

## Processamento e conservação de enxertos de pele: uma abordagem com foco nos métodos de criopreservação, liofilização e glicerolização

*Skin grafts processing and conservation: an approach focusing on cryopreservation, freeze-drying and glycerol conservation methods*

Jean Breno Silveira da Silva<sup>1</sup>, Leticia Araujo Lino<sup>2</sup>, Claudia Roberta de Andrade<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Biomédico pelo Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS) CE; <sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS) CE; <sup>3</sup>Biomédica pela UNIMAUÁ. Doutora em Farmacologia pela FMRP-USP. Laboratório de Pesquisa Translacional, Curso de Graduação em Biomedicina, Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS) CE

### Resumo

**Introdução:** o uso de substitutos cutâneos para o tratamento de diversas feridas graves é uma forma eficiente de prevenir infecções e favorecer o processo de reepitelização. No entanto, tecidos biológicos estão suscetíveis a degradação e contaminação. Por isso, devem ser submetidos a rigorosos protocolos de processamento e testes que comprovem suas contribuições benéficas e segurança de aplicação. **Objetivo:** trazer uma abordagem sobre as principais características dos métodos de criopreservação, glicerolização e liofilização e sua consequência nos aspectos imunológicos, microbiológicos e de viabilidade tecidual de enxertos de pele humana. **Metodologia:** foi realizada uma busca online utilizando as palavras chaves “criopreservação”, “liofilização”, “glicerolização”, “enxertos”, “processamento tecidual” e “engenharia dos tecidos” em múltiplas combinações nos bancos de dados PubMed, LILACS e ScienceDirect. **Resultados:** 200 artigos científicos foram obtidos, 26 excluídos por duplicidade, 92 selecionados para leitura integral a partir da leitura de seus resumos e 27 utilizados na construção desta revisão. A liofilização e a glicerolização são métodos semelhantes considerando a viabilidade tecidual. O uso de glicerol traz como principal desvantagem sua citotoxicidade quando comparado aos outros métodos. A criopreservação mantém os tecidos viáveis. Contudo, pode ser mais cara e trazer riscos de transmissão de microorganismos patogênicos. De modo geral, não é bem estabelecido quais os melhores métodos de conservação para uma adequada conservação da viabilidade dos enxertos de pele. **Considerações Finais:** os 3 métodos, liofilização, glicerolização e criopreservação, possuem aplicabilidade na conservação de enxertos. A falta de padronização na aplicação de enxertos apesar de sua frequente aplicação e a escassez de estudos recentes sobre o tema justificam o presente estudo. **Palavras-chaves:** Criopreservação. Liofilização. Glicerol. Feridas. Aloenxertos.

### Abstract

**Introduction:** the use of skin substitutes for treatment of several wounds is an efficient way to prevent infections and allow the re-epithelialization process. However, biological tissues are susceptible to degradation and contamination. Therefore, they must undergo rigorous processing and testing protocols that prove their beneficial contributions and application security. **Objective:** to bring an approach on the main characteristics of cryopreservation, freeze-drying and glycerol conservation methods and their implications on immunological, microbiological and tissue viability aspects when applied to human skin grafts. **Methodology:** a mostly online search was performed using the keywords “cryopreservation”, “freeze-drying”, “glycerol conservation”, “grafts”, “tissue processing” and “tissue engineering” in multiple combinations in PubMed, LILACS and ScienceDirect databases. **Results:** 200 scientific articles were rescued, 26 excluded by duplicity, 92 selected for full reading from the reading of their abstracts and 27 used in the construction of this review. Freeze-drying and glycerol conservation are similar methods, with glycerol conservation having greater economic advantage. The use of glycerol presents cytotoxicity when compared to the other methods. Cryopreservation keeps tissues viable, however, is more expensive and carry risks of transmission of pathogenic microorganisms. Overall, there is a lack of clarity about the importance of viability in the performance of skin grafts. **Final considerations:** the 3 methods have applicability in graft conservation. The lack of standardization in graft application despite its frequent application and the scarcity of recent studies on the subject justify the present study.

