

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
-UNICAMP-
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**KARINA TEIXEIRA VILLALPANDO
CIRURGIÃ-DENTISTA**

**UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE
(EMDOGAIN®) NO TRATAMENTO DE DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS.
ESTUDO LONGITUDINAL CLÍNICO E RADIOGRÁFICO.**

TESE APRESENTADA À
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DE PIRACICABA, DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE DOUTOR EM
CLÍNICA ODONTOLÓGICA, ÁREA
DE PERIODONTIA.

Piracicaba
-2003-

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
-UNICAMP-
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

KARINA TEIXEIRA VILLALPANDO
CIRURGIÁ-DENTISTA

UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE
(EMDOGAIN®) NO TRATAMENTO DE DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS.
ESTUDO LONGITUDINAL CLÍNICO E RADIOGRÁFICO.

Orientador: Prof. Dr. Sergio de Toledo

Banca Examinadora: Prof. Dr. Luís Antonio Pugliesi Alves de Lima
Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli
Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum
Prof. Dr. Sergio de Toledo
Prof. Dr. Márcio Zafallon Casati

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CPG-036/83
CPG 08/05/03

Assinatura do Orientador

TESE APRESENTADA À FACULDADE
DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE DOUTOR EM CLÍNICA
ODONTOLÓGICA, ÁREA DE
PERIODONTIA.

Piracicaba
-2003-



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 03 de Fevereiro de 2003, considerou a candidata KARINA TEIXEIRA VILLALPANDO aprovada.

1. Prof. Dr. SERGIO DE TOLEDO

2. Prof. Dr. JONI AUGUSTO CIRELLI

3. Prof. Dr. LUIS ANTONIO PUGLIESI ALVES DE LIMA

4. Prof. Dr. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

5. Prof. Dr. ANTONIO WILSON SALLUM

000320722

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

Aos meus pais Neuma e Carlos, pela compreensão e pelo carinho que sempre tiveram e que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao meu irmão Carlos e à minha cunhada Eliana, pelo incentivo e pela preocupação que sempre demonstraram para que eu trilhasse os melhores caminhos.

Aos meus sobrinhos Isabella e Leonardo, pela alegria com que encheram as nossas vidas, e que inexplicavelmente, renovam as nossas forças para seguir em frente.

Ao Eduardo, pelo amor e compreensão com que compartilhou comigo do sonho a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela presença em minha vida,
que dá força, consola, guia nas
incertezas, torna tudo melhor
e possível.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. DR. SERGIO DE TOLEDO,

pela presença tão marcante na minha formação profissional e pela confiança que sempre depositou no meu trabalho. A orientação de mais este trabalho e a convivência me fazem reafirmar que é realmente um privilégio poder trabalhar ao lado do profissional que soube acumular experiência e que, como poucos, é capaz de antever e tornar as coisas simples.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, nas pessoas do PROF. DR. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO (diretor) e do PROF. DR. OSLEI PAES DE ALMEIDA (diretor associado).

Ao PROF. DR. LOURENÇO CORRER SOBRINHO, coordenadora geral do curso de pós-graduação e à PROF. DRA. BRENDA PAULA F. A. GOMES, coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica, pela valiosa contribuição à Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao PROF. DR. ANTÔNIO WILSON SALLUM, Titular da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela preocupação e dedicação que sempre demonstrou com os alunos do Curso de Pós-Graduação.

Aos PROFS. DRS. ENILSON ANTÔNIO SALLUM, FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JR. E MARCIO ZAFFALON CASATI da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela amizade, pela troca de idéias e valiosas sugestões dadas a este trabalho.

Ao PROF. DR. ANTÔNIO FERNANDO MARTORELLI DE LIMA da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela amizade e convivência.

Ao PROF. DR. FRAB NORBERTO BÓSCOLO, Titular da Área de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, por ter cedido gentilmente, o espaço e equipamentos da Clínica de Radiologia, e também pela preciosa orientação na avaliação radiográfica.

À ELIETE, secretária da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela capacidade de aliar profissionalismo com atenção e carinho aos alunos da Pós-Graduação.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP que muitas vezes facilitaram e viabilizaram a realização deste trabalho, em especial à D^A CIDA, AO VAL E AO PAULINHO.

À CRISTINA DE MELO CALDEIRA, Técnica em Higiene Dental, do Colégio Técnico da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela prontidão que sempre demonstrou no auxílio dos procedimentos cirúrgicos.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Periodontia, ALESSANDRO, CRISTINE, DANIELA, ELEONORA, HENRIQUE, JOLY, LAERTE, LÚCIO, MARIA ÂNGELA, PATRÍCIA CURY, pela amizade e convivência.

Aos colegas de trabalho, MARCIO, PATRÍCIA E FABIANO, pela preciosa ajuda durante a realização dos atos cirúrgicos e da documentação fotográfica, e pela amizade com que dividiram comigo responsabilidades e funções para que eu me dedicasse a esse trabalho.

Às amigas PRISCILA, PAULA E CLAUDINHA, minha família de Piracicaba, exemplos de profissionais e seres humanos, que tornaram os momentos difíceis em momentos mais fáceis, e os momentos bons em momentos especialíssimos.

Aos pacientes que participaram deste estudo, minha eterna gratidão, pela colaboração e pelo compromisso que mantiveram durante todo o período de avaliação.

SUPORTE FINANCEIRO

A elaboração deste trabalho teve suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP sob a forma de Bolsa de Mestrado (processo nº 98/04104-3) e Auxílio à Pesquisa (processo nº 98/12311-9).

SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT.....	03
1. INTRODUÇÃO.....	05
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	08
2.1. Modalidades Terapêuticas e Processos de Cura Periodontal	
2.2. Regeneração Periodontal com Proteínas da Matriz do Esmalte	
2.3. Características e Biocompatibilidade das Proteínas da Matriz do Esmalte	
2.4. Estudos Clínicos em Humanos	
3. MATERIAIS E MÉTODO.....	33
3.1. Seleção de Pacientes	
3.2. Considerações Éticas	
3.3. Delineamento do Experimento	
3.4. Terapia Inicial	
3.5. Avaliação dos Parâmetros Clínicos	
3.5.1. Medidas Clínicas de Sondagem	
3.5.2. Parâmetros Clínicos Complementares	
3.6. Avaliação dos Parâmetros Radiográficos	
3.7. Procedimento Teste: Cirurgia Periodontal Regenerativa	
3.7.1. Preparo do Gel de Matriz Derivada do Esmalte	
3.7.2. Procedimento Cirúrgico	
3.8. Avaliação Transcirúrgica dos Defeitos Intra-ósseos	
3.9. Procedimento Controle: Técnica Convencional	
3.10. Terapia Pós-cirúrgica	
3.11. Terapia de Manutenção	
3.12. Exames de Reavaliação	
3.13. Avaliação Radiográfica	
3.13.1. Avaliação Radiográfica Linear	
3.14. Análise Estatística dos Resultados	
4. RESULTADOS.....	51
4.1. Avaliação e Classificação Transcirúrgica dos Defeitos Intra-ósseos	
4.2. Resultados Clínicos	
4.3. Resultados Radiográficos	

5. DISCUSSÃO.....	59
6. CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXOS.....	87

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi comparar através de parâmetros clínicos e radiográficos o tratamento cirúrgico de defeitos periodontais intra-ósseos com ou sem a utilização de um gel composto por proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMDOGAIN®). Quinze pacientes, apresentando um total de 19 defeitos intra-ósseos interproximais compostos por 1 ou 2 paredes ósseas em dentes unirradiculares, foram divididos aleatoriamente nos grupos teste e controle.

Os parâmetros clínicos foram avaliados através de guias de sondagem - *stents*, antes do procedimento cirúrgico (*baseline*), com 6 e 18 meses de pós-operatório, sendo eles: posição da margem gengival relativa (PMGR), nível de inserção clínica relativo (NICR) e profundidade de sondagem (PS). Medidas radiográficas lineares foram obtidas nos mesmos períodos de avaliação, através de radiografias padronizadas e digitais. Os dados foram analisados estatisticamente usando ANOVA e o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados clínicos mostraram que aos 18 meses de avaliação houve, em média, uma redução da profundidade de sondagem de $3,2 \pm 1,44$ mm e um ganho no nível de inserção de $1,4 \pm 1,26$ mm para o grupo teste, enquanto que no grupo controle, o valor médio de redução da profundidade de sondagem foi de $2,7 \pm 0,89$ mm e do ganho de inserção clínica foi de $1,2 \pm 0,78$ mm. Radiograficamente, houve um preenchimento ósseo médio de $1,64 \pm 1,69$ mm no grupo teste e de $0,71 \pm 1,90$ mm no grupo controle.

Os dois tratamentos cirúrgicos melhoraram os parâmetros clínicos e radiográficos quando comparados ao baseline, mas a diferença encontrada entre os grupos não foi estatisticamente significativa.

Portanto, pode-se concluir que o tratamento cirúrgico convencional e regenerativo têm efeitos favoráveis na redução da profundidade de sondagem, no ganho clínico de inserção e no preenchimento ósseo radiográfico após 18 meses de avaliação. Um estudo envolvendo uma amostra de tamanho maior é necessário para confirmar essa equivalência estatística entre as duas modalidades de tratamento.

Unitermos: terapia periodontal; defeitos periodontais intra-ósseos; proteínas derivadas da matriz do esmalte; medidas radiográficas lineares.

ABSTRACT

The aim of the present study was to compare the clinical and radiographical effects of the treatment of intrabony periodontal defects with or without the use of a gel composed of enamel matrix proteins derivative (EMDOGAIN®). Fifteen patients, exhibiting a total of 19 defects 1 and 2 wall intrabony defects on one-rooted teeth, were randomly divided into test and control groups.

Prior to surgery (baseline), 6 and 18 months after it the following parameters were evaluated using occlusal stents: relative gingival recession (RGR), relative clinical attachment level (RCAL) and probing depth (PD). Linear radiographic measurements were obtained at the same time during this period through standard digital radiographies. Data were statistically analyzed using ANOVA and Tukey's Studentized Range Test ($p < 0,05$).

The clinical results demonstrated that after 18 months there was a reduction in probing depth of 3.2 ± 1.44 mm and a gain in the clinical attachment level of 1.4 ± 1.26 mm on average for the test group. As for the control group the reduction in the probing depth was of 2.7 ± 0.89 mm and the gain in the clinical attachment level was of 1.2 ± 0.78 mm on average. Radiographically, there was an average bone filling of 1.64 ± 1.69 mm in the test group and 0.7 ± 1.9 mm in the control group.

The two treatments improved clinical parameters as compared to baseline, but the differences found between the groups were not statistically significant.

Therefore, it may be concluded that both therapies have similar effects in promoting probing depth reduction, clinical attachment gain, and defect bone fill in the 18th month post treatment. A study involving a larger sample size is necessary to statistically confirm the equivalence between the two treatment modalities.

Key words: periodontal therapy, intrabony periodontal defects, enamel matrix proteins, linear radiographic measurements.

1. INTRODUÇÃO

O advento das novas modalidades terapêuticas, já tem permitido em algumas situações específicas, a regeneração dos tecidos de suporte periodontal perdidos em decorrência da progressão das doenças periodontais. Esses métodos podem mudar radicalmente o prognóstico de dentes estratégicos, e algumas vezes, de toda uma dentição (TONETTI et al., 1993).

Em função dessas perspectivas, cada vez mais tem se buscado como objetivo do tratamento periodontal, a regeneração do aparato de inserção, ou seja, formação de novo ligamento periodontal com fibras inseridas em um cimento e osso alveolar neoformados, após um episódio de periodontite (VAN DER PAUW et al., 2000). Diferentes modalidades de tratamento de defeitos localizados têm sido relacionadas com este propósito durante as últimas décadas, incluindo: vários tipos de enxertos ósseos, desmineralização da superfície radicular, regeneração tecidual guiada ou diferentes fatores de crescimento (SCULEAN et al., 1999a, c; HEDEN et al., 1999; PONTORIERO et al., 1999), sendo que, o sucesso e a previsibilidade dos resultados apresentam muitas variações (SCULEAN et al., 1999a, c).

Um dos tratamentos regenerativos mais documentados e, com uma eficácia e previsibilidade clínica, já bem estabelecida para alguns tipos de defeitos é a regeneração tecidual guiada (HEIJL et al., 1997). Essa abordagem regenerativa busca favorecer ou excluir, seletivamente, grupos de células do coágulo sanguíneo através da colocação de barreiras físicas, com o objetivo de favorecer a regeneração dos tecidos periodontais (CAFESSE, et al., 1995). Membranas reabsorvíveis e não-reabsorvíveis

podem ser usadas como barreiras mecânicas com resultados clínicos e histológicos similares (CAFESSE, et al.,1994).

Mais recentemente, um derivado de proteínas da matriz do esmalte (EMDOGAIN®) tem sido sugerido como uma nova modalidade terapêutica regenerativa (HAMMARSTROM, 1997b). Os princípios biológicos que suportam seu uso estão baseados na capacidade das proteínas da matriz do esmalte de promover uma nova formação de cimento acelular, ou seja, a deposição do derivado da matriz do esmalte sobre uma superfície radicular previamente instrumentada parece estimular a deposição de novo cimento acelular, em torno do qual serão desenvolvidos novo ligamento periodontal e osso alveolar (HAMMARSTROM, 1997b), proporcionando regeneração do periodonto. Muitas observações obtidas a partir de estudos realizados em várias espécies de animais mostram que durante o desenvolvimento da raiz dental uma camada fina de material semelhante a matriz do esmalte é depositado sobre a superfície radicular e que este, por sua vez, foi possivelmente produzido por células da bainha radicular epitelial de Hertwig (LINDSKOG & HAMMARSTROM, 1982; SLAVKIN et al., 1989b). Baseado nessas observações, existem evidências de que as proteínas da matriz do esmalte podem estar relacionadas com a formação de cimento acelular (SLAVKIN & BOYDE, 1975; SLAVKIN, 1976; SLAVKIN et al. 1989a, b ; HAMMARSTROM et al., 1997), estimulando a diferenciação de células mesenquimais em cementoblastos que produzem o cimento acelular de fibras extrínsecas (HAMMARSTROM et al., 1996).

Assim, proteínas da matriz do esmalte disponíveis comercialmente, foram introduzidas com a finalidade de promover formação de nova inserção em dentes com comprometimento periodontal (VAN DER PAUW et al., 2000). Evidências histológicas em animais e humanos sugerem que regeneração do aparato de inserção periodontal é possível após o uso do derivado da matriz do esmalte (HAMMARSTROM et al., 1997; HEIJL, 1997; MELLONIG, 1999; YUKNA & MELLONIG,2000). Resultados de experimentos clínicos controlados e algumas documentações de casos clínicos do tratamento de defeitos periodontais intra-ósseos, também têm revelado ganhos significantes no nível de inserção clínica e na formação óssea observada radiograficamente (HEIJL et al., 1997; ZETTERSTROM et al., 1997; SCULEAN et al., 1999c; HEDEN et al. 1999; RASPERINI et al., 1999).

Apesar do potencial para obtenção de resultados clínicos e histológicos favoráveis com a utilização das proteínas da matriz do esmalte como uma terapia regenerativa, uma informação limitada está disponível até o presente momento, no que se refere a sua aplicabilidade, eficácia e previsibilidade clínica.

Em razão da necessidade de se estabelecer a eficácia e a previsibilidade em seres humanos, assim como da existência de poucos estudos que analisam essa terapia regenerativa por períodos maiores que 12 meses, este estudo teve como objetivo avaliar os resultados clínicos e radiográficos a longo prazo do tratamento cirúrgico de defeitos periodontais intra-ósseos de 1 ou 2 paredes ósseas em dentes unirradiculares, com ou sem a utilização do gel de proteínas da matriz do esmalte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O objetivo do tratamento periodontal consiste principalmente na resolução do processo inflamatório através da eliminação dos depósitos e toxinas bacterianas da superfície dental, mas também fundamenta-se na manutenção e na longevidade funcional e estética de dentes saudáveis (CORTELLINI et al., 1990).

Em casos avançados da doença periodontal, alguns dentes são perdidos mesmo após o tratamento, devido principalmente às dificuldades de manutenção causada pelos defeitos ósseos remanescentes (Mc FALL JR, 1982). Nesses casos, a terapia periodontal deve compreender também o tratamento dos defeitos ósseos produzidos pela doença (CAFFESSE et al., 1988; CORTELLINI, et al., 1993a).

Os defeitos ósseos podem ser divididos basicamente em dois grupos: defeitos horizontais, que apresentam uma topografia regular em relação aos demais dentes envolvidos pela doença, e defeitos verticais, também denominados angulares e intra-ósseos, nos quais a base do defeito está situada em posição mais apical em relação à margem do mesmo. Esse tipo de defeito pode ser classificado de acordo com o número de paredes ósseas remanescentes, ou seja, pode apresentar 3 paredes, 2 paredes e 1 parede, ou ainda uma combinação delas.

Vários procedimentos têm sido propostos para o tratamento de defeitos intra-ósseos, incluindo a instrumentação radicular com ou sem acesso cirúrgico (ELLEGARD & LOE, 1971; POLSON & HEIJL, 1978; HILL et al., 1981; LINDHE et al., 1982b; RENVERT et al., 1985a), a utilização de enxertos ósseos autógenos (RENVERT et al.,

1985b; SCHALLHORN & McCLAIM, 1988) ou de substitutos ósseos (MELLONIG, 1984), condicionamento químico radicular (RENVERT et al., 1985b) e combinações de técnicas (McCLAIM & SCHALLHORN, 1993; HANDELSMAN et al., 1991). Em consequência disso, a eficácia e previsibilidade, somados aos diferentes processos de cura dos tecidos periodontais resultantes dessas modalidades terapêuticas têm sido motivo de muita discussão durante anos (LISTGARTEN, 1972; MELCHER, 1976; LISTEGARTEN & ROSENBERG, 1979; CATON et al., 1980).

