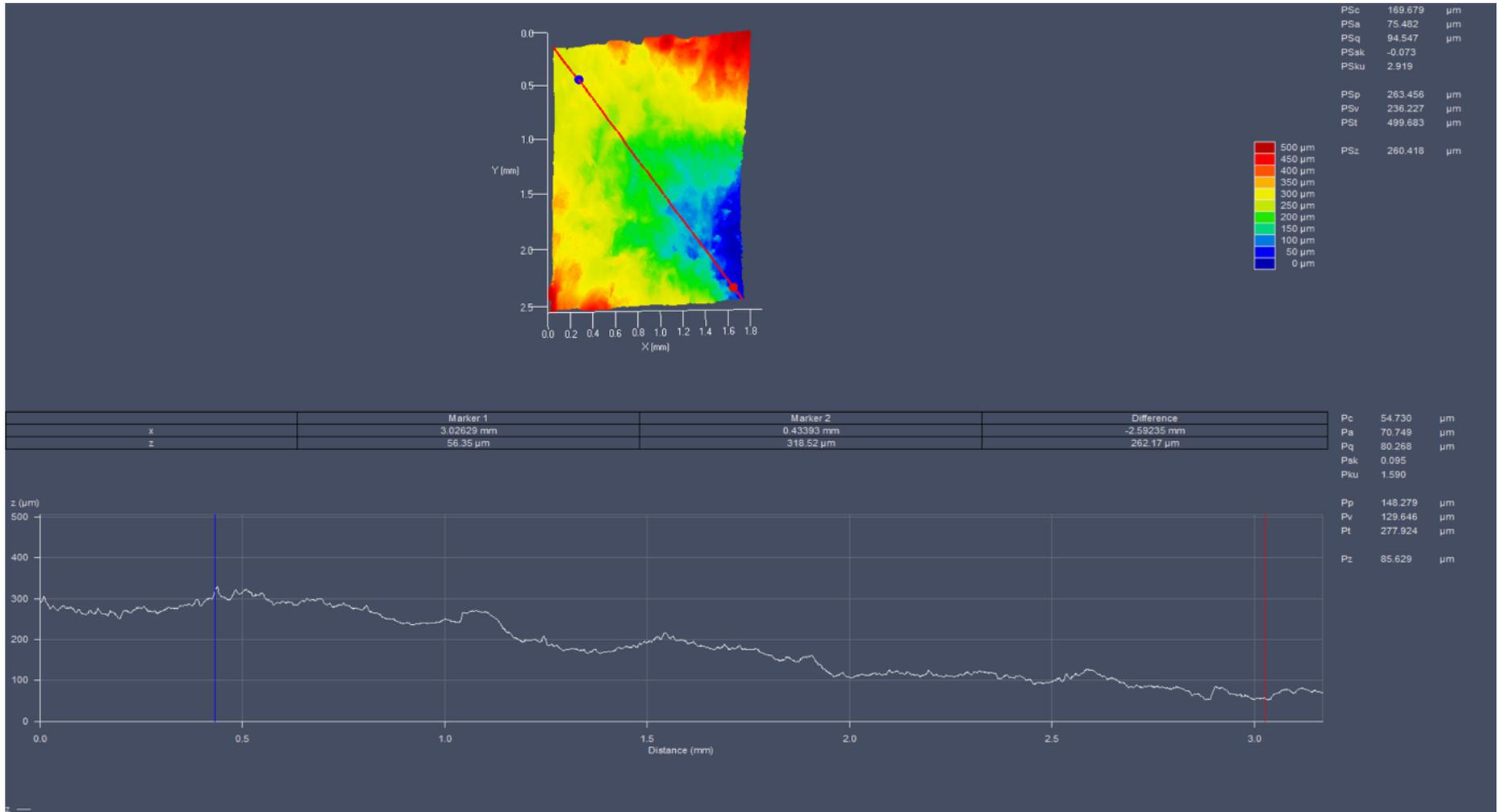


Figura 22 Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 3M.

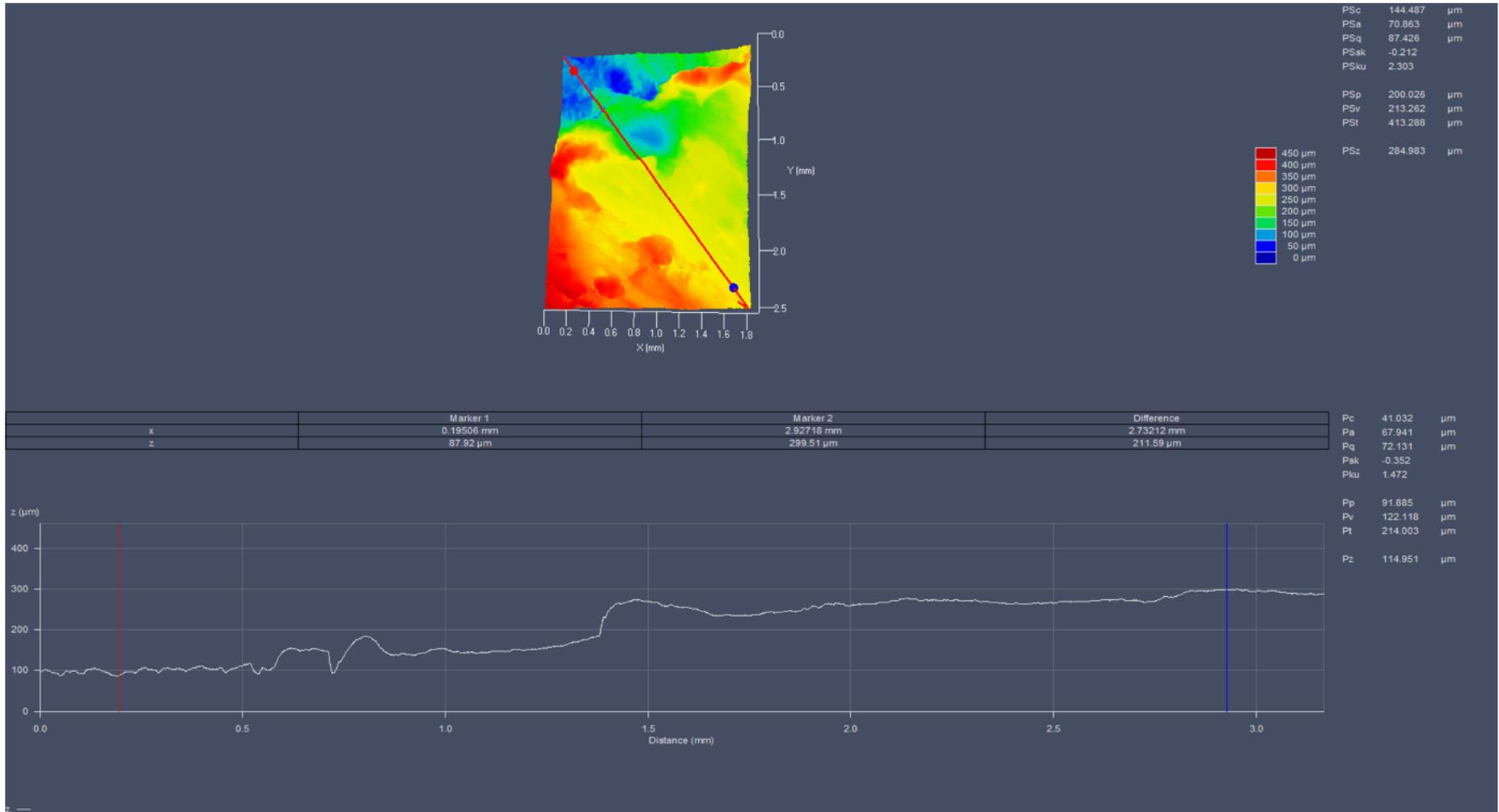


Figura 23- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 1B.

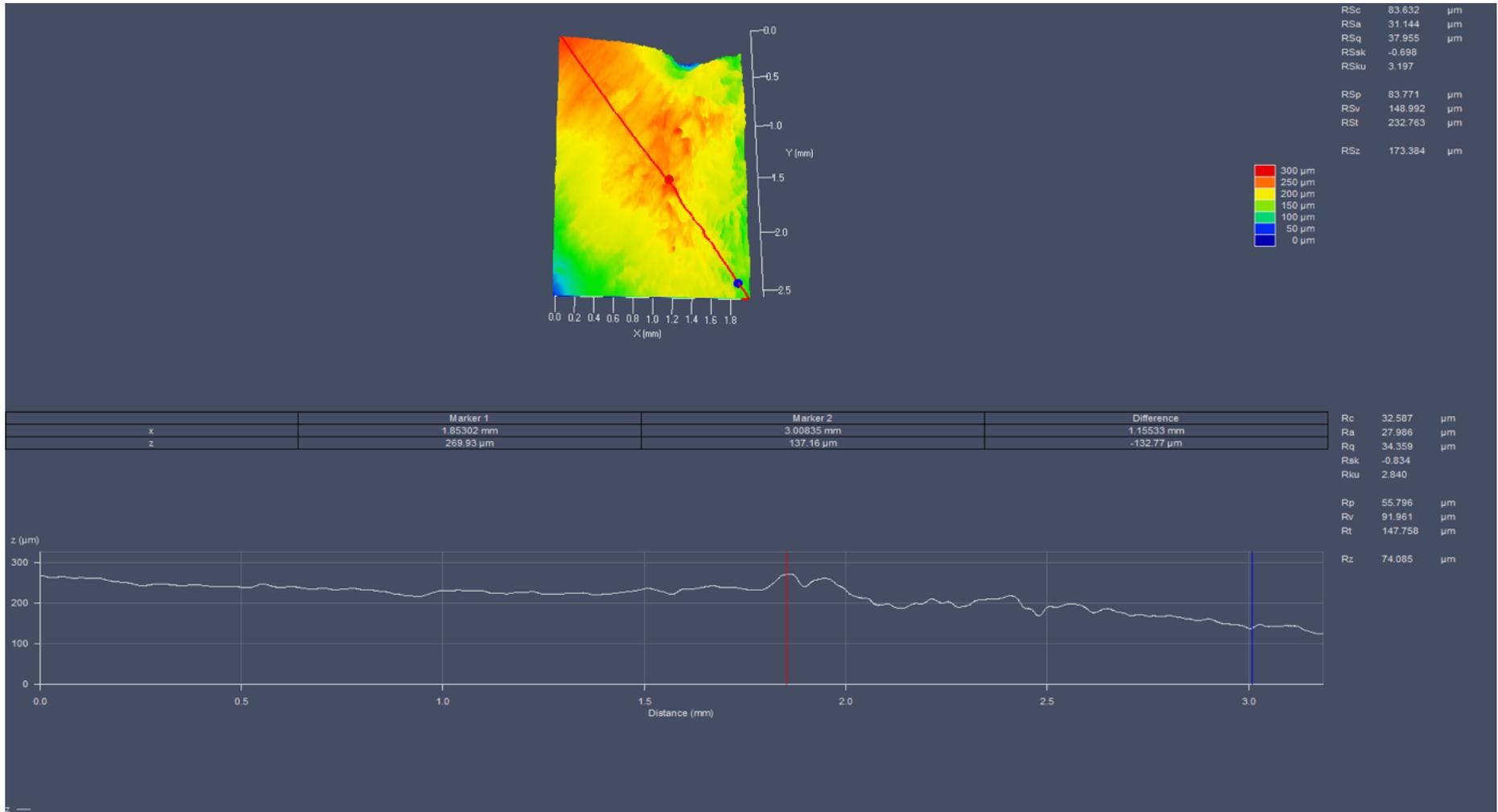


Figura 24- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 2B.

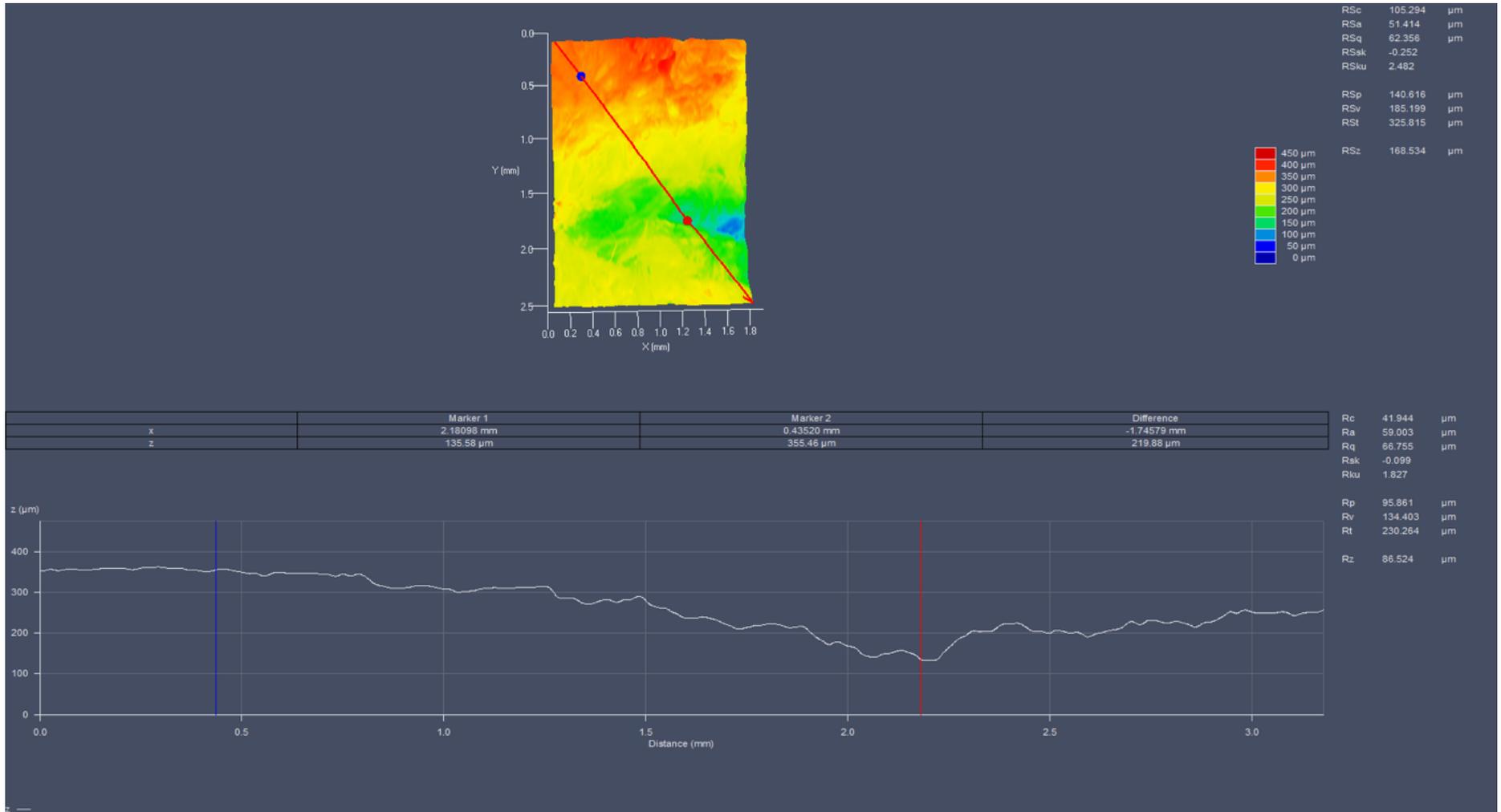


Figura 25- Análise perfilométrica 3D diagonal amostra 3B.

As imagens abaixo permitem observar a variação topográfica horizontal das amostras analisadas. Ao observar a representação gráfica da topografia no plano horizontal dos tecidos removidos com bisturi, nota-se maior variação destes quando comparados com as representações gráficas da topografia dos tecidos removidos com mucótomo (Figuras 28 a 33).

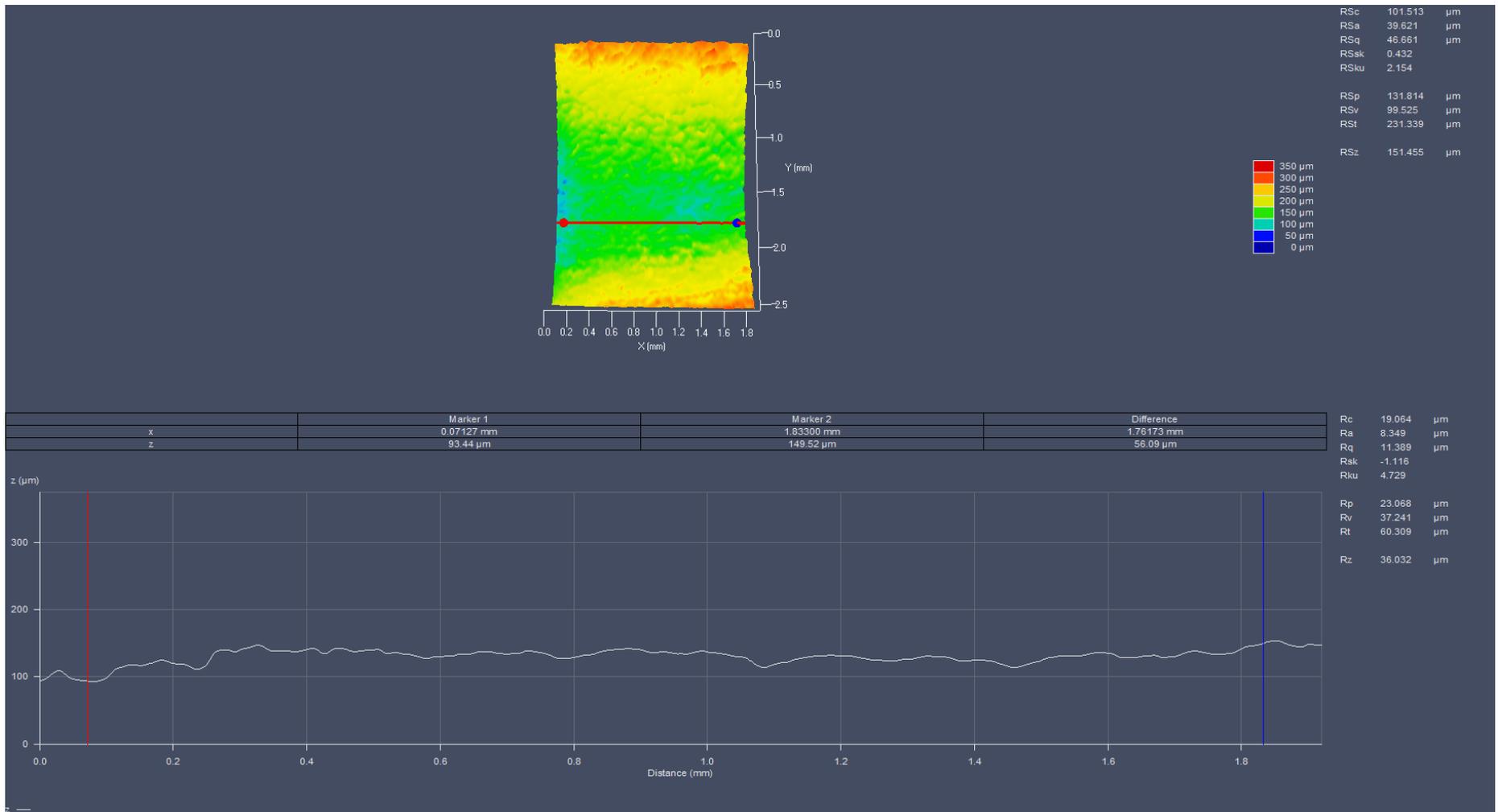


Figura 26 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 1M.