**Keywords:** Cryopreservation. Freeze Drying. Glycerol. Wounds. Allografts.

## INTRODUÇÃO

O uso de enxertos de pele possui múltiplas finalidades e, atualmente, é considerado como uma forma eficiente de prevenir infecções e estimular o processo de reepitelização em feridas. Em lesões graves por queimadura, por exemplo, sua aplicação é requerida frequentemente, sendo considerada como padrão-ouro

**Correspondente/Corresponding:** – \* Claudia Roberta de Andrade – Laboratório de Pesquisa Translacional, Centro Universitário Christus, (UNICHRISTUS) – End: Rua João Adolfo Gurgel, 133, CEP; 60192-345, Fortaleza, CE, Brazil. – Tel: +55 (85) 3265-8152 – E-mail: claudiarandrade@gmail.com.

para muitos quadros clínicos. Os enxertos de pele podem ser utilizados apenas com a finalidade de cobertura temporária ou permanecerem definitivamente no local da lesão (BLILEY *et al.*, 2016; CHIU; BURD; 2005).

A origem dos enxertos de pele pode variar, alguns são adquiridos a partir de fontes animais (xenoenxertos) e outros de fontes humanas, podendo-se ainda dividir os enxertos de origem humana em aloenxertos, quando advindos de um doador (vivo ou morto), geneticamente diferente, e autólogos, quando são obtidos do próprio paciente. Dentre os tipos de tecidos mais utilizados para enxertia em lesões provocadas na pele, pode-se destacar a pele cadavérica, comumente considerada para enxertos temporários (MOSER *et al.*, 2013; ORYAN *et al.*, 2017). Em relação as peles de origem animal, a pele suína, pele de rã e, mais recentemente, a pele de tilápia do Nilo, são destaques (ALVES *et al.*, 2015; LIMA-JUNIOR *et al.*, 2017; PICCOLO *et al.*, 2002).

Uma das grandes problemáticas em relação a enxertia de pele está na limitação da recuperação desses tecidos, principalmente de pele autóloga em pacientes vítimas de queimaduras extensas. Por isso, esses pacientes frequentemente necessitam do uso de enxertos alogênicos prontamente disponíveis. Todavia, estes materiais devem ser submetidos a rigorosos protocolos e testes para garantir suas contribuições benéficas e segurança de aplicação, uma vez que tecidos biológicos estão suscetíveis a degradação e contaminação, resultando na necessidade do uso de técnicas de conservação e otimização de armazenamento desses materiais (ALVES *et al.*, 2015; BEN-BASSAT *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 2011).

Para isso, métodos de preservação que incluem a criopreservação e a glicerolização são frequentemente usados. Ambos os métodos possuem ampla disseminação na preservação de variados tecidos e têm suas metodologias bem estabelecidas (BABU *et al.*, 2003; FAHMY *et al.*, 1993; SCHIOZER *et al.*, 2012). Já o uso do método de liofilização, segundo Franzen *et al.* (2013), teve sua realização em ampla escala, com a finalidade de conservação de pele humana pela primeira vez em 1955, nos Estados Unidos.

No entanto, é possível se verificar uma falta de padronização na escolha dos métodos pelos bancos de pele, o que pode estar relacionado a divergências entre

pesquisadores sobre os aspectos variados de cada um deles, incluindo seus impactos sobre o desfecho clínico dos pacientes (HERMANS, 2011; KEARNEY, 2005).

Assim, diante do exposto e da escassez de resultados da literatura sobre esse assunto, bem como de estudos que correlacionem os três métodos, principalmente quando se inclui a liofilização, este estudo de revisão visa realizar uma abordagem sobre os métodos utilizados no tratamento pré-clínico de tecidos requeridos para enxertia permanente ou como curativos biológicos temporários em feridas cutâneas.

Dessa forma, objetiva-se concentrar as principais características dos métodos de criopreservação, glicerolização e liofilização quando empregados em enxertos de pele humana, sobretudo aloenxertos. Aspectos metodológicos, imunológicos, microbiológicos e econômicos referentes a cada um desses métodos serão o foco deste trabalho, de modo a fornecer importante fonte de dados sobre o tema.