2.1. MODALIDADES TERAPÊUTICAS E PROCESSOS DE CURA

A terapia periodontal não cirúrgica de defeitos intra-ósseos, consistindo de raspagem e alisamento radicular, tem mostrado ganhos no nível de inserção clínica e no preenchimento ósseo radiográfico limitados e imprevisíveis (RAMFJORD et al., 1975, HILL et al., 1981, RENVERT et al., 1985a). Já os procedimentos cirúrgicos com retalhos convencionais têm apresentado resultados com uma extensão de ganho um pouco maior, alcançando em média 1,5mm de ganho no nível de inserção clínica e 1,1mm de preenchimento ósseo (RAMFJORD et al., 1975, POLSON & HEIJL, 1978, Hill et al., 1981, RENVERT et al., 1985a).

Os tratamentos cirúrgicos que associam enxertos ósseos ou substitutos ósseos parecem não produzir resultados consistentemente superiores aos procedimentos cirúrgicos convencionais (RENVERT et al., 1985b, MASTERS et al., 1996), no entanto, tem sido relatado um ganho médio no nível de inserção clínica similar ao preenchimento ósseo de 2,1mm (LAURELL et al., 1998).

Independente da modalidade terapêutica, a importância de um regime de controle de placa sistemático já era enfatizado por ROSLING et al. desde 1976 para obtenção e manutenção de bons resultados clínicos.

Segundo a ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA, 1992, o processo de cura pode ocorrer através do reparo ou da regeneração de um tecido perdido, ferido ou tratado cirurgicamente, sendo que:

-Reparo é definido como a cura da ferida por tecido que não restaura a arquitetura ou função do tecido ferido ou perdido.

-Regeneração, por sua vez, é o processo de cura que reproduz ou reconstitui a arquitetura e função do tecido ferido ou perdido.

Desta forma, regeneração periodontal é a restauração do periodonto perdido em decorrência da progressão da doença periodontal, havendo, portanto, neoformação de cemento, ligamento periodontal e osso alveolar. Nova inserção é a união de tecido conjuntivo ou epitelial com a superfície radicular destituída do sistema de inserção original. A comprovação clínica da presença de tecido ósseo em um defeito periodontal previamente tratado é denominada de preenchimento ósseo, e não está relacionada à evidência histológica de regeneração periodontal.

Considerando esses conceitos e, avaliando os estudos histológicos em modelos animais e humanos, foi possível demonstrar que o tipo de cura resultante da terapia cirúrgica e não cirúrgica dos defeitos intra-ósseos, pode ter um potencial para representar regeneração periodontal unicamente na região mais apical do defeito (GOTTLOW et al., 1990), enquanto que na sua maior extensão, existe formação de

epitélio juncional longo, independente do preenchimento ósseo observado (CATON & ZANDER, 1976; MOSKOW et al., 1979; CATON et al., 1980).

Segundo LINDHE et al., 1982b, a cicatrização através da migração apical do epitélio juncional longo não compromete a estabilidade dos resultados a longo tempo, entretanto, a presença de uma barreira epitelial tem sido vista recentemente como uma seqüela indesejável resultante dos eventos de cura periodontal, na medida em que parece impedir a formação de um novo aparato de inserção sobre a superfície radicular (HASSEL, 1993) além de não representar regeneração periodontal verdadeira (CORTELLINI, 1993a).

Os estudos clínicos têm mostrado que, embora seja possível modificar os eventos de cura de várias maneiras, a regeneração periodontal completa e previsível, ainda é um objetivo difícil de ser alcançado (HAMMARSTROM et al., 1997; HEIJL et al., 1997).

Dentre as técnicas regenerativas, a terapia de regeneração tecidual guiada (RTG) parece ter perspectivas bastante promissoras, principalmente em relação a sua eficácia clínica e previsibilidade em lesões de bifurcação grau II na superfície vestibular de molares inferiores e defeitos intra-ósseos de 3 paredes. Nessas situações a RTG tem sido exaustivamente testada em experimentos clínicos controlados (HEIJL et al., 1997).

A RTG consiste fundamentalmente na colocação de barreiras físicas em defeitos intra-ósseos e lesões de bifurcação para impedir a migração apical do epitélio e do tecido conjuntivo gengival, de tal forma que permita a formação de novo cemento com fibras colágenas inseridas e novo osso, a partir da migração de células provenientes do

ligamento periodontal remanescente e do endósteo (KARRING et al., 1980; NYMAN et al., 1982; GOTTLow et al., 1986; BECKER et al., 1988; CAFESSE et al., 1990)

CORTELLINI et al., 1993a, b, aplicando os princípios da RTG no tratamento de defeitos intra-ósseos profundos em humanos obtiveram após 1 ano de tratamento e rigoroso controle de placa uma média de 4,1mm de ganho no nível de inserção clínica, acompanhados de um ganho ósseo médio de 4,3mm. Esse grupo concluiu que a técnica é altamente eficaz e previsível para esse tipo de defeito.

HEBLING & LIMA, 1995, utilizando barreira de celulose* no tratamento de defeitos intra-ósseos, em humanos, obtiveram resultados estatísticos superiores no nível clínico de inserção e no preenchimento ósseo, em relação a defeitos similares tratados somente com terapia convencional, após 6 meses de avaliação.

2.2. REGENERAÇÃO PERIODONTAL COM PROTEÍNAS DA MATRIZ DO ESMALTE

O uso de proteínas da matriz do esmalte para obter regeneração periodontal tem sido descrito recentemente, e fundamenta-se no conhecimento do papel destas proteínas durante o desenvolvimento da raiz dental. Desde os estudos que descreveram a cementogênese clássica que se demonstra a íntima relação entre a bainha radicular epitelial de Hertwig e a cementogênese inicial.

A bainha radicular epitelial de Hertwig consiste de uma extensão apical do órgão dental e sua camada mais interna representa uma extensão da camada de ameloblastos da coroa (HEIJL et al., 1997). Existem grandes evidências de que a

* Gengiflex®, BioFill, Curitiba, Brasil

bainha radicular secreta proteínas da matriz do esmalte durante a formação radicular e estas proteínas estão possivelmente envolvidas na formação do cimento acelular durante o processo de desenvolvimento do dente. Vários estudos realizados nos últimos 20 anos já davam suporte científico para esta hipótese (SLAVKIN & BOYDE, 1975; SLAVKIN, 1976; LINDSKOG, 1982a, b; LINDSKOG & HAMMARSTROM, 1982; SLAVKIN et al., 1989a, b ; FONG et al., 1996; HAMMARSTROM, 1997a, b).

LINDSKOG, em 1982, numa série de três trabalhos (LINDSKOG, 1982a,b; LINDSKOG & HAMMARSTROM, 1982) demonstrou através de estudos in vitro e com microscopia eletrônica de varredura que a camada mais interna da bainha radicular epitelial de Hertwig teve um estágio secretor e que, um material semelhante a matriz do esmalte foi formado sobre a superfície radicular previamente à formação do cimento.

Mais recentemente, BOSSHARDT & SCHROEDER, em 1996, demonstraram através de estudos ultraestrutural e imunohistoquímico que, de fato, proteínas da matriz do esmalte foram depositadas sobre a superfície de dentina da parte apical de dentes humanos em desenvolvimento e também em dentes de porco. Antes disso, SLAVKIN et al., 1989b mostraram que o cimento acelular contém proteínas que são imunologicamente relacionadas com as proteínas presentes na matriz do esmalte.

Parece então, que a deposição temporária de proteínas da matriz do esmalte sobre a superfície radicular é um passo essencial e prévio à formação do cimento acelular, e que, a formação do ligamento periodontal e osso alveolar é dependente da formação do cimento acelular (HAMMARSTROM, 1997a,b; HAMMARSTROM et al., 1997; HEIJL, 1997). Este fato também está de acordo com o estudo de TEN CATE que, em 1975, demonstrou que o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar

não constituem apenas uma unidade funcional que ancora os dentes nas maxilas, mas o desenvolvimento destes 3 tecidos também ocorre simultaneamente.

Com base nessas informações obtidas através de muitas investigações que esclarecem, ainda que parcialmente, os eventos biológicos que caracterizam o desenvolvimento dental, um grupo de pesquisadores suecos, a partir de 1997, demonstraram em uma série de publicações, a indução de regeneração periodontal através da reprodução desses eventos em estudos *in vitro* e *in vivo*.

Num primeiro estudo composto por 3 experimentos, HAMMARSTROM em 1997b identificou, inicialmente *in vitro*, a presença e distribuição de amelogenina no ápice em formação de pré-molares humanos e de molares de ratos em desenvolvimento.

No segundo experimento (HAMMARSTROM, 1997b), depois de propiciar uma exposição experimental da matriz do esmalte às células do folículo dental, observou-se a formação de uma matriz de tecido duro acelular sugerindo que a matriz do esmalte teve um efeito indutivo sobre algumas células do folículo dental.

No último experimento deste estudo (HAMMARSTROM, 1997b), foi investigado histologicamente, o tipo de tecido neoformado após a aplicação de matriz do esmalte exógena, em cavidades experimentais produzidas na superfície radicular de incisivos de macacos, removidos de seus respectivos alvéolos. As cavidades foram preparadas na superfície mesial de incisivos laterais com brocas esféricas, sendo que nas cavidades testes foi aplicado a matriz do esmalte, e nas de controle nada foi aplicado. Os dentes foram, então, reimplantados e após 8 semanas, observou-se nas cavidades testes a formação de um tecido histologicamente idêntico ao cimento acelular de fibras extrínsecas. Este tecido era firmemente aderido à dentina subjacente e fibras colágenas

se estendiam a partir do cimento. Já nas cavidades controle, houve uma formação irregular de uma camada espessa de tecido duro, celular, fracamente aderido à dentina, parecido com osso imaturo.

Com o objetivo de avaliar se a aplicação da matriz do esmalte sobre uma superfície radicular desnudada pode promover regeneração de todos os tecidos periodontais, HAMMARSTROM et al., 1997 realizaram um estudo em deiscências vestibulares experimentais em macacos. Retalhos mucoperiosteais foram elevados do canino até o primeiro molar em cada um dos lados da maxila, e defeitos padronizados foram criados nos pré-molares e na raiz mesial do primeiro molar. Após o condicionamento das raízes com ácido orto-fosfórico à 37%, foi aplicado preparações contendo as proteínas da matriz do esmalte, e só então, os retalhos foram reposicionados e suturados. Os dentes do quadrante contra-lateral eram usados como controle, sendo que após o condicionamento ácido era aplicado apenas uma solução veículo, sem o conteúdo protéico. A avaliação em microscopia ótica e comparações morfométricas revelaram que houve regeneração periodontal quase completa do cimento acelular firmemente aderido à dentina, do ligamento periodontal e do osso alveolar.

Nesse mesmo estudo (HAMMARSTROM et al., 1997), também foram testadas diversas preparações contendo frações específicas das proteínas da matriz do esmalte. Da mesma forma, foi possível demonstrar que as propriedades relativas à regeneração periodontal estavam associadas a amelogenina, que é o constituinte principal das proteínas da matriz do esmalte.

Através de Análise Espectroscópica Eletrônica, GESTRELIUS et al. 1997a, verificaram *in vitro* que as superfícies mais externas das raízes, após o condicionamento ácido, apresentavam um carácter mais protéico do que mineral. A partir dessa informação foi testada a capacidade de adsorção das proteínas da matriz do esmalte a superfícies minerais e protéicas. Segundo os autores, o derivado da matriz do esmalte forma multicamadas tanto sobre superfície mineral como protéica *in vitro*.

Numa segunda parte desse estudo (GESTRELIUS et al., 1997a), os autores descreveram o efeito das proteínas da matriz do esmalte em uma solução veículo de alginato de propilenoglicol sobre células do ligamento periodontal ao longo do tempo *in vivo*. Incisivos de macacos foram extraídos e 2/3 do cemento foi removido longitudinalmente na superfície mesial. Após o condicionamento ácido, foi aplicada a matriz do esmalte em alginato de propilenoglicol nas superfícies dos dentes testes, e nas de controle nada foi aplicado. Os dentes eram, então, imediatamente reimplantados. Para avaliação em microscopia eletrônica de varredura, os dentes foram progressivamente extraídos nos 3º, 7º, 14º dias. De acordo com os resultados obtidos, as superfícies testes ficaram inicialmente cobertas por uma rede de fibras protéicas e foram continuamente colonizadas por células semelhantes a fibroblastos até atingirem uma média de cobertura celular correspondente a 3/4 da superfície. Já as superfícies controle tornaram-se continuamente cobertas por placa bacteriana e atingiram uma cobertura celular equivalente a 1/8 da superfície.

Com o propósito de obter maiores esclarecimentos sobre mecanismos e fatores necessários a regeneração periodontal, GESTRELIUS et al., 1997b desenvolveram modelos de estudo *in vitro* para avaliar a capacidade da matriz do esmalte em

influenciar propriedades específicas de células do ligamento periodontal. Dentro dos limites dos sistemas de avaliação, constataram: aumento na proliferação de células do ligamento periodontal, sem contudo, haver proliferação de células epiteliais, usando o mesmo protocolo; aumento na produção total de proteínas pelas células do ligamento periodontal e uma maior formação de nódulos minerais também pelas células do ligamento periodontal. Entretanto, não teve efeito significativo sobre a migração e adesão celular.

Ainda no mesmo estudo (GESTRELIUS et al., 1997b), foi investigado se as proteínas da matriz do esmalte estão ligadas ou contém fatores polipeptídeos, como fatores de crescimento ou moléculas de adesão. A análise através de imunoavaliações não detectou nenhuma dessas moléculas.

O mecanismo que está por trás da iniciação do processo de regeneração ainda não está claro (HAMMARSTROM et al., 1997; HEIJL, 1997; GESTRELIUS et al., 1997b). Os vários estudos realizados com proteínas da matriz do esmalte na indução de regeneração periodontal, apenas dão indícios de como esse mecanismo pode ocorrer.

GESTRELIUS et al., 1997b, no mesmo estudo em que avaliou in vitro o comportamento das células do ligamento periodontal na presença da matriz do esmalte, considera que seus resultados dão suporte a hipótese de que os agregados protéicos formados pela matriz do esmalte em pH e temperatura fisiológicos, atuam como um meio positivo para as células proliferarem e se diferenciarem no sítio regenerativo.

HAMMARSTROM et al., 1997 sugerem que a indução da formação do cemento acelular seja o resultado de uma interação matriz - célula, isto é, uma interação entre o

agregado de amelogenina da matriz do esmalte e as células do ligamento periodontal, e ainda que, esse meio bioquímico formado sobre a superfície radicular pode evitar o crescimento apical do epitélio.

HEIJL, 1997 cita que o uso adjunto das proteínas do esmalte à cirurgia periodontal, pode possivelmente fornecer uma matriz extra-celular natural para a recolonização de superfícies radiculares previamente doentes por células que expressem um fenótipo de cementoblasto

Posteriormente, TOKIYASU et al., 2000, também buscando esclarecer mecanismos celulares e moleculares que regulam atividades no sítio periodontal regenerativo, desenvolveram modelos de estudos *in vitro* e *in vivo* para determinar o efeito do derivado da matriz do esmalte sobre o comportamento específico de cementoblastos.

A cultura de cementoblastos e de duas outras linhagens de células osteoblásticas revelou que o derivado da matriz do esmalte promoveu proliferação de todos os tipos celulares testados, num efeito dose-resposta. A análise Northern blot revelou que o derivado da matriz do esmalte diminuiu a expressão do gene que regula a produção de osteocalcin pelos cementoblastos e por osteoblastos, entretanto, aumentou marcadamente a expressão do gene para osteopontin pelas células osteoblásticas, sendo que esse gene foi aumentado apenas suavemente quando mediado por cementoblastos. Cementoblastos expostos ao derivado do esmalte exibiram um discreto aumento na expressão do gene para sialoproteína-óssea.

A formação de nódulos minerais mediada por cementoblastos foi inibida pelo derivado da matriz do esmalte *in vitro*, num modelo dose-resposta. Contrariamente,

houve uma formação mineral *in vivo*, quando células eram pré-tratadas com o derivado da matriz do esmalte, e então, implantadas subcutaneamente em camundongos imunodeprimidos.

Com base nesses resultados, TOKIYASU et al., sugerem que o derivado da matriz do esmalte possa atuar, primeiro, promovendo proliferação de células e síntese de matriz extra-celular apropriada, depois, regulando os níveis de mineralização e formação de tecido conjuntivo através da expressão de genes e de seus produtos.

2.3. CARACTERÍSTICAS E BIOCOMPATIBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA MATRIZ DO ESMALTE

As proteínas derivadas da matriz do esmalte atualmente disponíveis comercialmente, EMDOGAIN® * tem como componente principal da formulação, a amelogenina que é o constituinte hidrofóbico do agregado de proteínas da matriz do esmalte, causando assim, uma agregação proteica em áreas úmidas (ZETTERSTROM et al., 1997).

O produto foi designado para aplicação tópica em superfícies radiculares comprometidas periodontalmente durante cirurgia com retalho de espessura total, e é apresentado em 2 vias - uma constituída pela solução veículo, o alginato de propilenoglicol e a outra pelas proteínas da matriz do esmalte congeladas a seco. Quando misturados, obtém-se um gel viscoso, que facilita a manipulação e que deve

* BIORA AB, Malmo, Sweden

ser aplicado através de uma seringa no defeito intra-ósseo, de acordo com as instruções do fabricante.