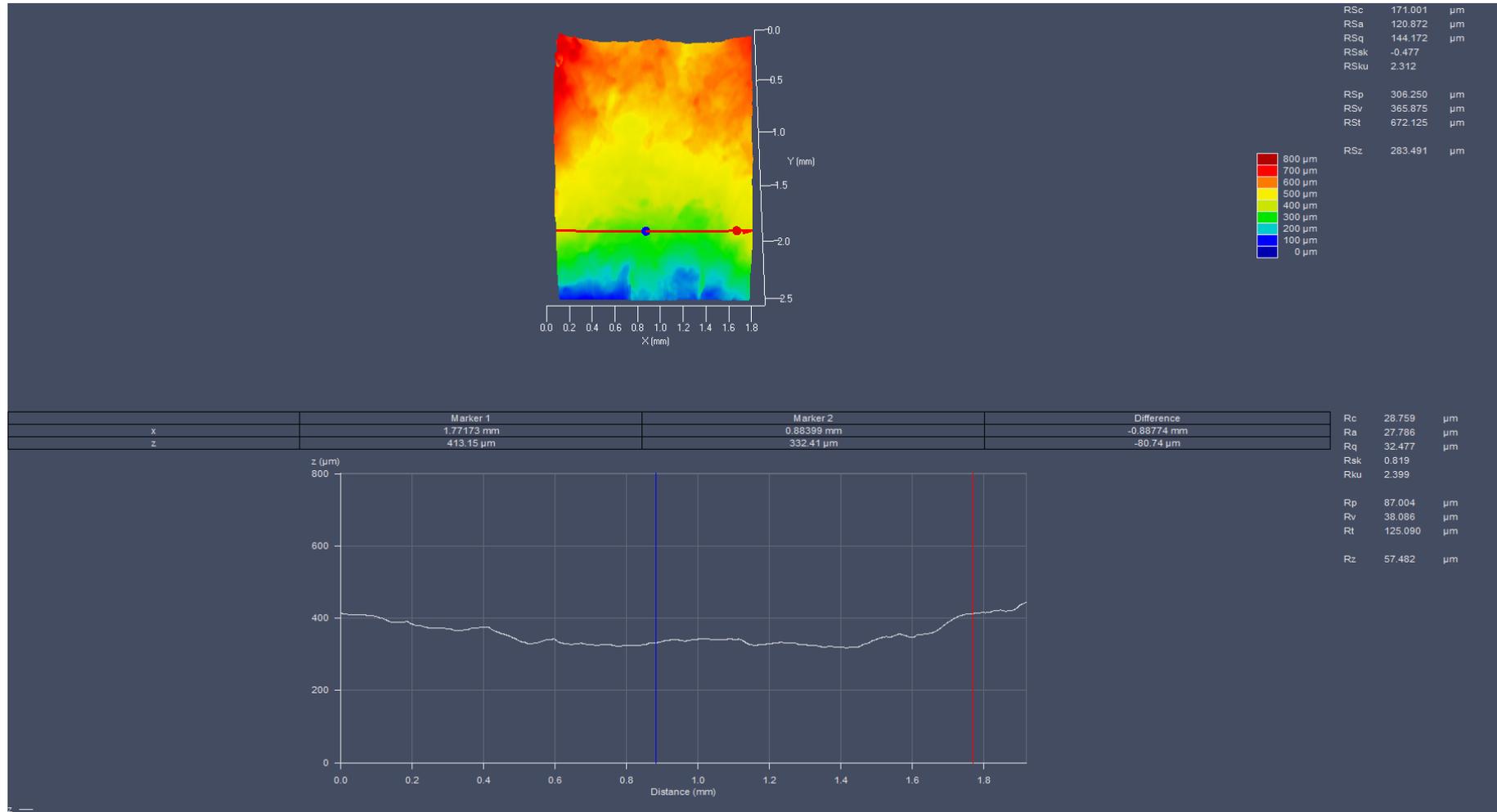


Figura 27 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 2M.

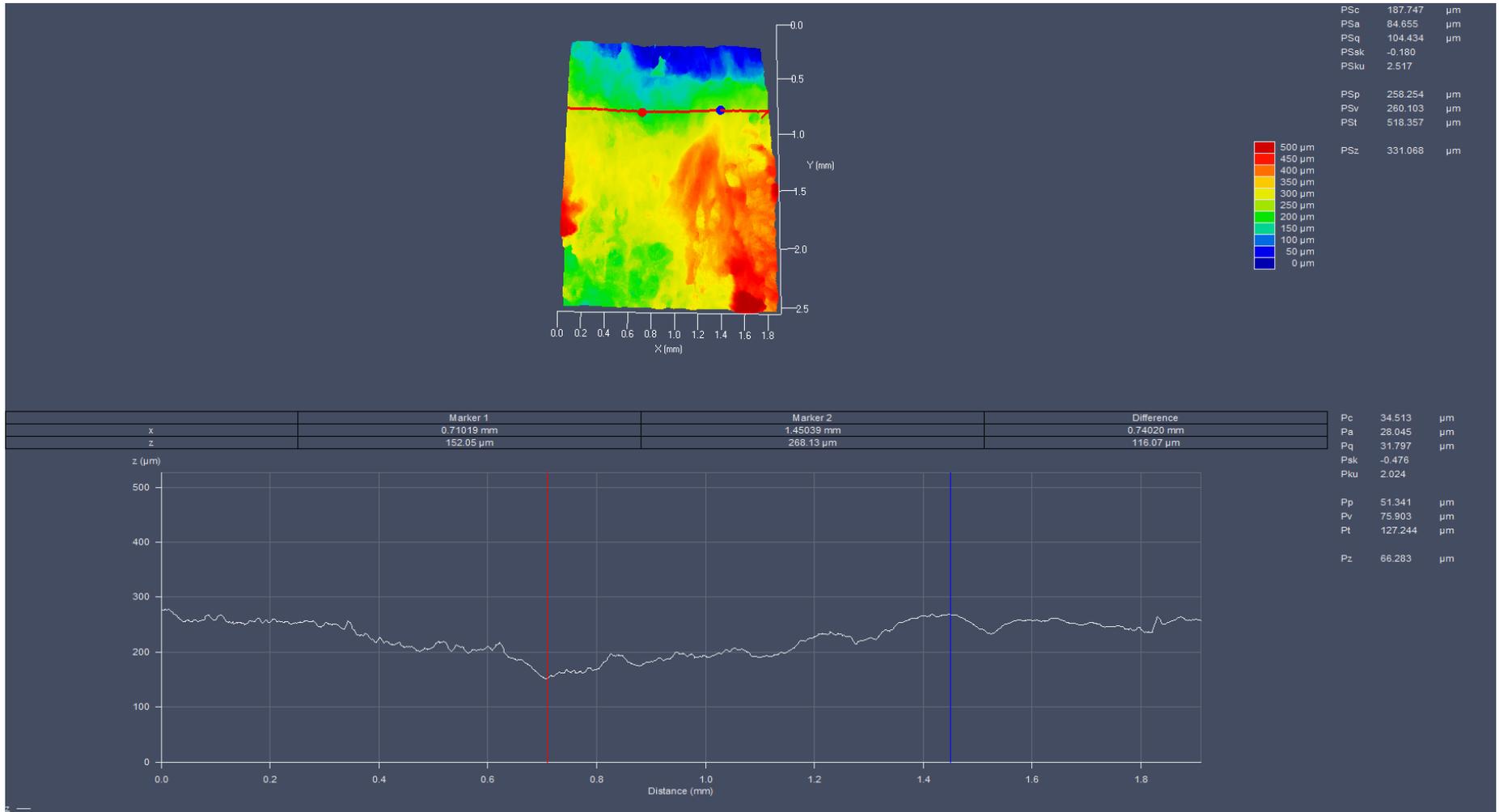


Figura 28 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 3M.

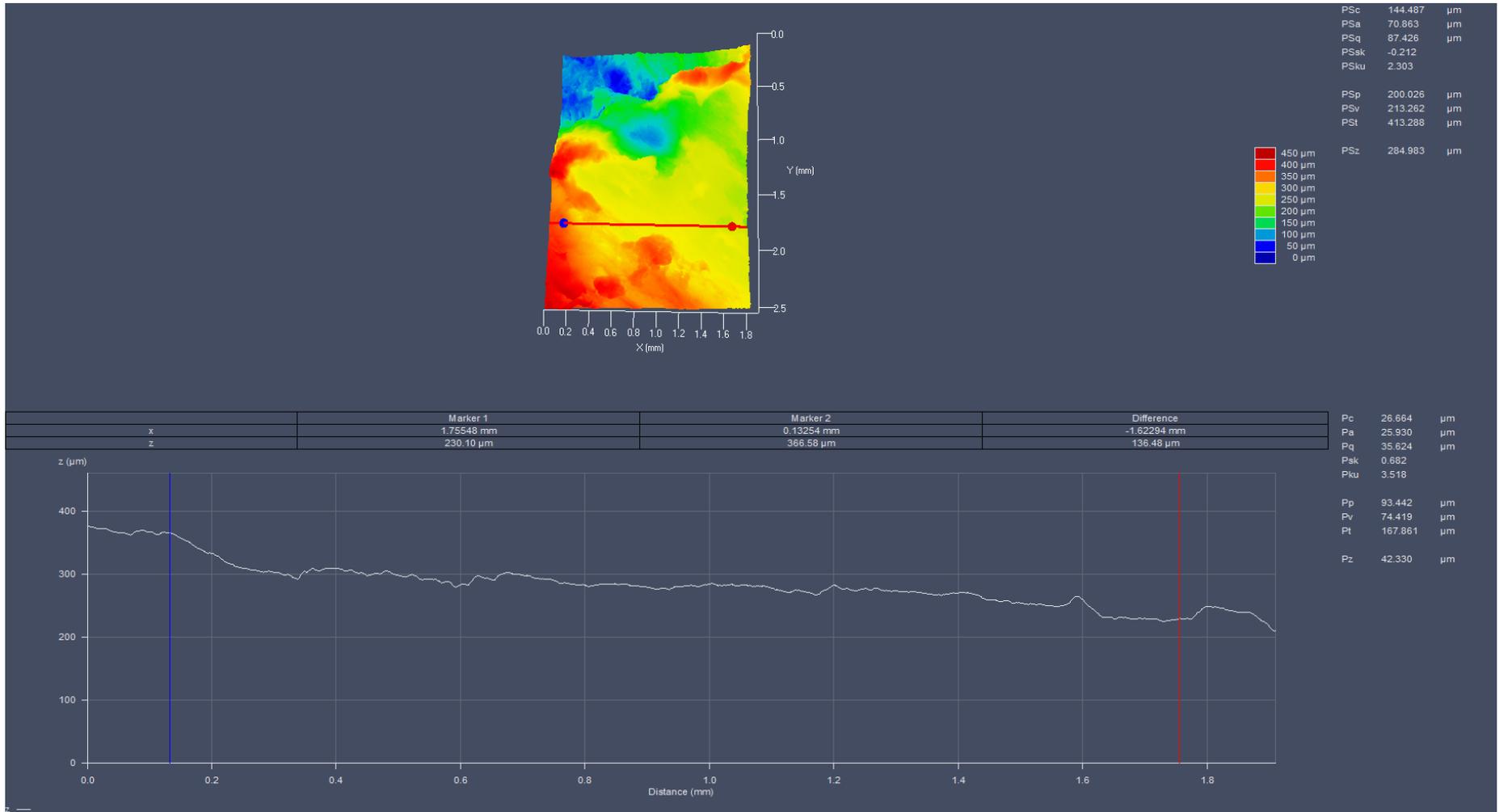


Figura 29 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 1B.

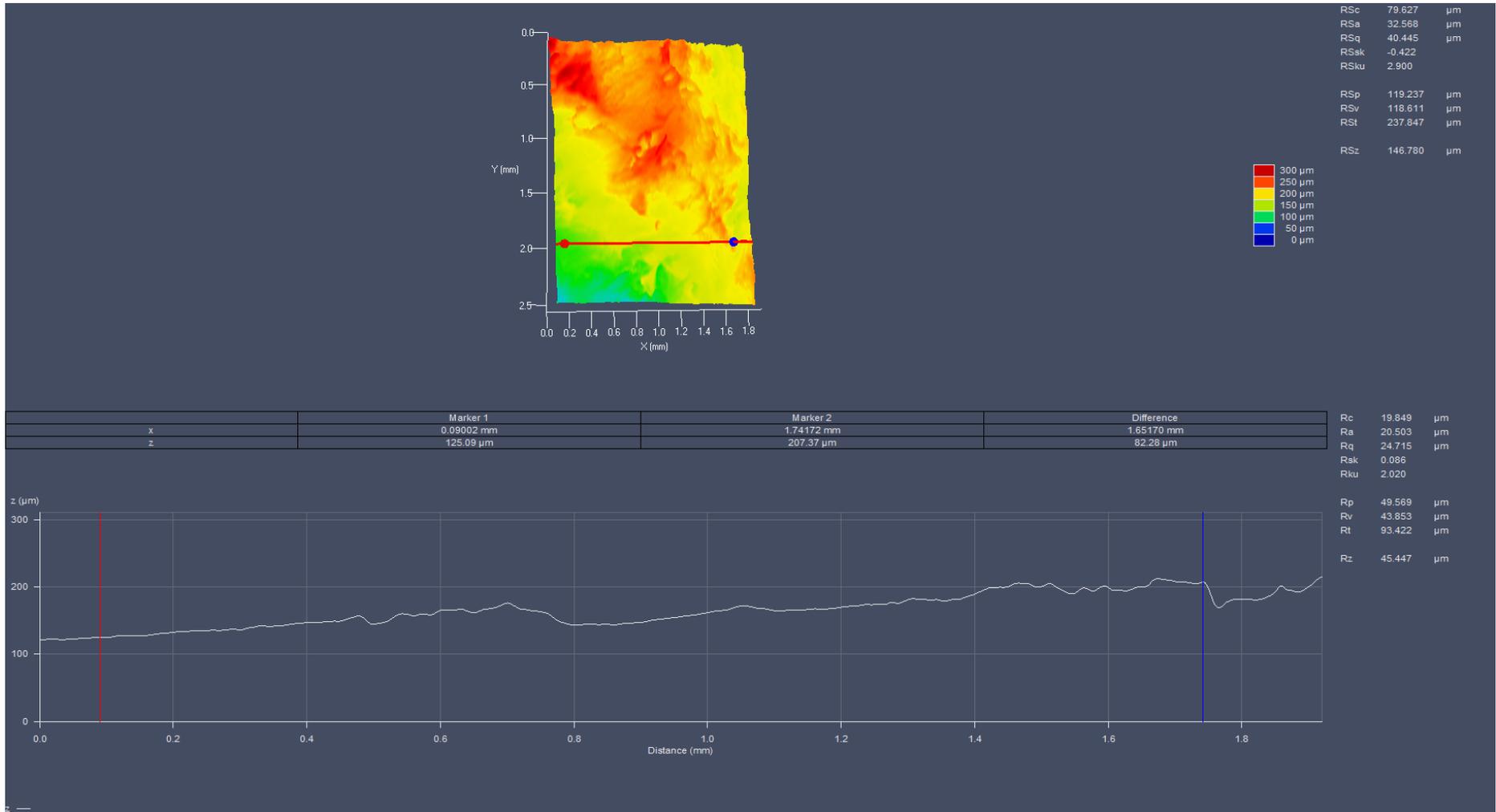


Figura 30 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 2B.

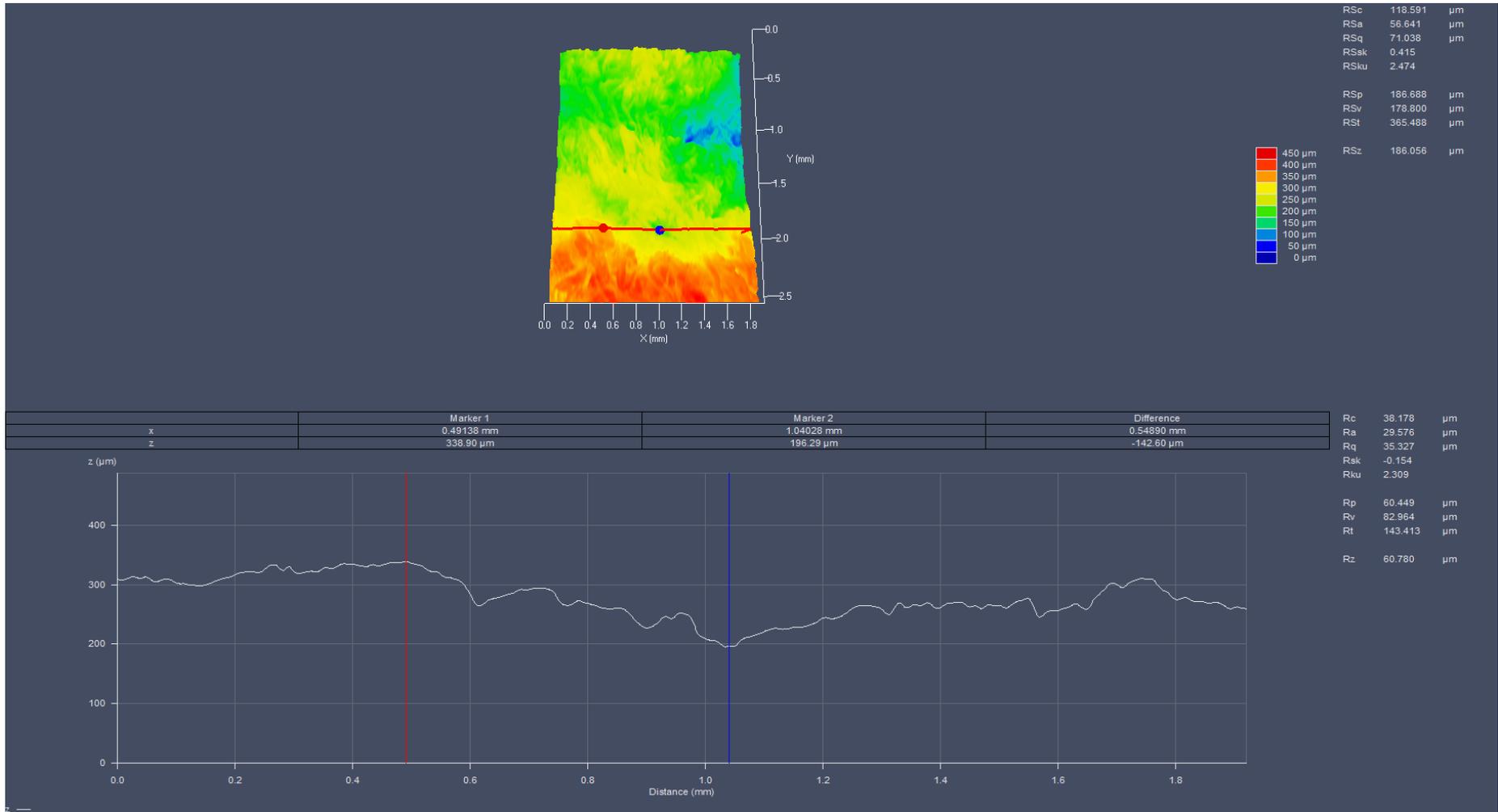


Figura 31 – Análise perfilométrica 3D horizontal amostra 3B.

6 DISCUSSÃO

Os resultados das análises em microscopia óptica e MEV permitem inferir que a técnica de remoção de enxertos utilizando o mucótomo possibilita a remoção de enxertos significativamente mais regulares em comparação à técnica do bisturi convencional. E os tecidos removidos com o mucótomo apresentaram uma superfície menos anfractuosa, mais uniforme e sem a presença de células indesejáveis, como tecido adiposo ou demais células.

