



CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS

ERICK HELTON LIMA FONTENELE

**VIABILIDADE DO USO DA MEMBRANA À BASE DE COLÁGENO DA PELE DE
TILÁPIA DO NILO COMO BARREIRA BIOLÓGICA NO REPARO DE ALVÉOLOS
DE RATOS PÓS-EXODONTIA**

FORTALEZA

2023

ERICK HELTON LIMA FONTENELE

VIABILIDADE DO USO DA MEMBRANA À BASE DE COLÁGENO DA PELE DE
TILÁPIA DO NILO COMO BARREIRA BIOLÓGICA NO REPARO DE ALVÉOLOS DE
RATOS PÓS-EXODONTIA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Odontologia do Centro Universitário Christus como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientador: Prof. Dr. Tácio Pinheiro Bezerra

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus

Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F683v Fontenele, Erick Helton Lima.
Viabilidade do uso da membrana à base de colágeno da pele de tilápia do Nilo como barreira biológica no reparo de alvéolos de ratos pós-exodontia / Erick Helton Lima Fontenele. - 2023.
29 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Tácio Pinheiro Bezerra.
Coorientação: Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves.
Área de concentração: Ciências Odontológicas.

1. Remodelação óssea. 2. Preservação do rebordo alveolar. 3. Regeneração óssea guiada. 4. Membrana de colágeno. 5. Tilápia do Nilo. I. Título.

CDD 617.6

ERICK HELTON LIMA FONTENELE

VIABILIDADE DO USO DA MEMBRANA À BASE DE COLÁGENO DA PELE DE
TILÁPIA DO NILO COMO BARREIRA BIOLÓGICA NO REPARO DE ALVÉOLOS DE
RATOS PÓS-EXODONTIA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em
Odontologia do Centro Universitário Christus como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências
Odontológicas.

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientador: Prof. Dr. Tácio Pinheiro Bezerra

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves

Aprovada em 15 / 12 / 2023

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Tácio Pinheiro Bezerra
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Documento assinado digitalmente

gov.br ANA PAULA NEGREIROS NUNES ALVES
Data: 15/12/2023 12:06:00-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dr. Marcelo Ferraro Bezerra
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar condições físicas e mentais para seguir em busca dos meus objetivos.

Aos meus familiares, em especial minha mãe, Valéria Lima Fontenele, que nunca mediu esforços para proporcionar o que fosse de melhor para minha educação e formação. Meu maior exemplo de caráter, força, dedicação e amor incondicional.

À minha esposa, Amanda Holanda Almeida Fontenele, por toda dedicação à nossa família, por embarcar nos meus planos e me apoiar até eu conquistá-los. Por sua paciência diária em tornar nosso lar o mais leve e amoroso possível. Por gerar e cuidar do maior tesouro de nossas vidas, Bianca.

À minha filha, Bianca Almeida Fontenele, minha razão de viver. Por ser minha fonte de sorrisos nos momentos tristes, meu poço de força nos momentos difíceis, minha luz motivadora nos momentos sombrios. Por me fazer ser uma pessoa melhor a cada dia.

Aos Professores Drs. Tácio Pinheiro Bezerra, Ana Paula Negreiros Nunes Alves e Marcelo Ferraro Bezerra, por serem fonte de inspiração profissional, por todo apoio e paciência no meu processo de formação acadêmica e por todo conhecimento compartilhado.

Aos colegas de turma, que proporcionaram momentos incríveis de troca de conhecimento, companheirismo e motivação ao longo do período que estivemos juntos.

RESUMO

A reabsorção do processo alveolar após a extração dentária é um processo fisiológico comum, sendo uma condição progressiva e irreversível, que pode ser minimizada com técnicas de regeneração óssea/tecidual guiada. Novos estudos buscam materiais biológicos como alternativa de baixo custo às membranas, onde a pele da Tilápia do Nilo surge como uma possibilidade, devido às suas características microscópicas semelhantes à estrutura morfológica da pele humana. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo, verificar a viabilidade da aplicação da pele da Tilápia do Nilo como membrana biológica em alvéolos dentários de ratos pós-exodontia. Para isto, foram utilizados 60 ratos Wistar, divididos aleatoriamente em três grupos: controle negativo, onde não foi utilizado nenhum meio de barreira no alvéolo pós-extração; controle positivo, onde foi utilizada uma membrana de colágeno reabsorvível (Geistlich Bio-Gide®) sobre o alvéolo; grupo experimental, onde foi utilizada a pele da Tilápia do Nilo como barreira biológica. Cada grupo foi subdividido em dois tempos de sacrifício pós-extração, 12 e 24 dias. Para análise imagiológica, foi realizada tomografia computadorizada de feixe cônico em cada maxila, sendo selecionados cortes transversais centrais em cada um dos 5 alvéolos do dente extraído. Foram realizadas duas medidas verticais, sendo uma do fundo do alvéolo à margem óssea proximal, e outra do fundo do alvéolo à superfície do osso neoformado. A análise histológica pesquisou a composição celular presente na amostra, além da categorização quanto à presença de infiltrado inflamatório (ausente, discreto ou denso), assim como da classificação quanto à cicatrização óssea (ausente, parcial ou total). A análise estatística se deu com os dados expressos em forma de média e erro padrão da média, submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e comparados entre si por meio dos testes t de Student (análise intra grupo) ou ANOVA/Bonferroni (análise entre grupos). Todas as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95% no software GraphPad Prism 5.0. Como resultados, de 12 para 24 dias após a exodontia, o grupo controle negativo (51.51 ± 5.06 para $66.77 \pm 4.23\%$, $p=0,025$), o controle positivo (64.17 ± 3.98 para $78.11 \pm 2.05\%$, $p=0,001$) e o grupo experimental (52.03 ± 2.28 para $61.50 \pm 3.01\%$, $p=0.016$) mostraram aumento significativo do percentual de neoformação óssea alveolar. Tanto após 12 dias ($p=0,042$) como após 24 dias ($p<0,001$) o grupo controle positivo apresentou maior percentual de neoformação óssea quando comparado aos grupos controle negativo e experimental. A variação de neoformação óssea alveolar de 12 para 24 dias foi significativamente menor no grupo controle negativo ($+27.24 \pm 2.13\%$) comparado com os grupos controle positivo ($+46.36 \pm 2.03\%$) e com o grupo experimental ($+39.33 \pm 1.39\%$). A variação da presença (diminuição) de infiltrado

inflamatório de 12 para 24 dias foi estatisticamente significativa nos grupos controle negativo ($p=0,042$) e controle positivo ($p=0,001$), não sendo estatisticamente significativa no grupo experimental ($p=0,245$). A variação de cicatrização óssea de 12 para 24 dias foi estatisticamente significativa nos grupos controle negativo ($p=0,006$) e positivo ($p=0,12$). Porém, não se mostrou significativa no grupo experimental ($p=0,206$). Diante do que foi observado, concluiu-se que a membrana a base de colágeno da pele da tilápia se mostrou eficaz como uma barreira biológica recobrimdo os alvéolos de ratos pós-exodontia. Suas características permitiram sua utilização cirúrgica, com resultados superiores quando comparados com a situação de não recobrimento. Novos estudos devem ser realizados com amostras maiores e envolvendo outras técnicas como instalação de implantes e enxerto ósseo associados às membranas.