A viscosidade da formulação é dependente do pH e da temperatura. A formulação é solúvel numa temperatura baixa e num pH ácido ou alcalino, no entanto, quando as condições fisiológicas são estabelecidas (pH 7.4, 36° C), a viscosidade diminui gradualmente e a solução se precipita formando uma matriz de proteínas insolúveis e aderentes sobre a superfície radicular (GESTRELIUS et al., 1997a).

Através de estudos com o derivado da matriz do esmalte radiomarcado, em ratos e porcos, GESTRELIUS et al., 1997a demonstraram que o complexo de proteínas esféricas e insolúveis permaneceu em quantidades detectáveis no sítio de aplicação por 2 semanas. Quando testado somente a aplicação do veículo de alginato de propilenoglicol indioativo, o mesmo deixou o sítio de aplicação dentro de 24 horas em raízes de primeiros molares superiores de ratos.

O aspecto de segurança do tratamento com proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMDOGAIN®) foi avaliado tanto clínica quanto imunologicamente por ZETTERSTROM et al., 1997. A sua boa tolerância e baixo potencial imunogênico em 107 pacientes teste e 33 pacientes controle, foi demonstrado pelo fato de que nenhum efeito adverso, que não fosse normalmente esperado após cirurgia periodontal, foi identificado após 1 ou 2 tratamentos seguidos com sua aplicação. Também, as análises das amostras de sangue não indicaram alterações nos níveis de anticorpos específicos, estabelecidos antes do tratamento repetido com o derivado da matriz do esmalte, nem mesmo em pacientes propensos a reações alérgicas.

ZETTERSTROM et al., 1997, também consideram que a exposição do organismo às proteínas da matriz do esmalte que ocorre durante os primeiros estágios do desenvolvimento dental em crianças parece induzir normalmente uma tolerância a essas proteínas que são reconhecidas pelo sistema imune como “proteínas próprias”. Alterações na estrutura e conformação da proteína ou a ocorrência de proteínas não relacionadas poderiam ser possíveis fatores para uma resposta imune negativa ao produto, contudo, as proteínas do esmalte têm estado virtualmente inalteradas durante a evolução (SLAVKIN & DIEKWISCH, 1996). Também parece haver muita homogeneidade entre a proteína humana e a suína, encontrada no EMDOGAIN[®], o que pode explicar a ausência de reações adversas.

2.4. ESTUDOS CLÍNICOS EM HUMANOS

Considerando que a principal desvantagem dos estudos experimentais em modelo animal é a interpretação relativa a previsibilidade em humanos, HEIJL em 1997 realizou um estudo para avaliar histologicamente o efeito das proteínas da matriz do esmalte na regeneração periodontal de um defeito de deiscência vestibular, criado experimentalmente em humano. A avaliação em microscopia ótica polarizada e transmitida revelou um processo de cura caracterizado pela formação de cemento acelular associado com ligamento periodontal e osso alveolar.

MELLONIG publicou em 1999, um outro caso de histologia humana após terapia regenerativa com proteínas da matriz do esmalte. Neste estudo, o derivado da matriz do

esmalte foi aplicado em um defeito periodontal intra-ósseo de 3 paredes na mesial de um canino inferior esquerdo, apresentando um componente intra-ósseo de 5,0mm. Clinicamente, foi observado uma redução de 5,0mm na profundidade de sondagem, um ganho de inserção clínica de 4,0mm e um preenchimento ósseo radiográfico limitado, 6 meses após o procedimento cirúrgico. A avaliação histológica, no mesmo período de avaliação, demonstrou uma fina camada de cimento acelular sobre o cimento original, áreas de osso maturo e lamelar com poucas áreas de formação óssea imatura e fibras do ligamento periodontal paralelas à superfície radicular.

Avaliações clínica e histológica em humanos, após tratamentos regenerativos de defeitos intra-ósseos, também foram investigadas por SCULEAN et al. em 1999b. O estudo compreendeu quatorze defeitos intra-ósseos avançados em dentes com extração indicada, que foram tratados preliminarmente com o derivado da matriz do esmalte ou com membranas reabsorvíveis. Com 6 meses de pós-operatório, os resultados clínicos demonstraram para o grupo que recebeu tratamento com as proteínas do esmalte, um ganho médio no nível de inserção de 3,2mm, e para o grupo tratado com regeneração tecidual guiada esse ganho médio foi de 3,6mm. As avaliações histométricas revelaram para o grupo tratado com as proteínas do esmalte, uma média de 2,6mm de nova inserção de tecido conjuntivo acompanhado de 0,9mm de novo osso alveolar. No grupo tratado com regeneração tecidual guiada, a média de nova inserção de tecido conjuntivo foi de 2,4mm e a média de novo osso alveolar foi de 2,1mm. A avaliação histológica também mostrou que após ambas as formas de terapia regenerativa, o cimento neoformado tinha um carácter predominantemente celular. De acordo com os resultados, os autores concluíram que ambas as formas de tratamento

promovem formação de nova inserção de tecido conjuntivo, contudo, o tratamento com o derivado da matriz do esmalte pode não resultar, previsivelmente, na formação de cimento acelular em defeitos intra-ósseos humanos. Além disso, o tratamento com regeneração tecidual guiada parece promover regeneração óssea num grau maior do que o tratamento com as proteínas do esmalte.

Mais tarde, em 2000, YUKNA & MELLONIG, realizaram uma série de 10 casos de histologia humana após o uso das proteínas da matriz do esmalte em defeitos intra-ósseos que ocorreram em dentes com extração indicada devido a periodontite avançada.

Os resultados da avaliação histológica mostraram regeneração periodontal em 3 espécimes, nova inserção em 3 espécimes e epitélio juncional longo em 4 espécimes. Nos três casos de regeneração periodontal pode ser visto fibras de tecido conjuntivo inseridas em novo osso e em novo cimento, fibras de tecido conjuntivo também puderam ser observadas em uma disposição paralela à superfície radicular e o novo cimento depositado sobre o cimento original e dentina foi tanto do tipo acelular como celular. Em nenhum corte observou-se reabsorção radicular, anquilose ou presença de inflamação. Essa diversidade dos resultados histológicos sugere que o uso das proteínas da matriz do esmalte pode resultar em regeneração periodontal de superfícies radiculares humanas previamente contaminadas, porém esse resultado não ocorre de forma consistente.

ZETTERSTRÖM et al., 1997 realizaram um estudo clínico controlado em um grande número de pacientes com o objetivo principal de avaliar a tolerabilidade e a segurança clínica do EMDOGAIN® após seu uso repetido em cirurgias periodontais.

Além disso, também foram monitorados os parâmetros clínicos e radiográficos aos 8 meses e 3 anos de pós-operatório. Os defeitos intra-ósseos em dentes unirradiculares tratados com EMDOGAIN® mostraram um ganho médio no nível de inserção clínica de 3,1mm aos 8 meses e 2,9mm aos 3 anos de acompanhamento, comparados com ganhos médios de 2,6mm e 2,2mm nos mesmos períodos de avaliação referentes ao grupo controle. O ganho ósseo radiográfico no grupo teste alcançou 1,2mm em 8 meses e 2,5mm em 3 anos, enquanto que no grupo controle a média foi equivalente a 0,3mm aos 8 meses e não apresentou alterações em relação ao nível ósseo inicial depois de 3 anos. A diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa para os dois parâmetros em todos os períodos de avaliação.

HEIJL et al., 1997 compararam o efeito a longo prazo do tratamento cirúrgico de defeitos intra-ósseos associado com o gel de proteínas da matriz do esmalte EMDOGAIN® e um gel placebo. O estudo foi multicentro, caracterizado por um modelo *split-mouth*, envolvendo 33 pacientes que apresentavam 34 pares de sítios teste e controle. As avaliações clínicas e radiográficas foram feitas com 8, 16 e 36 meses. Os ganhos médios de inserção clínica do grupo teste em relação ao controle aos 8 meses foi de 2,1mm e 1,5mm; aos 16 meses foi de 2,3mm e 1,7mm e aos 36 meses foi de 2,2mm e 1,7mm, sendo que as diferenças entre os grupos foram estatisticamente significantes a cada período. Para o nível ósseo radiográfico, o grupo teste apresentou em média um ganho de 0,9mm, enquanto que o grupo controle apresentou em média uma perda de 0,1mm aos 8 meses. Com 16 meses de avaliação, o grupo teste apresentou um ganho médio de 2,2mm e o controle uma perda média de 0,2mm, e aos

36 meses o grupo teste continuou apresentando um ganho ósseo médio de 2,6mm comparados com níveis ósseos inalterados no grupo controle. Houveram diferenças estatisticamente significante entre os grupos para o ganho de inserção e do nível ósseo radiográfico.

PONTORIERO et al., 1999 avaliaram comparativamente várias técnicas regenerativas com o efeito do tratamento cirúrgico para acesso a raspagem radicular, em um estudo clínico, controlado e prospectivo. Foram testados em 3 grupos distintos a colocação de três tipos diferentes de membrana e em 1 grupo a aplicação tópica do gel de proteínas da matriz do esmalte em defeitos ósseos angulares. As quatro modalidades regenerativas apresentaram resultados igualmente efetivos em relação a redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica, sendo contudo, superiores ao procedimento controle que foi o da raspagem com retalho aberto, após o período de 1 ano de avaliação.

Considerando, especificamente, os resultados obtidos no tratamento regenerativo com o uso de proteínas da matriz do esmalte, os autores também concluem que uma diferença maior no ganho de inserção clínica entre os sítios teste e controle de 2,2mm obtida neste estudo e o valor correspondente ao documentado por HEIJL et al., 1997 de 0,6mm, é atribuído principalmente a um rigoroso programa de controle de placa desenvolvido neste estudo.

As alterações nos parâmetros clínicos e radiográficos de defeitos ósseos angulares tratados com o derivado da matriz do esmalte (EMDOGAIN®), também foram investigados por HEDEN et al., 1999 em uma série de casos clínicos. O estudo

compreendeu 108 pacientes e um total de 145 defeitos intra-ósseos profundos tratados pela aplicação das proteínas da matriz do esmalte adjunto a cirurgia periodontal, no entanto, nenhum procedimento controle foi incluído neste estudo. Os resultados obtidos 1 ano após a terapia regenerativa revelaram um ganho médio de inserção de 4,6mm e um ganho ósseo radiográfico de 2,9mm em média, ou o equivalente a uma média de 69% de preenchimento ósseo do defeito original. Os autores também consideram que a média obtida no ganho de inserção foi superior a de estudos publicados anteriormente, principalmente devido a instituição do mesmo controle rígido de placa e da realização de tratamento periodontal com raspagem subgingival previamente a terapia regenerativa.

Ainda avaliando as modificações nos parâmetros clínicos de sondagem após tratamento regenerativo de defeitos periodontais intra-ósseos com proteínas da matriz do esmalte, SCULEN et al., 1999c publicaram um estudo documentando 32 casos clínicos. Os defeitos angulares apresentavam 2 e 3 paredes ósseas e um componente intra-ósseo de pelo menos 6mm no início do estudo. Decorrido 8 meses de pós-operatório, constatou-se uma média de redução da profundidade de sondagem de 4,4mm, uma média de recessão gengival de 1,5mm e um ganho médio no nível de inserção de 3,0mm. A avaliação radiográfica foi apenas qualitativa, revelando uma formação de tecido ósseo em 26 dos 32 defeitos.

Em outro estudo, SCULEAN et al., 1999a compararam o tratamento de defeitos intra-ósseos profundos aplicando proteínas da matriz do esmalte, com regeneração tecidual guiada utilizando membranas reabsorvíveis. O estudo clínico, controlado abrangeu 16 pacientes apresentando 2 defeitos intra-ósseos contralateralmente e na

mesma maxila, que foram tratados aleatoriamente com as proteínas da matriz do esmalte e com membranas reabsorvíveis, caracterizando um estudo *split-mouth*. Os resultados obtidos aos 8 meses de pós-operatório, demonstraram para os sítios tratados com as proteínas da matriz do esmalte uma redução média na profundidade de sondagem de 3,8mm, uma retração gengival média de 0,8mm e um ganho médio no nível clínico de inserção de 3,1mm. Os sítios tratados com regeneração tecidual guiada apresentaram médias na redução da profundidade de sondagem de 4,0mm, na retração gengival de 1,1mm e no ganho de inserção clínica de 3,0mm. Os resultados indicaram que as duas modalidades terapêuticas melhoraram os parâmetros clínicos investigados de forma significativa e equivalente.

Em um estudo documentando 2 casos clínicos de defeitos intra-ósseos tratados com as proteínas da matriz do esmalte disponíveis comercialmente, RASPERINI et al., 1999 verificaram resultados clínicos favoráveis, assim como as características dos tecidos formados após 12 e 18 meses de tratamento, através de procedimentos cirúrgicos de reentrada. A descrição dos casos mostrou em um defeito ósseo de 2 e 3 paredes na superfície distal de um canino superior, um ganho de inserção clínica de 8mm, correspondente a uma evidente formação de tecido duro de 6mm, verificado na reentrada após 1 ano. No segundo caso, o defeito ósseo era composto por 1 e 3 paredes ósseas na mesial de um incisivo superior, sendo que o ganho de inserção clínica alcançou 5mm com 18 meses de pós-operatório. O procedimento de reentrada no mesmo período revelou um tecido neoformado com consistência de osso e uma densidade que impedia a sondagem. Nos dois casos houve uma correlação entre o tecido duro neoformado e o aumento da radiopacidade óssea radiográfica.

SILVESTRI et al., 2000, em um estudo piloto, compararam a eficácia clínica de 3 procedimentos cirúrgicos diferentes no tratamento de defeitos intra-ósseos: a aplicação do derivado da matriz do esmalte, regeneração tecidual guiada com membranas não-reabsorvíveis e o retalho de Widman modificado. Trinta pacientes foram divididos aleatoriamente em três grupos iguais, sendo que cada grupo recebeu uma única modalidade de tratamento. Os defeitos ósseos se localizavam em dentes unirradiculares e apenas um na superfície mesial de primeiro molar inferior, sem envolvimento de furca, com componente intra-ósseo maior ou igual a 4mm e profundidade de sondagem maior ou igual a 6mm no início do estudo.

A avaliação dos parâmetros clínicos mostraram que o tratamento com o derivado da matriz do esmalte e regeneração tecidual guiada são estatisticamente iguais quando comparados entre si, porém, superiores ao tratamento com retalho, com ganhos médios de inserção clínica respectivamente iguais a 4,5mm, 4,8mm e 1,2mm aos 12 meses de avaliação.

Em um estudo clínico controlado, FROUM et al., 2001 compararam a terapia cirúrgica para instrumentação radicular com e sem proteínas do esmalte em defeitos intra-ósseos através de reentradas cirúrgicas aos 12 meses de pós-operatório. Vinte e três pacientes constituíram uma amostra de 53 defeitos testes e 31 defeitos controles que apresentaram resultados estatisticamente superiores em todos os parâmetros avaliados para a terapia cirúrgica associada com proteínas do esmalte. O ganho médio de inserção foi de 4,26mm nos sítios testes e de 2,75mm nos sítios controles, enquanto que, os procedimentos de reentrada revelaram um preenchimento ósseo médio de 3,83mm nos sítios testes e de 1,47mm nos sítios controles. Nesse estudo, o maior

ganho de inserção e de preenchimento ósseo observado no grupo teste pode estar relacionado com a profundidade inicial do defeito ósseo que era estatisticamente maior no grupo teste.

Recentemente, OKUDA et al., 2000, observaram os resultados clínicos e radiográficos de um estudo com delineamento split-mouth, placebo-controlado, duplo-cego e aleatório durante um período de 12 meses de avaliação. Desse estudo, comparando-se os efeitos da terapia cirúrgica em 36 defeitos intra-ósseos contralaterais e na mesma arcada, utilizando-se o derivado da matriz do esmalte e uma solução placebo, o alginato de propilenoglicol, pode-se constatar uma redução média na profundidade de sondagem de 3,0mm no grupo teste, enquanto que essa redução foi de 2,2mm no grupo placebo. O ganho médio do nível de inserção clínica foi de 1,72mm e de 0,83mm nos grupos teste e placebo, respectivamente. Os índices de placa e gengival mantiveram-se baixos e sem diferenças entre os grupos durante todo o período de avaliação, no entanto, o índice de sangramento à sondagem do grupo teste reduziu significativamente aos 12 meses em relação ao grupo placebo. A mobilidade dental também foi avaliada e, mostrou uma tendência a aumentar em ambos os grupos, mas esse aumento não foi estatisticamente significativo, assim como, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Radiografias digitais mostraram um ganho de densidade óssea significativa no grupo teste de 20,2% comparado a uma perda de densidade óssea média de 3,94% no grupo placebo.

Considerando a complexidade dos fenômenos biológicos que envolvem os processos de cura periodontal, e ainda, a possibilidade de se obter uma somatória de resultados positivos através da combinação de diferentes técnicas regenerativas,

alguns estudos foram desenvolvidos com o objetivo de testar o uso das proteínas do esmalte com outras modalidades terapêuticas regenerativas.

LEKOVIC et al., 2000 avaliaram 21 pares de defeitos intra-ósseos por 6 meses e cirurgias de reentrada foram realizadas no 6º mês, em um modelo de estudo split-mouth. Um grupo foi tratado cirurgicamente com as proteínas da matriz do esmalte e no outro as proteínas do esmalte foram associadas a um material de enxerto ósseo poroso bovino. Os resultados deste estudo indicam que o mineral ósseo poroso bovino tem a capacidade de aumentar os efeitos das proteínas da matriz do esmalte, uma vez que, o grupo que testou a associação apresentou uma redução na profundidade de sondagem de 3,36 a 3,43mm, o ganho de inserção alcançou 3,11 a 3,13mm e o preenchimento ósseo do defeito foi de 3,74 a 3,82mm, enquanto o grupo que usou apenas as proteínas do esmalte apresentou uma redução de bolsa de 1,85 a 1,91mm, um ganho de inserção de 1,72 a 1,75mm e um preenchimento ósseo de 1,33 a 1,41mm. A melhora observada em todos os parâmetros clínicos foi estatisticamente significativa.