De acordo com Maurer *et al.* (2000) deve-se remover a submucosa de tecido adiposo e os tecidos epiteliais completamente, em casos de realização de enxertos de tecido conjuntivo subepiteliais, para que não aconteçam complicações e o organismo possa induzir a formação de um novo tecido queratinizado. No presente estudo foram utilizados EMC e as amostras removidas com bisturi apresentaram presença de tecido adiposo em grandes áreas, enquanto as amostras removidas com mucótomo não apresentaram presença de tecido adiposo. Essa diferenciação é devido aos cortes finos (0,5mm) e uniformes que o mucótomo permite realizar durante a remoção dos enxertos.

Jung *et al.* (2009) realizaram uma revisão sistemática e concluíram que enxertos autógenos aumentam estatisticamente a largura de gengiva inserida. O uso do mucótomo em futuras pesquisas clínicas permitirá avaliar se há aumento de gengiva significativo clinicamente utilizando essa técnica e em comparação a técnica do bisturi.

A técnica de remoção de enxertos gengivais utilizando lâmina de bisturi, apesar de ser utilizada há muitos anos, apresenta limitações em relação a irregularidade da superfície e presença de tecidos indesejados que podem contribuir para o insucesso do enxerto na área receptora (VENTURIM, 2011; HARRIS, 1992; ZUCHELLI *et al.* 2010). Para o desenvolvimento deste estudo buscou-se controlar as variáveis, em relação a remoção e preparo dos espécimes, bem como durante a realização das análises microscópicas. E optou-se por mandíbulas suínas devido a disponibilidade de tecido e maior facilidade para trabalhar com essas peças.

Tarassenko *et al.* (2020) realizou um estudo controlado e randomizado e analisou comparativamente métodos de aumento de tecido queratinizado e concluiu que EGL foi a técnica que demonstrou ser mais efetiva para aumento de tecido queratinizado peri-implantar.. No presente estudo optou-se por manter as amostras de EMC íntegras, da forma como foram removidas das mandíbulas suínas, a fim de não comprometer a qualidade e permitir a realização de análises o mais fidedignas possível. Com isso é possível observar a presença de tecido epitelial em todas as amostras.

Dong, Sullivan e Stout (1994), descrevem que a análise de superfície 3D tem sido muito evidenciada pela indústria e centros acadêmicos, pois representam melhor uma superfície. A topografia de superfície de amostras é frequentemente descrita por perfis bidimensionais (2D), que na maioria dos trabalhos a rugosidade (Ra) refere-se a um perfil ou à média de dois a três perfis (TAGLIARI *et al.*, 2003; MEIRELES *et al.*, 2009; FRAGOSO *et al.*, 2011). Entretanto, de acordo com Hutchings (1992) e Whitehead *et al.* (1999), a perfilometria 3D permite estudos de área sendo capaz de realizar leituras de diversos perfis de uma mesma superfície (Apêndices A, B e C), possibilitando a obtenção de dados com pouquíssimas variações em escala nanométrica. Com base nesses estudos, foi utilizado o Perfilômetro Digital 3D e realizou-se 6 perfis por espécime.

Diferentes métodos são descritos na literatura científica para caracterizar a superfície, de acordo com a sua rugosidade, porém o mais aceito é o que determina o perfil ao longo de uma linha na superfície da amostra em estudo, usando um traçado mecânico e expressando a rugosidade pelas ondulações deste perfil (LEITÃO; HEGDAHL, 1981). Neste estudo os perfis foram traçados em diferentes áreas das amostras e demonstraram uma menor variação nas amostras removidas com o mucótomo.

Dentre as amostras analisadas através da perfilometria 3D, as removidas pela técnica do mucótomo apresentaram rugosidade menor do que as removidas com bisturi. Também pode ser observado menor variação nos gráficos das amostras removidas pela técnica do mucótomo em comparação com a outra técnica o que contribui para a validação da hipótese inicial do estudo.

Ao avaliar os tecidos através da microscopia óptica foi possível reforçar a hipótese de que os tecidos removidos pela técnica do mucótomo apresentam uma maior uniformidade de superfície, melhor qualidade tecidual do espécime, em

comparação com os tecidos removidos pela técnica convencional que demonstraram presença de células indesejáveis e maiores irregularidades. Contudo, pode ser observada a presença de células ósseas associadas aos tecidos removidos com o mucótomo. Isso pode ter ocorrido devido a pressão empregada com o mucótomo sobre a mandíbula e pelo fenótipo delgado que as mandíbulas suínas apresentam.

Sugere-se que a remoção desses enxertos pode ser realizada com o uso do mucótomo a fim de se obter enxertos mais finos, com superfície regular e com menor chance de presença de células indesejáveis, garantindo um processo cicatricial mais favorável e conseqüentemente maior sucesso nos procedimentos cirúrgicos.

Indivíduos com um fenótipo gengival fino e uma estreita faixa de tecido queratinizado são propensos ao desenvolvimento de recessão gengival (FISCHER *et al.*, 2018). A fim de corrigir esses defeitos, Adam *et al.* (2019), retirou enxertos de tecido conjuntivo utilizando mucótomo e obteve enxertos uniformes com espessuras entre 1 e 1,5 mm devido a técnica de remoção no leito doador e demonstrou sucesso na cicatrização e recobrimento do leito receptor. Isso corrobora com os resultados do presente estudo, demonstrando que a remoção de enxertos utilizando o mucótomo pode ser mais vantajosa em comparação com a técnica convencional.

Ao analisar as imagens de microscopia óptica e MEV é possível notar convergência dos resultados favoráveis aos tecidos removidos com mucótomo. Essa técnica demonstrou ser vantajosa por minimizar as falhas, apresentar menor dependência de experiência e habilidade do operador, por apresentar maior precisão, padronização, previsibilidade e praticidade durante a remoção dos enxertos. Sendo assim os pacientes têm a oportunidade de sentirem-se mais seguros ao optar por essa técnica e possivelmente apresentarão um pós-operatório mais favorável.

Além de permitir cortes mais regulares em comparação a técnica do bisturi convencional uma outra vantagem do refinamento da técnica através da utilização do mucótomo é a capacidade de remoção de tecidos de 1 a 2 mm de espessura mais finos em comparação aos enxertos removidos pela técnica convencional com bisturi manual (GUNNAY *et al.* 2008). Enxertos mais finos conseguem sobreviver por mais tempo sem suprimento sanguíneo até que ocorra a neovascularização e conseqüentemente integração e cicatrização da área receptora garantindo maiores chances de sucesso do procedimento cirúrgico. (MÖRMANN, SCHAERT, FIRESTONE, 1981).

Além disso, o mucótomo apresenta-se como um equipamento que oferece uma nova forma de remoção de enxertos com maior facilidade durante a execução e maior previsibilidade no trans e pós cirúrgico. (GUNNAY *et al.* 2008; MÖRMANN, SCHAER, 1977; ADAM *et al.*, 2019).

Prestin *et al.* (2012) realizaram um trabalho de mensuração dos tecidos da cavidade oral e encontrou que o epitélio do palato duro possui em média 239 μm . Essa é habitualmente a região de eleição para remoção de enxertos de tecido mole em humanos. No presente estudo pode-se observar que as mandíbulas suínas apresentam tecidos delgados que podem dificultar a sua remoção e essa é uma possível limitação deste estudo. Entretanto, ao utilizar esses tecidos obtivemos resultados favoráveis com o mucótomo e esse demonstrou ser superior a técnica convencional. Portanto, pode-se inferir que ao realizar a remoção de EMC em tecidos humanos, que são geralmente mais espessos, as chances de sucesso são ainda maiores e vantajosas, além de apresentar maior facilidade de remoção em relação a técnica do bisturi. Outras possíveis limitações são em relação ao custo do mucótomo, a vibração, o ruído que esse aparelho causa e a não possibilidade de ajustar a espessura de remoção dos enxertos, a fim de se personalizar para cada caso.

O presente estudo teve o intuito de servir como pesquisa preliminar à realização de futuras pesquisas clínicas que possam comparar as técnicas de remoção de enxertos e avaliar as suas vantagens e limitações. Além disso, pesquisas futuras poderão avaliar a cicatrização das regiões doadoras e receptoras do enxerto e a sensibilidade a dor pós-operatória. Os resultados são promissores e corroboram com o conhecimento científico e prática clínica.

7 CONCLUSÃO

EMC quando removidos pela técnica do mucótomo apresentam maior uniformidade e menor presença de células indesejáveis em comparação com a técnica do bisturi.

A remoção de EMC pode ser realizada com o uso do mucótomo a fim de se obter enxertos mais finos e uniformes favorecendo maior chance de sucesso nos procedimentos cirúrgicos de enxerto de tecido mole.

São necessários estudos clínicos bem delineados para comparar as duas técnicas de remoção de EMC em tecidos humanos, se há relevância clínica para o uso do mucótomo e variação da taxa de sucesso entre duas técnicas.

8 REFERÊNCIAS

ADAM, K.; STAUFENBIEL, I.; GEURTSSEN, W.; GÜNAY, H. Root coverage using a connective tissue graft with epithelial striation in combination with enamel matrix derivatives - a long-term retrospective clinical interventional study. **BMC Oral Health**, v. 19, n. 148, 2019.

BRUNO, J.F. Connective tissue graft technique assuring wide root coverage. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.14, n.2, p.127-37, 1994.

BASSETTI, R.G.; STÄHLI, A.; BASSETTI, M.A.; SCULEAN, A. Soft tissue augmentation around osseointegrated and uncovered dental implants: a systematic review. **Clin Oral Investig**, v.21 n.1, p.53-70, 2017.

CARVALHO, P. S. P.; ROSA, A. L.; BASSI, A. P. F.; PEREIRA, L. A. V. D. Biomateriais aplicados a implantodontia. **ImplantNews**, v.7, n.3, p.56-65. 2010.

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**, v.41, n.15, p.44-62, 2014.

CHUNG, D.M., OH, T.J.; SHOTWELL, J.L.; MISCH, C.E.; WANG, H.L. Significance of Keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. **J Periodontol**, v.77, p.1410-1420, 2006.

CORTELLINI, P.; TONETTI, M.; PRATO, G.P.; The partly epithelialized free gingival graft (pe-fgg) at lower incisors. A pilot study with implications for alignment of the mucogingival junction . **J Clin Periodontol**, v.39, n.7, p.674-80, 2012.

CUMMINGS, L.C.; KALDAHL, W.B.; ALLEN, E.P. Histologic evaluation of autogenous connective tissue and acellular dermal matrix grafts in humans. **J Periodontol**, v.76, n.2, p.178–186, 2005.

DONG, W. P.; SULLIVAN, P. J.; STOUT, K. J. Comprehensive study of parameters for characterising three- dimensional surface topography: III: Parameters for characterising amplitude and some functional properties. **Lausanne**, v.178, n. 1/2, p. 29-43, 1994.

DUARTE, C.A.; DE CASTRO, M.V.M. Subepithelial gingival graft: a modified technique from free gingival graft-case series. **Braz J Periodontol**, v. 21, n. 2, p.45-8, 2011.

EDEL, A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. **Periodontal Clin Investig**, v.20, p.2-20, 1998.

EGLI, U.; VOLLMER, M.H. RATEITSCHAK, K.H. Follow-up studies of free gingival grafts. **J Clin Periodontol**, v.2, n.2, p.98-104, 1975.

FRAGOSO, L. S. M. *et al.* Evaluation of physical properties of enamel after microabrasion, polishing, and storage in artificial saliva. **Biomedical Materials**, Bristol, v. 6, n. 3, p. 035001, 2011.

FISCHER, K.R.; KÜNZLBERGER, A.; DONOS, N.; FICKL, S.; FRIEDMANN, A. Gingival biotype revisited-novel classification and assessment tool. **Clin Oral Investig**, v.22, n.1, p.443–8, 2018.

GARCIA, R.V.; KRAEHENMANN, M.A.; BEZERRA, F.J.; MENDES, C.M.; RAPP, G.E. Clinical analysis of the soft tissue integration of non-submerged (ITI) and submerged (3i) implants: a prospective-controlled cohort study. **Clin Oral Implants Res**, v.19, p.991-6, 2008.

GÜNAY, H.; DOGAN, S.; GEURTSSEN, W. Harvesting Technique Using a Mucotome and Modified Surgical Procedure for Root Coverage with Enamel Matrix Derivatives With and Without a Connective Tissue Graft. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v.28, n. 5, p. 497-507, 2008.

HARRIS, R.J. The connective tissue and partial thickness double pedicle graft: a predictable method of obtaining root coverage. **J Periodontol**, v.63, n.5, p.477-86, 1992.

HUTCHINGS, I. M. Tribology: friction and wear of engineering materials. **Oxford: Butterworth Heinemann**, 1992.

KERNER, S.; SARFATI, A.; KATSAHIAN, S.; JAUMET, V.; MICHEU, C.; MORA, F.; MONNET-CORTI, V.; BOUCHARD, P. Qualitative cosmetic evaluation after root-coverage procedures. **J Periodontol**, v.80, n.1, p.41-7, 2009.

LANGER, L. Enhancing cosmetics through regenerative periodontal procedures. **Compendium**, v.15, n.18, p.5699-705, 1994.

LANGER, B.; LANGER, L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. **J Periodontol**, v.56, p.715-720, 1985.

LEITÃO, J.; HEGDAHL, T. On the measuring of roughness. **Acta Odontologica Scandinavica**, Oslo, v.39, n.6, p.379-384, dez. 1981.

MAURER S, HAYES C, LEONE C. Width of keratinized tissue after gingivoplasty of healed subepithelial connective tissues grafts. **J Periodontol**, v.71, n.11, p.1729–1736, 2000.

MEIRELESS, S. S. *et al.* Surface roughness and enamel loss with two microabrasion techniques. **Journal of Contemporary Dental Practice**, Cincinnati, v.10, n. 1, p. 58-65, 2009.

MISCH, C. E. Maxillary sinus augmentation for endosteal implants: organized alternative treatment plans. International. **Journal of Oral Implantology**, v.4, n.2, p.49–58. 1987.

MÖRMANN, W.; SCHAER, F.P. Orale Schleimhauttransplantation mit dem Mucotom [Transplantation of oral mucosa using a mucotome]. **SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd**, v.87, n.8, p.656-66, 1977.

MÖRMANN, W.; SCHAERT, F.; FIRESTONE, A. The Relationship Between Success of Free Gingival Grafts and Transplant Thickness - Revascularization and Shrinkage—A One Year Clinical Study. **Journal Periodontology**, v.52, n.2, 1981.

NOUVAG, A.G. Mucotome operating instructions. Ref. 31681, V47, 2016.

PARK, J.C.; YANG, K.B.; CHOI, Y.; KIM, Y.T.; JUNG, U.W.; KIM, C.S., *et al.* A simple approach to preserve keratinized mucosa around implants using a pre-fabricated implant-retained stent: a report of two cases. **J Periodontal Implant Sci**, v.40, n.194-200, 2010.

PENNEL, B.M.; TABOR, J.C.; KING, K.O.; TOWNER, J.D.; FRITZ, B.D.; HIGASSON, J.D. Free masticatory mucosa graft. **J Periodontol**, v. 40, n. 3, p.162-166, 1969.

PRESTIN, S.; ROTHSCHILD, S.I.; BETZ, C.S.; RAFT, M. Measurement of epithelial thickness within the oral cavity using optical coherence tomography. **Wiley Online Library**, p.1-5, 2012.

RATEITSCHAK, K.H.; EGLI, U.; FRINGELI, G. Recession: A 4-yearlongitudinal study after free gingival grafts. **J Clin Periodontol**, v.6, n.3, p. 158-64, 1979.

SAITO, S. K.; LOVADINO, J. R.; KROLL, L. B. Rugosidade e pigmentação superficial de materiais ioméricos. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.14, n.4, p.351-356, 2000.

SOEHREN, H. Management of gingival recession and root exposure problems associates with periodontal disease. **Dent Clin North Am**, v.111, 1964.

STUDER, S.P.; LEHNER, C.; BUCHER, A.; SCHAFFNER, P. Soft tissue correction of a single-tooth pontic space: A comparative quantitative volume assessment. **J Prosthet Dent**, v.83, p.402-411, 2000.

TAGLIARI, D. *et al.* Análise da rugosidade do esmalte bovino submetido à microabrasão com diferentes materiais. **JBD: Revista Ibero-Americana de Odontologia Estética & Dentística Operatória**, Curitiba, v.2, n. 8, p. 337-346, out./dez. 2003.

TARASENKO, A.; ASHURKO, I.; TASCHIERI, S.; REPINA, S.; ESAYAN, A.; CORBELLA, S. Comparative analysis of methods to increase the amount of keratinized mucosa before stage-two surgery: a randomized controlled study. **Quintessence International Journal**, v. 51, n. 5, 2020.

THOMA, D.S.; NAENNI, N.; FIGUERO, E. *et al.* Effects of soft tissue augmentation procedures on peri-implant health or disease: A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Implants Res**, v.29, n.15, p.32-49, 2018.

VENTURIM, R.T.Z.; JOLY, J.C.; VENTURIM, L.R. Técnicas cirúrgicas de enxerto de tecido conjuntivo para o tratamento da recessão gengival. **Revista Gaúcha de Odontol.(Online)**, Porto Alegre, v.59, n.1, p.147-152, Jan/Jun, 2011.

WARD, V.J. A clinical assessment of the use of the free gingival graft for correcting localized recession associated with frenal pull. **J Periodontol**. V. 45, n.2, p.78-83, 1974.

WEI, P.C.; LAURELL, L.; GEIVELIS, M.; LINGEN, M.W.; MADDALOZZO, . Acellular Dermal Matrix Allografts to Achieve Increased Attached Gingiva. Part 1. A Clinical Study. **J Periodontol**, v.71, n.8, p.1297-305, 2000.

WESSEL, J.R.; TATAKIS, D.N. Patient outcomes following subepithelial connective tissue graft and free gingival graft procedures. **J Periodontol**, v.79, n.3, p 425-30, 2008.

WHITEHEAD, S. A. *et al.* Comparison of two stylus methods for measuring surface texture. **Dental Materials**, Washington, v. 15, n. 2, p. 79-86, mar. 1999.

WU, Q.; QU, Y.; GONG, P.; WANG, T.; GONG, T.; MAN, Y. Evaluation of the efficacy of keratinized mucosa augmentation techniques around dental implants: a systematic review. **J Prosthet Dent**, v.113, n.5, p.383-390, 2015.

WYREBEK, B.; GÓRSKI, B.; GÓRSKA, R. Patient morbidity at the palatal donor site depending on gingival graft dimension. **Dent Med Probl**. V. 55, n.2, p. 153-9, 2018.

XAVIER, H.S.; SANGLARD, L.F.; SILVA, F.J.; BALDI, M.P.; RABELO, N.S. Análise perfilométrica digital 3d da rugosidade superficial do esmalte bovino microabrasionado por diferentes pontas. **Revista científica Faesa**, v.8, n.1, p.7-15, 2012.

YUKNA, R.A.; TOW, H.D.; CARROLL, P.B.; VERNINO, A.R.; BRIGHT, R.W. Comparative clinical evaluation of freeze-dried skin allografts and autogenous gingival grafts in humans. **J Periodontol**. V.4, n.3, p.153-9, 1977.