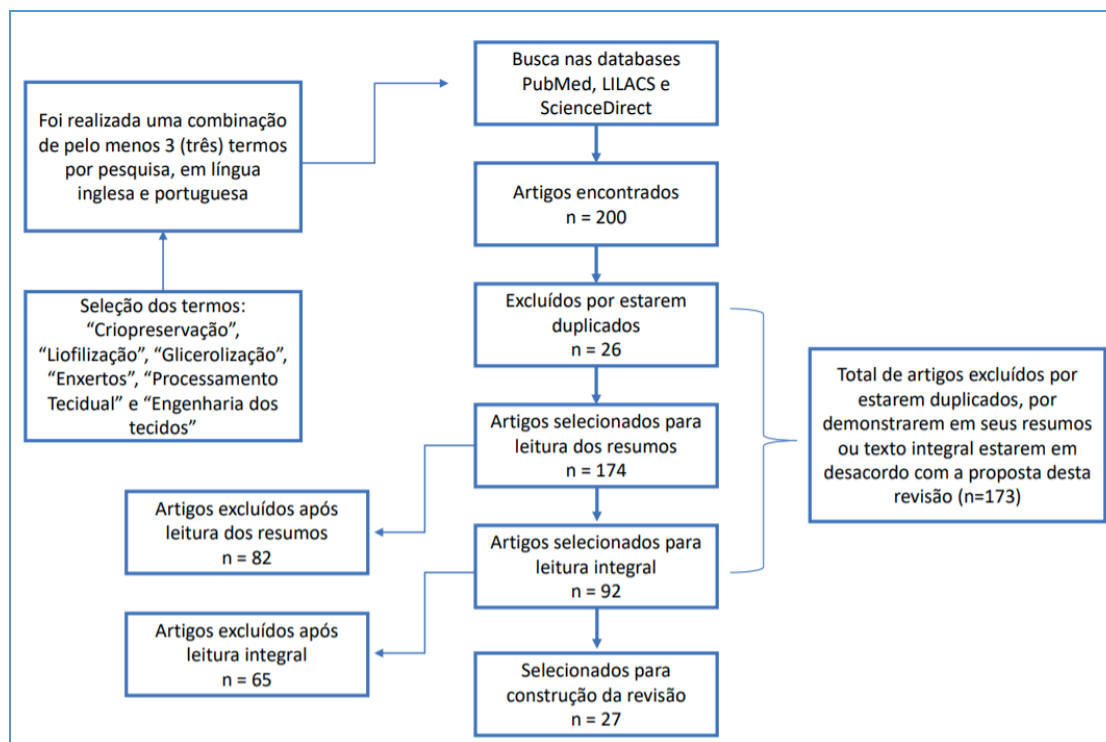
## METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma revisão bibliográfica, com uma busca de informações online. Foi realizada uma pesquisa nas plataformas do PubMed, LILACS e ScienceDirect. Ao realizar a busca, as palavras chaves criopreservação, liofilização, glicerolização, enxertos, processamento tecidual e engenharia dos tecidos foram utilizadas como base para a pesquisa. As palavras chaves foram empregadas de múltiplas formas nas plataformas online, respeitando-se a associação mínima de pelo menos três palavras por busca.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram obtidos pela busca, 200 artigos científicos nas bases de dados online selecionadas, a partir de combinações variadas entre as palavras chave escolhidas. 26 artigos foram excluídos por estarem duplicados e, após a análise dos artigos restantes (n = 174) foram selecionados para leitura integral, a partir da leitura de seus resumos, apenas 92. Assim, após análise detalhada de todas as fontes de dados investigadas, 27 artigos foram selecionados para a construção desta revisão.

Figura 1 – Fluxograma da seleção e análise dos artigos.



Fonte: Autoria própria

## Enxertos de Pele

Lesões cutâneas levam a perda das funções de barreira física, imunológica e de controle de temperatura conferidas pela pele, sendo comprovadamente possível minimizar esses efeitos nocivos com a aplicação de coberturas de tecidos sobre as lesões. Assim, o uso de enxertia possibilita mimetizar um estado de normalidade mínima, reduzindo infecções e favorecendo o processo cicatricial (GAUCHER *et al.*, 2012; GALLO, 2017).

Os autoenxertos possuem, indiscutivelmente, maior benefício para os pacientes tratados, sendo considerados como tratamento padrão-ouro em lesões variadas. Apesar disso, a disponibilidade desse tipo de enxerto muitas vezes é reduzida em alguns casos. Isso porque, vítimas de queimaduras extensas, por exemplo, tendem a ter menos regiões favoráveis/disponíveis para a coleta. Por isso, o uso de aloenxertos é comumente requerido como opção de tratamento. A maior desvantagem em relação ao aloenxertos parece óbvia: a incompatibilidade imunológica leva a uma resposta de rejeição após cerca de 7 a 12 dias, resultando na piora das lesões, caso o enxerto não seja removido (CLELAND *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2011; HOLZER *et al.*, 2017).