Palavras-chave: Remodelação óssea. Preservação do rebordo alveolar. Regeneração óssea guiada. Membrana de colágeno. Tilápia do Nilo.

ABSTRACT

Resorption of the alveolar process after tooth extraction is a common physiological process, being a progressive and irreversible condition, which can be minimized with guided bone/tissue regeneration techniques. New studies are looking for biological materials as a low-cost alternative to membranes, among which Nile Tilapia Fish skin appears as a possibility, due to its microscopic characteristics similar to the morphological structure of human skin. Therefore, this study aims to verify the viability of collagen-based membrane from Nile Tilapia skin as a biological barrier in the repair of rats post-extraction dental socket. For this, 60 Wistar rats were used, randomly divided into three groups: negative control, where no barrier was used in the post-extraction socket; positive control, where a resorbable collagen membrane (Geistlich Bio-Gide®) was used over the dental socket; experimental group, in which Nile Tilapia skin was used as a biological barrier. Each group was subdivided into two post-extraction sacrifice times, 12 and 24 days. For imaging analysis, cone beam computed tomography was performed on each maxilla, and central cross-sections were selected in each of the 5 dental sockets. Two vertical measurements were taken, one from the bottom of the socket to the proximal bone margin, and another from the bottom of the socket to the surface of the newly formed bone. The histological analysis investigated the cellular composition present in the sample, in addition to the categorization regarding the presence of inflammatory infiltrate (absent, discrete or dense), as well as the classification regarding bone healing (absent, partial or total). Statistical analysis was performed with data expressed as mean and standard error of the mean, submitted to the Kolmogorov-Smirnov normality test and compared with each other using the Student's t-test (intra-group analysis) or ANOVA/Bonferroni (analysis between groups). All analyzes were performed considering a 95% confidence in the GraphPad Prism 5.0 software. As results, from 12 to 24 days after tooth extraction, the negative control group (51.51 ± 5.06 to $66.77 \pm 4.23\%$, $p=0.025$), the positive control (64.17 ± 3.98 to $78.11 \pm 2.05\%$, $p=0.001$) and the experimental group (52.03 ± 2.28 to $61.50 \pm 3.01\%$, $p=0.016$) showed a significant increase in the percentage of alveolar bone neoformation. After 12 days ($p=0.042$) and after 24 days ($p<0.001$) the positive control group showed a higher percentage of new bone formation when compared to the negative control and experimental groups. The variation in alveolar bone formation from 12 to 24 days was significantly lower in the negative control group ($+27.24 \pm 2.13\%$) compared to the positive control group ($+46.36 \pm 2.03\%$) and the experimental group ($+39.33 \pm 1.39\%$). The variation in the presence (decrease) of inflammatory infiltrate from 12 to 24 days was statistically significant in the negative control ($p=0.042$) and positive control ($p=0.001$) groups,

and was not statistically significant in the experimental group ($p=0.245$). The variation in bone healing from 12 to 24 days was statistically significant in the negative ($p=0.006$) and positive ($p=0.12$) control groups. However, it was not significant in the experimental group ($p=0.206$). It was concluded that the collagen-based membrane from Nile Tilapia skin proved to be effective as a biological barrier covering rats' post-extraction dental sockets. Its characteristics allowed its surgical use with superior results when compared to the situation without covering. New studies must be carried out with larger samples and involving other techniques such as installation of implants and bone grafting associated with membranes.

Keywords: Bone Remodeling. Alveolar Bone Preservation. Guided Bone Regenerations. Collagen Membrane. Nile Tilapia.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Reabsorção óssea alveolar	10
1.2	Regeneração óssea/tecidual guiada	10
1.3	Barreiras mecânicas	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1	Amostra animal e divisão de grupos.....	13
3.2	Protocolo experimental	13
<i>3.2.1</i>	<i>Procedimento cirúrgico de exodontia</i>	<i>13</i>
<i>3.2.2</i>	<i>Preparo das membranas</i>	<i>14</i>
<i>3.2.2.1</i>	<i>Membrana de colágeno.....</i>	<i>14</i>
<i>3.2.2.2</i>	<i>Membrana da pele da Tilápia do Nilo</i>	<i>14</i>
3.3	Divisão dos grupos.....	15
3.4	Eutanásia	15
3.5	Coleta e preparo das amostras	15
3.6	Análise imaginológica	15
3.7	Análise histológica	16
<i>3.7.1</i>	<i>Confecção das lâminas histológicas</i>	<i>16</i>
<i>3.7.2</i>	<i>Análise descritiva dos sítios pós-exodontia.....</i>	<i>17</i>
3.8	Análise estatística	17
3.9	Aspectos Éticos	17
4	RESULTADOS	18
4.1	Da perda de animais, de animais excluídos e da presença de fratura radicular..	18
4.2	Análise tomográfica	18
4.3	Análise histológica.....	20
5	DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS ..	26

1 INTRODUÇÃO

1.1 Reabsorção óssea alveolar

A reabsorção do processo alveolar após a extração dentária é um processo fisiológico comum, sendo uma condição progressiva e irreversível (Mandarino *et al.*, 2018). Alterações dimensionais têm sido relatadas principalmente no primeiro ano, culminando com redução da largura e altura da crista alveolar. Essas mudanças ocorrem principalmente nos primeiros 3 meses pós-extração, podendo levar à redução da largura da crista alveolar em até 50%. (Chappuis, Araújo, Buser, 2017).

A reabsorção horizontal é mais considerável na cortical vestibular, com deslocamento palatino da crista óssea residual e colapso do tecido mole de suporte, principalmente em áreas estéticas e na região de pré-molares (Santana *et al.*, 2018). Já a reabsorção vertical está mais presente na região posterior dos maxilares, podendo acarretar perda da altura óssea da crista alveolar até as estruturas nobres adjacentes, tais como seio maxilar e canal mandibular (Strumbas *et al.*, 2019).