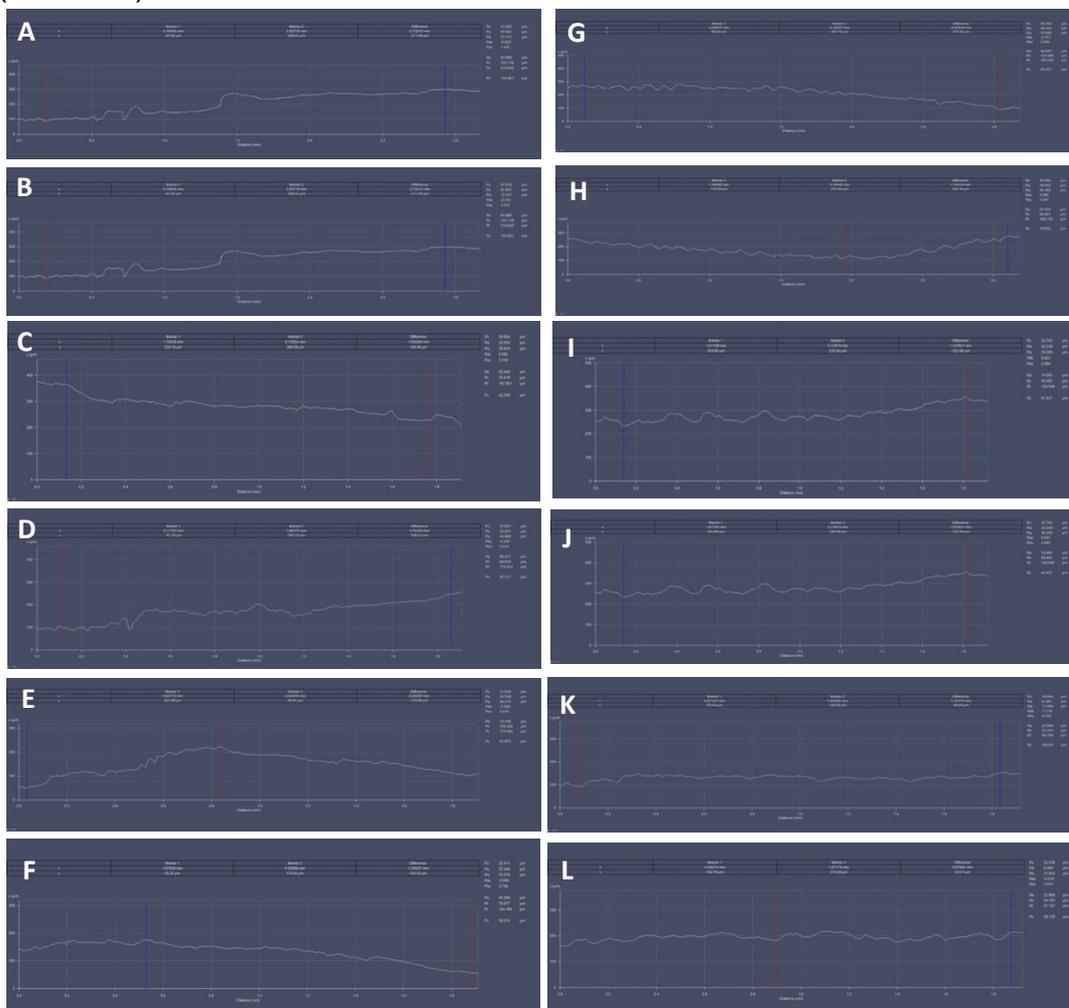
ZUCHELLI, G.; MELE, M.; STEFANINI, M. *et al.* Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v.37, p.728-38, august, 2010.

ZUCHELLI, G.; MOUNSSIF, I.; MAZZOTTI, C.; MONTEBUGNOLI, L.; SANGIORGI, M.; MELE, M.; STEFANINI, M. Does the dimension of the influence patient morbidity and root coverage outcomes? A randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**. V. 41, p.707-16, 2014.

ZUCHELLI, G.; TAVELLI, L.; MCGUIRE, M.K.; RASPERINI, G.; FEINBERG, S.E.; WANG, H.L.; GIANNOBILE, W.V. Autogenous soft tissue grafting for periodontal and peri-implant plastic surgical reconstruction. **J Periodontol**. V.91, n.1, p. 9-16, 2020.

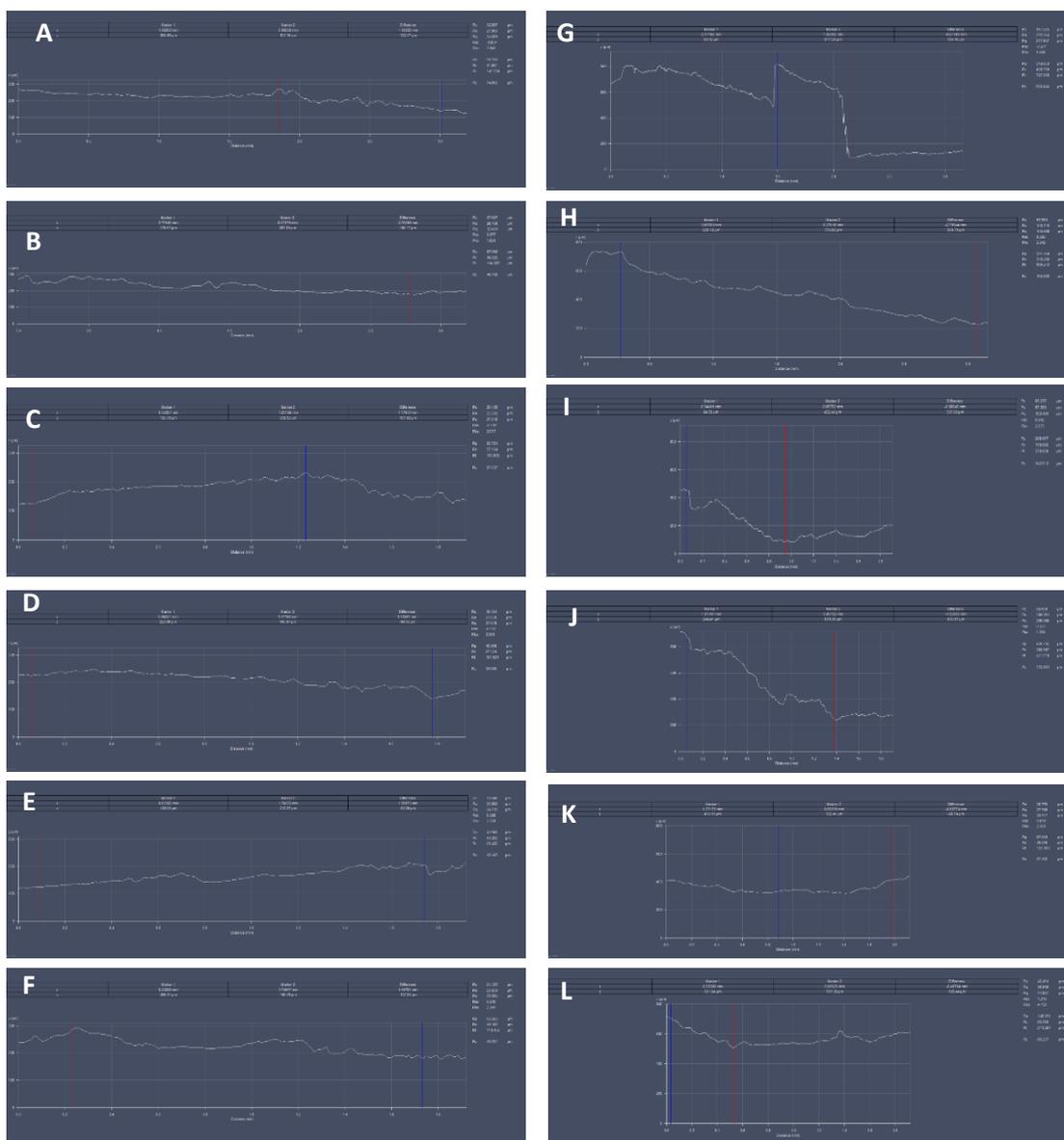
9 APÊNDICES

APÊNDICE A – LEITURA DAS ÁREAS 1 E 2 DA AMOSTRA 1B (ESQUERDA) E 1M (DIREITA) NO PERFILÔMETRO DIGITAL 3D.



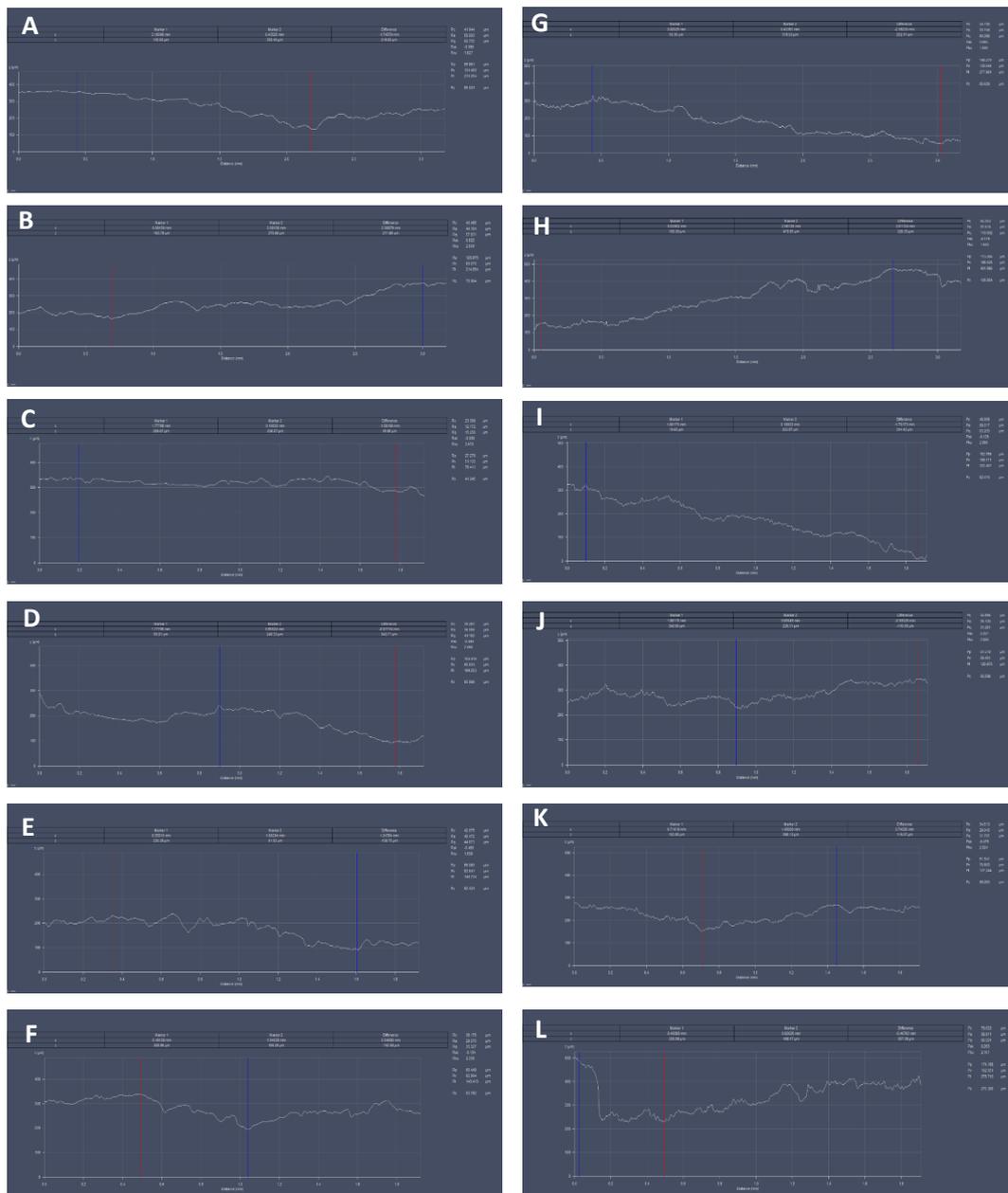
Leitura da rugosidade (R_a), em μm , dos 6 perfis das amostras removidas com bisturi (A, B, C, D, E, F) e das amostras removidas com mucótomo (G, H, I, J, K, L).

APÊNDICE B – LEITURA DAS ÁREAS 1 E 2 DA AMOSTRA 2B (ESQUERDA) E 2M (DIREITA) NO PERFILÔMETRO DIGITAL 3D.



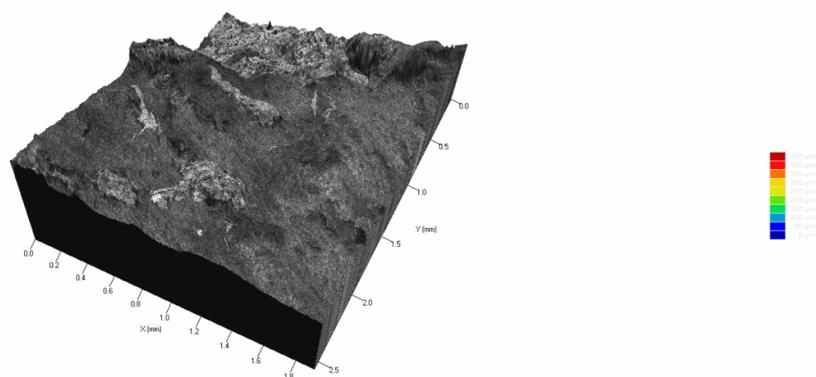
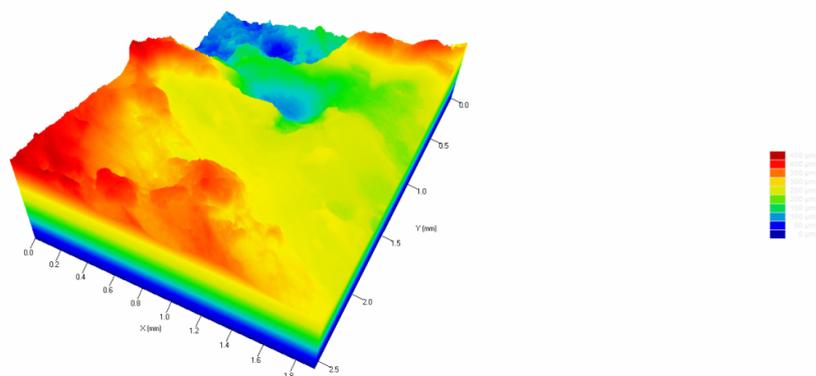
Leitura da rugosidade (R_a), em μm , dos 6 perfis das amostras 2B e 2M removidas com bisturi (A, B, C, D, E, F) e das amostras removidas com mucótomo (G, H, I, J, K, L).

APÊNDICE C – LEITURA DAS ÁREAS 1 E 2 DA AMOSTRAS 3B (ESQUERDA) E 3M (DIREITA) NO PERFILÔMETRO DIGITAL 3D.

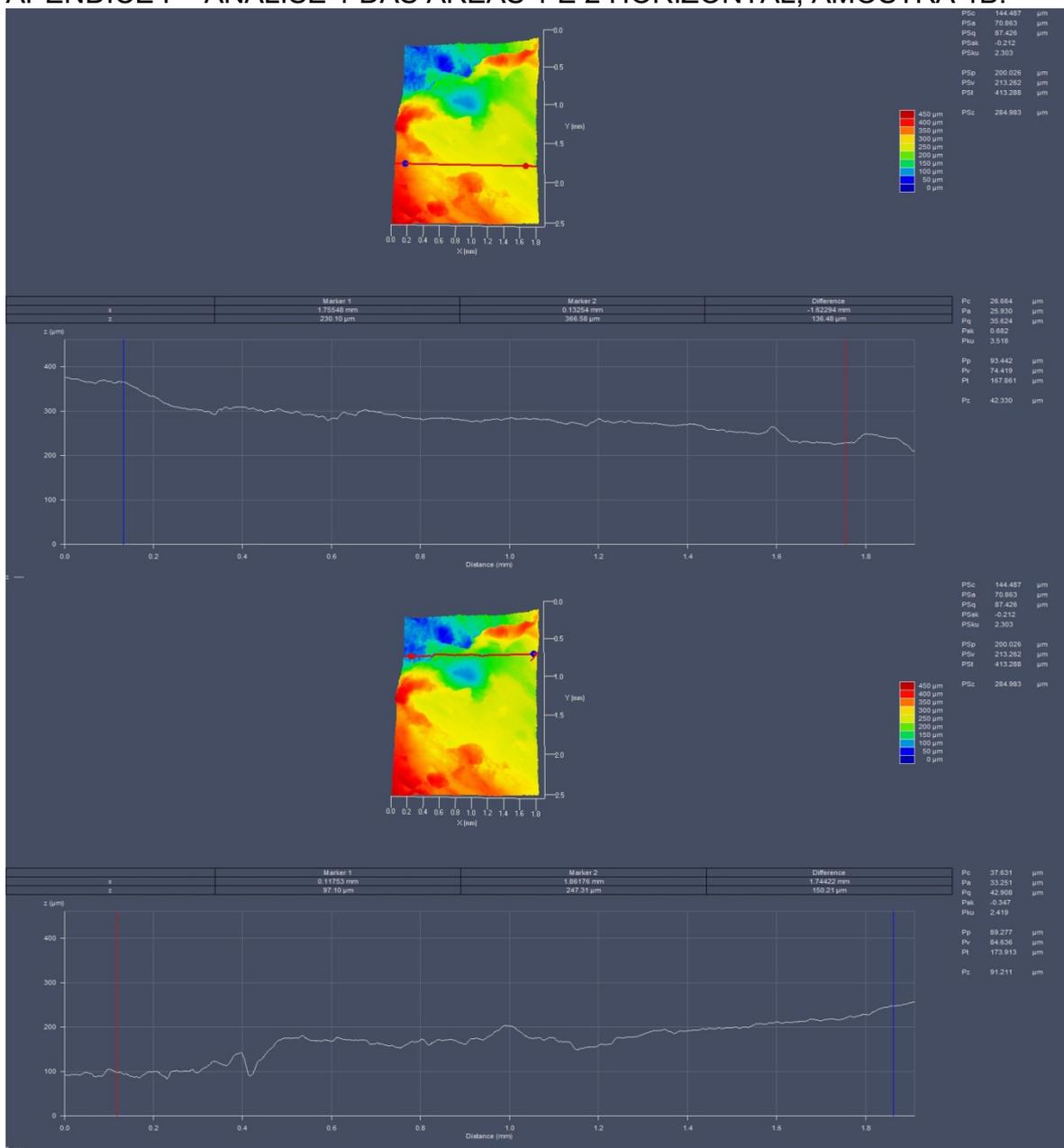


Leitura da rugosidade (R_a), em μm , dos 6 perfis das amostras 3B e 3M removidas com bisturi (A, B, C, D, E, F) e das amostras removidas com mucótomo (G, H, I, J, K, L).