Dessa forma, a pele alogênica é utilizada apenas de modo temporário, realizando o papel de curativo biológico. Essa pele, entretanto, precisa ser removida e substituída, seja por enxerto de pele autóloga ou novo

enxerto de pele alogênico, antes do início da resposta imune (BEN-BASSAT *et al.*, 2001; ROBB *et al.*, 2001).

## Processamento dos Enxertos de Pele

Os protocolos da criopreservação, glicerolização e liofilização são bem estabelecidos, porém, os protocolos e critérios de escolha entre os métodos não é bem definido. Na Europa, a glicerolização vem sendo adotada pela maioria dos bancos de pele, enquanto nos Estados Unidos há uma preferência pelo uso da criopreservação. Já a liofilização, apesar de ter sido descrita como uma metodologia aplicável no processamento de tecidos para enxertia em ampla escala em 1955, possui poucos relatos de uso atual (BEN-BASSAT *et al.*, 2001; HERMANS, 2011; KEARNEY, 2005).

Os métodos de processamento/preservação usados para enxertos de pele possibilitam o armazenamento a longo prazo desses materiais, garantindo sua qualidade e eficácia no tratamento dos pacientes, além de sua imediata disponibilidade em casos emergenciais. De modo geral, os métodos preservativos são aplicados, quando em pele humana, majoritariamente a aloenxertos. Isso porque, autoenxertos não apresentam riscos significativos aos receptores, bem como não é comum o armazenamento de pele autóloga para aplicações futuras (FERREIRA *et al.*, 2011; HERSON *et al.*, 2018).

A preservação dos tecidos ocorre a partir de alterações conferidas por cada método, a quantidade de água

presente nos tecidos, ou na forma como essa água está disponível nesses materiais. Os três métodos agem reduzindo a atividade de água (aW) dos tecidos, medida que indica a quantidade de “água livre”. Essa água, por estar fracamente ligada à proteínas, é facilmente utilizada em diversas reações de degradação da matriz por hidrólise, bem como nas reações bioquímicas de micro-organismos (KEARNEY, 2005; ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

### Criopreservação e Liofilização

No processo de criopreservação o tecido é congelado em temperaturas ultrabaixas (aproximadamente -180°C) em nitrogênio líquido, de modo que a atividade celular seja reduzida e se evite tanto a degradação tecidual pelo processo natural de decomposição, como a ação metabólica de microrganismos. A criopreservação geralmente é usada quando se tem interesse na viabilidade celular, portanto, meios de nutrição celular são usados com frequência a fim de se manter as células viáveis por maior quantidade de tempo (FARRANT, 1980; KEARNEY, 2005; KUA *et al.*, 2012).

Já o método da liofilização é baseado no princípio da sublimação, de modo que a água presente nos tecidos, após congelamento, passe para o estado gasoso diretamente sem passar pela etapa de fusão. Para que isso ocorra, condições específicas de temperatura e pressão precisam ser criadas. Isso porque, quando a água sólida está a uma pressão abaixo de 4,58 mmHg e em temperaturas muito baixas, o fornecimento de calor resultará na passagem da fase sólida para a gasosa (sublimação) (FRANZEN *et al.*, 2013; KEARNEY, 2005; PEGG, 2006).

Para que o processo de liofilização seja considerado satisfatório, uma porcentagem de 0,5 % de atividade de água (aW) deve ser alcançada. Essa medida garante ao tecido submetido ao método, adequada segurança microbiológica e resistência a degradação por reações nas quais a água é necessária (FRANZEN, *et al.*, 2013; HERSON *et al.*, 2018; ROSS; KEARNEY, 2004).

O uso do glicerol ou dimetilsulfóxido (DMSO) a 10-15% é requerido, também, durante o processo de criopreservação e, algumas vezes, na liofilização. Eles são adotados como agentes crioprotetores destinados a evitar danos causados pela formação de cristais de gelo durante o congelamento dos tecidos. Além disso, fornecem melhor controle da tonicidade celular, evitando o acúmulo de sais extracelulares provocados pelo congelamento lento considerado ideal na criopreservação (BABU *et al.*, 2003; SCHIOZER *et al.*, 2012;).