1.2 Regeneração óssea/tecidual guiada

As alterações biológicas tridimensionais em tecidos duros e moles, podem dificultar a reabilitação com implantes dentários e comprometer a estética. Uma abordagem contemporânea que tem sido utilizada com sucesso é a denominada preservação alveolar. Nela, seguindo os princípios da regeneração óssea/tecidual guiada, imediatamente após uma exodontia, a instalação de barreiras biológicas sobre o alvéolo pode trazer uma série de vantagens no sentido de minimizar o processo de reabsorção óssea alveolar fisiológica. Esta técnica reduz a perda de volume alveolar, tanto horizontal quanto vertical, mantém maior estrutura óssea de suporte aos tecidos moles e, como consequência, possibilita melhores resultados estéticos nas reabilitações implanto suportadas (Pagni *et al.*, 2012).

1.3 Barreiras mecânicas

As membranas são exemplos de barreiras mecânicas. Dentro da técnica de preservação alveolar, são usadas com o objetivo de controlar a dinâmica da cicatrização, protegendo a região

de defeito ósseo da invasão de tecido mole com presença de células epiteliais e de tecido conjuntivo em proliferação. Desta forma, promove um ambiente favorável para a migração e desenvolvimento de células derivadas da medula óssea com potencial regenerativo, como osteoblastos e fibroblastos (Rothmel *et al.*, 2014).

Para obter resultados favoráveis, as membranas devem apresentar certas propriedades como bioatividade, biocompatibilidade, viabilidade celular, estabilidade dimensional e capacidade de manutenção do volume durante o processo de cicatrização (Ueyama *et al.*, 2002; Bunyaratavej, Wang, 2001).

As membranas são frequentemente divididas em relação à sua degradabilidade. Membranas não absorvíveis, como o politetrafluoroetileno expandido (ePTFE), possuem a desvantagem de necessitar de serem removidas em um segundo momento cirúrgico, enquanto as membranas reabsorvíveis não requerem procedimentos adicionais (Teng *et al.*, 2008). Atualmente, o uso das membranas reabsorvíveis tem sido cada vez maior, sendo as de lenta biodegradação as mais amplamente utilizadas pelo seu maior potencial de promover a regeneração (Palachur *et al.*, 2014; Baek *et al.*, 2016). A maioria das membranas de colágeno atualmente disponíveis na clínica odontológica são feitas de colágeno tipo I e III de origem suína ou bovina (Chang *et al.*, 2017) e sua biodegradação se torna uma vantagem em relação às membranas não absorvíveis, tornando desnecessário o protocolo cirúrgico de dois estágios (Costa e Silva *et al.*, 2017).

Novos estudos buscam materiais biológicos como alternativa de baixo custo. A pele da tilápia do Nilo surge como uma possibilidade, sendo um promissor biomaterial na medicina regenerativa devido às suas características microscópicas semelhantes à estrutura morfológica da pele humana e elevada resistência à tração. Formada por feixes de colágeno compactados, longos e organizados, predominantemente do tipo I, apresenta considerável importância para sua aplicabilidade clínica (Alves *et al.*, 2015).

Diante da crescente utilização da pele da tilápia no processo cicatricial de queimados, seu potencial curativo biológico e suas propriedades físicas compatíveis com os procedimentos de preservação alveolar (Lima Júnior *et al.*, 2020), além da falta de estudos semelhantes na literatura, justifica-se a realização deste estudo em busca de aumentar a sua aplicabilidade clínica na área da odontologia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar a viabilidade da aplicação da pele da Tilápia do Nilo como membrana biológica em alvéolos dentários de ratos pós-exodontia.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a cicatrização óssea de alvéolos de ratos nos períodos de 12 e 24 dias pós-exodontia com o uso de pele de Tilápia como membrana biológica e comparar com grupos-controle positivo e negativo.
- Quantificar as alterações ósseas alveolares verticais com a tomografia computadorizada nos períodos de 12 e 24 dias pós-exodontia com o uso da pele da Tilápia como membrana biológica e comparar com os grupos-controle positivo e negativo.
- Analisar histologicamente os alvéolos de ratos nos períodos de 12 e 24 dias pós-exodontias com o uso da pele da Tilápia como membrana biológica e comparar com grupos-controle positivo e negativo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostra Animal e divisão dos grupos

Foram utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, com peso entre 180 e 220g. Os animais foram mantidos com água e ração livre, em ciclo de claro-escuro de 12 horas e temperatura entre 20 e 25° C.

A amostra foi aleatoriamente dividida (com auxílio da ferramenta de aleatorização, Microsoft Excel, 2007, Microsoft Corporation®), em 3 grupos de 20 animais cada, identificados da seguinte forma:

- Grupo controle negativo: não foi utilizado nenhum meio de barreira no alvéolo pós exodontia.
- Grupo controle positivo: foi utilizada a membrana de colágeno reabsorvível (Geistlich Bio-Gide®), como barreira biológica.
- Grupo experimental: foi utilizada a pele da tilápia como barreira biológica.

Em seguida, cada grupo foi dividido em 2 subgrupos de 10 animais cada, de acordo com os tempos de sacrifício pós-exodontia de 12 e 24 dias.

3.2 Protocolo Experimental

O procedimento cirúrgico seguiu o modelo descrito por Ferreira Junior *et al.* (2016) porém com a escolha de exodontia do primeiro molar superior esquerdo. A preferência da escolha pelo dente superior se deu pela dificuldade técnica encontrada na estabilização das membranas no alvéolo inferior, devido às estruturas adjacentes como língua e mucosa vestibular dificultarem a realização das suturas sobre os alvéolos.

3.2.1 Procedimento cirúrgico de exodontia

Após anestesia com quetamina 80mg/kg e xilazina 20mg/kg, por via intraperitoneal, realizou-se sindesmotomia do 1º molar superior esquerdo com auxílio de espátula Hollembach 3S e exodontia com espátula Lecron em movimento de alavanca (Técnica adaptada de Maahs *et al.*, 2011 e Alves *et al.*, 2007).

Todas as exodontias foram realizadas pelo mesmo operador, previamente treinado. Os animais foram aleatorizados quanto à ordem que foram submetidos ao procedimento cirúrgico

(ferramenta de aleatorização do software Microsoft Excel®), no intuito de dissipar o erro de força e cansaço do operador. O número de fraturas radiculares e o tempo para remoção dos dentes também foram registrados para viabilizar uma padronização entre os procedimentos.