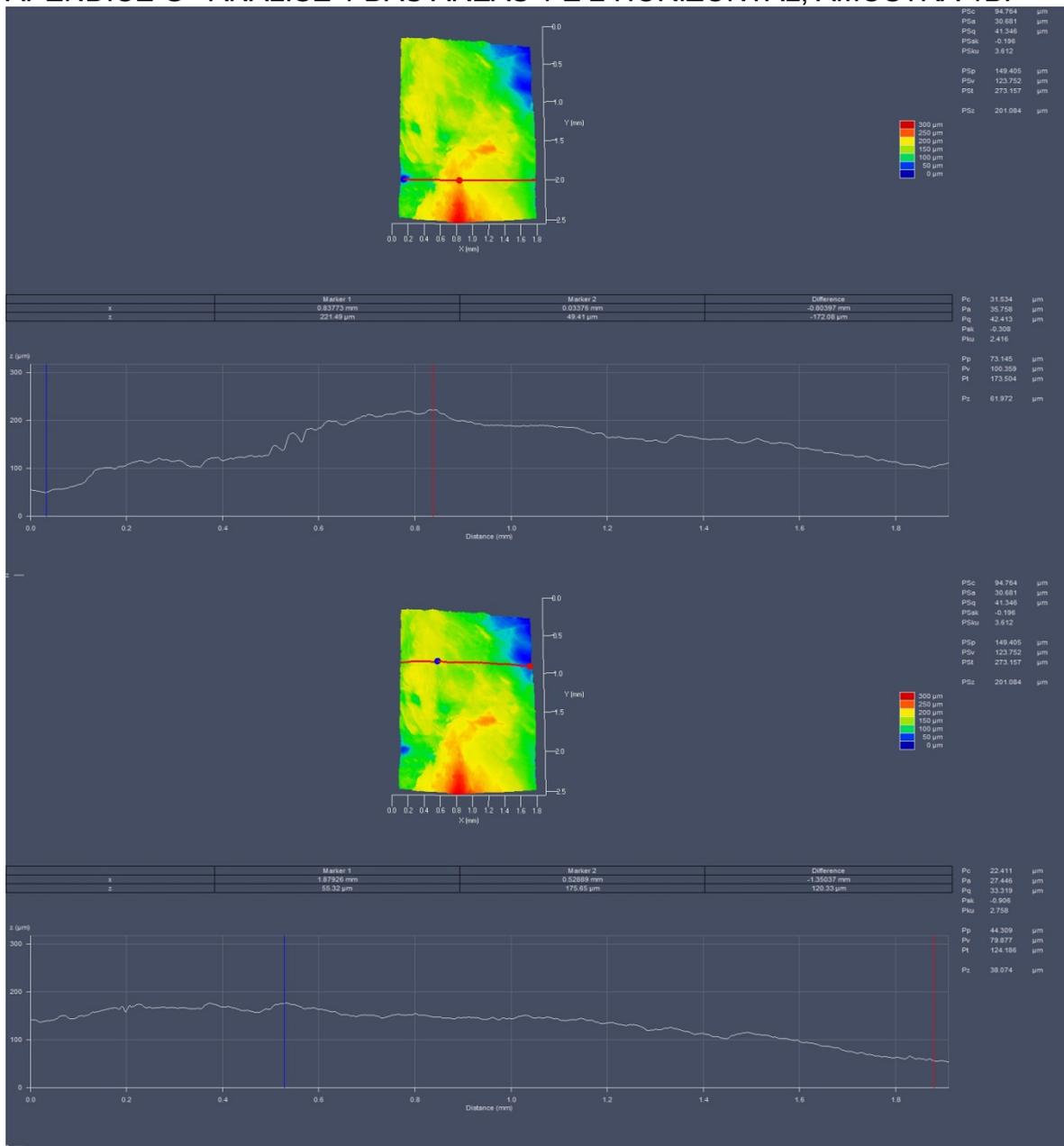
APÊNDICE D – VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL AMOSTRA 1B.



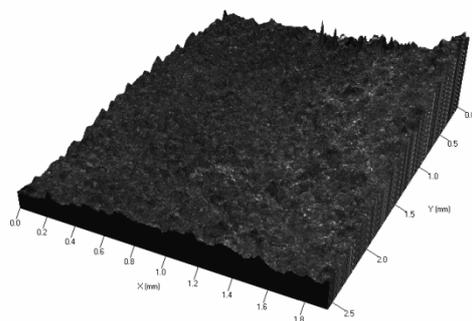
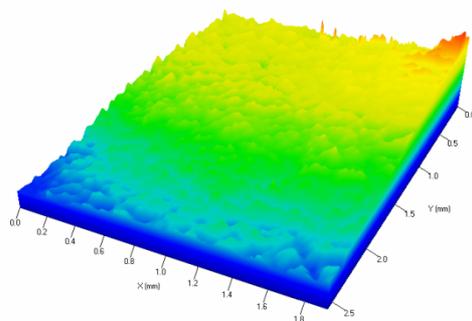
APÊNDICE F- ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 1B.



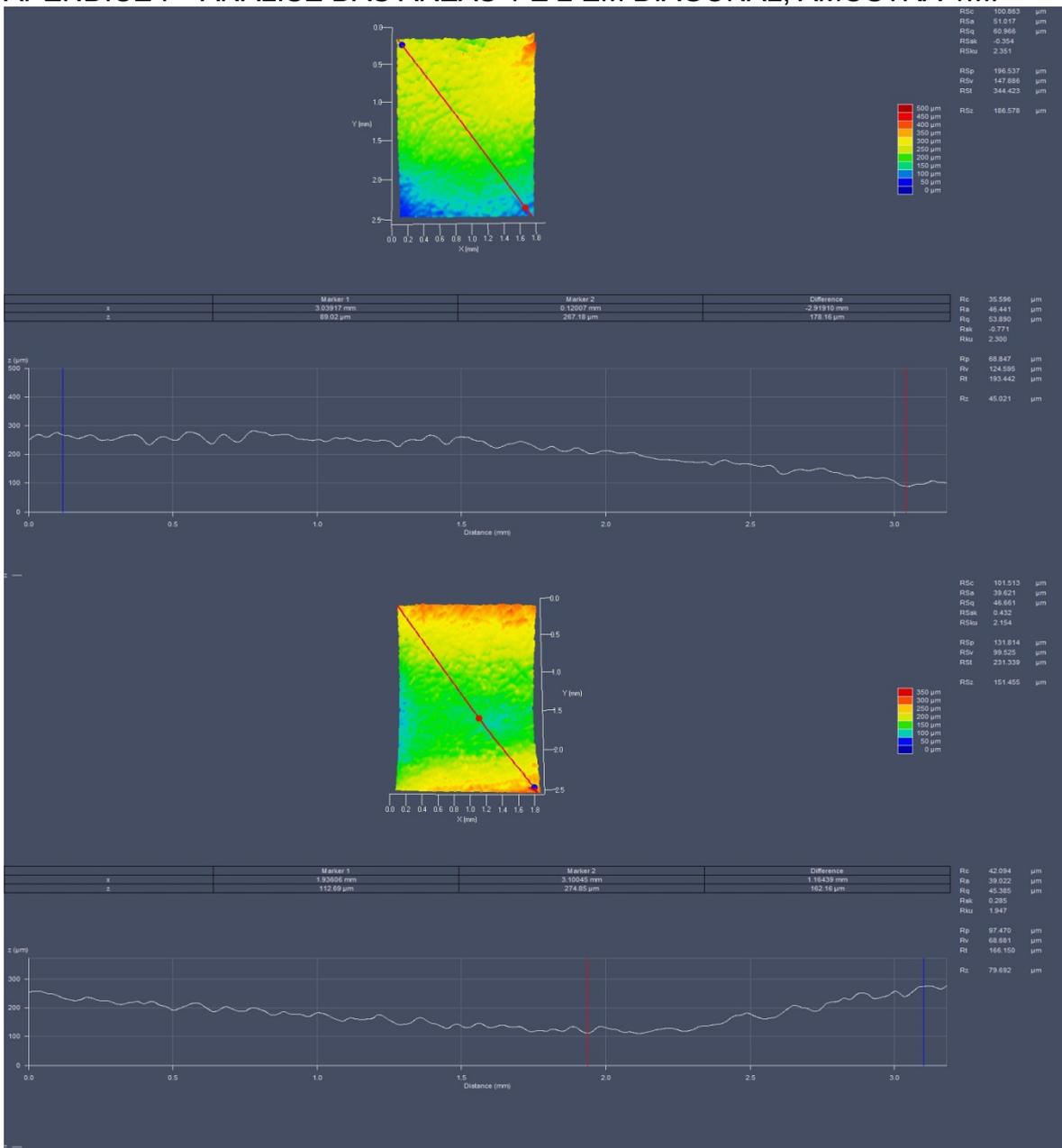
APÊNDICE G- ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 1B.



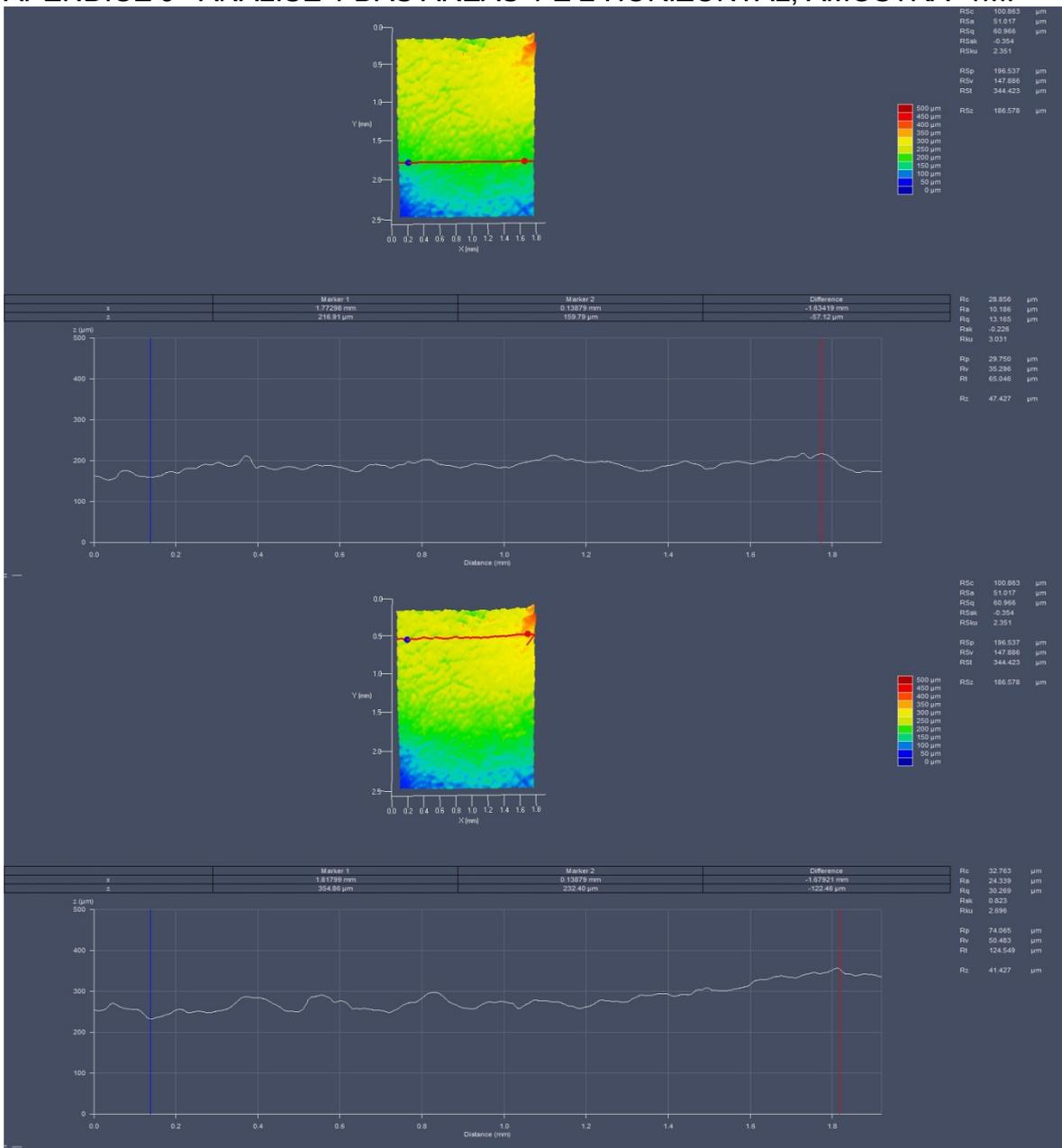
APÊNDICE H – VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL DE VARREDURA, AMOSTRA 1M.



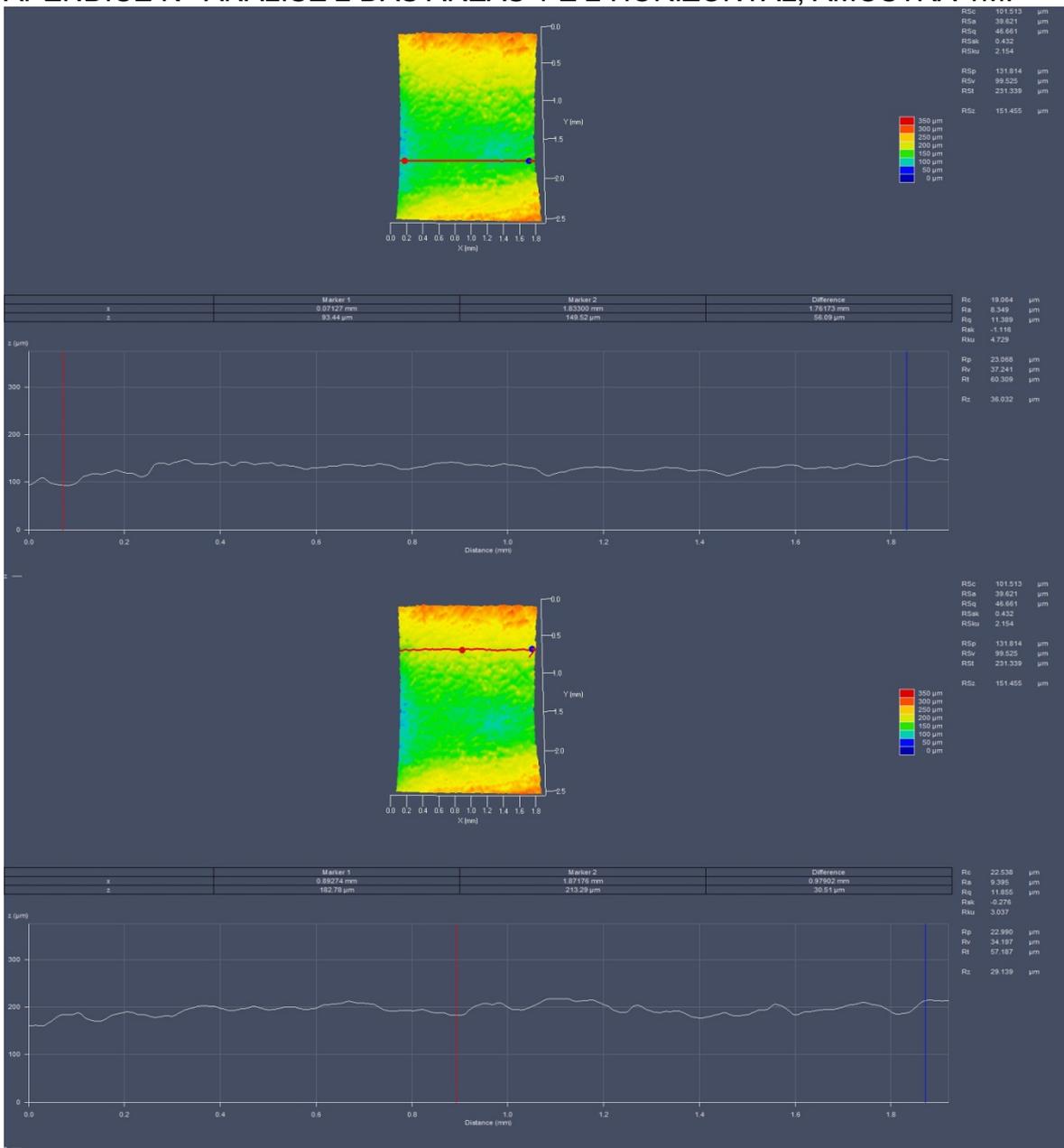
APÊNDICE I – ANÁLISE DAS ÁREAS 1 E 2 EM DIAGONAL, AMOSTRA 1M.



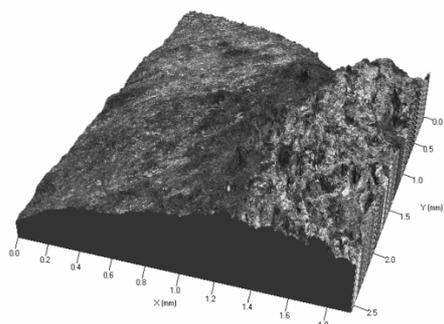
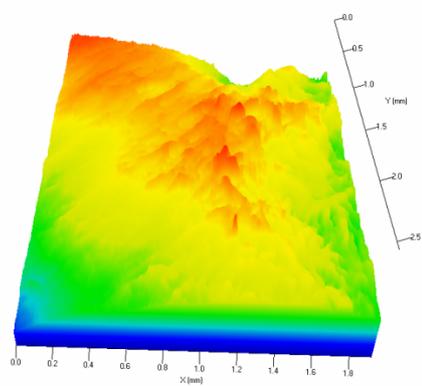
APÊNDICE J- ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 1M.



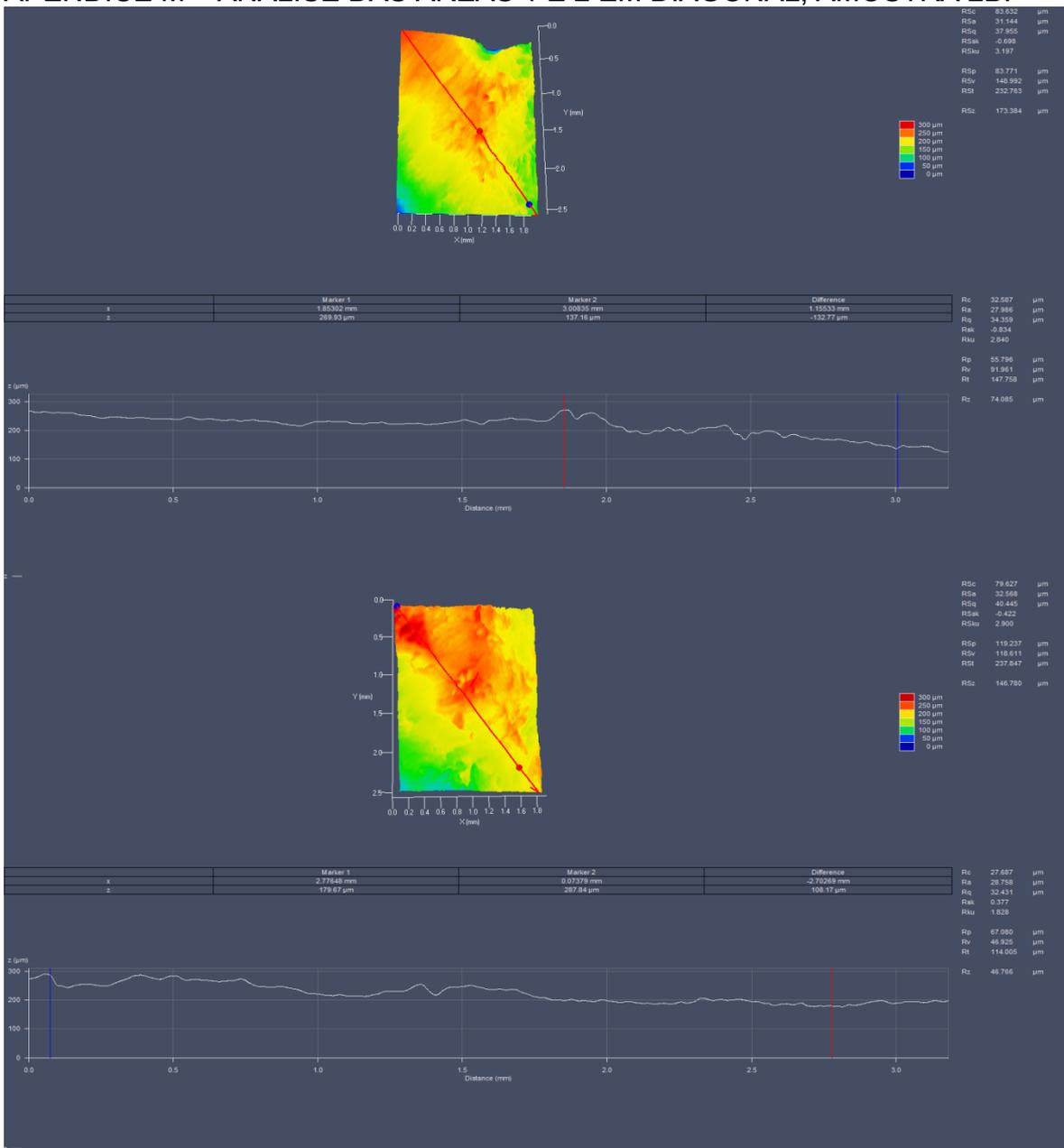
APÊNDICE K- ANÁLISE 2 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 1M.