Ambos os métodos, apesar de possuírem aplicabilidade no processamento de tecidos, apresentam como principal desvantagem a necessidade de maior treinamento daqueles que os executarão, além de equipamentos e ambientes relativamente sofisticados. Isso contribui para o encarecimento dessas técnicas e a dificuldade de utilizá-las em larga escala. Apesar disso, a criopreservação possui ampla disseminação entre os bancos de tecido.

Esse fato pode ser explicado pela crença de muitos pesquisadores na superioridade dos enxertos criopreservados frente aos processados por outros métodos (BEN-BASSAT *et al.*, 2001; HARITH, 2003; FRANZEN *et al.*, 2013; KEARNEY, 2005).

### Glicerolização e a atividade do glicerol nos enxertos de pele

Na glicerolização, o tecido é enxaguado com soluções de glicerol em diferentes concentrações, variando entre 50 a 85%. Após esse procedimento, o material permanece imerso nas diferentes concentrações e sob agitação por um período determinado até que esteja completamente desidratado para ser armazenado a 4°C (HERMANS, 2011; JAEGER *et al.*, 2012).

Alguns autores relatam que o glicerol ocupa o espaço intracelular da água nos tecidos, ressecando dessa forma os materiais e impedindo reações de degradação natural e/ou por microrganismos nas quais a presença de água é necessária. No entanto, autores como Ross e Kearney (2004) relatam a presença de água nos tecidos glicerolizados, evidenciando que a água não é substituída pelo glicerol, mas retida pela alta concentração de solutos nos quais tende a ficar ligada e, conseqüentemente, mantendo a hidratação do tecido.

Huang, Pegg e Kearney (2004) corroboram esse dado ao constatar que, no processo de glicerolização, apesar da redução inicial, a água total dos tecidos permanece em um valor aproximado de 11%. Quando comparado a liofilização, esse valor é considerado elevado, no entanto a pele glicerolizada pode ser armazenada por anos.

Dentre as principais desvantagens no uso do glicerol, seja no processo de criopreservação, liofilização ou na própria glicerolização, está o tempo consideravelmente extenso que o produto leva para sair do tecido no qual foi aplicado. Portanto, para a prática clínica, o glicerol pode representar um problema quanto ao tempo, que deve ser curto, de colocação do enxerto, bem como da retenção de alguma quantidade do produto no tecido enxertado. Esse último fator merece atenção devido a característica citotóxica do glicerol em temperatura ambiente, podendo levar a necrose muscular quando em concentrações elevadas no organismo (BRAVO, 2000; KEARNEY, 2005).

Os autores demonstraram ainda, em estudo comparativo entre o uso de glicerol e propilenoglicol ou propeno-1,2-diol, um ganho no tempo de colocação do enxerto de pele quando este é submetido ao tratamento com o segundo em detrimento do glicerol. Assim, os dados sugerem a possibilidade de substituição do glicerol, tendo em vista a maior rapidez com a qual o propilenoglicol é retirado dos tecidos. No entanto, para Lomas *et al.* (2003), essa técnica necessita de maior aprimoramento.

No que diz respeito ao potencial antimicrobiano do glicerol, pode-se destacar a ação citotóxica do glicerol como capaz de gerar um efeito duplo nos enxertos de pele. Sua citotoxicidade é capaz de inviabilizar tanto as

células do tecido a ser conservado, quanto àquelas de microrganismos presentes no tecido. Entretanto, apesar dos relatos da ação do glicerol sobre bactérias e vírus, incluindo o vírus do HIV-1, herpes-vírus simples 1 e, também, o vírus causador da poliomielite, a aplicação de métodos esterilizantes adicionais é considerada indispensável pela maior parte dos bancos de tecido (HERSON *et al.*, 2018; KUA *et al.*, 2012; MARSHALL *et al.*, 1995; PEGG, 2006).