3.2.2 Preparo das Membranas

3.2.2.1 Membrana de Colágeno

Geistlich Bio-Gide®: membrana de colágeno reabsorvível com estrutura em dupla camada, de formato retangular, medindo 30x40mm. Essa membrana foi manipulada em ambiente estéril, de modo a viabilizar o recorte da peça em dimensões e formato que se ajustasse ao alvéolo do animal.

3.2.2.2 Membrana da pele da Tilápia do Nilo

As membranas utilizadas neste estudo foram cedidas pelo Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), que forneceu amostras previamente tratadas quimicamente e radioesterilizadas (Figura 1).



Figura 1: Membrana da pele da Tilápia do Nilo utilizada na pesquisa.

As membranas foram manipuladas em ambiente estéril e hidratadas por 15 minutos em soro fisiológico, conforme o protocolo já estabelecido na aplicação do curativo biológico em queimados, para então ser recortada em dimensões e formato que se ajustasse ao alvéolo do animal (Alves *et al.*, 2018).

3.3 Divisão dos Grupos

Após a exodontia, no grupo controle negativo, o alvéolo recebeu uma sutura simples com fio nylon 5.0 sem o recobrimento do mesmo.

No grupo controle positivo, foi aposicionada a membrana de colágeno reabsorvível (Geistlich Bio-Gide®) recortada em dimensões adaptáveis ao alvéolo do animal, posicionada entre o alvéolo e o tecido mole adjacente, e suturada com fio nylon 5.0 para aproximação das bordas e estabilização da membrana.

No grupo experimental, foi aposicionada a pele da tilápia previamente preparada, adaptada entre o alvéolo e o tecido mole adjacente, e suturada com fio nylon 5.0 para aproximação das bordas e estabilização da membrana.

3.4 Eutanásia

A eutanásia dos animais de cada grupos foi realizada conforme o desenho experimental, de modo que 10 animais foram sacrificados 12 dias após o procedimento inicial e 10 animais após 24 dias, em cada um dos grupos.

A eutanásia foi realizada através da administração de uma superdosagem de anestésico local (3x a dose usada na anestesia) por via endovenosa.

3.5 Coleta e preparo das amostras

As maxilas foram removidas cirurgicamente e as peças foram armazenadas em formol neutro à 10% até o momento das análises.

3.6 Análise imagiológica

Todas as maxilas coletadas foram submetidas à exame de tomografia computadorizada de feixe cônico (Cone Beam) em aparelho Morita Veraview X800® (J. Morita Corporation), em modo High Definition (HD) e com campo de visão (FOV) 4X4cm em cada uma das maxilas.

As imagens foram analisadas no programa Imaging Studio® (Anne Solutions), com a possibilidade de visualização em cortes axiais, sagitais e coronais. Foram selecionados os cortes centrais em cada um dos 5 alvéolos presentes na região do dente extraído.

Foram realizadas duas medidas verticais em cada alvéolo. A primeira medida determinou a distância do ápice do alvéolo à margem óssea proximal, sendo esta considerada a medida controle da altura total do alvéolo (100%), e outra do ápice do alvéolo à superfície do osso neoformado, sendo esta considerada a medida de teste (Figura 2).

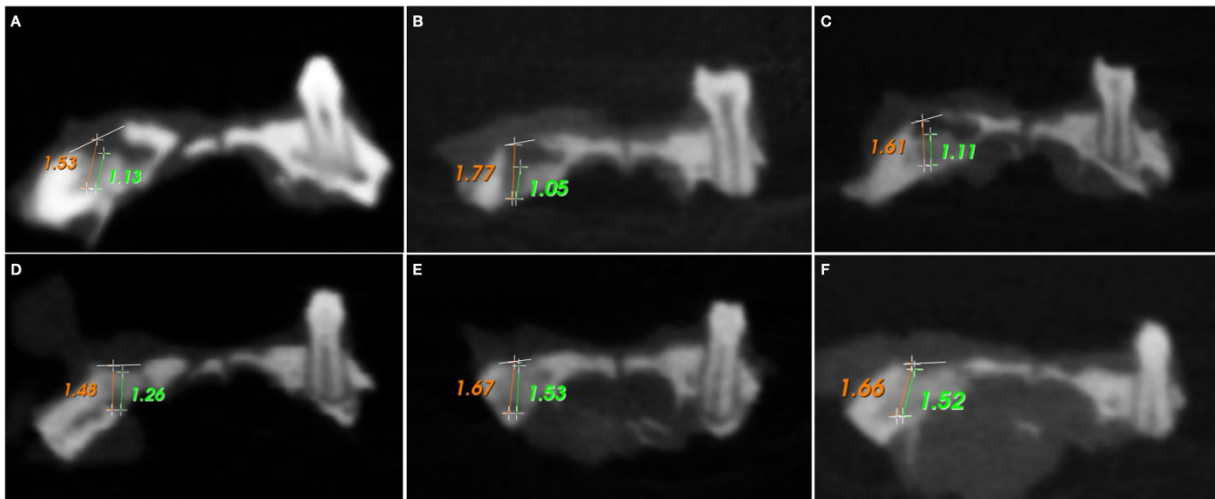


Figura 2: Imagens dos cortes tomográficos realizados em alvéolos da raiz mesial. A-animal do grupo controle negativo, 12 dias. B-animal do grupo controle positivo, 12 dias. C-animal do grupo experimental, 12 dias. D-animal do grupo controle negativo, 24 dias. E-animal do grupo controle positivo, 24 dias. F-animal do grupo experimental, 24 dias.

Os alvéolos que apresentavam fragmentos de raízes fraturadas foram desconsiderados, sendo realizada então uma média dos valores encontrados nos alvéolos em cicatrização, tanto com a medida controle como com a medida de osso neoformado.

Registrou-se ainda a presença ou não de fratura óssea na maxila analisada. Quando a fratura inviabilizou a análise a ser realizada, o animal foi desconsiderado.

3.7 Análise histológica

3.7.1 Confeção das lâminas histológicas

As maxilas foram descalcificadas em solução 10% EDTA (pH 7.3; NaOH, PA) (Behari e Behari, 2007; Keklikoglu, 2004), durante 30 dias, sendo mantidas em suspensão. Após descalcificação, o material foi incluído em parafina por processamento automatizado PT05 LupTec®, cortado em espessura de 3 µm e corado pela Hematoxilina-eosina em lâminas montadas com bálsamo do Canadá (Junqueira, Junqueira, 1983; Timm 2005) para posterior análise qualitativa e quantitativa por microscopia de luz convencional.