Ainda com o mesmo propósito, LEKOVIC et al. 2001, compararam os resultados clínicos da associação de proteínas da matriz do esmalte, mineral ósseo poroso bovino e membrana reabsorvível com o retalho para raspagem e alisamento radicular em 18 pares de defeitos intra-ósseos humanos, através de um estudo split-mouth. Os parâmetros clínicos foram reavaliados aos 6 meses de pós-operatório junto com cirurgias de reentradas para detectar o preenchimento ósseo do defeito e a reabsorção da crista óssea.

O ganho médio de inserção variou de 3,78 a 3,89mm nos sítios experimentais e de 1,48 a 1,52mm nos sítios controles. O preenchimento ósseo do defeito alcançou

4,81mm nos sítios experimentais e apenas 1,78mm nos sítios controles. Essas diferenças observadas foram estatisticamente e clinicamente significantes. A reabsorção da crista óssea foi similar nos dois grupos e atingiu 0,90mm no grupo teste e 1,16mm no grupo controle.

LEKOVIC et al., 2001 avaliaram, agora, as seguintes associações: mineral ósseo poroso bovino e o derivado da matriz do esmalte comparado ao mineral ósseo poroso bovino e o sistema fibrinogênio/fibronectina autógeno em 23 pares de defeitos intra-ósseos humanos, através de um estudo split-mouth. Como nos dois estudos anteriores, os parâmetros clínicos foram reavaliados aos 6 meses de pós-operatório e cirurgias de reentradas também foram realizadas para detectar o preenchimento ósseo do defeito e a reabsorção da crista óssea.

Nesse estudo as duas modalidades de tratamento promoveram resolução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito de forma igualmente efetiva quando comparadas ao baseline.

Posteriormente, CAMARGO et al., 2001 compararam a terapia regenerativa combinada de proteínas da matriz do esmalte e o mineral ósseo poroso bovino com a terapia controle de acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular em 24 pares defeitos intra-ósseos humanos, também em um estudo de delineamento split-mouth, com 6 meses de avaliação e reentradas cirúrgicas.

Os resultados publicados nesse estudo revelaram um ganho de inserção de 3,41 a 3,48mm nos sítios testes e de 1,42 a 1,44mm nos controles. O preenchimento ósseo teve um alcance de 3,71 a 3,93mm no grupo teste e de 1,04 a 1,08mm no grupo

controle. Todos os parâmetros clínicos avaliados foram, estatisticamente e clinicamente, mais favoráveis a terapia regenerativa combinada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. SELEÇÃO DE PACIENTES:

Os pacientes incluídos no estudo foram selecionados entre os que procuraram tratamento periodontal nas Clínicas de Pós-Graduação e Especialização da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP. Para esta seleção os pacientes passaram por uma anamnese, exame clínico e radiográfico periapical, sendo que os selecionados deveriam apresentar:

- diagnóstico de periodontite crônica moderada ou avançada.
- pelo menos um defeito intra-ósseo interproximal em dentes uniradiculares composto por predominantemente 1 ou 2 paredes ósseas.
- os defeitos deveriam apresentar profundidade igual ou maior a 4mm e largura igual ou maior a 2mm, estimadas no exame radiográfico periapical através de régua milimetrada.
- profundidade de sondagem clínica igual ou maior a 5mm.

Foram selecionados 15 pacientes adultos, sendo 11 mulheres e 4 homens, na faixa etária de 30 a 69 anos (idade média de 41,3 anos), totalizando 19 defeitos intra-ósseos com predominantemente 1 ou 2 paredes ósseas.

Serviram de critério para exclusão da amostra:

- pacientes portadores de alterações sistêmicas que interferissem com o processo de cura (diabetes, doenças hepáticas, doenças renais crônicas, AIDS, etc.)

- pacientes que fizessem uso de medicamentos que também pudessem interferir no processo de cura (corticosteróides, moduladores imunes, quimioterápicos, etc)
- pacientes grávidas ou em fase de amamentação.
- pacientes fumantes

Tabela 1: Apresentação da amostra

Sítio	Teste			Controle		
	face/dente	sexo	idade	face/dente	sexo	idade
1	distal 12	M	35	mesial 34	F	46
2	distal 44	F	30	distal 44	F	39
3	mesial 43	M	30	distal 23	F	43
4	distal 12	F	50	distal 25	F	43
5	mesial 25	M	49	mesial 43	F	31
6	distal 25	F	39	mesial 15	F	40
7	distal 23	F	39	mesial 43	F	69
8	mesial 42	M	40	distal 41	F	39
9	distal 34	M	40			
10	mesial 43	F	43			
11	mesial 34	F	39			

3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi conduzido de acordo com o Código de Ética Profissional Odontológico, e segundo a Resolução CNS 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, de 10 de outubro de 1996. Todos os pacientes estavam cientes da metodologia da pesquisa de forma escrita e verbal e assinaram termos de consentimento pós-informação de acordo com as normas e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (anexos 1 e 2).

3.3. DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO

Os 15 pacientes selecionados, apresentando um total de 19 defeitos intra-ósseos interproximais foram divididos aleatoriamente em grupo teste ou controle, de modo que a amostra foi constituída por 11 sítios testes que receberam tratamento cirúrgico associado com as proteínas do esmalte e 8 sítios controles que receberam tratamento cirúrgico convencional.

Um paciente participou deste estudo com 3 sítios teste e 1 sítio controle e outro paciente com 1 sítio teste e 1 sítio controle, todos em dentes diferentes.

3.4. TERAPIA INICIAL

Todos os pacientes selecionados através de exame clínico e radiográfico preliminares, passaram por uma terapia inicial que consistiu de:

-controle mecânico da placa bacteriana: através de instruções de higiene oral, ensino da técnica de Bass para escovação dental e métodos de limpeza interproximal.

-remoção dos fatores retentivos de placa: cálculo supra-gengival, excessos de restaurações, recontorno das restaurações, selamento provisório das cavidades abertas e ajustes oclusais grosseiros.

Após 4 semanas de Terapia Inicial os pacientes passaram por uma nova avaliação clínica e radiográfica, agora com a finalidade de se obter as medidas iniciais (*baseline*), realizadas nos sítios teste e controle.

3.5. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS

A avaliação dos parâmetros clínicos foi realizada em cada sítio experimental (superfície proximal do defeito) e compreendeu as medidas clínicas de sondagem e parâmetros clínicos complementares, conforme segue a descrição:

3.5.1. MEDIDAS CLÍNICAS DE SONDAÇÃO:

A sondagem clínica foi feita através de guias de sondagem - *stents*, confeccionados com placas de acrílico de 1mm de espessura em um plastificador à vácuo, baseados em modelos de estudos em gesso pedra.

Para obter uma sondagem exatamente no mesmo ponto e unidirecional em todos os períodos de avaliação, foi fixada no *stent* uma canaleta metálica de 0,9mm de diâmetro no ponto mais profundo e representativo da face proximal do defeito, tanto do lado vestibular como lingual ou palatino. Isso permitiu que um fio de aço de 0,5mm passasse pela canaleta com pouca folga e numa inclinação apropriada para a sondagem. Com o auxílio de um *stop* de borracha, colocado no fio e parando na extremidade superior da canaleta, delimitou-se a extensão das medidas clínicas de sondagem, sendo que em seguida, a leitura desses valores era feita com um paquímetro digital (figura 1).

Assim, foram avaliados dois pontos na superfície interproximal (vestibular e lingual ou palatina) de cada sítio experimental, e posteriormente foi obtida uma média

desses valores. As medidas clínicas de sondagem compreenderam as seguintes distâncias:

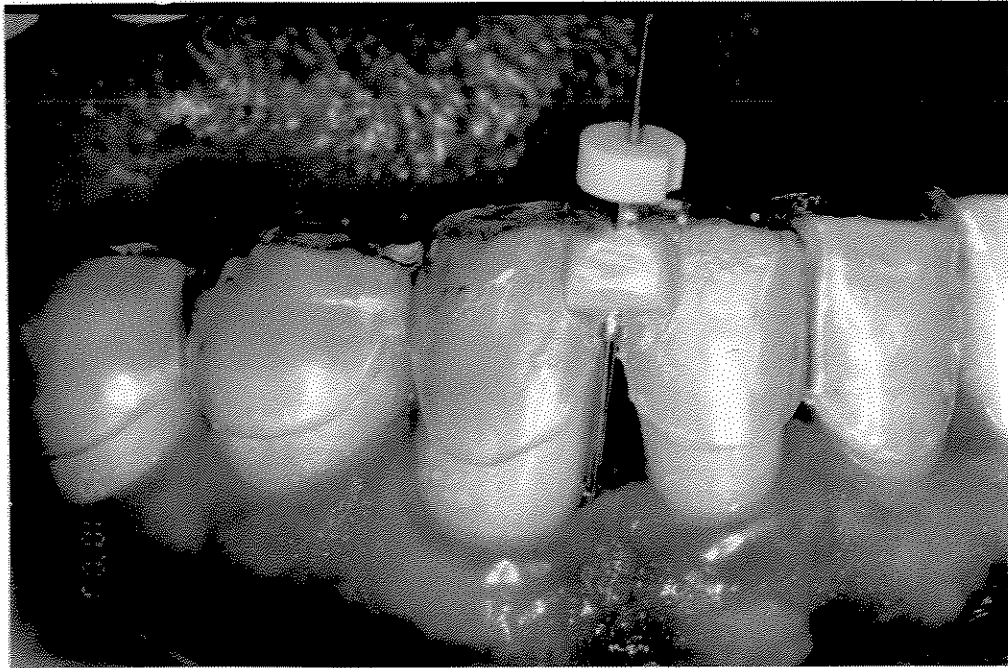


Fig. 1: Sondagem clínica com aparelho orientador de sondagem – stent, fio ortodôntico e stop de borracha.

Posição da Margem Gengival Relativa (PMGR): distância da extremidade superior da canaleta até a margem gengival livre.

Nível de Inserção Clínica Relativo (NICR): distância da extremidade superior da canaleta até a base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

Profundidade de sondagem (PS): foi calculada pela diferença da distância NICR pela PMG.

As medidas de sondagem clínica PMGR, NICR e PS foram avaliadas nas seguintes ocasiões:

1^a) Baseline

2ª) Pós-operatório de 6 meses

3ª) Pós-operatório de 18 meses

3.5.2. PARÂMETROS CLÍNICOS COMPLEMENTARES

Os parâmetros clínicos complementares foram utilizados com o objetivo principal de monitorar a higienização dos pacientes selecionados, tanto no pré como no pós-operatório. Desta forma, foram empregados índices dicotômicos, como segue:

- Índice de Placa Visível -IPV (Ainamo & Bay,1975)

- Índice de Sangramento à Sondagem - ISS (Ainamo & Bay,1975)

Os dados clínicos complementares foram avaliados nas seguintes ocasiões:

1ª) Baseline

2ª) Pós-operatório de 4 semanas

3ª) Pós-operatório de 6 semanas

4ª) Pós-operatório de 2 meses

5ª) Pós-operatório de 3 meses

6ª) Pós-operatório de 4 meses

7ª) Pós-operatório de 5 meses

8ª) Pós-operatório de 6 meses

9ª) Pós-operatório de 10 meses

10ª) Pós-operatório de 14 meses

11ª) Pós-operatório de 18 meses

3.6. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS RADIOGRÁFICOS

A avaliação radiográfica foi empregada nesta pesquisa por se tratar de um método não invasivo e capaz de detectar alterações no tecido ósseo. Assim, foram realizadas tomadas radiográficas iniciais, com 6 e 18 meses após o tratamento cirúrgico.

Radiografias periapicais foram obtidas com a Técnica do Cone Longo e a padronização do ângulo vertical e horizontal foi conseguida com a utilização de posicionadores radiográficos XCP⁺. Um outro dispositivo foi produzido em material acrílico para se encaixar através de pinos no posicionador convencional de radiografias XCP. Isso permitiu que fosse fixado um registro oclusal do paciente feito em resina Duralay¹, adequadamente posicionado para se obter tomadas radiográficas padronizadas (figura 2).

Para a obtenção das imagens radiográficas, ao invés de películas convencionais, foram utilizados sensores radiográficos^γ devidamente fixados ao posicionador de radiografias XCP, de tal forma que marcas de referência foram estabelecidas nas embalagens dos sensores para manter a padronização do método.

⁺ XCP, Rinn Corporation, USA.

¹ Duralay Powder, Reliance Dental MFG Company Worth III, USA.

^γ sensores radiográficos DIGORA

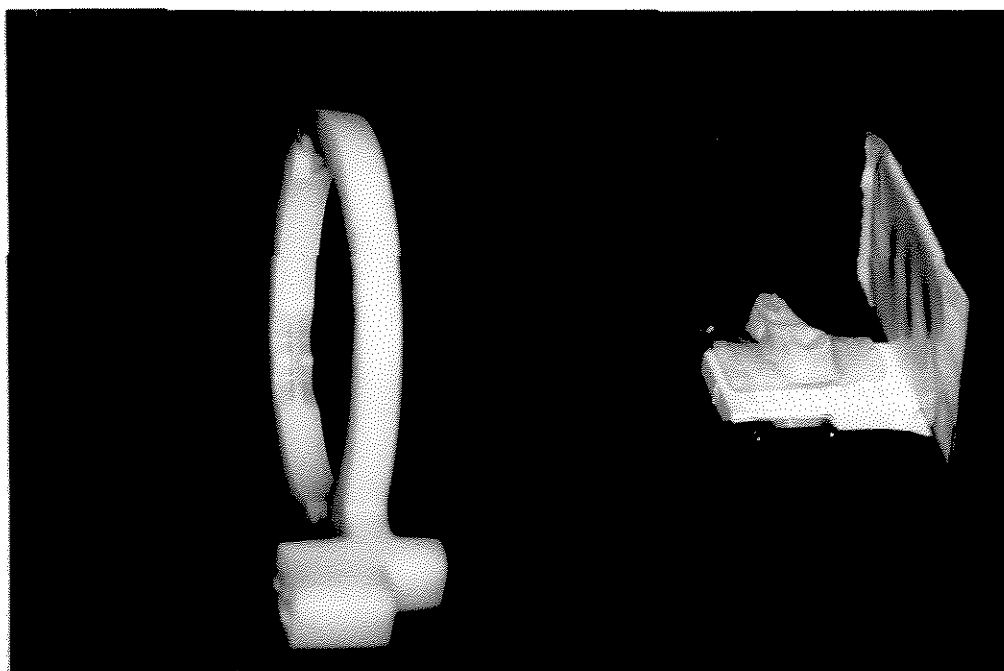


Fig.2: Posicionador radiográfico acoplado ao dispositivo de resina acrílica, registro oclusal e sensor radiográfico.

Com o objetivo de calcular possíveis distorções nas imagens radiográficas (alongamento ou encurtamento), foi adaptado a face vestibular do dente selecionado um pino metálico de comprimento previamente definido e igual a 10mm, durante a tomada radiográfica. Esse pino com medida pré-estabelecida serviu de base para futuros cálculos e correções das medidas radiográficas lineares.

Em testes preliminares, também foram definidos a padronização do contraste e da densidade das radiografias, através da regulagem do aparelho radiográfico com kilovoltagem de 75kv, miliamperagem de 10mA e tempo de exposição equivalente a 0,25s. As radiografias foram digitalizadas através de um processador de imagens[≡]

[≡] processador de imagens DIGORA

ligado a um microcomputador no qual era capturada a imagem e posteriormente armazenada em disco rígido removível para computador.

As radiografias foram feitas nas seguintes ocasiões:

1^a) Baseline

2^a) Pós-operatório de 6 meses

3^a) Pós-operatório de 18 meses

3.7. PROCEDIMENTO TESTE: CIRURGIA PERIODONTAL REGENERATIVA

3.7.1. PREPARO DO GEL DE MATRIZ DERIVADA DO ESMALTE

O gel era preparado em torno de 15 a 20 minutos antes de sua aplicação no sítio cirúrgico, conforme o protocolo preconizado pelo fabricante.

O produto comercial EMDOGAIN[®] apresentava-se em 2 frascos esterilizados, sendo que um deles continha 30 mg da matriz derivada do esmalte liofilizada e o segundo 1ml da solução veículo que era o alginato de propilenoglicol (figura 3).

Portanto, para o preparo do gel foi utilizado uma seringa de 5ml e uma agulha descartável 1,25 x 50mm estéreis, de tal forma que 1ml da solução veículo pudesse ser lentamente aspirada através da tampa de borracha do frasco, e da mesma forma, inserida no frasco contendo a proteína derivada do esmalte. A mistura era agitada durante alguns minutos para que a distribuição do veículo sobre a proteína fosse homogênea.



Fig. 3: Apresentação comercial do derivado de proteínas da matriz do esmalte, solução veículo, seringa e agulhas para aplicação

A seguir, a mistura era aspirada lentamente, evitando-se a entrada de ar na seringa. Por fim, era substituída a agulha da seringa por outra também estéril, curta e romba, apropriada para a aplicação do gel dentro do defeito periodontal.

3.7.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após desinfecção e anestesia local por infiltração ou bloqueio, foram realizadas incisões intra-sulculares e um retalho mucoperiósteo com extensão adequada para acesso ao defeito periodontal foi elevado nas superfícies vestibular e lingual ou palatina da área selecionada.