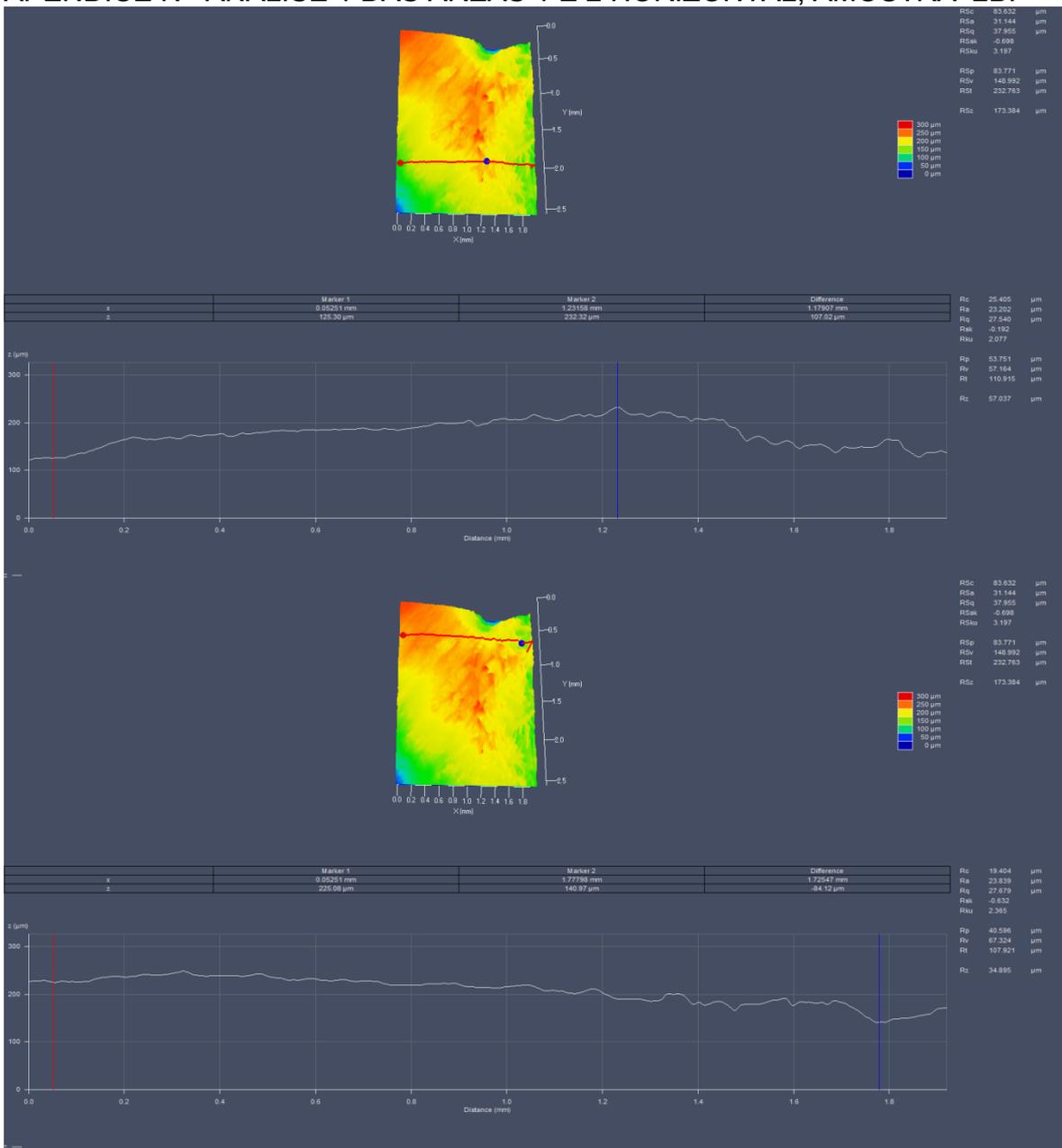
APÊNDICE L – VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL DE VARREDURA, AMOSTRA 2B.



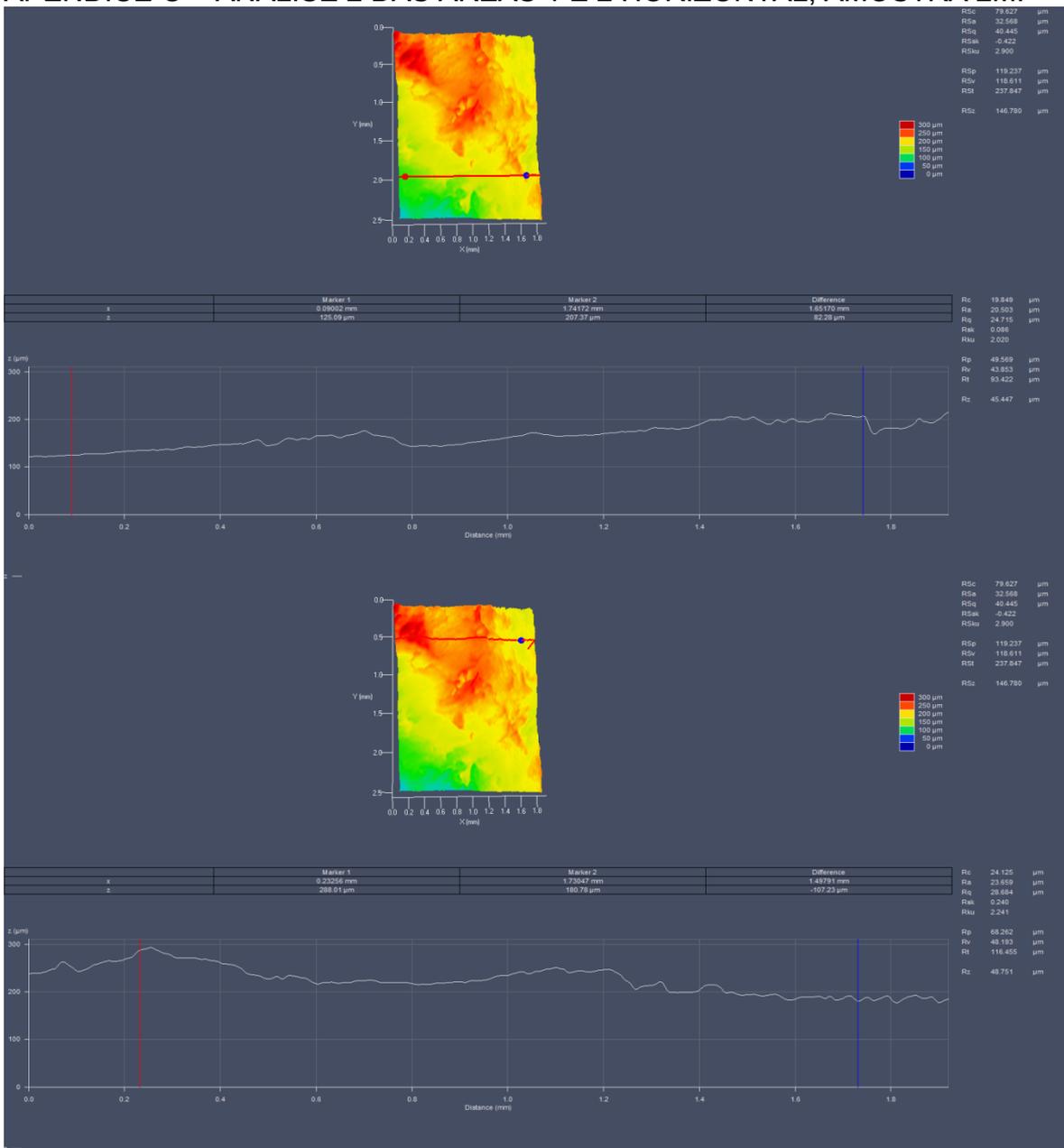
APÊNDICE M – ANÁLISE DAS ÁREAS 1 E 2 EM DIAGONAL, AMOSTRA 2B.



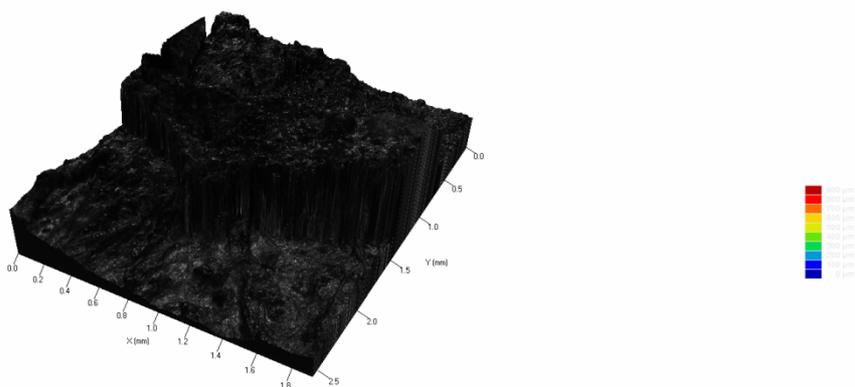
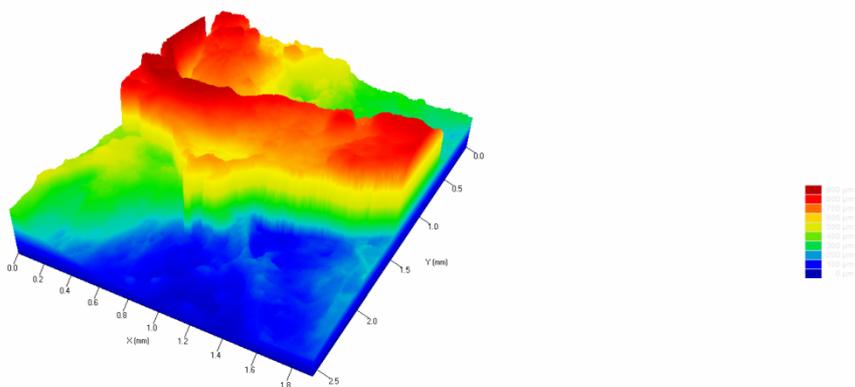
APÊNDICE N- ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 2B.



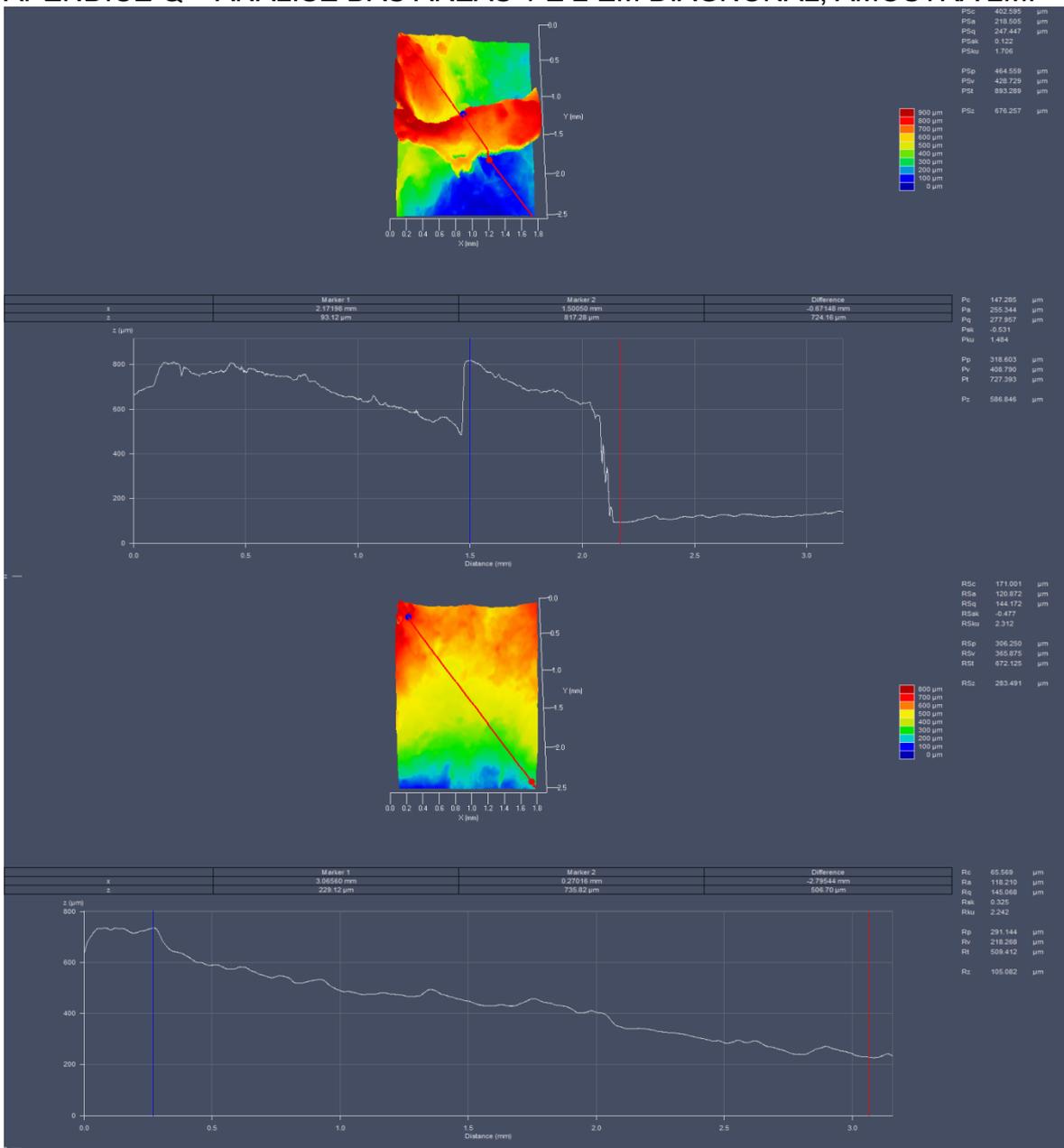
APÊNDICE O – ANÁLISE 2 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 2M.



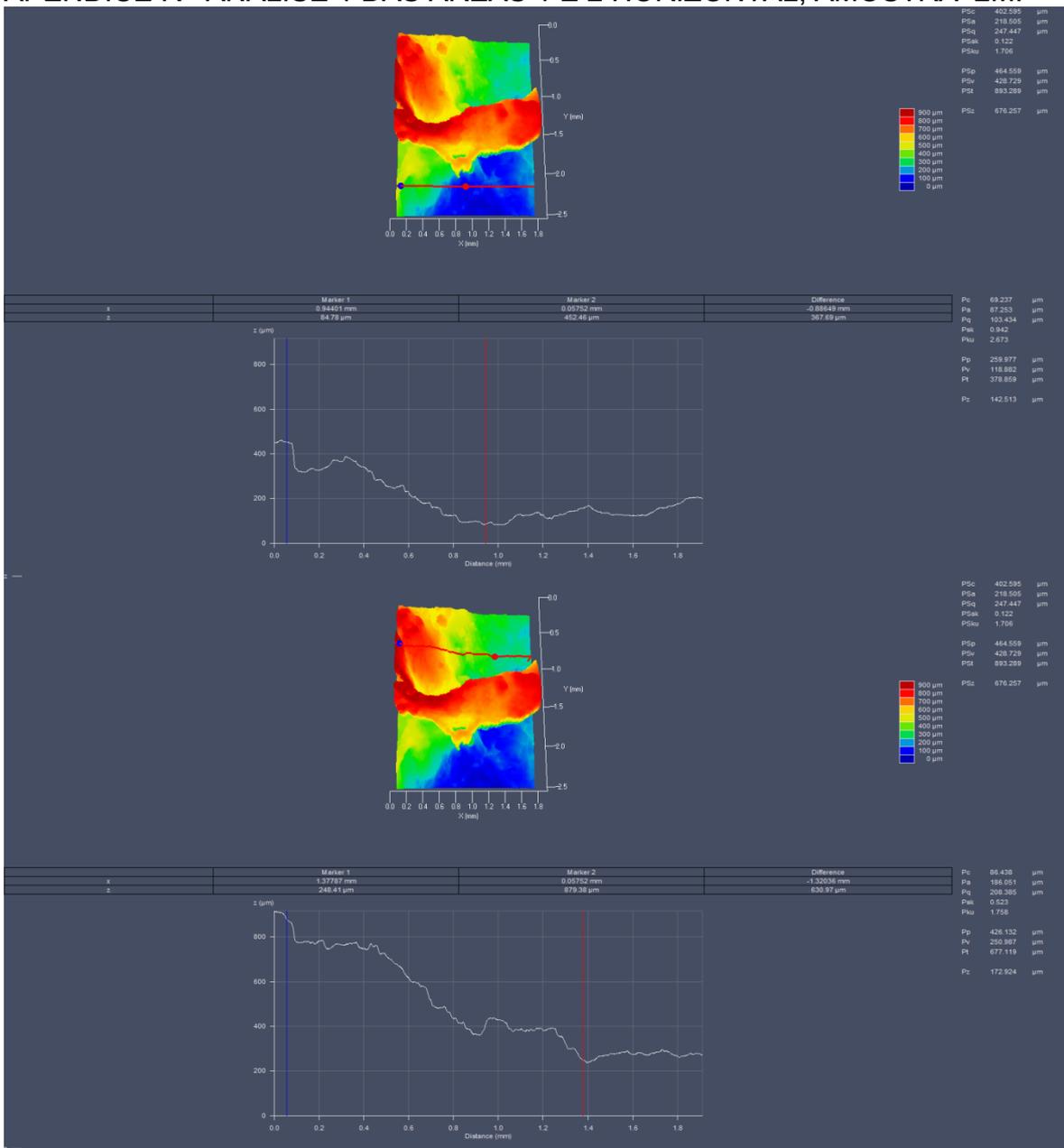
APÊNDICE P – VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL DE VARREDURA, AMOSTRA 2M.