3.7.2 Análise descritiva dos sítios pós-exodontia

A cicatrização dos alvéolos dentários foi analisada por um patologista experiente, de maneira cega, tendo como principais parâmetros: infiltrado inflamatório ausente, discreto e denso e o padrão de cicatrização óssea alveolar (alvéolo cicatrizado, parcialmente cicatrizado e não cicatrizado).

3.8 Análise Estatística

Todos os dados colhidos em cada uma das análises foram tabulados em planilha eletrônica do software Microsoft Excel® e submetidos à análise estatística.

Os dados foram expressos em forma de média e erro padrão da média, submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e comparados entre si por meio dos testes t de Student (análise intra grupo) ou ANOVA/Bonferroni (análise entre grupos). Todas as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95% no software GraphPad Prism 5.0.

3.9 Aspectos Éticos

O presente estudo foi submetido à apreciação pelo comitê de ética em pesquisa animal do Centro Universitário Christus, sendo aprovado sob o protocolo 016/20, em 30 de setembro de 2020.

Do ponto de vista de direitos autorais, o presente estudo faz parte de um acordo de confiabilidade e sigilo mantido entre os pesquisadores e os detentores da patente de utilização da Pele de Tilápia do Nilo.

4 RESULTADOS

4.1 Da perda de animais, de animais excluídos e da presença de fratura radicular.

Dos 60 animais incluídos no experimento, 5 morreram, sendo 1 no grupo controle negativo, 3 no grupo controle positivo e 1 no grupo experimental.

Quanto à viabilidade técnica de mensurar as alturas ósseas propostas no presente estudo, 11 animais foram excluídos, seja por ausência de estrutura óssea preservada na região alveolar ou por inviabilidade de perceber tais estruturas na tomografia. Dos referidos animais, 5 foram do grupo controle negativo, 5 do controle positivo e 1 do grupo experimental.

Desconsiderando os animais excluídos do estudo, o grupo controle negativo ficou com 14 animais (7 com 12 dias e 7 com 24 dias), o grupo controle positivo com 12 animais (6 com 12 dias e 6 com 24 dias) e o grupo experimental com 18 animais (9 com 12 dias e 9 com 24 dias), totalizando 44 animais no estudo.

Quanto à presença de fratura radicular, 10 animais não tiveram nenhuma fratura radicular, 15 animais apresentaram fratura de 1 raiz, 14 animais apresentaram fratura de 2 raízes e 5 animais apresentaram fratura de 3 raízes. Quando remanescentes radiculares estavam presentes, apenas os alvéolos vazios foram levados em consideração.

4.2 Análise tomográfica:

De 12 para 24 dias após a exodontia, tanto o grupo controle negativo (51.51 ± 5.06 para $66.77 \pm 4.23\%$, $p=0,025$), como o controle positivo (64.17 ± 3.98 para $78.11 \pm 2.05\%$, $p=0,001$) bem como o grupo experimental (52.03 ± 2.28 para $61.50 \pm 3.01\%$, $p=0.016$) mostraram aumento significativo do percentual de neoformação óssea. Tanto após 12 dias ($p=0,042$) como após 24 dias ($p<0,001$) o grupo controle positivo apresentou maior percentual de neoformação óssea quando comparado aos grupos controle negativo e experimental (Figura 3).

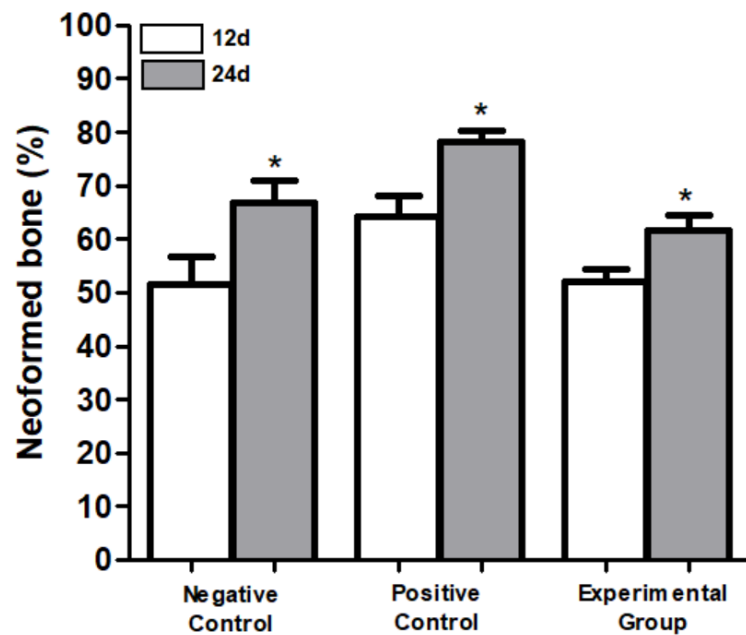


Figura 3: Análise de osso neoformado de alvéolos dentários de ratos submetidos a exodontia e tratados com diferentes membranas de recobrimento ósseo
* $p < 0,05$ versus 12d (teste t de Student ; média \pm EPM)

A variação de neoformação óssea de 12 para 24 dias foi significativamente menor no grupo controle negativo ($+27.24 \pm 2.13\%$) comparado com os grupos controle positivo ($+46.36 \pm 2.03\%$) e com o grupo experimental ($+39.33 \pm 1.39\%$). O grupo experimental mostrou menor variação de neoformação óssea de 12 para 24 dias comparado com o grupo controle positivo ($p < 0,001$) (Figura 4).