Além das questões sobre sua eficácia na preservação de enxertos de pele, outro ponto digno de atenção sobre o uso do glicerol em altas concentrações é a praticidade de sua aplicação. Sendo assim, a técnica de glicerolização surge como a mais econômica frente a liofilização e a criopreservação. Por isso, seu uso diversas vezes é adotado com base em maior facilidade de execução em ampla escala, do ponto de vista econômico (CLELAND *et al.*, 2014; HARITH, 2003; HUANG; PEGG; KEARNEY, 2004).

### **Viabilidade, Imunogenicidade e Desfecho Clínico de Enxertos de Pele processados pelos três métodos.**

Uma das principais questões que não estão esclarecidas quando se trata de enxertos de pele, mais especificamente dos enxertos alogênicos, é a implicação da viabilidade celular sobre o prognóstico das lesões e cura dos pacientes acometidos. Obviamente, aqueles enxertos colhidos a partir do próprio receptor, com a finalidade de serem enxertados permanentemente, devem possuir viabilidade celular para cumprir seu objetivo. No entanto, sobre os enxertos alogênicos usados como cobertura temporária, não há consenso entre os pesquisadores (GAUCHER *et al.*, 2012; HERMANS, 2011; ROBB *et al.*, 2001; VERBEKEN *et al.*, 2012).

A viabilidade das células corresponde, de uma maneira bem simplista, à capacidade dessas células de desempenharem atividades metabólicas e bioquímicas. Testes como o azul de Tripán e de consumo de oxigênio podem fornecer informações importantes sobre a porcentagem de viabilidade nos tecidos (GAUCHER *et al.*, 2012; ROBB *et al.*, 2001).

No enxerto de pele, supõe-se que a viabilidade é responsável por tornar o enxerto capaz de induzir neovascularização e fornecer citocinas e hormônios para as feridas. Enquanto o enxerto não viável funciona apenas como uma matriz de colágeno responsável por fornecer melhor suporte para o processo cicatricial (HUANG; PEGG; KEARNEY, 2004).

Os métodos de processamento de enxerto possuem como uma de suas principais diferenças, a capacidade de manter as células do enxerto viáveis ou torná-las inviáveis. Assim, enquanto a criopreservação mantém certa viabilidade sobre as células dos tecidos, a glicerolização e a liofilização tornam os enxertos de pele definitivamente inviáveis (LOMAS *et al.*, 2003; PIANIGIANI *et al.*, 2005).

Um dos pontos mais debatidos acerca do uso da criopreservação, responsável por fornecer certa viabilidade, é de fato a possibilidade deste método manter viável

também microorganismos patogênicos presentes nos enxertos de pele. Além disso, enxertos criopreservados tendem a ser mais imunogênicos quando comparados aos derivados de outros métodos (HUANG; PEGG; KEARNEY, 2004).

A viabilidade dos enxertos possui importante influência sobre sua capacidade de induzir resposta imune no receptor. Isso porque, quando um tecido é submetido ao processo de glicerolização, este, conforme pesquisas como a de Kua *et al.* (2012), apresentam drástica redução da imunogenicidade, resultando em um retardo no tempo de rejeição e melhores resultados na cicatrização. Devido ao fato de a liofilização também tornar as células inviáveis, pode haver uma redução equivalente na imunogenicidade da pele liofilizada.

O tipo celular envolvido no processo de rejeição dos enxertos também parece sofrer influência da viabilidade. Dessa forma, os enxertos inviáveis e, teoricamente menos imunogênicos, despertam uma resposta imune mediada principalmente por macrófagos, enquanto aqueles com certa viabilidade são atacados por células T CD8<sup>+</sup>, com maior dano ao tecido de granulação e efeitos sistêmicos adversos, capaz de gerar impacto negativo na recuperação dos pacientes (HERMANS, 2011; RICHTERS *et al.*, 1997).

Vloemans Middelkoop e Kreis (2002) realizaram uma avaliação histórica da aplicação de enxertos viáveis (criopreservados) e inviáveis (glicerolizados) em pacientes vítimas de queimaduras extensas entre 1979 e 2000. Seu estudo relata vantagens no uso pois, enquanto entre os pacientes tratados com enxertos criopreservados cerca de 36,6% necessitaram de um novo enxerto de pele, aqueles pacientes tratados com enxertos glicerolizados apresentaram uma porcentagem de 26,3% de re enxertos.