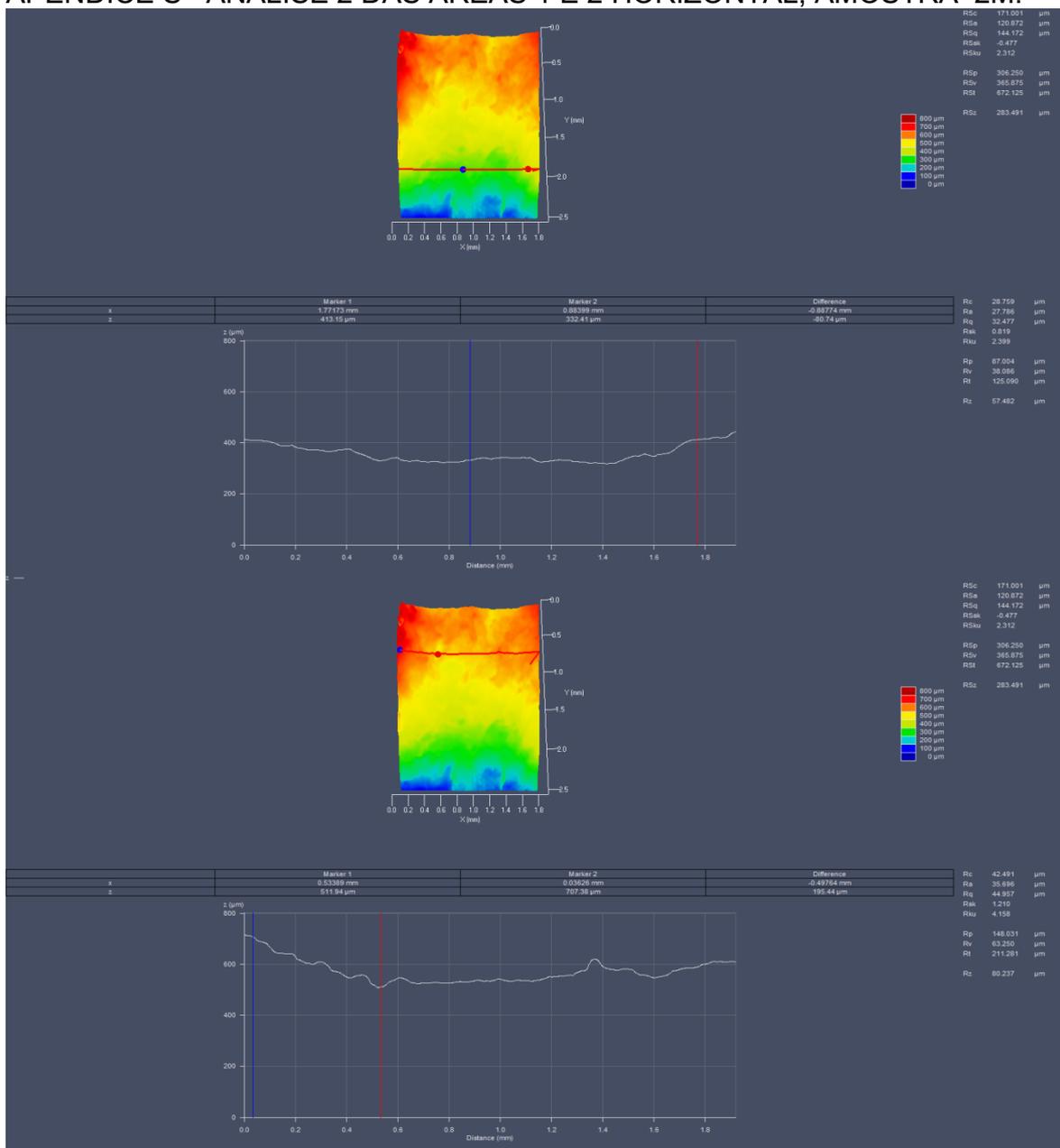
APÊNDICE Q – ANÁLISE DAS ÁREAS 1 E 2 EM DIAGONAL, AMOSTRA 2M.



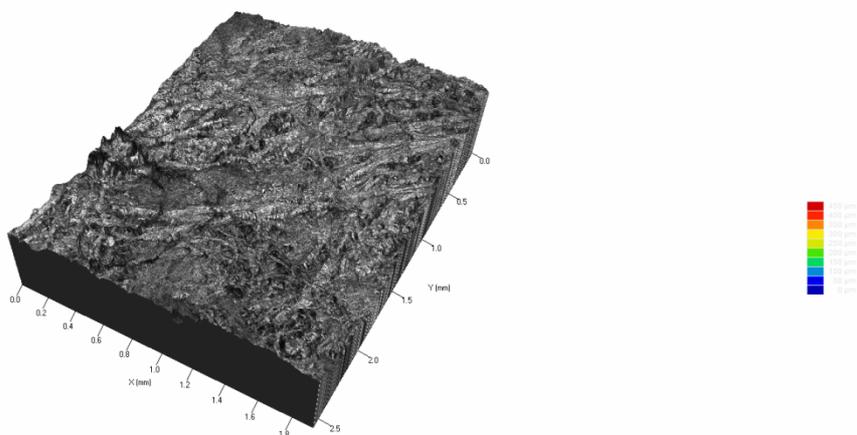
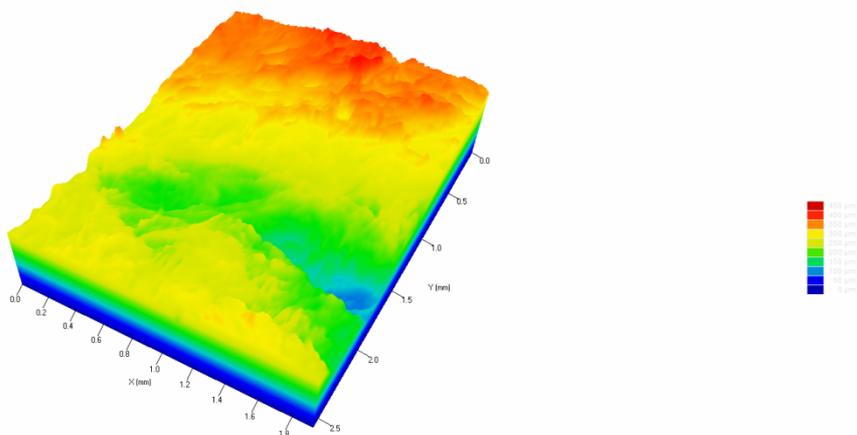
APÊNDICE R- ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 2M.



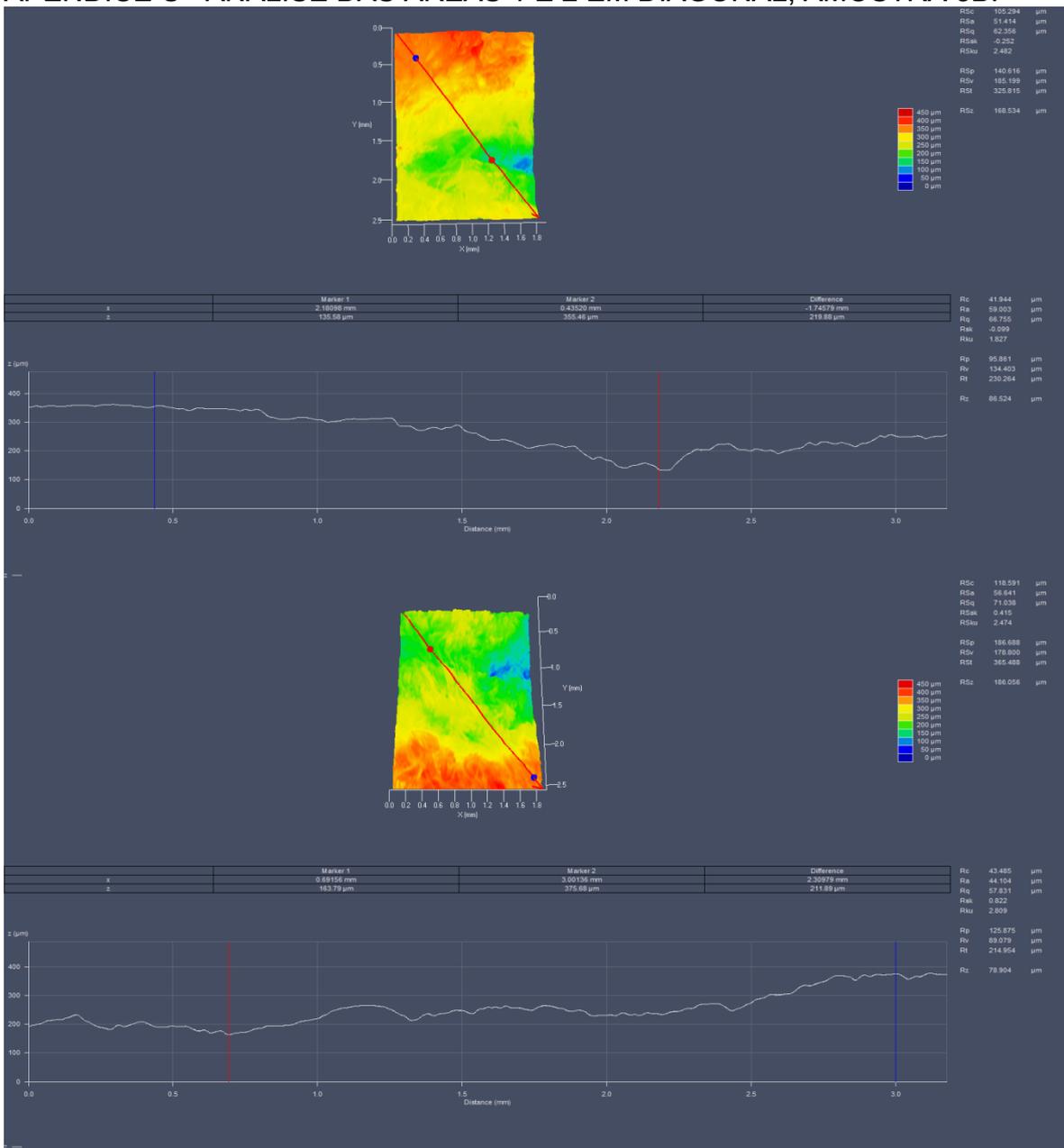
APÊNDICE S- ANÁLISE 2 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 2M.



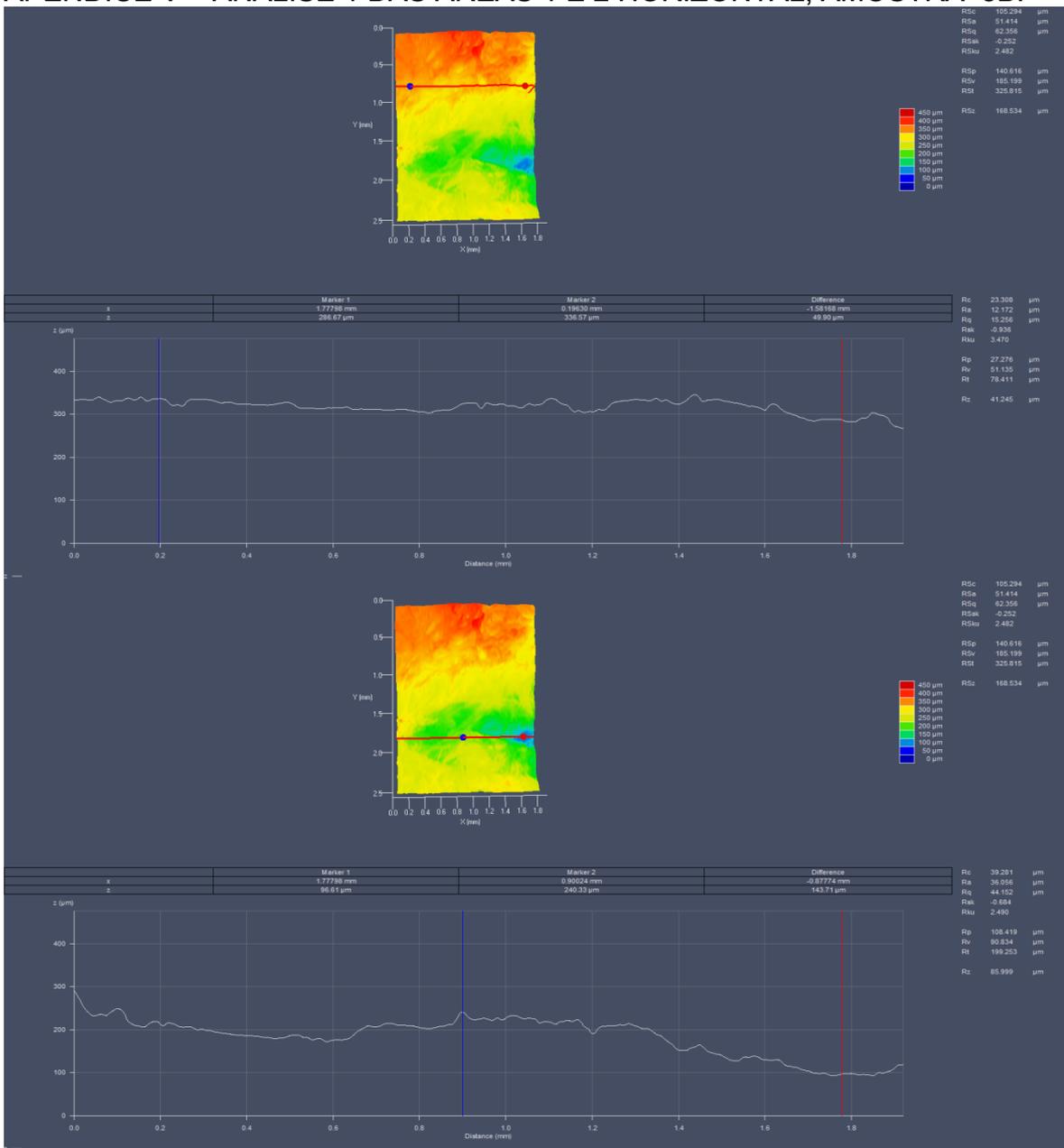
APÊNDICE T – VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL DE VARREDURA, AMOSTRA 3B.



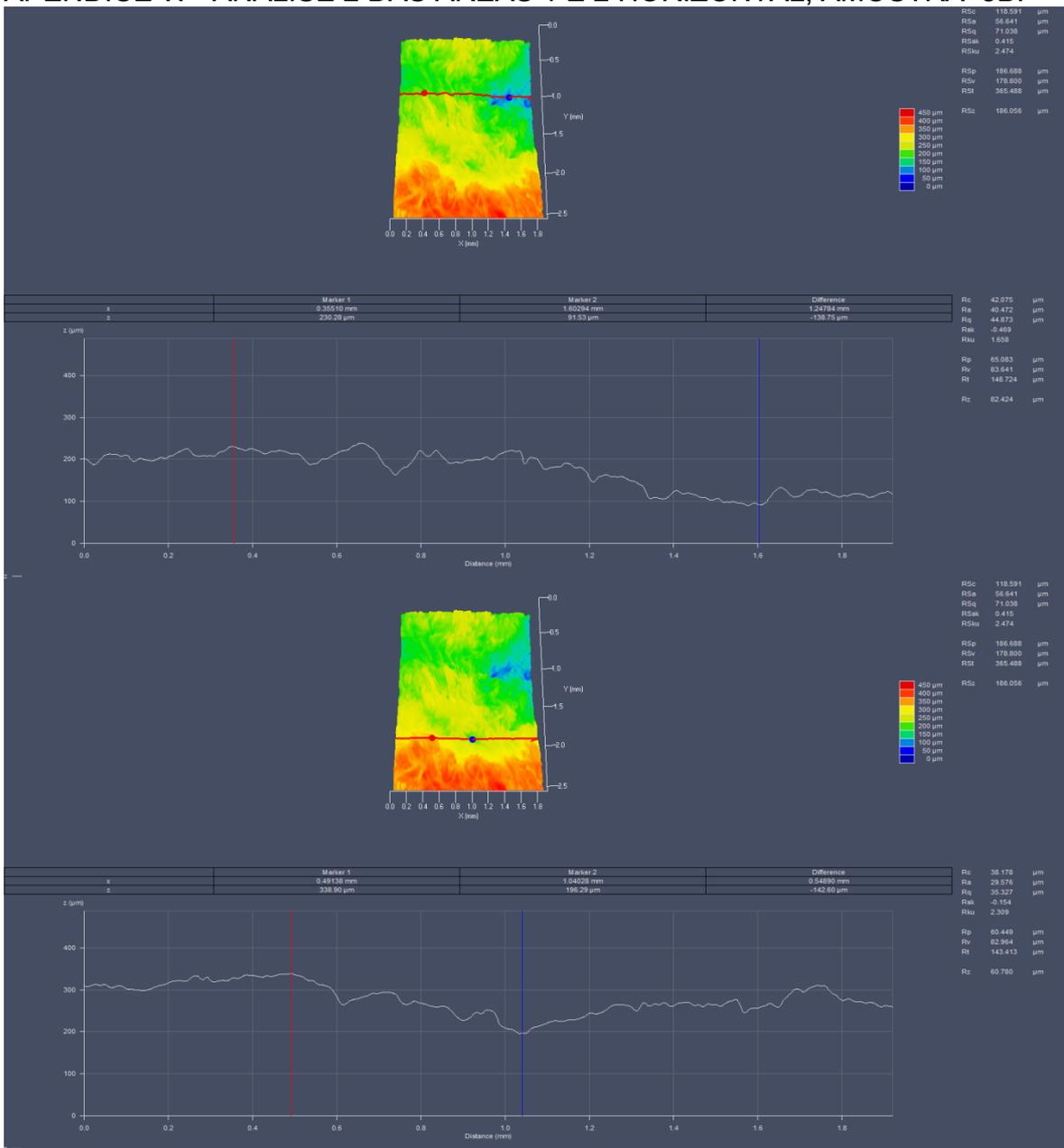
APÊNDICE U- ANÁLISE DAS ÁREAS 1 E 2 EM DIAGONAL, AMOSTRA 3B.



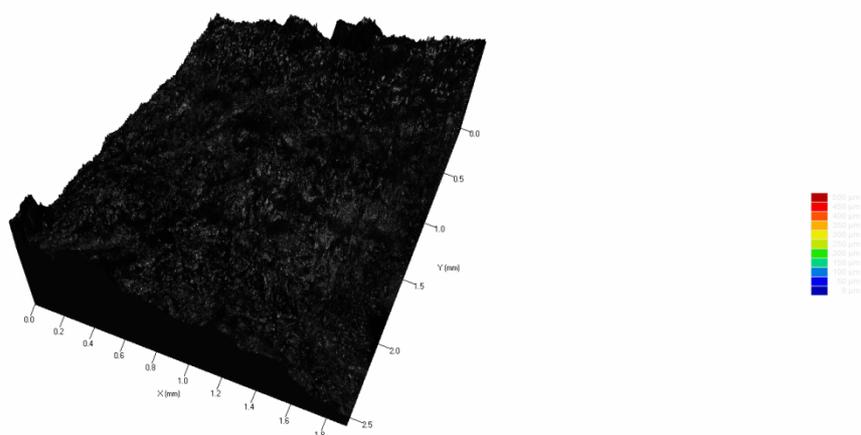
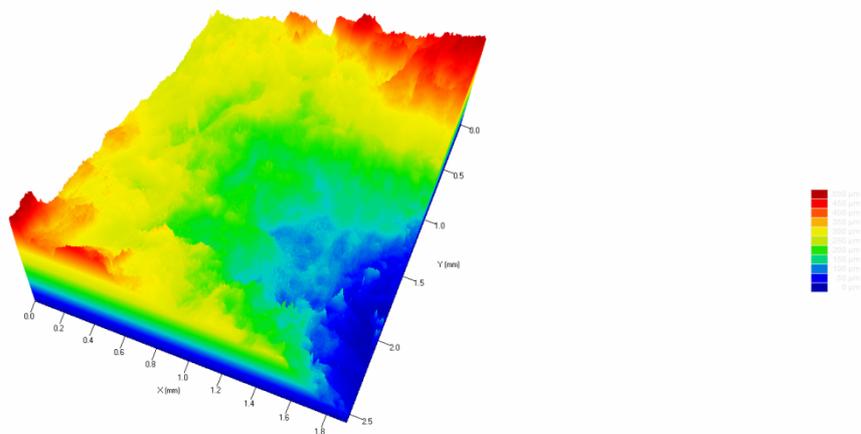
APÊNDICE V – ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 3B.