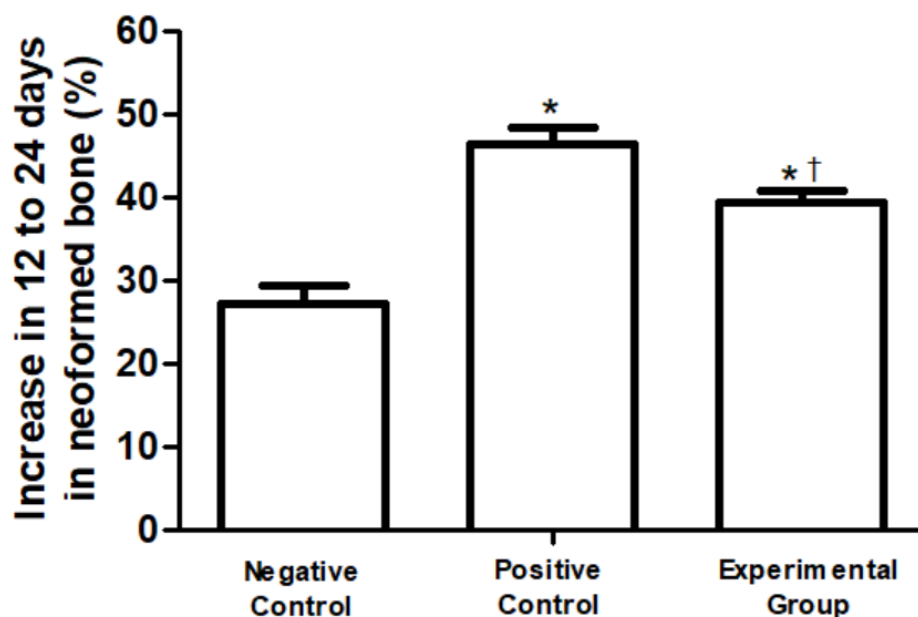


Figura 4: Análise da variação de osso neoformado de alvéolos dentários de ratos submetidos a exodontia e tratados com diferentes membranas de recobrimento ósseo
* $p < 0,05$ versus negative control; † $p < 0,05$ versus positive control (teste ANOVA/Bonferroni; média±EPM)

4.3 Análise histológica

A análise histológica revelou a composição celular presente na amostra, além da categorização quanto à presença de infiltrado inflamatório (ausente, discreto ou denso), assim como da classificação quanto à cicatrização óssea (ausente, parcial ou total).

A variação da presença (diminuição) de infiltrado inflamatório de 12 para 24 dias foi estatisticamente significativa nos grupos controle negativo ($p=0,042$) e controle positivo ($p=0,001$). Porém, não foi estatisticamente significativa no grupo experimental ($p=0,245$).

Analisando a diferença da presença de infiltrado inflamatório apenas no subgrupo de 12 dias, a variação não se mostrou estatisticamente significativa ($p=0,251$) entre os grupos, ao contrário do subgrupo de 24 dias, onde a diferença foi maior no grupo experimental em relação aos grupos (controle positivo e negativo).

A variação de cicatrização óssea de 12 para 24 dias foi estatisticamente significativa nos grupos controle negativo ($p=0,006$) e positivo ($p=0,12$). Porém, não se mostrou significativa no grupo experimental ($p=0,206$).

Em relação à diferença de cicatrização entre os grupos no prazo de 12 dias, essa variação não foi significativa estatisticamente ($p=0,714$), assim como no prazo de 24 dias ($p=0,100$).

	Controle negativo		<i>p-Valor</i>	Controle positivo		<i>p-Valor</i>	Experimental		<i>p-Valor</i>	<i>p-Valor</i>	<i>p-Valor</i>
	12D	24D		12D	24D		12D	24D		12D	24D
Infiltrado inflamatório											
Ausente	0	4	0,042 *	0	5	0,001 *	0	0	0,245	0,251	0,045 *
Discreto	3	4		0	3		3	6			
Denso	6	2		7	0		6	4			
Cicatrização óssea											
Não cicatrizado	5	2	0,006 *	3	1	0,012 *	4	1	0,206	0,714	0,100
Parcialmente cicatrizado	4	1		4	1		4	6			
Cicatrizado	0	7		0	6		1	3			

Tabela 1: Análise da variação de infiltrado inflamatório e cicatrização óssea em alvéolos dentários de ratos submetidos a exodontia e tratados com diferentes membranas de recobrimento ósseo

* $p < 0,05$ Teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n,%)

5 DISCUSSÃO

A extração dentária é um procedimento que frequentemente resulta alterações morfológicas do osso alveolar e dos tecidos moles circundantes. Isso decorre de uma cascata complexa de eventos bioquímicos e histológicos durante o processo reparativo com subsequente diminuição do volume alveolar (Caplanis, Lozada e Kan, 2005). Diversos estudos têm propostos variadas técnicas de preservação alveolar após extrações dentárias, incluindo preenchimento de diferentes materiais de enxertia e/ou posicionamento de membranas para vedar a parte oclusal do alvéolo (Jung *et al.*, 2000). Quando possível, também se indica a instalação imediata de implante em associação a enxerto ósseo e barreiras mecânicas para manutenção do volume ósseo alveolar após a extração dentária (Avila-Ortiz *et al.*, 2019). Tais técnicas, quando associadas, proporcionam menores mudanças dimensionais quando comparadas à cicatrização espontânea. Sabe-se que em reparações alveolares espontâneas, a perda óssea vertical pode chegar à 22% e a redução horizontal à 63% após 6 meses (Jung *et al.*, 2000).

A busca por membranas de fácil manufatura, biocompatíveis e de baixo custo é uma constante nas pesquisas relacionadas à temática de preservação alveolar. Diante do alto custo das membranas reabsorvíveis seletivas, da possibilidade de doenças zoonóticas, problemas alérgicos relacionados às membranas com colágeno de origem bovina ou suíno e questões religiosas, outras fontes de colágeno estão a ser exploradas para compor barreiras que possam ser utilizadas em curativos biológicos e técnicas regenerativas (Sun *et al.*, 2017).

A pele da Tilápia do Nilo tem emergido como um material biológico promissor para recobrimento de feridas e queimaduras em humanos (Lima Júnior *et al.*, 2017). As principais características físicas são sua resistência à tração e boa aderência tecidual. Seus aspectos histomorfológicos e bioquímicos positivos resultam da abundância de colágeno tipo I, que estimulam fatores de crescimento de fibroblastos, que por sua vez liberam fatores de crescimento de queratinócitos, citocinas importantes no processo de cicatrização de feridas (Tang e Saito, 2015). Esta foi escolhida na presente pesquisa por ter demonstrado boas características biológicas no que concerne a esses aspectos. Adicionalmente, até o momento da escrita dessa dissertação, não se observou nenhum artigo publicado na literatura que tenha avaliado seu uso como barreira mecânica objetivando minimizar as perdas dimensionais alveolares pós-extração. Nesse contexto, a pergunta principal da pesquisa procurou responder como a pele de Tilápia se comporta e quais as alterações histológicas e reparativas ocorrem

utilizando-a como barreira contra a invasão de tecidos molares em alvéolos de ratos pós-exodontias.

Os resultados volumétricos e histológicos buscaram realizar uma análise temporal evolutiva de 12 dias (período intermediário) e 24 dias (período avançado) do processo cicatricial alveolar. Os tempos estabelecidos para a avaliação dos resultados podem ser vistos à luz de que um processo completo de reparação em ratos descrito na literatura é de aproximadamente 21 dias (Okamoto, 1964; Lamano Carvalho *et al.*, 1997).