Para Hermans (2011), a viabilidade de enxertos, também, não representa um fator relevante no processo de cura. Essa hipótese se assemelha aos dados coletados por Pegg (2006), os quais sugerem que apenas o fornecimento de colágeno ao local da lesão é suficiente para otimizar o processo cicatricial com cicatrizes reduzidas e menor contração local. O autor reafirma, ainda, a maior importância em se considerar outros fatores como o custo-benefício e segurança microbiológica na escolha de um método ou outro.

No entanto, Kua *et al.* (2012), trazem resultados opostos a esses dados uma vez que, a partir da análise do desfecho clínico de pacientes tratados com aloenxertos criopreservados e glicerolizados, evidenciaram uma porcentagem de 25% de mortalidade em pacientes tratados com tecido criopreservado e 34,8 % nos que receberam tecidos glicerolizados, sugerindo, assim, um melhor desempenho dos enxertos viáveis.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os 3 métodos possuem aplicabilidade na conservação de enxertos de pele humana. Pode-se inferir, a partir dos estudos analisados, que um maior esclarecimento sobre

a importância da viabilidade dos enxertos no desfecho clínico dos pacientes faz-se necessário, uma vez que há uma falta de padronização na aplicação de enxertos apesar de sua frequente utilização, além de escassez de dados atuais sobre o tema, o que justifica o presente estudo.