O tecido de granulação foi removido e as superfícies radiculares foram instrumentadas com instrumentos manuais, ultra-sônicos e rotatórios para a remoção de cálculo e placa bacteriana subgengival, sob irrigação constante com soro fisiológico. Em seguida, as superfícies radiculares expostas eram condicionadas com ácido ortofosfórico à 37% durante 15 segundos, e então, lavadas abundantemente com soro fisiológico, de forma que fosse evitada a contaminação com saliva ou sangue após a lavagem final.

Imediatamente, era aplicado o gel já previamente preparado nos sítios selecionados para teste, começando da parte mais apical do defeito até o seu preenchimento na porção coronária.

Os retalhos eram, então, reposicionados e suturados por pontos interrompidos colchoeiro vertical (figuras 4 a 11).



Fig. 4: Aspecto clínico inicial – sítio teste nº 3.



Fig. 5: Incisão intra-sulcular na superfície vestibular.

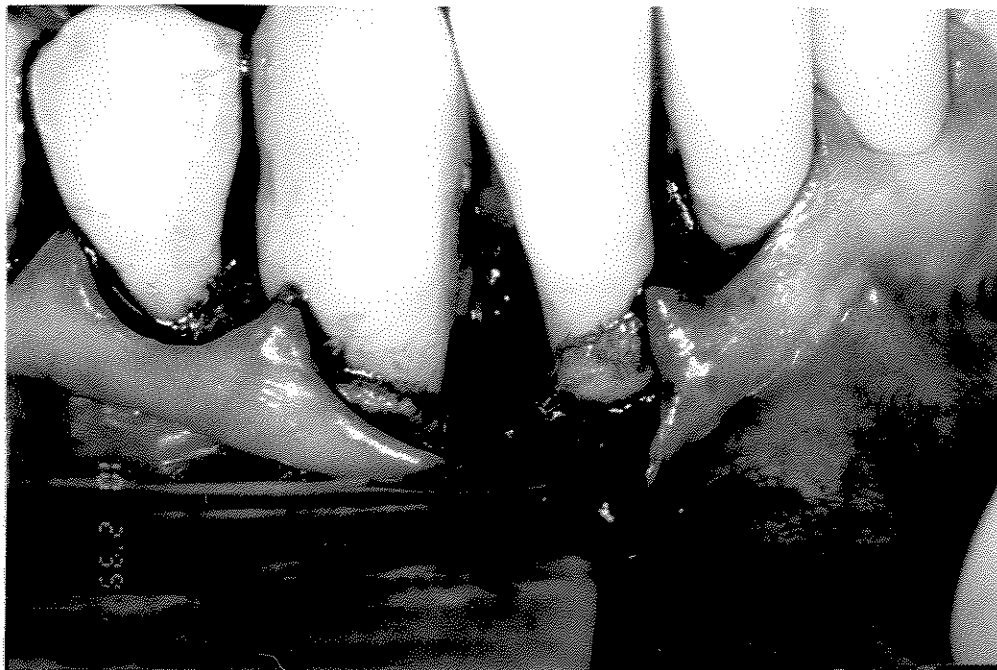


Fig. 6: Rebatimento do retalho de espessura total e visualização do tecido de granulação, cálculo e placa bacteriana subgingival.

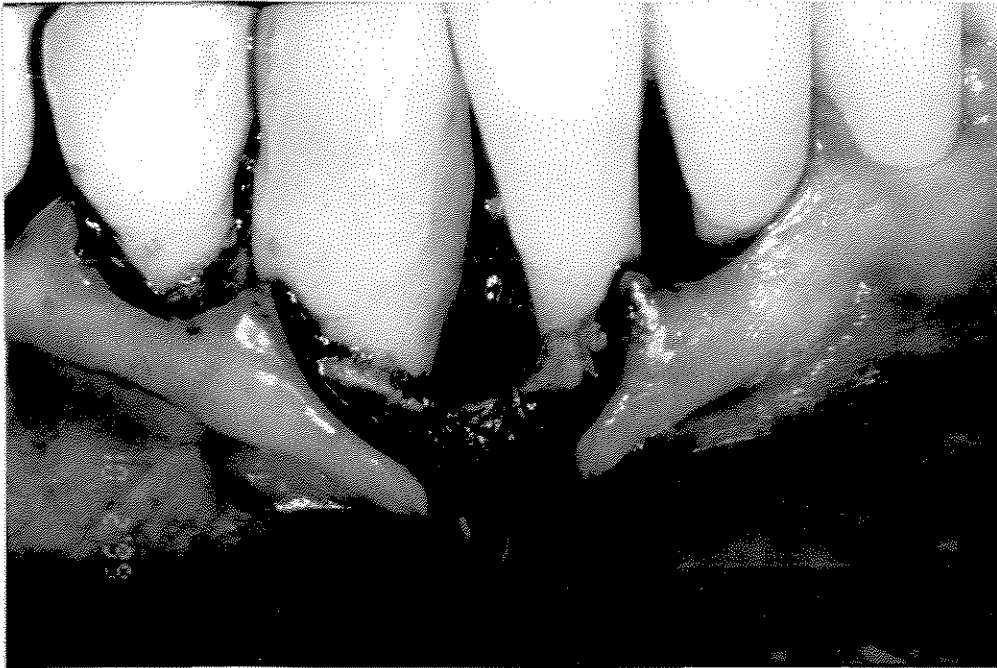


Fig. 7: Superfícies radiculares após instrumentação manual, ultra-sônica e rotatória.



Fig. 8: Condicionamento radicular com ácido fosfórico 37%.

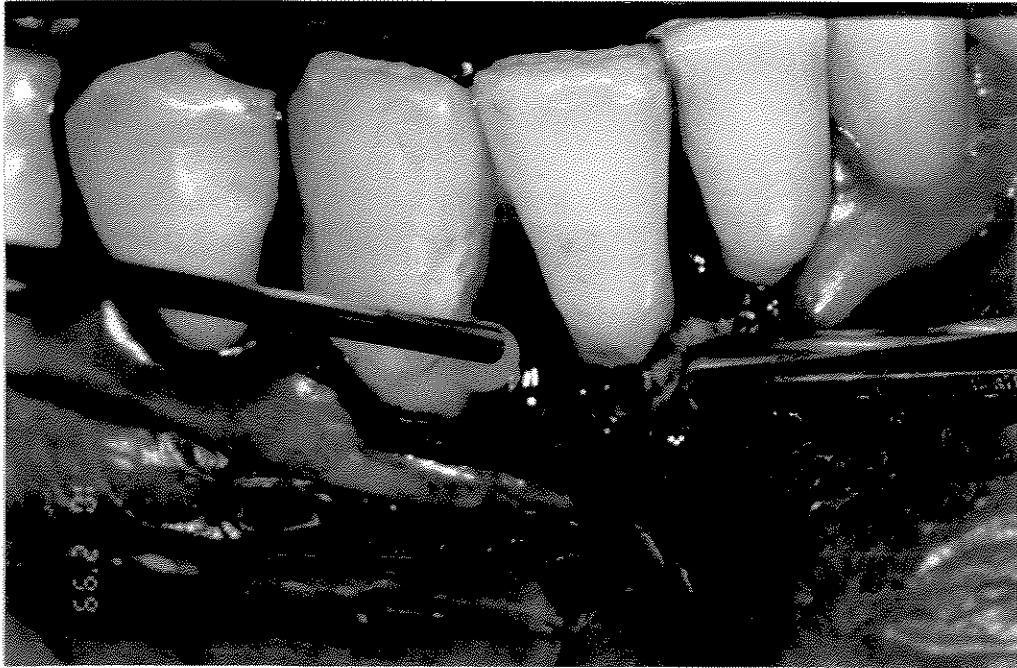


Fig. 9: Aplicação do gel de proteínas da matriz do esmalte dentro do defeito periodontal.

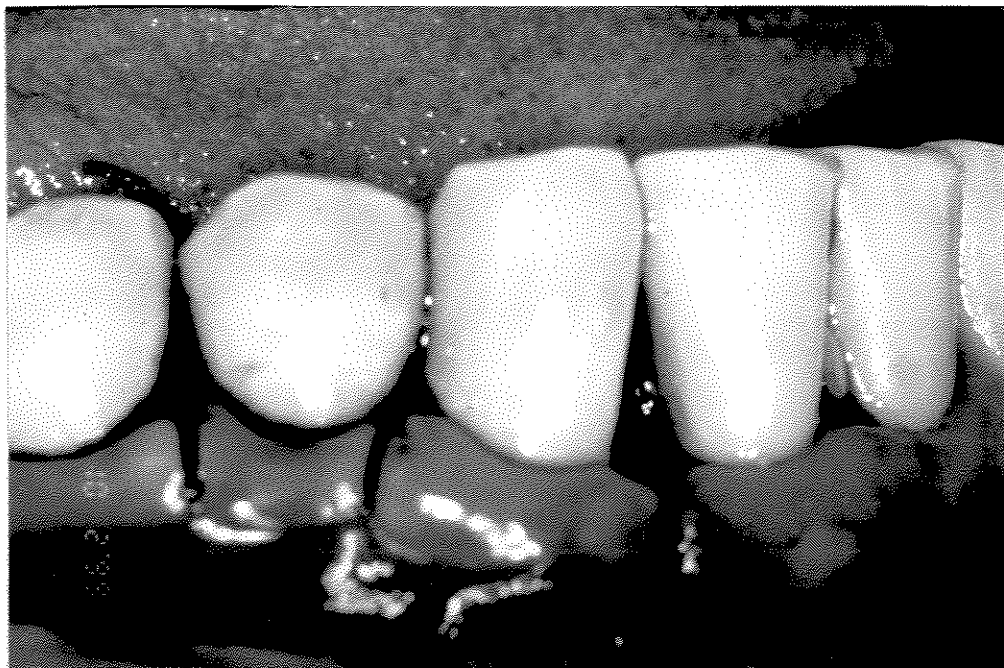


Fig. 10: Sutura colchoeiro vertical da ferida cirúrgica.

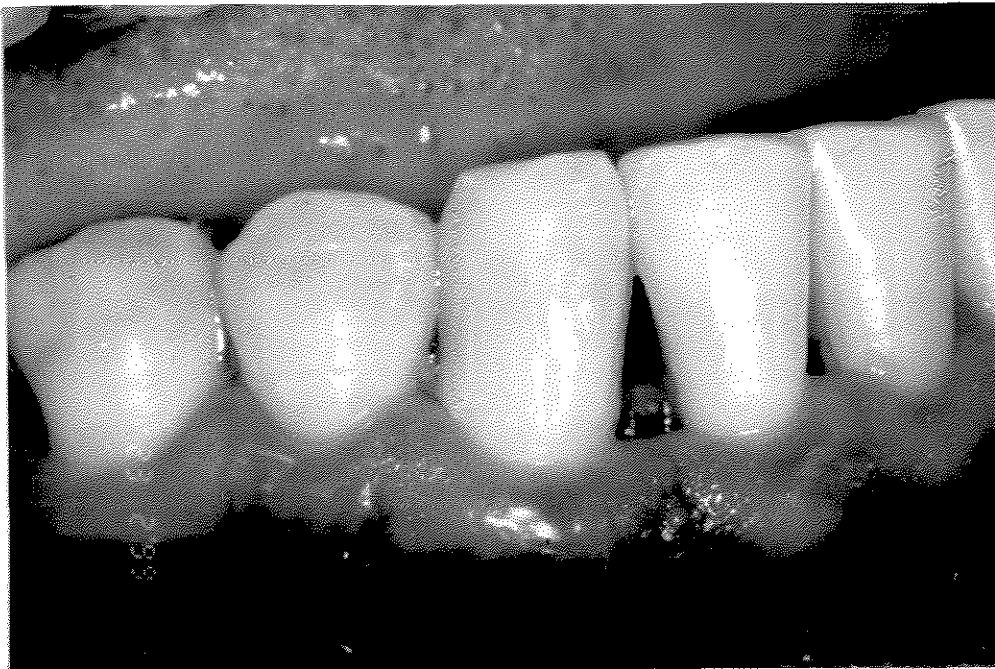


Fig. 11: Aspecto clínico com 2 semanas de pós-operatório.

3.8. AVALIAÇÃO TRANSCIRÚRGICA DOS DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS

Os defeitos intra-ósseos podem apresentar variações no número de paredes ósseas que os compõem, ou seja, esses defeitos podem apresentar 1 parede ou uma combinação de 1 e 2 paredes ou até apresentar um componente apical de 3 paredes, dependendo da sua morfologia na direção vertical. Contudo, o exame radiográfico apresenta limitações na precisão do diagnóstico para essa classificação do defeito.

Por essa razão, os defeitos foram avaliados visualmente e classificados durante o ato cirúrgico, de acordo com as formas dominantes, 1 ou 2 paredes ósseas. Também foi medida a profundidade do defeito com o uso de um fio de aço de 0,5mm e um *stop* de borracha, sendo que a leitura dessa medida era feita posteriormente com

paquímetro digital, evitando-se a aproximação e possibilitando medidas exatas dentro do milímetro. A profundidade do defeito compreendeu a distância da base do defeito até a junção cimento-esmalte (B.d.- JCE).

3.9. PROCEDIMENTO CONTROLE: TÉCNICA CONVENCIONAL

Um procedimento cirúrgico idêntico ao utilizado nos sítios testes foi realizado nos controles, excluindo-se apenas a aplicação do gel de proteínas derivadas da matriz do esmalte.

3.10. TERAPIA PÓS-CIRÚRGICA

Os cuidados pós-cirúrgicos para ambos os grupos, foram direcionados no sentido de manter a lesão estabilizada, manter o controle da dor e o controle de infecção. Como medicação pós-operatória utilizamos paracetamol 2g/dia, durante 2 dias associado com antibioticoterapia sistêmica com cloridrato de tetraciclina 1g/dia, durante 1 semana.

Os pacientes foram orientados para fazerem controle químico da placa bacteriana através de bochechos com solução de digluconato de clorexidina 0,12% a cada 12 horas. Além disso, os pacientes também receberam orientação para modificarem os procedimentos de higiene oral na área operada através de escovação suave, sem utilização do fio dental até a 6ª semana pós-operatória.

3.11. TERAPIA DE MANUTENÇÃO

Durante um período de 18 meses após a cirurgia, os pacientes foram colocados sob uma terapia de manutenção que consistiu de um programa de controle de placa no qual foram reforçadas as instruções de higiene oral, foram monitorados os índices de placa mensalmente durante os primeiros 6 meses e a cada 3 ou 4 meses durante os últimos 12 meses. Nenhuma instrumentação periodontal subgengival foi feita em todo esse período pós-operatório, a menos que fosse necessário, nas áreas que não estavam sendo avaliadas neste estudo.

3.12. EXAMES DE REAVALIAÇÃO

Os parâmetros clínicos e radiográficos utilizados no baseline foram reavaliados no 6º e 18º mês de pós-operatório.

3.13. AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

3.13.1. AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA LINEAR

A avaliação radiográfica linear foi feita em um programa específico para análises de imagens IMAGELAB, e compreendeu as seguintes etapas:

Primeiramente, as radiografias digitais inicial, de 6 e de 18 meses de avaliação de cada paciente eram postas lado a lado, de modo que, os pontos anatômicos utilizados como referência, pudessem ser identificados da mesma forma nas três

radiografias. Assim, as medidas radiográficas lineares compreenderam as seguintes distâncias, em milímetros:

Ba-JCE (Base do defeito à JCE): distância vertical do ponto mais coronário do ligamento periodontal que apresentasse um espaçamento com largura normal até a junção cimento-esmalte.

Ba-Co (Base do defeito à Crista Óssea): distância vertical do ponto mais coronário do ligamento periodontal que apresentasse um espaçamento com largura normal até o ponto da superfície radicular que se encontra no nível da crista óssea.

Larg. (Largura do defeito): distância horizontal da superfície radicular até a crista óssea.

Para cada imagem radiográfica (inicial, 6 meses e 18 meses) de cada paciente foi obtido o comprimento do pino metálico também em milímetros, a fim de que, as medidas de Ba-JCE, Ba-Co e Larg. pudessem ser posteriormente corrigidas e comparadas, tomando-se como referência as distorções do pino metálico.

3.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

As medidas clínicas e radiográficas foram analisadas comparando-se as médias obtidas nos grupos teste e controle, como também foram testadas as diferenças entre os dados iniciais (*baseline*), de 6 meses e de 18 meses dentro dos grupos pela ANOVA e pelo teste de Tukey.

Valores de *p* menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

4.1. AVALIAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO TRANSCIRÚRGICA DOS DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS

A caracterização dos defeitos ósseos quanto ao número de paredes e a sua profundidade, em milímetros, obtidas durante o procedimento cirúrgico nos grupos teste e controle, estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2: Classificação e profundidade, em milímetros, dos defeitos intra-ósseos nos grupos teste e controle.

Sítio	Teste		Controle	
	Nº de paredes	Profundidade	Nº de paredes	Profundidade
1	1	12,19	1	6,47
2	2	5,94	1	6,28
3	1	9,12	1	8,15
4	1	6,30	2	7,02
5	2	7,05	1	10,48
6	2	8,71	1	7,59
7	2	11,00	2	11,18
8	2	11,56	2	6,81
9	2	6,71		
10	2	11,17		
11	2	6,16		

4.2. RESULTADOS CLÍNICOS

A Terapia de Manutenção realizada durante os 18 meses de pós-operatório permitiu constatar que nenhum dos pacientes do grupo teste ou controle apresentaram complicações ou reações adversas do tipo alérgicas, ou mesmo presença de infecções

e formação de abscessos que pudessem ser associados com a administração da substância teste. Além disso, o monitoramento dos Índices de Placa e de Sangramento à Sondagem (Ainamo & Bay, 1975) a cada 3 ou 4 meses demonstraram um bom nível de higiene oral para os pacientes de ambos os grupos nesse período.