Pôde-se observar que tanto no período de 12 quanto no período de 24 dias, o grupo controle positivo se mostrou superior quanto ao percentual de osso neoformado. Os grupos controle negativo e experimental apresentaram percentuais similares de neoformação óssea/ocupação alveolar. Vale ressaltar que, mesmo com resultados inferiores ao grupo controle positivo, o grupo experimental mostrou que a pele da Tilápia permitiu uma boa cicatrização óssea em ambos os períodos estudados na presente pesquisa. Resultados que puderam ser validados na análise histológica, onde não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao padrão de cicatrização óssea (alvéolo cicatrizado, parcialmente cicatrizado ou não cicatrizado) em uma comparação entre os grupos no período de 12 dias, assim como no período de 24 dias.

Além disso, a variação de neoformação óssea/ocupação alveolar entre os dois períodos avaliados pôde indicar como a pele de Tilápia se comporta quando utilizada como membrana. Houve uma variação significativamente maior de neoformação óssea de 12 para 24 dias nos grupos controle positivo e experimental, onde foram utilizadas membranas como barreiras mecânicas sobre os alvéolos. Esposito e colaboradores (2009) e Hammerle (2011) concordam que a técnica envolvendo enxerto ósseo e uma membrana reabsorvível como barreira mecânica mostram resultados mais favoráveis em procedimentos de preservação alveolar, com real possibilidade de sucesso em reabilitações com implantes dentários. Uma revisão sistemática de Sanz-Sanches e colaboradores (2015) relatou que a combinação de enxerto ósseo xenógeno com uma membrana de colágeno reabsorvível é o procedimento de regeneração óssea guiada mais amplamente utilizado e com resultados mais favoráveis.

Atualmente, as membranas podem ser classificadas como reabsorvíveis ou não reabsorvíveis. Diante de resultados equivalentes no que diz respeito ao ganho de inserção clínica e manutenção de volume ósseo, por apresentarem menor risco de complicações pós-operatórias e não haver necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para remoção, as membranas reabsorvíveis têm sido amplamente utilizadas nos procedimentos de regeneração óssea e tecidual guiadas (Merli *et al.*, 2014). As membranas a serem utilizadas devem conter

características como bioatividade, biocompatibilidade, estabilidade dimensional e boa integração aos tecidos locais, de modo que consiga evitar a migração e o crescimento de células epiteliais do tecido mole adjacente, permitindo assim uma cicatrização óssea adequada, com a colonização e proliferação de células osteoblásticas (Chang *et al.*, 2017 ; Sanz-Martin, 2017). Tais características foram evidenciadas nos resultados deste trabalho, quando a variação de neoformação óssea de 12 para 24 dias do grupo experimental foi superior ao grupo controle negativo. Resultado que pode ser justificado devido à membrana da pele de Tilápia se comportar como uma barreira mecânica, impedindo a proliferação de células epiteliais e proporcionando um melhor cenário para a cicatrização alveolar. Porém, essa variação de neoformação óssea se mostrou menor no grupo experimental quando comparado ao grupo controle positivo. Tal achado pode ser justificado pela não diminuição significativa de infiltrado inflamatório no grupo experimental no prazo de 24 dias.

Correlacionando os resultados do percentual de neoformação óssea/ocupação alveolar encontrados na análise imaginológica com a variação do padrão de cicatrização óssea encontrado na análise histológica, percebeu-se que a pele da Tilápia permitiu uma regeneração óssea satisfatória. E mesmo apresentando uma variação de cicatrização inferior ao grupo controle positivo, notou-se além da manutenção do osso neoformado com 12 dias, uma evolução da regeneração até o período final da cicatrização alveolar. Resultado promissor quando se pensa na possibilidade de ter uma membrana biológica de baixo custo como uma opção a mais no tratamento de pacientes que necessitam de reabilitações implanto suportadas, impactando principalmente as populações de baixa renda.

6 CONCLUSÃO

Diante do que foi observado, conclui-se que a membrana a base de colágeno da pele da Tilápia do Nilo se mostrou eficaz como uma barreira biológica recobrimdo os alvéolos de ratos pós-exodontia. Suas características permitiram sua utilização cirúrgica, com resultados superiores quando comparados com a situação de não recobrimento.

Novos estudos devem ser realizados com amostras maiores e envolvendo outras técnicas como instalação de implantes e enxerto ósseo associados às membranas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. P. N. N. *et al.* **Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo.** Revista Brasileira de Queimaduras, [s.l.], v. 14, n. 3, p. 203-210, 2015. Disponível em: <http://rbqueimaduras.org.br/details/263/pt-BR/avaliacao-microscopica--estudo-histoquimico-e-analise-de-propriedades-tensiometricas-da-pele-de-tilapia-do-nilo>. Acesso em: 05 abr. 2022.
- ALVES, A. P. N. N. *et al.* **Radiographic and histological evaluation of bisphosphonate alendronate and metotrexate effects on rat mandibles inoculated with Walker 256 carcinosarcoma.** Acta Cirúrgica Brasileira, [s.l.], v. 22, n. 6, p. 457-464, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502007000600008>. Acesso em: 05 abr. 2022.
- ALVES, A. P. N. N. *et al.* **Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in nile tilapia skin submitted to different sterilization methods.** Cell and tissue banking, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 373–382, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9681-y>. Acesso em: 05 abr. 2022.
- AVILA-ORTIZ, G. *et al.* **Effect of alveolar ridge preservation after tooth extraction.** Journal of Dental Research, [s.l.], v. 93, n. 10, p. 950–958, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4293706>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- BAEK, Y. J. *et al.* **Chitin-fibroin-hydroxyapatite membrane for guided bone regeneration: micro-computed tomography evaluation in a rat model.** Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery, [s.l.], v. 38, n. 1, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4803803>. Acesso em: 11 jul. 2022.
- BUNYARATAVEJ, P.; WANG, H. L. **Collagen Membranes: A Review.** Journal of Periodontology, [s.l.], v. 72, n. 2, p. 215-229, 2001. Disponível em: <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1902/jop.2001.72.2.215>. Acesso em 03 jun. 2022.
- CAPLANIS, N.; LOZADA, J. L.; KAN, J. Y. K. **Extraction defect assessment, classification, and management.** Journal of the California Dental Association, [s.l.], v. 33, n. 11, p. 853-863, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19424396.2005.1222428>. Acesso em: 11 jul. 2022.
- CHANG, H. *et al.* **Comparative, randomized, double-blind clinical study of alveolar ridge preservation using an extracellular matrix-based dental resorbable membrane in the extraction socket.** Journal of Periodontal & Implant Science, [s.l.], v. 47, n. 3, p. 165, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5494311>. Acesso em 11 jul. 2022.
- CHAPPUIS, V.; ARAÚJO, M. G.; BUSER, D. **Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites.** Periodontology 2000, [s.l.], v. 73, n. 1, p. 73-83, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/prd.12167>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- COSTA E SILVA, E. *et al.* **Hyaluronic acid on collagen membranes: An experimental study in rats.** Archives of Oral Biology, [s.l.], v. 73, p. 214-222, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.016>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ESPOSITO, M. *et al.* **Interventions for replacing missing teeth: horizontal and vertical bone augmentation techniques for dental implant treatment.** The Cochrane Database Syst Ver, [s.l.], v. 2009, n. 4, CD003607, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6786878>. Acesso em: 01 fev. 2023.