## REFERÊNCIAS

- 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 tissue bank.**, Sordrecht, v. 19, n. 3, p. 373-382, 2018.
- ASHWOOD-SMITH, M. J.; FARRANT, J. **Low temperature preservation in medicine and biology.** University Park Press, 1980.
- BABU, R. J. *et al.* The influence of various methods of cold storage of skin on the permeation of melatonin and nimesulide. **J. controll. release**, Amsterdam, v. 86, n. 1, p. 49-57, 2003
- BEN-BASSAT, H. *et al.* A. How long can cryopreserved skin be stored to maintain adequate graft performance?. **Burns**, Amsterdam, v. 27, n. 5, p. 425-431, 2001.
- BLILEY, J. M. *et al.* Administration of adipose-derived stem cells enhances vascularity, induces collagen deposition, and dermal adipogenesis in burn wounds. **Burns**, Amsterdam, v. 42, n. 6, p. 1212, 2016.
- BRAVO, D. *et al.* Effect of storage and preservation methods on viability in transplantable human skin allografts. **Burns**, Amsterdam, v. 26, n. 4, p. 367-378, 2000.
- CHIU, T.; BURD, A. "Xenograft" dressing in the treatment of burns. **Clin. Dermatol.**, Philadelphia, v. 4, n. 23, p. 419-423, 2005.
- CLELAND, H. J. *et al.* Clinical application and viability of cryopreserved cadaveric skin allografts in severe burn: a retrospective analysis. **Burns**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 61-66, 2014.
- FAHMY, F. S. *et al.* Skin graft storage and keratinocyte viability. **Br. j. plast. surg.**, Edinburg, v. 46, n. 4, p. 292-295, 1993.
- FERREIRA, M. C. *et al.* Substitutos cutâneos: conceitos atuais e proposta de classificação. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 696-702, 2011.
- FRANZEN, L. *et al.* Freeze-drying as a preserving preparation technique for in vitro testing of human skin. **Exp. dermatol.**, Copenhagen, v. 22, n. 1, p. 54-56, 2013.
- GALLO, R. L. Human Skin Is the Largest Epithelial Surface for Interaction with Microbes. **J. invest. dermatol.**, Baltimore, v. 137, n. 6, p. 1213-1214, 2017.
- GAUCHER, S. *et al.* Viability of cryopreserved human skin allografts: effects of transport media and cryoprotectant. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 13, n. 1, p. 147-155, 2012.
- HARITH, A. *et al.* Use of glycerol as an alternative to freeze-drying for long-term preservation of antigen for the direct agglutination test. **Trop. med. int. Health**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 1025-1029, 2003.
- HERMANS, M. H. Preservation methods of allografts and their (lack of) influence on clinical results in partial thickness burns. **Burns**, Amsterdam, v. 37, n. 5, p. 873-881, 2011.
- HERSON, M. R. *et al.* Interaction of preservation methods and radiation sterilization in human skin processing, with particular insight on the impact of the final water content and collagen disruption. Part I: process validation, water activity and collagen changes in tissues cryopreserved or processed using 50, 85 or 98% glycerol solutions. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 19, n. 2, p. 215-227, 2018.
- HOLZER, P. W. *et al.* A Comparative Examination of the Clinical Outcome and Histological Appearance of Cryopreserved and Fresh Split Thickness Skin Grafts. **J. burn care res.**, Oxford, v. 38, n. 1, p. e55, 2017.
- HUANG, Q.; PEGG, D. E.; KEARNEY, J. Banking of non-viable skin allografts using high concentrations of glycerol or propylene glycol. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 5, n. 1, p. 3-21, 2004.
- JAEGER, M. R. DE O. *et al.* Aloenxertos no tratamento das queimaduras de segundo grau profundas da criança. **ACM arq. catarin med.**, Florianópolis, v. 41, n. Supl. 01, p. 150, 2012.
- KEARNEY, J. N. Guidelines on processing and clinical use of skin allografts. **Clin. dermatol.**, Philadelphia, v. 23, n. 4, p. 357-364, 2005.
- KUA, E. H. *et al.* Comparing the use of glycerol preserved and cryopreserved allogenic skin for the treatment of severe burns: differences in clinical outcomes and in vitro tissue viability. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 13, n. 2, p. 269-279, 2012.
- LOMAS, R. J. *et al.* Assessment of the biological properties of human split skin allografts disinfected with peracetic acid and preserved in glycerol. **Burns**, Amsterdam, v. 29, n. 6, p. 515, 2003.
- MARSHALL, L. *et al.* Effect of glycerol on intracellular virus survival: implications for the clinical use of glycerol-preserved cadaver skin. **Burns**, Amsterdam, v. 21, n. 5, p. 356-361, 1995.
- MORAES-FILHO, E. M. Lima-Junior *et al.* Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Rev. bras. queimaduras**, Limeira, v. 16, n. 1, p. 10-17, 2017.
- MOSER, H.; PEREIRA, R. R.; PEREIRA, M. J. L. Evolução dos curativos de prata no tratamento de queimaduras de espessura parcial. **Rev. bras. queimaduras**, Limeira, v. 12, n. 2, p. 60-67, 2013.
- ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de alimentos:** componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. v. 1, p. 203-204.
- ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Burn wound healing: present concepts, treatment strategies and future directions. **J. wound care**, London, v. 26, n. 1, p. 5, 2017.
- PEGG, D. E. The preservation of tissues for transplantation. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 7, n. 4, p. 349-358, 2006.
- PIANIGIANI, E. *et al.* Skin bank organization. **Clin. dermatol.**, Philadelphia, v. 23, n. 4, p. 353-356, 2005.
- PICCOLO, N.; PICCOLO, M. S.; PICCOLO, M. T. S. Uso de pele de rã como curativo biológico como substituto temporário da pele em queimaduras. **Rev. bras. queimaduras**, Goiânia, v. 2, p. 18-24, 2002.
- RICHTERS, C. D. *et al.* Immunogenicity of glycerol-preserved human cadaver skin in vitro. **J. burn care reh.** Bethesda, v. 18, n. 3, p. 228-233, 1997.
- ROBB, E. C. *et al.* Storage media and temperature maintain normal anatomy of cadaveric human skin for transplantation to full-thickness skin wounds. **J. burn care reh.** Bethesda, v. 22, n. 6, p. 393-396, 2001.
- ROSS, A.; KEARNEY, J. N. The measurement of water activity in allogenic skin grafts preserved using high concentration glycerol or propylene glycol. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 5, n. 1, p. 37-44, 2004.
- SCHIOZER, W. *et al.* Banco de pele no Brasil. **Rev. bras. queimaduras**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 53-55, 2012.
- VERBEKEN, G. *et al.* Glycerol treatment as recovery procedure for cryopreserved human skin allografts positive for bacteria and fungi. **Cell tissue bank.**, Sordrecht, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2012.
- VLOEMANS, A. F.; MIDDELKOOP, E.; KREIS, R. W. A historical appraisal of the use of cryopreserved and glycerol-preserved allograft skin in the treatment of partial thickness burns. **Burns**, Amsterdam, v. 28, p. S16-20, 2002.

Submetido em: 28/05/2020

Aceito em: 17/05/2021