As medidas clínicas de sondagem: posição da margem gengival relativa (PMGR), nível de inserção clínica relativo (NICR) e profundidade de sondagem (PS), no início, com 6 e 18 meses após o tratamento estão apresentadas nas tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3: Médias das alterações da Posição da Margem Gengival Relativa (PMGR) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	PMGR				
	Inicial	6 meses	18 meses	Retração Gengival (6 meses)	Retração Gengival (18 meses)
Teste	7,82 ± 1,10 aB	9,33 ± 1,62 aA	9,62 ± 1,13 aA	1,51 ± 0,87	1,8 ± 0,77
Controle	8,00 ± 1,68 aB	9,67 ± 1,44 aA	9,51 ± 1,74 aA	1,67 ± 0,70	1,51 ± 0,60

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O grupo teste apresentou uma média de retração gengival de $1,51 \pm 0,87$ mm aos 6 meses e de $1,80 \pm 0,77$ mm aos 18 meses. Essa alteração na posição da margem gengival em relação ao exame inicial foi estatisticamente significativa em ambos os períodos de avaliação. De forma semelhante, constatou-se no grupo controle uma retração média e, estatisticamente significativa de $1,67 \pm 0,70$ mm aos 6 meses e de $1,51 \pm 0,60$ mm aos 18 meses.

A comparação entre as médias de retração da margem gengival obtidas nos grupos teste e controle não apresentaram diferença estatística aos 6 meses, nem tão pouco aos 18 meses.

Tabela 4: Médias das alterações do Nível de Inserção Clínica Relativo (NICR) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	NICR				
	Inicial	6 meses	18 meses	Ganho NIC (6 meses)	Ganho NIC (18 meses)
Teste	14,82 ± 1,83 aA	12,92 ± 1,99 aB	13,40 ± 2,05 aB	1,9 ± 1,19	1,42 ± 1,26
Controle	14,54 ± 1,92 aA	13,39 ± 1,99 aB	13,34 ± 2,02 aB	1,15 ± 0,79	1,2 ± 0,78

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para o nível clínico de inserção, o grupo teste apresentou uma média inicial de $14,82 \pm 1,83\text{mm}$ e uma média de $12,92 \pm 1,99\text{mm}$ aos 6 meses de avaliação, sendo esse ganho de $1,9 \pm 1,19\text{mm}$ estatisticamente significativo ($p \leq 0,001$). Com 18 meses de avaliação, o grupo teste manteve um ganho médio de inserção significativo e igual a $1,42 \pm 1,26\text{mm}$ ($p \leq 0,001$). Os ganhos médios de inserção de $1,9 \pm 1,19\text{mm}$ e de $1,42 \pm 1,26\text{mm}$ obtidos, respectivamente, aos 6 e 18 meses, não diferiram estatisticamente entre si. No grupo controle, também foi observado um ganho médio de inserção, estatisticamente significativo, aos 6 meses de avaliação de $1,15 \pm 0,79\text{mm}$ que se manteve igual a $1,20 \pm 0,78\text{mm}$ e com significância estatística no 18º mês de avaliação em relação ao exame inicial.

No entanto, a comparação das médias de ganho de inserção clínica entre os grupos teste e controle, continuou não diferindo estatisticamente no 6º mês e no 18º mês de avaliação.

Tabela 5: Médias das alterações da Profundidade de Sondagem (PS) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	PS				
	Inicial	6 meses	18 meses	Redução PS (6 meses)	Redução PS (18 meses)
Teste	6,99 ± 1,22 aA	3,59 ± 1,03 aB	3,77 ± 1,29 aB	3,4 ± 1,28	3,22 ± 1,44
Controle	6,53 ± 0,77 aA	3,71 ± 0,80 aB	3,83 ± 0,83 aB	2,82 ± 0,94	2,7 ± 0,89

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A redução na profundidade de sondagem foi observada no grupo teste e no grupo controle em 6 e 18 meses de avaliação. No grupo teste, a média de redução na profundidade de sondagem foi de $3,4 \pm 1,28$ mm em 6 meses e, praticamente não se alterou com 18 meses de avaliação $3,22 \pm 1,44$ mm. Essas reduções foram estatisticamente significantes em relação a profundidade média de sondagem inicial, com valores de $p \leq 0,001$. No grupo controle, as médias de redução na profundidade de sondagem alcançaram $2,82 \pm 0,94$ mm com 6 meses de avaliação e $2,7 \pm 0,89$ mm com 18 meses de avaliação, demonstrando diferenças estatísticas significativas, com valores de $p \leq 0,001$ para ambos os períodos de avaliação, considerando os valores médios iniciais de profundidade de sondagem. Já, a redução média na profundidade de sondagem no grupo teste de $3,4 \pm 1,28$ mm, não foi estatisticamente diferente da redução média obtida no grupo controle de $2,82 \pm 0,94$ mm aos 6 meses de avaliação. Da mesma forma, a redução média na profundidade de sondagem no grupo teste de $3,22 \pm 1,44$ mm aos 18 meses de avaliação, não diferiu estatisticamente do grupo controle de $2,7 \pm 0,89$ mm.

4.3. RESULTADOS RADIOGRÁFICOS

A avaliação das medidas radiográficas lineares de Ba-JCE, Ba-Co e Larg. permitiu identificar respectivamente, o preenchimento ósseo na base do defeito, a redução do componente intra-ósseo e a largura do defeito nos períodos de 6 e 18 meses de pós-operatório, conforme mostra as tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6: Médias das alterações da medida radiográfica linear de Ba-JCE (Base do defeito até a Junção Cimento-Esmalte) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	Ba-JCE				
	Inicial	6 meses	18 meses	Redução Ba-JCE (6 meses)	Redução Ba-JCE (18 meses)
Teste	8,82 ± 2,46aA	7,57 ± 2,50aB	7,18 ± 2,35aB	1,25 ± 1,47	1,64 ± 1,69
Controle	8,23 ± 1,92aA	7,73 ± 2,23aB	7,52 ± 2,60aB	0,5 ± 1,53	0,71 ± 1,90

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em relação à medida de Ba-JCE, os grupos teste e controle apresentaram médias iniciais sem diferenças estatísticas e, respectivamente iguais a $8,82 \pm 2,46\text{mm}$ e $8,23 \pm 1,92\text{mm}$. Aos 6 meses de avaliação, essas médias reduziram-se a $7,57 \pm 2,50\text{mm}$ no grupo teste e a $7,73 \pm 2,23\text{mm}$ no grupo controle, sendo essas diferenças, estatisticamente significantes, em relação às médias iniciais, tanto no grupo teste como no grupo controle. Nesse mesmo período, a comparação entre os grupos não apresentou diferença estatística. Aos 18 meses de avaliação, essas médias alcançaram $7,18 \pm 2,35\text{mm}$ no grupo teste e $7,52 \pm 2,60\text{mm}$ no grupo controle, mantendo da mesma forma, diferenças estatísticas em relação às médias iniciais nos dois grupos, porém, a comparação das médias obtidas no 18º mês não revelou diferença estatística entre os

grupos teste e controle. Assim, o ganho ósseo de $1,25 \pm 1,47\text{mm}$ em altura detectado no grupo teste aos 6 meses não foi estatisticamente diferente do mesmo ganho médio de $0,5 \pm 1,53\text{mm}$ detectado no grupo controle. Considerando o ganho ósseo máximo, observado aos 18 meses de avaliação, a comparação entre os grupos das médias de $1,64 \pm 1,69\text{mm}$ de ganho ósseo em altura no grupo teste não foi estatisticamente diferente do ganho médio de $0,71 \pm 1,90\text{mm}$ visto no grupo controle.

Tabela 7: Médias das alterações da medida radiográfica linear de Ba-CO (Base do defeito até a Crista Óssea) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	Ba-Co				
	Inicial	6 meses	18 meses	Redução Ba-CO (6 meses)	Redução Ba-CO (18 meses)
Teste	$5,59 \pm 1,66\text{aA}$	$3,92 \pm 1,51\text{aB}$	$3,25 \pm 2,01\text{aB}$	$1,67 \pm 1,43$	$2,34 \pm 1,85$
Controle	$4,61 \pm 0,77\text{aA}$	$4,05 \pm 1,63\text{aB}$	$3,40 \pm 1,67\text{aB}$	$0,56 \pm 1,70$	$1,2 \pm 1,73$

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para a medida de Ba-Co, os grupos teste e controle também apresentaram médias iniciais estatisticamente iguais, sendo de $5,59 \pm 1,66\text{mm}$ para o grupo teste e de $4,61 \pm 0,77\text{mm}$ para o grupo controle. Com 6 meses de avaliação, o componente intra-ósseo apresentou uma redução média para $3,92 \pm 1,51\text{mm}$ no grupo teste e para $4,05 \pm 1,63\text{mm}$ no grupo controle, sendo essas diferenças estatisticamente significantes em relação às médias iniciais dentro de cada grupo. No entanto, a comparação inter-grupos da redução média do componente intra-ósseo, nesse mesmo período, não diferiu estatisticamente.

A medida de Ba-Co continuou reduzindo aos 18 meses de avaliação, alcançando médias de $3,25 \pm 2,01\text{mm}$ no grupo teste e $3,40 \pm 1,67\text{mm}$ no grupo controle. Essas reduções continuaram estatisticamente diferentes em relação às médias iniciais nos dois grupos, porém, em relação ao 6º mês de avaliação, essas reduções não foram estatisticamente significantes em nenhum dos grupos.

A comparação final, aos 18 meses, entre os grupos teste e controle da redução média do componente intra-ósseo de $2,34 \pm 1,85\text{mm}$ no grupo teste com $1,2 \pm 1,73\text{mm}$ do grupo controle não diferiu estatisticamente.

Tabela 8: Médias das alterações da medida radiográfica de Largura (Largura do defeito) dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

Grupo	Largura				Variação Largura (6 meses)	Variação Largura (18 meses)
	Inicial	6 meses	18 meses			
Teste	$2,20 \pm 0,33\text{bA}$	$2,07 \pm 0,63\text{bA}$	$2,09 \pm 0,9\text{bA}$		$0,13 \pm 0,43$	$0,11 \pm 0,85$
Controle	$2,84 \pm 1,02\text{aA}$	$3,02 \pm 1,23\text{aA}$	$3,01 \pm 1,17\text{aA}$		$-0,18 \pm 0,41$	$-0,17 \pm 0,36$

Médias seguidas de letras distintas (minúscula na vertical e maiúscula na horizontal) diferem entre si pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A largura dos defeitos também foi avaliada e apresentou diferença estatística entre os grupos no início do estudo, com uma largura média de $2,20 \pm 0,33\text{mm}$ para o grupo teste e $2,84 \pm 1,02\text{mm}$ para o grupo controle. Aos 6 meses de avaliação houve uma redução na largura média dos defeitos do grupo teste que atingiu $2,07 \pm 0,63\text{mm}$, porém essa redução não foi estatisticamente significativa em relação à largura média inicial. No grupo controle houve um aumento na largura média dos defeitos que alcançou $3,02 \pm 1,23\text{mm}$ no 6º mês, e da mesma forma, esse aumento não foi estatisticamente significativo em relação à largura média inicial. Com 18 meses a

largura média dos defeitos praticamente não se alterou em nenhum dos dois grupos, sendo $2,09 \pm 0,9\text{mm}$ para o grupo teste e $3,01 \pm 1,17\text{mm}$ para o grupo controle. A diferença estatística entre os grupos detectada na largura média inicial se manteve aos 6 meses e também aos 18 meses.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo clínico demonstrou que o procedimento cirúrgico de retalho para acesso a instrumentação periodontal radicular em defeitos intra-ósseos de 1 ou 2 paredes proporcionou resultados significativos e benéficos para os parâmetros clínicos avaliados em pacientes com periodontite moderada e avançada, e que, mantiveram boa higiene oral. Isso está de acordo e já foi documentado anteriormente por outros autores (FROUM et al., 1982; MELLONIG, 1984; RENVERT et al., 1985a; LAURELL et al., 1998).

A utilização das proteínas da matriz do esmalte como terapia cirúrgica regenerativa, também promoveu benefícios no tratamento de defeitos intra-ósseos de 1 ou 2 paredes ósseas, entretanto, os resultados clínicos não foram estatisticamente diferentes do tratamento cirúrgico sem a utilização das proteínas do esmalte. A avaliação por um período de tempo maior, 18 meses, permitiu confirmar a estabilidade desses resultados nas duas terapias.

O tamanho da amostra deste estudo pode ter sido relativamente pequena (19 defeitos), sugerindo que um estudo envolvendo uma amostra de tamanho maior seja necessário para comprovar estatisticamente essa equivalência entre as duas modalidades.

Apesar da ausência de significância estatística, a magnitude dos resultados obtidos no presente estudo foi muito similar àqueles publicados por HEIJL et al. em 1997, considerando que esses autores obtiveram um ganho médio no nível de inserção clínica nos sítios teste e controle de 2,1mm e 1,5mm respectivamente aos 8 meses de

reavaliação, enquanto que no presente estudo o ganho médio no nível de inserção clínica nos sítios teste e controle foram 1,9mm e 1,4mm respectivamente com 6 meses de pós-operatório. Portanto, o ganho adicional no nível de inserção de 0,6mm para o grupo teste publicado por HEIJL et al., 1997, é muito próximo ao mesmo ganho obtido nesse estudo de 0,5mm.

Ainda nesse estudo, HEIJL et al., 1997, também realizaram uma avaliação a longo prazo, 16 meses, mostrando uma constância dos resultados obtidos, com níveis de inserção médios de 2,3mm no grupo teste e 1,7mm no grupo controle. Na nossa avaliação longitudinal de 18 meses, esses valores corresponderam a 1,4mm no grupo teste e 1,2mm no grupo controle.

Mais tarde, OKUDA et al., 2000, em um estudo split-mouth, placebo-controlado, duplo-cego e aleatório, também publicaram ganhos médios no nível de inserção muito similares aos observados no presente estudo, sendo eles de 1,72mm no grupo teste e de 0,83mm no grupo placebo com 12 meses de avaliação.

Em outro estudo split-mouth, LEKOVIC et al., 2000, ao compararem o uso das proteínas do esmalte com uma combinação de proteínas do esmalte e um xenoenxerto, também obtiveram valores muito próximos ao presente estudo em relação ao ganho médio no nível de inserção, uma vez que, o grupo que foi tratado unicamente com as proteínas da matriz do esmalte apresentaram um ganho médio de inserção de 1,75mm 6 meses após o tratamento.

Esses dados ainda sugerem haver muita similaridade entre os resultados obtidos a partir de modelos de estudo *split-mouth* e aqueles desenvolvidos com grupos independentes (ZETTERSTROM et al., 1997).

Em outros estudos clínicos publicados posteriormente ao de HEIJL et al., 1997, avaliando a terapia regenerativa com as proteínas da matriz do esmalte, os resultados mostraram ganhos no nível de inserção clínica e reduções na profundidade de sondagem consistentemente superiores, variando entre 3,0 a 4,6mm em relação ao ganho médio no nível de inserção clínica e entre 4,4 a 7,0mm para a redução da profundidade de sondagem (HEDEN et al., 1999; PONTORIERO et al., 1999; SCULEAN et al., 1999a,b,c ; RASPERINI et al., 1999; MELLONIG, 1999; SILVESTRI et al., 2000; FROUM et al., 2001).

Isso poderia ser explicado, ao menos parcialmente, por algumas diferenças no delineamento dos estudos. Da mesma forma que o presente estudo, HEIJL et al., 1997, avaliaram defeitos intra-ósseos constituídos por predominantemente 1 e 2 paredes ósseas, sendo que os defeitos de predominantemente 3 paredes foram excluídos. Além disso, a profundidade inicial dos defeitos intra-ósseos selecionados era igual ou maior a 4mm. Já nos estudos que apresentaram resultados superiores (HEDEN et al., 1999; PONTORIERO et al., 1999; SCULEAN et al., 1999a,b,c ; RASPERINI et al., 1999; MELLONIG, 1999), defeitos intra-ósseos de 3 paredes foram incluídos na amostra, assim como a profundidade dos defeitos deveria ser de pelo menos 6mm no início do estudo. No trabalho de FROUM et al., 2001, a média da profundidade inicial do defeito ósseo já era estatisticamente maior no grupo teste (5,63mm) do que no grupo controle (4,29mm), o que pode ter contribuído para os melhores resultados de ganho no nível de inserção e de preenchimento ósseo observados no grupo teste aos 12 meses de avaliação.

Vários estudos clínicos já demonstraram que o ganho no nível de inserção clínica após cirurgia periodontal regenerativa ou mesmo convencional é fortemente dependente da profundidade inicial do defeito, ou seja, quanto maior a profundidade inicial do defeito, maior o ganho no nível de inserção clínica (POLSON & HEIJL, 1978, RENVERT et al., 1985a; CORTELLINI et al., 1993a). PONTORIERO et al., 1999, em um estudo clínico controlado, observaram essa forte correlação ao comparar quatro técnicas regenerativas, incluindo a aplicação tópica do gel de proteínas da matriz do esmalte, com o procedimento controle de raspagem com retalho aberto em defeitos ósseos angulares. Nesse estudo, foi demonstrado que os maiores valores de ganho de inserção ocorreram em defeitos angulares com maiores profundidades iniciais do componente intra-ósseo, para todos os tratamentos realizados.

Outros estudos clínicos também já correlacionaram a morfologia do defeito com resultados clínicos mais favoráveis (ROSLING et al., 1976; POLSON & HEIJL, 1978; RENVERT et al., 1985a; BECKER et al., 1988; CORTELLINI et al., 1993b). Defeitos intra-ósseos de 3 paredes apresentam características anatômicas que determinam um maior potencial regenerativo e resultados clínicos mais previsíveis em pacientes com boa higiene oral (HEIJL et al., 1997; SCULEAN et al, 1999a).