FERREIRA JÚNIOR, A. E. C. **Avaliação da influência da terapia por infliximabe na cicatrização óssea de alvéolos dentários pós-exodontia em ratos.** Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/16315>. Acesso em: 10 abr. 2022.

HÄMMERLE, C. H. F. *et al.* **Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets.** Clinical Oral Implants Research, [s.l.], v. 23, n. 5, p. 641-641, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02370.x>. Acesso em: 15 ago. 2023.

JILKA, R. L.; NOBLE, B.; WEINSTEIN, R. S. **Osteocyte apoptosis.** Bone, [s.l.], v. 54, n. 2, p. 264-271, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624050>. Acesso em: 10 abr. 2022.

JUNG, R. E. *et al.* **Alveolar ridge preservation in the esthetic zone.** Periodontology 2000, [s.l.], v. 77, n. 1, p. 165-175, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12209>. Acesso em: 01 fev. 2023.

LAMANO CARVALHO, T. L.; BOMBONATO, K. F.; BRENTGANI, L.G. **Histometric analysis of rat alveolar wound healing.** Brazilian Dental Journal, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 9-12, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9485631>. Acesso em: 01 fev. 2023.

LIMA JÚNIOR, E. M. *et al.* **Innovative burn treatment using Tilapia skin as a xenograft: A phase II randomized controlled trial.** Journal of burn care & research, [s.l.], v. 41, n. 3, p. 585–592, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jbcr/irz205>. Acesso em: 05 abr. 2022.

LIMA JÚNIOR, E. M. *et al.* **Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras.** Revista Brasileira de Queimaduras, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 10-17, 2017. Disponível em: <http://rbqueimaduras.org.br/details/341/pt-BR/uso-da-pele-de-tilapia--oreochromis-niloticus---como-curativo-biologico-oclusivo--no-tratamento-de-queimaduras>. Acesso em: 05 abr. 2022.

MAAHS, M. P. *et al.* **Association between bisphosphonates and jaw osteonecrosis: A study in Wistar rats.** Head & Neck, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 199-207, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hed.21422>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MANDARINO, D. *et al.* **Alveolar ridge preservation using a non-resorbable membrane: randomized clinical trial with biomolecular analysis.** International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, [s.l.], v. 47, n. 11, p. 1465-1473, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.06.011>. Acesso em: 10 abr. 2022.

MERLI, M. *et al.* **Bone level variation after vertical ridge augmentation: Resorbable barriers versus titanium-reinforced barriers. A 6-year double-blind randomized clinical trial.** The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, [s.l.], v. 29, n. 4, p. 905–913, 2014. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25032771/#:~:text=The%20mean%20bone%20level%206,or%20complications%20occurred%20after%20loading>. Acesso em: 01 fev. 2023.

OKAMOTO, T. **Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo alveolar após extrações dentais [tese]**. Araçatuba (SP): Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araçatuba, 1964.

PALACHUR, D. *et al.* **A comparative evaluation of bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) and type I collagen membrane (Bio-Gide) with bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) and fibrin fibronectin sealing system (TISSEEL) in the treatment of intrabony defects: A clinico-radiographic study.** Journal of Indian Society of Periodontology, [s.l.], v. 18, n. 3, p. 336-343, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4095627>. Acesso em: 11 jul. 2022.

PAGNI, G. *et al.* **Postextraction alveolar ridge preservation: biological basis and treatments.** International Journal of Dentistry, [s.l.], v. 2012, p. 1-13, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3378971>. Acesso em: 27 abr. 2022.

ROTHAMEL, D. *et al.* **Biodegradation pattern and tissue integration of native and cross-linked porcine collagen soft tissue augmentation matrices – an experimental study in the rat.** Head & Face Medicine, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 1-10, 2014. Disponível em: <http://www.head-face-med.com/content/10/1/10>. Acesso em: 27 abr. 2022.

SANTANA, R. *et al.* **Synthetic polymeric barrier membrane associated with blood coagulum, human allograft, or bovine bone substitute for ridge preservation: a randomized, controlled, clinical and histological trial.** International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, [s.l.], v. 48, n. 5, p. 675-683, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.02.012>. Acesso em 27 abr. 2022.

SANZ-SANCHEZ I. *et al.* **Effectiveness of lateral bone augmentation on the alveolar crest dimension: a systematic review and meta-analysis.** Journal of Dental Research, [s.l.], v. 94, n. 9_suppl, p. 128S-142S, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034515594780>. Acesso em 27 abr. 2022.

STUMBRAS, A. *et al.* **Alveolar ridge preservation after tooth extraction using different bone graft materials and autologous platelet concentrates: a systematic review.** Journal of Oral & Maxillofacial Research, [s.l.], v. 10, n. 1, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6498816>. Acesso em: 27 abr. 2022.

SUN, L. *et al.* **Characterization of acid- and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).** International Journal of Biological Macromolecules, [s.l.], v. 99, p. 8-14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.057>. Acesso em: 04 fev. 2023.

TANG, J.; SAITO, T. **Biocompatibility of novel type I collagen purified from tilapia fish scale: an in vitro comparative study.** Biomed Research International, [s.l.], v. 2015, p. 1-8, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/139476>. Acesso em: 04 fev. 2023.

TENG, S.H. *et al.* **Three-layered membranes of collagen/hydroxyapatite and chitosan for guided bone regeneration.** Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied

Biomaterials, [s.l.], v. 87B, n. 1, p. 132-138, 2008. Disponível em:
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.31082>. Acesso em 03 jun. 2022.

UEYAMA, Y. *et al.* **Usefulness as guided bone regeneration membrane of the alginate membrane.** Biomaterials, [s.l.], v. 23, n. 9, p. 2027-2033, 2002. Disponível em:
[https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00332-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00332-5). Acesso em 03 jun. 2022.