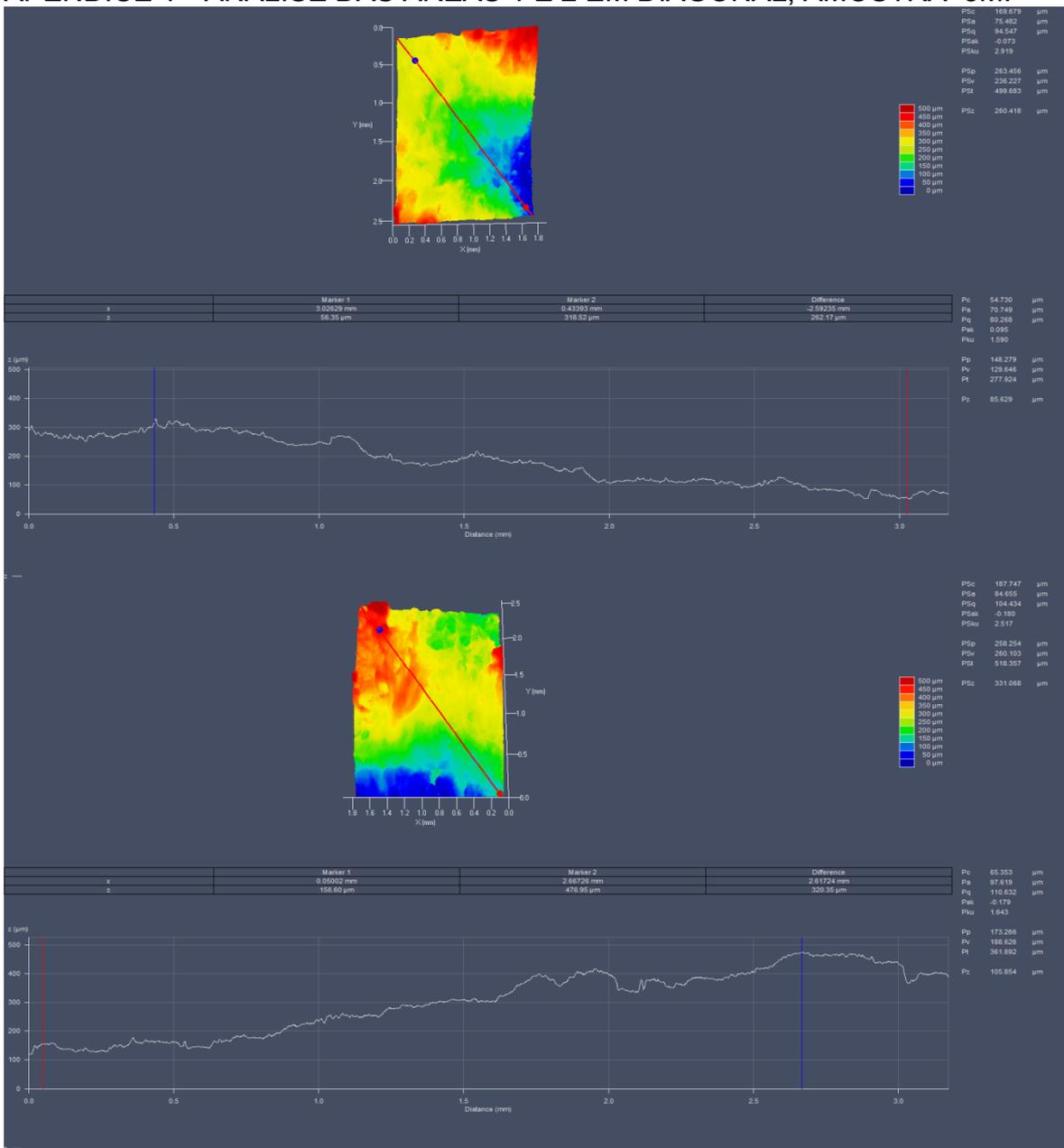
APÊNDICE W- ANÁLISE 2 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 3B.



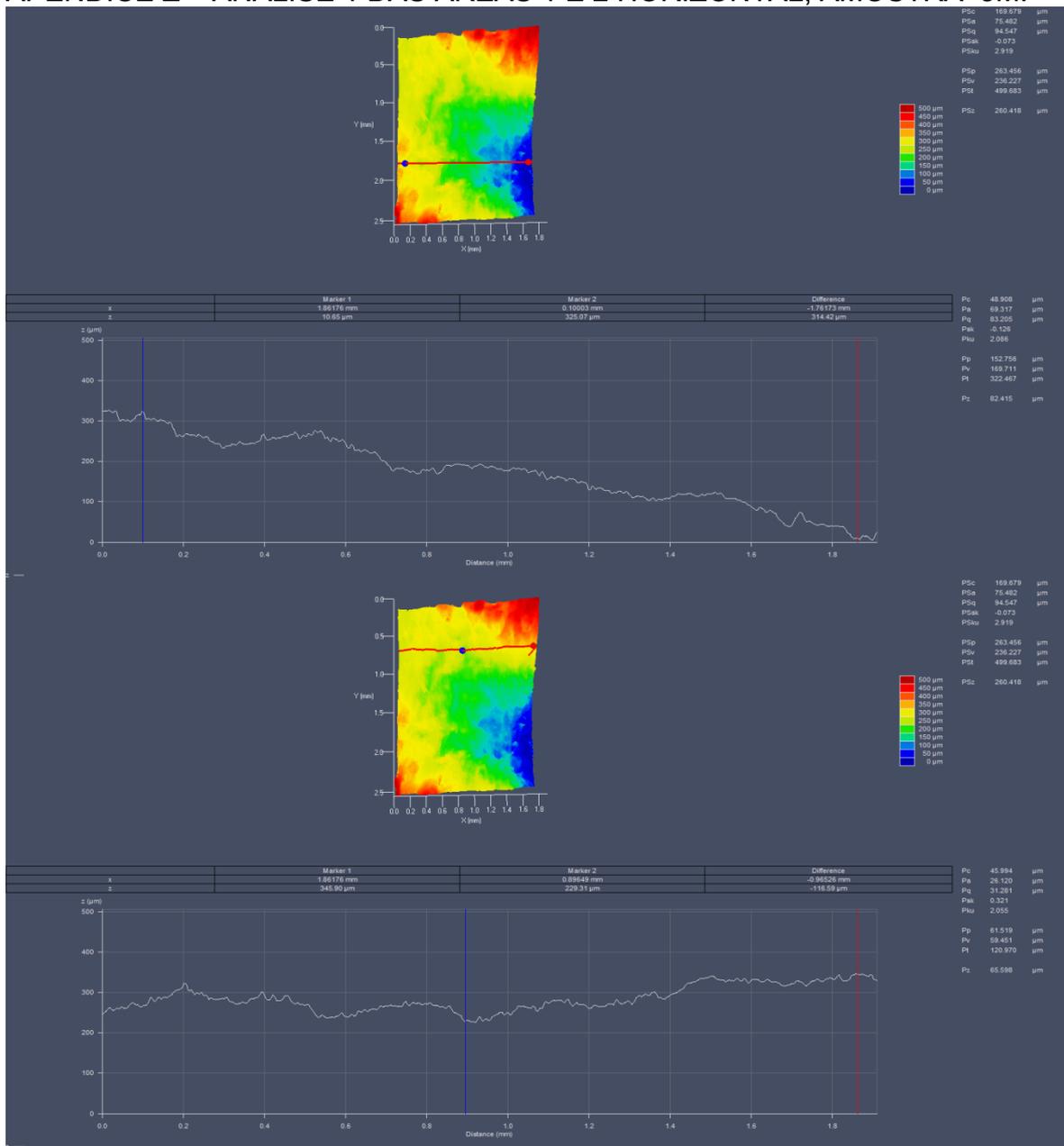
APÊNDICE X- VISTA 3D MICROSCOPIA ÓPTICA CONFOCAL DE VARREDURA, AMOSTRA 3M.



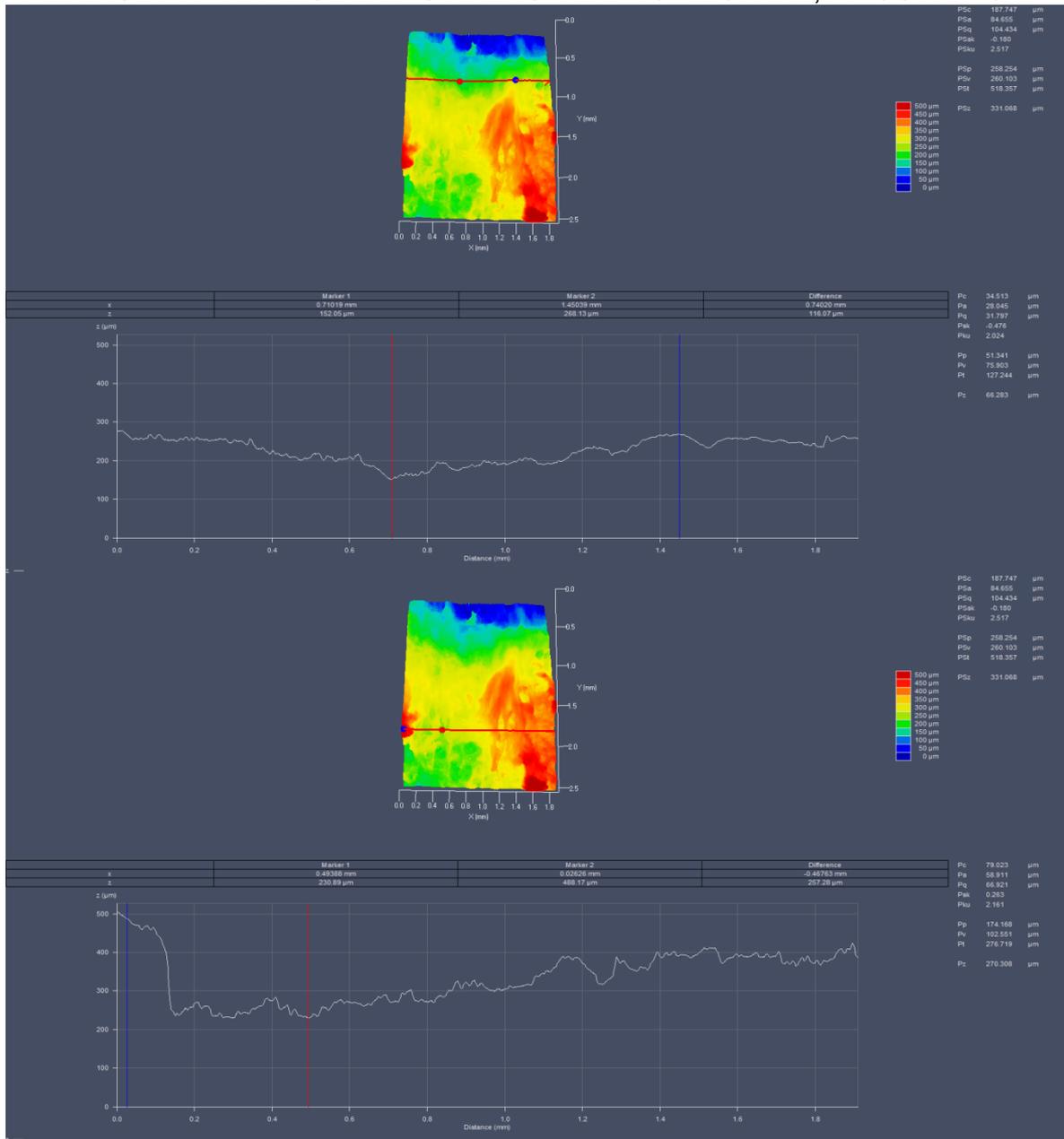
APÊNDICE Y- ANÁLISE DAS ÁREAS 1 E 2 EM DIAGONAL, AMOSTRA 3M.



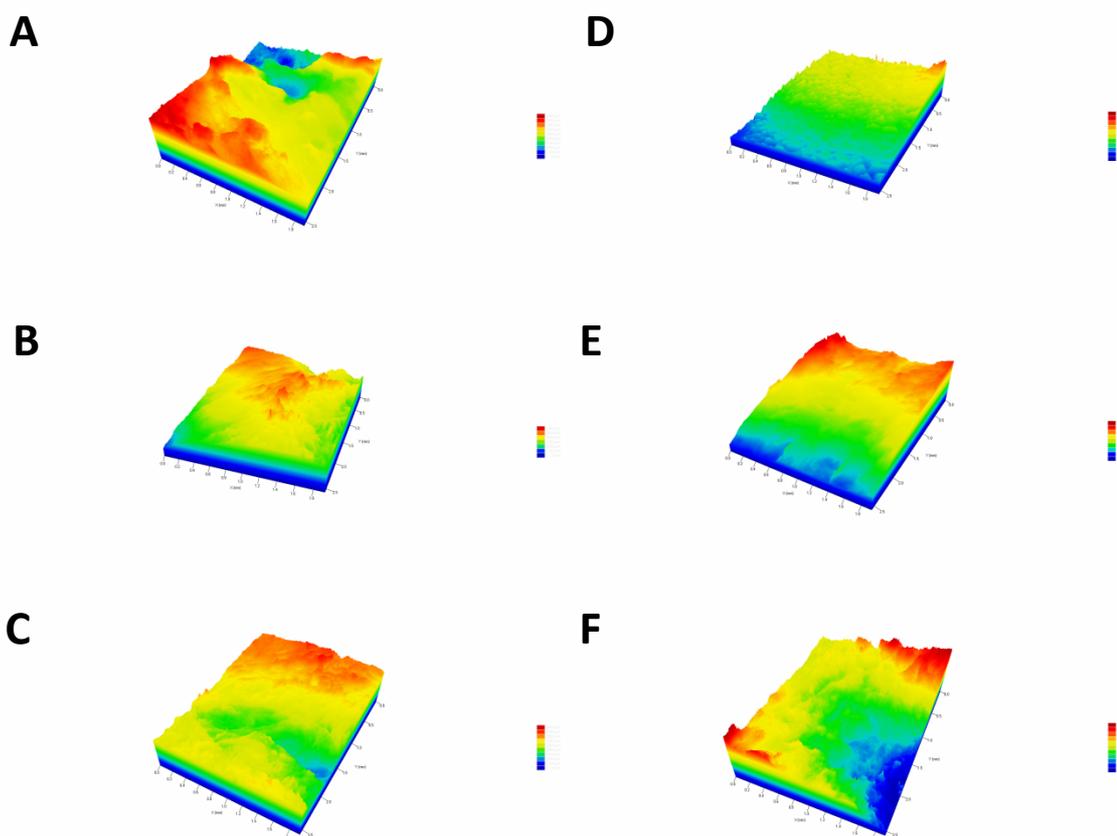
APÊNDICE Z – ANÁLISE 1 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 3M.



APÊNDICE AA- ANÁLISE 2 DAS ÁREAS 1 E 2 HORIZONTAL, AMOSTRA 3M.



APÊNDICE AB - PERFIL DA SUPERFÍCIE COMPOSTO POR FORMA E RUGOSIDADE. COMPARAÇÃO DE MEV. AS IMAGENS (A, B, C) SÃO DAS AMOSTRAS DE *SUS SCROFA DOMESTICUS* (SUÍNOS) REMOVIDAS COM BISTURI E AS IMAGENS (D, E, F) SÃO DAS AMOSTRAS REMOVIDAS COM MUCÓTOMO. AS CORES REPRESENTAM A VARIAÇÃO EM ALTURA (μM), SENDO A COR VERMELHA A REGIÃO MAIS ALTA E A COR AZUL A REGIÃO MAIS BAIXA DA AMOSTRA.



APÊNDICE AC – DIFERENÇA ENTRE DOIS PONTOS EM CADA MEDIDA (mm),
EIXO X.

AMOSTRA EIXO X	DIAGONA L A	DIAGONAL B	HORIZONT AL A1	HORIZONT AL A2	HORIZONTAL B1	HORIZONTAL L B2
1B	2.73212	1.94932	1.62294	1.74422	0.80397	0.52889
1M	2.91910	1.16439	1.63419	1.67921	176173	0.97902
2B	115533	2.70269	1.17907	1.72547	1.65170	1.49791
2M	0.67148	2.79544	0.88649	1.32036	0.88774	0.49764
3B	1.74579	2.30979	1.58168	0.87774	1.24787	0.54890
3M	2.59235	261724	176173	0.96526	0.74020	0.46763

APÊNDICE AD – DIFERENÇA ENTRE DOIS PONTOS EM CADA MEDIDA (μm),
EIXO Z.

AMOSTRA EIXO Z	DIAGONAL A	DIAGONAL B	HORIZOANT AL A1	HORIZONT AL A2	HORIZONT AL B1	HORIZONT AL B2
1B	211.59	145.45	136.48	150.21	172.08	175.65
1M	178.16	162.16	57.12	122.46	56.09	30.51
2B	132.77	10817	107.02	84.12	82.28	107.23
2M	724.16	506.70	367.69	630.97	80.74	195.44
3B	219.88	211.89	49.90	143.71	138.75	142.60
3M	262.17	320.35	314.42	116.59	116.07	257.28

10 ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO CEUA UFG



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA

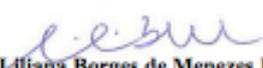
**CERTIFICADO**

Certificamos que o uso de material biológico de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) registrado sob protocolo nº **MB 029/21**, sob a responsabilidade de **CLAUDIO RODRIGUES LELES/ FO/UFPG** encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)** da Universidade Federal de Goiás (UFG), em reunião de **12/04/2021**. Informamos que para esse tipo de autorização não há necessidade de entrega de relatório final.

- Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica
- Tipo de material biológico: Tecido conjuntivo retirado de mandíbulas suínas (ex vivo)
- Espécie do material biológico: Tecido conjuntivo retirado de mandíbulas suínas (ex vivo)
- Origem do material biológico: Açogue EMPÓRIO DA PICANHA

Informamos que de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA) vigente é responsabilidade do Pesquisador Responsável pela atividade manter documentação que evidencie a origem do material de forma inequívoca. Essa evidência pode ser dada por meio de nota fiscal de compra, recibo, fotografias ou documentos oficiais dos serviços de vigilância, dentre outros aplicáveis quando o material não for oriundo de uma atividade de ensino ou de pesquisa científica. Quando o material for obtido de animais incluídos em uma atividade de ensino ou de pesquisa científica manter o certificado de autorização pela CEUA pertinente.

A responsabilidade no caso de eventual violação de normas ou de princípios éticos para a obtenção dos materiais biológicos é do responsável pela atividade, compartilhada por sua equipe, nunca da CEUA institucional.


Dra. Lilliana Borges de Menezes Leite
Coordenadora da CEUA/PRPI/UFPG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFPG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1º andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com

ANEXO 2 - PROTOCOLO DE PREPARO DE TECIDOS PARA MEV.

**PROTOCOLO DE PREPARO DE TECIDOS
PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

Pode ser usado Karnovsky (mistura de glutaraldeído + paraformaldeído) ou Glutaraldeído a 2,5%.

Tampão Milloning:

Fosfato de sódio monobásico (NaH₂PO₄.H₂O) – 0,844 g

NaOH – 0,193 g

Glicose – 0,270 g

Em 50 mL de água destilada.

Preparar no momento do uso. Guardar o excedente em geladeira para uso nas lavagens posteriores à fixação e pós-fixação.

Pode usar o tampão fosfato 0,1M pH 7,2

Fixador:

Glutaraldeído 2,5% - Preparar no momento do uso.

O fixador também é preparado em tampão com final de 0,1M pH 7,2

Procedimentos:

Fixar o material por 24 h (4°C – geladeira).

Lavagem:

Lavar as amostras em tampão – 4 vezes de 15 minutos (4°C – geladeira).

Desidratação: temperatura ambiente.

Utilizar etanol P.A. para preparar as soluções.

Etanol 50% - 30 min

Etanol 70% - 30 min

Etanol 90% - 30 min

Etanol 95% - 30 min

Etanol 100% - 30 min

Em seguida, levar para o ponto crítico.