Assim sendo, as diferenças de delineamento entre os estudos, considerando especialmente, as características iniciais dos defeitos intra-ósseos que constituíram as amostras, podem explicar a obtenção de médias mais baixas no presente estudo para os parâmetros clínicos de ganho de inserção e redução da profundidade de sondagem, já que os defeitos intra-ósseos avaliados apresentavam potenciais de cura mais limitados e de menor previsibilidade.

Fatores como regime de controle de placa a que o paciente é submetido e a infecção periodontal residual na cavidade oral são reconhecidos como fatores que podem interferir fortemente nos resultados clínicos de procedimentos cirúrgicos convencionais ou regenerativos (TONETTI et al., 1996). PONTORIERO et al., 1999 obtiveram médias comparativamente superiores em relação ao presente estudo e ao estudo de HEIJL et al., 1997, com um ganho médio de inserção de 3,0mm e uma redução média na profundidade de sondagem de 4,2mm. Posteriormente, HEDEN et al., 1999 publicaram médias ainda maiores que alcançaram 4,6mm de ganho de inserção e 5,2mm de redução na profundidade de sondagem. Nesses dois estudos, foi incluído no protocolo clínico o tratamento da doença periodontal avançada, consistindo de instrumentação periodontal subgengival de todas as partes da dentição durante diversas sessões que antecederam a cirurgia regenerativa, e paralelamente, os pacientes eram colocados em um programa periodontal de suporte supervisionado. Em conseqüência disso, a higiene oral dos pacientes já era excelente antes do início do estudo, sendo portanto, sugerido que o número de microrganismos na cavidade oral era consideravelmente baixo, permitindo que condições ótimas para o processo de cura fossem estabelecidas (TONETTI et al., 1996).

Os autores consideram que o ganho adicional no nível de inserção clínica e na redução da profundidade de sondagem se deveu, principalmente, pela instituição de um controle de placa rigoroso, tanto antes como depois da cirurgia regenerativa, e não pelas diferenças nas características iniciais dos defeitos intra-ósseos (PONTORIERO et al., 1999; HEDEN et al., 1999).

No presente estudo não foi feito o tratamento prévio da doença, através da instrumentação periodontal subgingival sob anestesia local da área selecionada para o estudo. No nosso protocolo foi definido como terapia inicial o ensino do controle mecânico de placa, através de instruções rigorosas e repetidas feitas por um profissional até se atingir baixos níveis de placa bacteriana, além da remoção do cálculo supra-gingival e de qualquer outro fator retentivo de placa bacteriana supra-gingival. Isso permitiu reduzir o processo inflamatório dos tecidos gengivais e fazer um acesso cirúrgico adequado, com boa manipulação dos tecidos gengivais. A terapia inicial teve uma duração mínima de 4 semanas e, também permitiu que os pacientes iniciassem o estudo com boa higiene oral. Outros estudos controlados que avaliaram a terapia regenerativa com as proteínas do esmalte, também seguiram esse protocolo e não incluíram a instrumentação periodontal subgingival anteriormente ao procedimento cirúrgico convencional ou regenerativo (HEIJL et al., 1997; ZETTERSTROM et al., 1997), dessa forma, o protocolo do presente estudo não foi capaz de confirmar a necessidade de terapia cirúrgica após o tratamento periodontal subgingival, no entanto, garantiu condições adequadas para o acesso cirúrgico e para o processo de cura no período pós-operatório.

Ainda em relação ao controle da placa bacteriana, HEDEN et al., 1999 sugerem o uso exclusivo de medidas de controle químico da placa durante as primeiras 6 semanas de pós-operatório. A eliminação total dos meios mecânicos de higiene oral nessa fase inicial de cicatrização, evitaria deslocamentos do coágulo sanguíneo neoformado entre o retalho e a superfície radicular. Isso favoreceria a estabilidade da ferida cirúrgica e a nova formação do aparato de inserção. No presente estudo, também

houve uma preocupação em minimizar a movimentação dos tecidos e manter a ferida cirúrgica estabilizada, sendo que para isso o controle químico da placa com digluconato de clorexidina 0,12% duas vezes ao dia foi associado ao mecânico, tomando-se o cuidado de modificar a técnica de escovação para uma escovação mais suave da área operada e sem a utilização do fio dental nas primeiras 6 semanas.

A retração da margem gengival observada neste estudo foi de 1,8mm após o procedimento cirúrgico regenerativo e de 1,5mm após o procedimento cirúrgico convencional com 18 meses de avaliação. Estudos clínicos têm documentado uma média de retração gengival similar entre os procedimentos cirúrgicos convencional e regenerativo com as proteínas do esmalte dental, variando de 1,2 a 1,7mm (HEIJL et al., 1997, ZETTERSTROM et al., 1997, SCULEAN et al., 1999c, PONTORIERO et al., 1999), o que mostra uma concordância com os resultados do presente estudo. Entretanto, HEDEN et al., 1999 obtiveram uma média menor alcançando apenas 0,6mm de retração da margem gengival após 1 ano de terapia ativa com o derivado da matriz do esmalte, sugerindo que uma retração mínima da margem gengival pode favorecer o ganho de inserção.

Existem ainda alguns fatores relativos a técnica de aplicação do derivado da matriz do esmalte, que podem impedir a obtenção dos melhores resultados clínicos. De acordo com MELLONIG, 1999, um dos fatores mais críticos da técnica é o sangramento excessivo no sítio do defeito ósseo, que impedirá o íntimo contato entre as proteínas da matriz do esmalte e a superfície radicular exposta. Da mesma forma, a contaminação por saliva da superfície radicular biomodificada também pode comprometer o êxito dos resultados.

Uma vez que a contaminação por sangue ou saliva constitua um fator que pode afetar fortemente os resultados clínicos, uma atenção especial deveria ser dada para a obtenção de uma boa hemostasia durante o procedimento cirúrgico. Nesse sentido, deve ser considerado como passos importantes da técnica, a utilização de anestésicos locais que contenham vasos constritores apropriados, a remoção de todo o tecido de granulação, e caso seja necessário, a aplicação de agentes hemostáticos embebidos em gaze sob pressão, com o único objetivo de obter um sítio cirúrgico adequado para que ocorra a precipitação das proteínas do esmalte sobre a superfície radicular.

Outra limitação do uso tópico das proteínas do esmalte dental é a sua natureza viscosa, que muitas vezes não é capaz de suportar o retalho, e conseqüentemente, manter espaço sob o retalho durante o processo de cura (MELLONIG, 1999). Isso é especialmente importante nos defeitos ósseos maiores, como os de 1 ou 2 paredes, podendo reduzir a eficácia clínica nesses tipos de defeitos, principalmente no que se refere a regeneração óssea, já que essa é dependente do espaço disponível sob o retalho (KARRING et al., 1997)

Em virtude dessa deficiência, uma combinação das proteínas da matriz do esmalte com materiais de enxertos ósseos ou substitutos ósseos, ou mesmo com barreiras físicas, poderiam aumentar o potencial regenerativo das proteínas do esmalte, já que tanto os materiais de enxerto como as membranas são, por característica, preenchedores e mantenedores de espaço. Assim, uma abordagem regenerativa baseada em princípios regenerativos diferentes, poderia maximizar a eficácia e previsibilidade dos resultados clínicos. Experimentos clínicos controlados com reentradas cirúrgicas após 6 meses de avaliação têm testado algumas dessas

combinações (LEKOVIC et al., 2000; LEKOVIC et al., 2001a, b; CAMARGO et al., 2001). Os resultados parecem indicar que a associação das proteínas da matriz do esmalte com os materiais de enxerto é capaz de melhorar os resultados em relação a redução da profundidade de sondagem, ganho no nível de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito (LEKOVIC et al., 2000). A combinação de três técnicas (enxertos ósseos, proteínas do esmalte e regeneração tecidual guiada) também tem mostrado resultados clínicos superiores no tratamento de defeitos intra-ósseos em relação ao tratamento cirúrgico convencional (LEKOVIC et al., 2000). No entanto, mais estudos clínicos controlados e de longo período de avaliação precisam ser realizados para testar essas combinações e determinar o papel exato de cada terapia na superioridade desses resultados.

É importante ressaltar que, no presente estudo as medidas clínicas de sondagem foram obtidas através da utilização de *stents* oclusais plásticos. Estudos indicam que esse método específico de sondagem apresenta uma reprodutibilidade da medida do nível de inserção inter e intra-examinador superior ao método convencional, que utiliza a junção cimento-esmalte como ponto de referência fixo (PIHLSTROM, 1992). Além disso, o modelo de *stent*, especialmente designado para esse estudo, com canaletas de metal devidamente posicionadas nos pontos de sondagem mais representativos do sítio experimental, permitiu a eliminação de fatores que comumente causam erros de sondagem, como também permitiu a obtenção de medidas clínicas precisas.

A maioria dos estudos clínicos controlados que avaliaram a terapia regenerativa com as proteínas da matriz do esmalte, especialmente os de curto período de avaliação

e com uma amostra de pacientes em estudo relativamente pequena, utilizaram métodos de sondagem convencional e examinadores calibrados.

Os resultados da avaliação radiográfica de medidas lineares mostraram um preenchimento ósseo na base do defeito de 1,2mm no grupo teste e de 0,5mm no grupo controle aos 6 meses de avaliação. A avaliação de 18 meses mostrou que o ganho ósseo continuou a ocorrer na base do defeito e atingiu 1,6mm no grupo teste e 0,7mm no grupo controle.

Em relação a redução do componente intra-ósseo, que é dado tanto pela formação óssea na base do defeito como pela reabsorção da crista óssea, o grupo teste apresentou uma redução de 1,6mm e o grupo controle de 0,5mm aos 6 meses de avaliação. Com 18 meses a redução do componente intra-ósseo também se mostrou progressiva e atingiu 2,3mm no grupo teste e 1,2mm no grupo controle.

A comparação entre os grupos desses dois parâmetros radiográficos não foi estatisticamente diferente em nenhum dos períodos de avaliação. Isso sugere que, também para a avaliação radiográfica, o tamanho da amostra pode ter sido relativamente pequeno, para demonstrar diferença estatística entre os grupos. Ainda assim, houve uma similaridade nos valores absolutos de ganho ósseo publicado por outros autores (HEIJL et al., 1997; ZETTERSTROM et al., 1997; HEDEN et al., 1999; LEKOVIC et al., 2000).

HEIJL et al., 1997, obtiveram um ganho ósseo radiográfico de 0,9mm no grupo teste aos 8 meses, comparável ao ganho de 1,2mm no grupo teste do presente estudo aos 6 meses da avaliação. No grupo controle esses autores relataram uma perda óssea radiográfica de 0,1mm, enquanto que no presente estudo, o grupo controle apresentou

um ganho de 0,5mm. Com uma avaliação de 16 meses, HEIJL et al., 1997, obtiveram um ganho ósseo superior de 2,2mm para o grupo teste, enquanto que no presente estudo, esse ganho foi de 1,6mm aos 18 meses. O grupo controle continuou apresentando perda óssea radiográfica de 0,2mm aos 16 meses, enquanto que no presente estudo, o grupo controle teve ganho ósseo radiográfico de 0,7mm aos 18 meses.

Os resultados de ganho ósseo radiográfico de ZETTERSTROM et al., 1997, se aproximaram ainda mais dos resultados do presente estudo. O grupo teste apresentou um ganho ósseo de 1,2mm aos 8 meses, idêntico ao deste estudo aos 6 meses, enquanto que o grupo controle teve um ganho de 0,3mm aos 8 meses e que, não se alterou até a avaliação de 36 meses. Neste estudo, o grupo controle apresentou 0,5mm aos 6 meses que atingiu 0,7mm aos 18 meses. Apenas o ganho ósseo do grupo teste aos 36 meses de avaliação foi bem superior e igual a 2,5mm, enquanto que o ganho ósseo máximo detectado no presente estudo foi de 1,6mm.

HEDEN et al., 1999, também publicaram uma redução do componente intra-ósseo radiográfico de 2,9mm com 12 meses de avaliação, que pode ser comparável à redução de 2,3mm obtida neste estudo aos 18 meses de avaliação.

Outros estudos que avaliaram a formação óssea em cirurgias de reentrada também foram similares ao presente estudo, LEKOVIC et al., 2000 relataram um preenchimento ósseo no grupo teste que variou de 1,33 a 1,41mm aos 6 meses, compatível ao preenchimento ósseo radiográfico na base do defeito de 1,2mm no grupo teste deste estudo aos 6 meses de avaliação. No entanto, FROUM et al., 2001

demonstram ganhos ósseos bem superiores, tanto no grupo teste como no grupo controle, respectivamente iguais a 3,83mm e 1,47mm aos 12 meses de avaliação.

É importante ressaltar que a comparação de resultados que avaliam a formação óssea deve ser feita com cautela, uma vez que não existe uma uniformidade entre os métodos e períodos de avaliação. De acordo com TOBACK et al., 1999, medidas radiográficas lineares subestimam em aproximadamente 1,0mm, o preenchimento ósseo após terapia periodontal quando comparados aos dados obtidos em cirurgias de reentradas.

Apesar das técnicas radiográficas constituírem métodos não-invasivos de avaliação do preenchimento ósseo pós-tratamento (TOBACK et al., 1999), é preciso considerar que essas técnicas apresentam algumas limitações, na medida em que, podem apresentar algumas dificuldades e fontes de erros durante a sua execução. Discrepâncias de contraste e nas projeções geométricas das imagens radiográficas são os principais fatores que introduzem erros nos resultados, sendo que o mais difícil de controlar na prática é a projeção geométrica (VANNIER, 1996).

No presente estudo, a variação nos níveis de cinza (contraste e densidade) foi controlada através da kilovtagem, miliamperagem e tempo de exposição que foram mantidas constantes em todas as tomadas radiográficas. A utilização de sensores eliminou a necessidade de filmes radiográficos, e por conseqüência, eliminou os erros inerentes ao processamento desses filmes.

Para padronizar a geometria da imagem, foi utilizado nesse estudo, registros oclusais individuais associados ao posicionador radiográfico que permitiram unir fisicamente o dente, o sensor e o tubo de raios-X. Outro método também proposto para

estabilizar a projeção geométrica em subtração radiográfica usa um cefalostato, este por sua vez, permite uma fixação extra-oral do paciente ao tubo de raios-X. Segundo JEFFCOAT et al., 1987, a técnica do cefalostato apresenta uma discrepância angular mínima, após 6 reposicionamentos do paciente subseqüentes, no entanto, não houve diferença significativa nos histogramas dos níveis de cinza obtidos usando as duas técnicas.

Os dois métodos de estabilização da geometria da imagem têm resultado em imagens radiográficas adequadas, contudo, a técnica do *stent* parece consumir mais tempo e requerer uma atenção meticulosa para se obter duas imagens radiográficas quase idênticas.

Além dos procedimentos já citados, para se obter um método consistente de padronização radiográfica, também foi calculado o alongamento das radiografias através da utilização de um pino metálico com medidas pré-estabelecidas como referência para esse cálculo. Isso pode explicar, ao menos parcialmente, a similaridade dos resultados de preenchimento ósseo deste estudo, com os de reentradas cirúrgicas (LEKOVIC et al., 2000).

O preenchimento ósseo radiográfico na base do defeito, que é mostrado pela redução da distância da base do defeito até a junção cimento-esmalte (Ba-JCE) evidencia um ganho ósseo vertical, e em uma direção coronária. No entanto, o ganho ósseo pode ocorrer na margem lateral do defeito. Isso pode ser mostrado por uma redução na largura do defeito, evidenciando um componente horizontal do ganho ósseo. Assim, a redução da distância Ba-JCE, como também a alteração na largura do

defeito, são parâmetros radiográficos diferentes, mas que relacionados caracterizam o modelo de preenchimento ósseo dos defeitos intra-ósseos.

KLEIN et al., 2001, demonstraram que defeitos intra-ósseos estreitos (defeitos com ângulos menores que 26°) e profundos (componente intra-ósseo maior ou igual a 3mm) apresentam um preenchimento ósseo mais pronunciado que defeitos largos e rasos. Entretanto, a profundidade do componente intra-ósseo inicial é o fator que interfere mais fortemente no prognóstico do que a largura inicial do defeito.

A alteração na largura do defeito, por sua vez, parece descrever o modelo do processo de cura dos defeitos intra-ósseos, e não, influenciar de maneira previsível, o preenchimento ósseo do defeito.

No presente estudo, a largura dos defeitos apresentou diferença estatística entre os grupos no início do estudo, com uma largura média de 2,20mm para o grupo teste e 2,84mm para o grupo controle. Houve uma redução na largura dos defeitos do grupo teste que alcançou 2,09mm, enquanto no grupo controle houve um aumento que atingiu 3,01mm aos 18 meses de avaliação. Nem a redução ou o aumento na largura dos defeitos foi estatisticamente significante em relação à largura média inicial.

A diferença na largura dos defeitos entre os grupos pode ter se refletido principalmente por um modelo de formação óssea nas margens laterais do defeito, caracterizando uma pequena redução na largura dos defeitos, sem significância estatística, no grupo teste e, contrariamente, por um aumento na largura dos defeitos do grupo controle.

É importante considerar que as alterações ósseas detectadas radiograficamente após terapia regenerativa ou convencional parecem ser moduladas por diversos fatores

além da profundidade e largura iniciais dos defeitos, incluindo, nível de higiene oral individual, hábito de fumar e frequência da terapia de suporte.

O baixo potencial imunogênico do derivado da matriz do esmalte relatado por ZETTERSTROM et al., 1997, também pode ser observado neste estudo. A ausência de qualquer tipo de complicação e ocorrência de eventos adversos, como reações alérgicas, supurações, formação de abscessos ou presença de processos inflamatórios durante o período de estudo inteiro sugerem que o uso do derivado de proteínas do esmalte em cirurgia periodontal é seguro e bem tolerado em pacientes com boa saúde geral.

É preciso salientar ainda que, o acompanhamento ao longo de 18 meses avaliando a eficácia das duas terapias, é especialmente importante, quando se considera o efeito terapêutico de um novo material, como é o caso das proteínas da matriz do esmalte de origem suína disponíveis comercialmente e designadas para finalidades regenerativas na terapia periodontal, uma vez que, permite avaliar os resultados clínicos e radiográficos com grande potencial de maturação e estabilidade dos tecidos periodontais.

6. CONCLUSÕES

Considerando as condições do experimento e os resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- o tratamento cirúrgico com ou sem proteínas derivadas da matriz do esmalte melhoraram significativamente todos os parâmetros clínicos e radiográficos avaliados, entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas modalidades de tratamento para qualquer um desses parâmetros durante 18 meses de avaliação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS[<]

AINAMO, J ; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int. dent. J.**, London, v.25, n.4, p.229-235, Dec. 1975.

BECKER, W. *et al.* New attachment after treatment with root isolation procedures: report for treated class III and class II furcation and vertical osseous defects. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.8, n.3, p.9-23, June 1988.

BOSSHARDT, D.D.; SCHROEDER, H.E. Cementogenesis reviewed. A comparison between human premolars and rodent molars. **Anat. Rec.**, New York, v.245, n.2, p.267-292, June 1996.

BROOKES, S.J. *et al.* Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.40, n.1, p.1-14, Jan. 1995.

CAFFESSE, R.G. *et al.* Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration (GTR). **J. Periodont.**, Chicago, v.61, n.1, p.45-50, Jan. 1990.

CAFFESSE, R.G. *et al.* Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. **J. Periodont.**, Chicago, v.65, n.6, p.583-591, June 1994.

CAFFESSE, R.G. *et al.* New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. **J. Periodont.**, Chicago, v.59, n.9, p.589-594, Sept. 1988.

CAFFESSE, R.G. *et al.* The rationale for periodontal therapy. **Periodontology 2000**, v.9, p.7-13, Oct. 1995.

[<] Baseada na norma NBR 6023, de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).
Abreviatura dos periódicos conforme o "World List of Scientific Periodicals".

CAMARGO, P.M. *et al.* The effectiveness of enamel matrix proteins used in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.28, n.11, p.1016-1022, Nov. 2001.

CATON, J.G.; ZANDER, H.A. Osseous repair in infrabony pocket without new attachment of connective tissue. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.3, n.1, p.54-58, Feb. 1976.

CATON, J.G.; NYMAN, S.; ZANDER, H.A. Histometric evaluation of periodontal surgery II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.7, p.224-231, 1980.

CORTELLINI, P.; PINI PRATO, G.P.; TONETTI, M.S. Periodontal regeneration of human infrabony defects. I. Clinical measures. **J. Periodont.**, Chicago, v.64, n.4, p.254-260, Apr. 1993a.

CORTELLINI, P.; PINI PRATO G.P.; TONETTI, M.S. Periodontal regeneration of human infrabony defects. II. Re-entry procedures and bone measures. **J. Periodont.**, Chicago, v.64, n.4, p.261-268, Apr. 1993b.

CORTELLINI, P. *et al.* Guided tissue regeneration with different materials. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.10, n.2, p.136-151, 1990.

ELLEGARD, B.; LOE, H. New attachment of periodont tissues after treatment of infrabony lesions. **J. Periodont.**, Chicago, v.42, n.10, p.648-652, Oct. 1971.

FONG, D.C; SLABY, I.; HAMMARSTROM, L. Amelin: an enamel-related protein transcribed in the cells of the epithelial root sheath. **Journal of Bone and Mineral Research.** v.11, n.7, p.892-898, Jul. 1996.

FROUM, S. *et al.* Periodontal healing following open debridement flap procedures. I. Clinical assessments of soft tissue and osseous repair. **J. Periodont.**, Chicago, v.53, p.8-14, 1982.

FROUM, S. *et al.* A comparative study utilizing open flap debridement with or without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: A 12 month re-entry study. **J. Periodont.**, Chicago, v.72, n.1, p. 25-34, Jan. 2001.

GESTRELIUS, S. *et al.* Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen v.24, n.9, p.678-684, Sept. 1997a.

GESTRELIUS, S. *et al.* In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen v.24, n.9, p.685-692, Sept. 1997b.

GOTTLOW, J.; KARRING, T.; NYMAN, S. Guided tissue regeneration following treatment of "recession type defects" in the monkey. **J. Periodont.**, Chicago, v.61, p.680-685, 1990.

GOTTLOW, J. *et al.* New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration - case reports. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.13, n.6, p.604-616, June 1986.

HAMMARSTROM, L. The role of enamel matrix in the development of cementum and periodontal tissues. *In:1997 Dental enamel*. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 205), p. 246-260, 1997a.

HAMMARSTROM, L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.658-668, Sept. 1997b.

HAMMARSTROM, L.; ALAYLI, I.; FONG, C.D. Origins of cementum. **Oral Diseases**, v.2, n.1, p.63-69, Mar. 1996.

HAMMARSTROM, L.; HEIJL, L.; GESTRELIUS, S. Periodontal regeneration in a dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.669-677, Sept. 1997.

HANDELSMAN, M.; DAVARPANAH, M.; CELLETTI, R. Guided tissue regeneration with and without citric acid treatment in vertical osseous defects. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.11, n.5, p.350-363, 1991.

HASSEL, T. Tissues and cells of the periodontium. **Periodontology 2000**, v.3, p.9-38., 1993.

HAUSMANN, E. et al. Usefulness of subtraction radiography in the evaluation of periodontal therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.56, (11suppl.), p.4-7, Nov. 1985.

HEBLING, E.; LIMA, A.F.M. Preenchimento ósseo de defeitos angulares com uso da técnica de regeneração tecidual guiada. **Revta. Periodontia**, Rio de Janeiro, v.5, n.2, p.243-252, 1995.

HEDEN, G.; WENNSTROM, J.; LINDHE, J. Periodontal tissue alterations following Emdogain[®] treatment of periodontal sites with angular bone defects. A series of case reports. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.26, n.12, p.855-860, Dec. 1999.

HEIJL, L. Periodontal Regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.693-696, Sept. 1997.

HEIJL, L. *et al.* Enamel matrix derivative (EMDOGAIN[®]) in the treatment of intrabony periodontal defects. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.705-714, Sept. 1997.

HILL, R.W.; RAMFJORD, S.; MORRISON, E.C. Four types of periodontal treatment compared over two years. **J. Periodont.**, Chicago, v.52, n.11, p.655-662, Nov. 1981.

JEFFCOAT, M.K. Radiographic methods for the detection of progressive alveolar bone loss. **J. Periodont.**, Chicago, v.63, (4 suppl.), p.367-372, Apr. 1992.

JEFFCOAT, M.K. *et al.* Extraoral control of geometry for digital subtraction radiography. **J. periodont.**, Copenhagen, v.22, n.5, p.396-402, Sept. 1987.

KARRING, T.; NYMAN, S.; LINDHE, J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.7, n.2, p.96-105, Apr. 1980.

KARRING, T.; LINDHE, J.; CORTELLINI, P. Terapia periodontal regenerativa. *In*: LINDHE, J. **Periodontia clínica e implantologia oral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.428-462.

KLEIN, F. *et al.* Radiographic defect depth and width for prognosis and description of periodontal healing of infrabony defects. **J. Periodont.**, Chicago, v.72, n.12, p.1639-1646, Dec. 2001.

LAURELL, L. *et al.* Treatment of intrabony defects by different surgical procedures. A literature review. **J. Periodont.**, Chicago, v.69, n.3, p.303-313, Mar. 1998.

LEKOVIC, V. *et al.* A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **J. Periodont.**, Chicago, v.71, n.7, p.1110-1116, Jul. 2000.

LEKOVIC, V. *et al.* Combination use of bovine porous bone mineral, enamel matrix proteins, and a bioabsorbable membrane in intrabony periodontal defects in humans. **J. Periodont.**, Chicago, v.72, n.5, p.583-589, May 2001a.

LEKOVIC, V. *et al.* The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **J. Periodont.**, Chicago, v.72, n.9, p.1157-1163, Sept. 2001b.

LINDHE, J.; NYMAN, S. Scaling and granulation tissue removal in periodontal therapy. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.12, n. 5, p.374-388, May 1985.

LINDHE, J. *et al.* "Critical probing depths" in periodontal therapy. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.9, n.4, p.323-336, July 1982a.

LINDHE, J. *et al.* Healing following surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. A clinical study. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.9, n.2, p. 115-28, Mar. 1982b.

LINDSKOG, S. Formation of intermediate cementum I: early mineralization of aprismatic enamel and intermediate cementum. **J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.** v.2, n.2, p.147-60, 1982a.

LINDSKOG, S. Formation of intermediate cementum II : a scanning electron microscopic study of the epithelial root sheath of Hertwig. **J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.** v.2, n.2, p.161-169, 1982b.

LINDSKOG, S.; HAMMARSTROM, L. Formation of intermediate cementum III: ^3H -proline and ^3H -tryptophan uptake into the epithelial root sheath of Hertwig in vitro. **J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.** v.2, n.2, p.171-177, 1982.

LISTGARTEN, M.A. Electron microscopic study of the junction between surgically denuded root surfaces and regenerated periodontal tissues. **J. periodont.**, Copenhagen, v.7, n.1, p.68-90, 1972.

LISTGARTEN, M.A.; ROSENBERG, M.M. Histologic study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. **J. Periodont.**, Chicago, v.50, n.7, p.333-344, July 1979.

MASTERS, L. *et al.* A clinical evaluation demineralized freeze dried bone allograft in combination with tetracycline in the treatment of periodontal osseous defects. **J. Periodont.**, Chicago, v.67, p.770-781, 1996.

McCLAIN, P.K.; SCHALLHORN, R.G. Long-term assessment of combined osseous composite grafting, root conditioning, and guided tissue regeneration. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.13, n.1, p.9-27, 1993.

McFALL JR., W.T. Tooth loss in 100 treated patients with periodontal diseases - a long-term study. **J. Periodont.**, Chicago, v.53, n.9, p.539-549, Sept. 1982.

McHENRY, K. *et al.* Methodological aspects and quantitative adjuncts to computerized subtraction radiography. **J. periodont.**, Copenhagen, v.22, n.2, p.125-132, Mar. 1987.

MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. **J. Periodont.**, Chicago, v.47, n.5, p.256-260, May 1976.

MELLONIG, J.T. Decalcified freeze-dried bone allograft as an implant material in human periodontal defects. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.4, n.6, p.40-55, 1984.

MELLONIG, J.T. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, v.19, n.1, p.8-19, Feb. 1999.

MOSKOW, B.S.; KARSH, F.; STEIN, S.D. Histological assessment of bone graft. A case report and critical evaluation. **J. Periodont.**, Chicago, v.50, n.6, p.291-300, June 1979.

NYMAN, S. *et al.* The regenerative potential of the periodontal ligament - an experimental study in the monkey. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.9, n.3, p.257-265, May 1982.

OKUDA, K. *et al.* Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. **J. Periodont.**, Chicago, v.71, n.12, p.1821-1828, Dec. 2000.

PIHLSTROM, B.L. Measurement of attachment level in clinical trials: probing methods. **J. Periodont.**, Chicago, v.63, n.12, p.1072-1077, Dec. 1992.

PIHLSTROM, B.L. *et al.* Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6¹/₂ years. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.10, n.9, p.524-541, Sept. 1983.

PIHLSTROM, B.L. *et al.* Molar and nonmolar teeth compared over 6¹/₂ years following two methods of periodontal therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.55, n.9, p.499-504, Sept. 1984.

POLSON, A.M.; HEIJL, L.C. Osseous repair in infrabony periodontal defects. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.5, n.1, p.13-23, Feb. 1978.

PONTORIERO, R.; WENNSTROM, J.; LINDHE, J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.26, n.12, p.833-840, Dec. 1999.

PRITELove-CARSON, S., *et al.* Immuno-histochemical analysis of tissues regenerated from within periodontal defects treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes. **J. Periodont.**, Chicago, v.65, n.3, p.134-138, 1994.

RAMFJORD, S.; KNOWLES, J.; NISSELE, R. Results following three modalities of periodontal therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.56, p.522-526, 1975.

RASPERINI, G.; RICCI, G.; SILVESTRI, M. Surgical technique for treatment of infrabony defects with enamel matrix derivative (Emdogain): 3 case reports. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.19, n.6, p.578-587, Dec. 1999.

RENVERT, S.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. V. Effect of root planing versus flap surgery. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.12, n.8, p.619-629, Sept. 1985a.

RENVERT, S., *et al.* Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effect of osseous grafting and citric acid conditioning. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.12, n.6, p.441-455, July 1985b.

ROSLING, B.; NYMAN, S.; LINDHE, J. The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.3, n.1, p.38-53, Feb. 1976.

SCHALLHORN, R.G.; McCLAIN, P.K. Combined osseous composite grafting, root conditioning, and guided tissue regeneration. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.8, n.4, p.8-31, 1988.

SCULEAN, A. *et al.* Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. **J. Periodont.**, Chicago, v.70, n.3, p.255-262, Mar. 1999a.

SCULEAN, A. *et al.* Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. **J. periodont.**, Copenhagen, v.34, n.6, p.310-322, Aug. 1999b.

SCULEAN, A. *et al.* Treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain): a report of 32 cases. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.19, n.2, p.157-163, Apr. 1999c.

SILVESTRI, M. *et al.* Comparison of treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. A pilot study. **J.clin. Periodont.**, Copenhagen, v.27, p.603-610, 2000.

SLAVKIN, H.C. Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited. **J. Periodont.**, Chicago, v.47, n.5, p.249-255, May 1976.

SLAVKIN, H.C.; BOYDE, A. Cementum: an epithelial secretory product ? **J. dent. Res.**, Washington, v.53, p.157, 1975.

SLAVKIN, H.C.; DIEKWISCH, T. Evolution in tooth developmental biology: of morphology and molecules. **Anat. Rec.**, New York, v.235, n.2, p.131-150, June 1996.

SLAVKIN, H.C. *et al.* Hertwig's epithelial root sheat differentition and initial cementum and bone formation during long-term organ culture of mouse mandibular first molars using serumless, chemically defined medium. **J. periodont.**, Copenhagen, v.24, n.1, p.28-40, Jan. 1989a.

SLAVKIN, H.C. *et al.* Human and mouse cementum proteins immunologically related to enamel proteins. **Biochim Biophys Acta.**, v.991, n.1, p.12-18, Apr. 1989b.

TEN CATE, A.R. Formation of supporting bone in association with periodontal ligament organization in the mouse. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.20, p.137-38, 1975.

THE AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. **Glossary of Periodontal Terms**, 3rd ed., Chicago: AAP, 1992, 51p.

TOBACK, G.A. *et al.* The accuray of radiographic methods in assessing the outcome of periodontal regenerative therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.70, n.12, p.1479-1489, Dec. 1999.

TOKIYASU, Y *et al.* Enamel factors regulate expresión of genes associated with cemetoblasts. **J. Periodont.**, Chicago, v.71, n.12, p.1829-1839, Dec., 2000.

TONETTI, M.S.; PINI PRATO, G.; CORTELLINI, P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.23, n.6, p.548-556, June 1996.

TONETTI, M.S. *et al.* Periodontal regeneration of human infrabony defects. III. Diagnostic strategies to detect bone gain. **J. Periodont.**, Chicago, v.64, n.4, p.269-277, Apr. 1993.

VAN DER PAUW, M. T. Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor β_1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. **J. Periodont.**, Chicago, v.71, n.1, p.31-43, Jan. 2000.

VANNIER, M. W. Subtraction radiography. **J. Periodont.**, Chicago, v.67, n.9, p.949-950, Sept. 1996.

WESTFELT, E. *et al.* Improved Periodontal conditions following therapy. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.12, n.4, p.283-293, Apr. 1985.

YUKNA, R. A. ; MELLONIG, J. T. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-cases series. **J. Periodont.**, Chicago, v.71, n.5, p.752-759, May 2000.

ZETTERSTROM, O. *et al.* Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of periodontal defects. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.697-704, Sept. 1997.

ANEXO 1

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA TRATAMENTO E PESQUISA

Por este instrumento particular declaro, para efeitos éticos e legais, que eu (nome) _____, (nacionalidade) _____, (profissão) _____, portador(a) do R.G. _____, C.I.C. _____, residente e domiciliado(a) à _____ nº _____, na cidade de _____, Estado _____, concordo com absoluta consciência dos procedimentos a que vou me submeter para a realização da fase experimental da Tese de Doutorado do curso de Clínica Odontológica - área de Periodontia, intitulada "UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE (EMDOGAIN) NO TRATAMENTO DE DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS. ESTUDO LONGITUDINAL CLÍNICO E RADIOGRÁFICO", tendo como responsáveis o prof. Dr. Sergio de Toledo e a cirurgiã-dentista Karina T. Villalpando, nos termos abaixo relacionados:

1) Esclareço que recebi todas as informações sobre minha participação nesse experimento, possuindo plena liberdade para me abster em particular da referida pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo financeiro, hierárquico ou de qualquer natureza;

2) Esclareço, também, que fui amplamente informado, sobre os possíveis benefícios e riscos aos quais estou me submetendo durante este experimento, tomando conhecimento de que o meu consentimento não exime a responsabilidade do profissional que está executando a pesquisa;

3) Todas essas normas estão de acordo com o Código de Ética Profissional Odontológico 179/93, com a declaração de Helsinque II e com a resolução nº196 de 10/10/1996 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

Por estar de pleno acordo com o teor do presente termo, assino abaixo o mesmo.

Piracicaba, _____ de _____ de 19____.

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador