

**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 CLÍNICO E RADIOGRÁFICO.**

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

Piracicaba
-2001-

UNIDADE	DC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	7.711.4
V.	Ex.
TOMBO BC/	45888
PROC.	16.892107
C	<input type="checkbox"/>
	D
	<input checked="" type="checkbox"/>
PREC@	RS 11,00
DATA	09/08/04
N.º CPD	

CM00158343-1

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

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

KARINA TEIXEIRA VILLALPANDO
CIRURGIÁ-DENTISTA

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

Orientador: Prof. Dr. SERGIO DE TOLEDO

Banca Examinadora: Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum
Prof. Dr. Sergio de Toledo
Prof. Dr. Roberto Fraga M. Lotufo

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

CPG, 21/04/01

Assinatura do Orientador

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

Piracicaba
-2001-

Ficha Catalográfica

V711u Villalpando, Karina Teixeira.
Utilização de proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMDOGAIN®) no tratamento de defeitos intra-ósseos. Estudo clínico e radiográfico. / Karina Teixeira Villalpando. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2001.
xii, 80f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Sergio de Toledo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Periodontia. 2. Doença periodontal - Tratamento. I. Toledo, Sergio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 05 de Fevereiro de 2001, considerou a candidata KARINA TEIXEIRA VILLALPANDO aprovada.

1. Prof. Dr. SERGIO DE TOLEDO

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

2. Prof. Dr. ROBERTO FRAGA MOREIRA LOTUFO

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

3. Prof. Dr. ENILSON ANTONIO SALLUM

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

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.

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,

pelo privilégio de poder trabalhar ao lado do profissional que soube acumular experiência e que, como poucos, é capaz de tornar as coisas simples. Obrigada também pela orientação deste trabalho, pelo convívio carinhoso e amigo, pelo ser humano que consegue se revelar ainda mais excepcional a cada dia.

Aos colegas de Pós-Graduação e de trabalho, PATRÍCIA BERTOLINI E MÁRCIO, 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.

Ao amigo GETÚLIO, pelo carinho e principalmente pela prontidão que sempre demonstrou em ajudar durante alguns momentos adversos da realização deste 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.

SUORTE 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

LISTAS.....	01
Abreviaturas, Siglas e Palavras em outros Idiomas	
Tabelas	
Gráficos	
Figuras	
RESUMO.....	04
ABSTRACT.....	06
1. INTRODUÇÃO.....	08
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
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.....	31
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. Subtração Radiográfica	
3.13.1. Equalização	
3.13.2. Sobreposição e Subtração	
3.13.3. Determinação da Densidade Controle	
3.13.4. Determinação do Ganho e da Perda de Densidade	
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.....	58
6. CONCLUSÕES.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS.....	78

LISTAS

ABREVIATURAS, SIGLAS E PALAVRAS EM OUTROS IDIOMAS

PMG	Posição da Margem Gengival
NIC	Nível de Inserção Clínica
PS	Profundidade de Sondagem
IPV	Índice de Placa Visível
ISS	Índice de Sangramento a Sondagem
B.d - JCE	Base do defeito até a Junção cimento-esmalte
L.d	Largura do defeito
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
RTG	Regeneração Tecidual Guiada
d	face distal
F	feminino
fig.	figura
g	grama
°C	graus Celsius
kV	kilovolt
®	marca registrada
M	masculino
m	face mesial
mg	miligrama
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
mA	miliampere
n	número
p	página
%	porcentagem
pH	potencial hidrogeniônico
s	segundos
valor de p	nível de significância
v	volume
<i>et al.</i>	e outros (abreviatura de <i>et alii</i>)
<i>in</i>	em; preposição usada em bibliografia antes de título de obra
<i>in vitro</i>	em laboratório, em meio artificial
<i>in vivo</i>	no corpo vivo

TABELAS		PÁGINA
Tabela 1:	Apresentação da amostra.	27
Tabela 2:	Classificação e medidas de altura e largura, em milímetros, dos defeitos intra-ósseos nos grupos teste e controle.	43
Tabela 3:	Médias das alterações das medidas clínicas de sondagem dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).	44
Tabela 4:	Médias das áreas de ganho e perda de densidade radiográfica nos grupos teste e controle (média em percentual e desvio padrão).	46
Tabela 5:	Médias das densidades correspondentes às áreas de ganho e perda óssea radiográfica nos grupos teste e controle.	47
 GRÁFICOS		
Gráfico 1:	Diagrama de barras das médias de alterações das medidas clínicas de sondagem dos grupos teste e controle (média em milímetros).	44
Gráfico 2:	Diagrama de barras das médias das áreas de ganho e perda de densidade radiográfica nos grupos teste e controle (média em percentual e desvio padrão).	46
Gráfico 3:	Diagrama de barras das médias das densidades correspondentes às áreas de ganho e perda óssea radiográfica nos grupos teste e controle.	47

FIGURAS		PÁGINA
Figura 1:	Sondagem clínica com aparelho orientador de sondagem - stent, fio ortodôntico e stop de borracha.	29
Figura 2:	Posicionador radiográfico acoplado ao dispositivo de resina acrílica, registro oclusal e sensor radiográfico.	31
Figura 3:	Apresentação comercial do derivado de proteínas da matriz do esmalte, solução veículo, seringa e agulhas para aplicação.	32
Figura 4:	Aspecto clínico inicial - sítio teste nº 3.	33
Figura 5:	Incisão intra-sulcular da superfície vestibular.	34
Figura 6:	Rebatimento do retalho de espessura total e visualização do tecido de granulação, cálculo e placa bacteriana subgingival.	34
Figura 7:	Superfícies radiculares após instrumentação manual e ultra-sônica.	35
Figura 8:	Condicionamento químico radicular com ácido ortofosfórico 37%.	35
Figura 9:	Aplicação do gel de proteínas da matriz do esmalte dentro do defeito periodontal.	36
Figura 10:	Sutura colchoeiro vertical da ferida cirúrgica.	36
Figura 11:	Aspecto clínico com 2 semanas de pós-operatório.	37
Figura 12:	Processo de equalização: ajuste dos histogramas de cinza das imagens radiográficas inicial e final.	40
Figura 13:	Pseudocolorização das áreas de ganho de densidade radiográfica (verde) e de perda de densidade radiográfica (vermelho).	42

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi comparar, clínica e radiograficamente, 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®). Dezesete pacientes, apresentando um total de 21 defeitos intra-ósseos interproximais compostos por predominantemente 1 ou 2 paredes ósseas em dentes unirradiculares, foram divididos aleatoriamente nos grupos teste e controle.

Os parâmetros clínicos foram avaliados através de aparelhos orientadores de sondagem - *stents*, antes do procedimento cirúrgico (*baseline*) e com 6 meses de pós-operatório, sendo eles: posição da margem gengival (PMG), nível de inserção clínica relativo (NICR) e profundidade de sondagem (PS). Paralelamente, também foram feitas nos mesmos períodos de avaliação, radiografias padronizadas e digitais que foram avaliadas por subtração radiográfica.

Clinicamente, tanto para o grupo teste quanto para o grupo controle, houve uma redução significativa dos parâmetros clínicos após o tratamento ($p \leq 0,001$). Entretanto, essas reduções não foram estatisticamente diferentes entre o grupo teste e controle ($p \geq 0,001$).

A avaliação por subtração radiográfica identificou áreas de ganho e de perda de densidade óssea radiográfica em percentual da área total do defeito, no período de 6 meses de pós-operatório, de modo que, a comparação entre os grupos não revelou diferenças estatísticas. Entretanto, a comparação intra-grupo entre ganho e perda de densidade óssea radiográfica revelou que a utilização das proteínas derivadas da

matriz do esmalte resultou em mais ganho do que perda de densidade óssea radiográfica ($p \leq 0,001$).

Desta forma, dentro dos limites do presente trabalho, a utilização de proteínas derivadas da matriz do esmalte pode promover benefícios no tratamento de defeitos intra-ósseos.

Unitermos: defeitos periodontais intra-ósseos, proteínas derivadas da matriz do esmalte, subtração radiográfica digital.

ABSTRACT

The aim of the present study was to compare, clinically and radiographically, the treatment of intrabony periodontal defects with or without the use of a gel composed of enamel matrix proteins derivative (EMDOGAIN®). Seventeen patients, exhibiting a total of 21 defects predominantly 1 or 2 wall intrabony defects on one-rooted teeth, were randomly divided into test and control groups.

Prior to surgery (baseline) and 6 months later the following parameters were evaluated using occlusal stents: gingival recession (GR), relative clinical attachment level (CAL) and probing depth (PD). At the same time during this period, standard digital radiographies were made and evaluated through subtraction radiography.

Clinically, both for the test and control groups there was a significant reduction of the clinical parameters after the treatment ($p \leq 0,001$). However, these reductions were not statistically different between the test and control groups ($p \geq 0,001$).

The subtraction radiography identified gain and loss areas of bony radiographic density in percentage terms of the total area of the defect within 6 months after the surgery, as a result the comparison between the groups has not shown any statistic differences. However, the intra-group comparison between gain and loss areas of radiographic density has revealed that the use of enamel matrix proteins derivative has led to more gain than loss of radiographic density.

In conclusion, within the limits of the present study the use of enamel matrix proteins derivative can promote benefits in the treatment of intrabony defects.

Key words: intrabony periodontal defects, enamel matrix proteins, subtraction radiography

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 cemento acelular, ou seja, a deposição do derivado da matriz do esmalte sobre uma superfície radicular previamente instrumentada parece estimular a deposição de novo cemento acelular, em torno do qual serão desenvolvidos novo ligamento periodontal e osso alveolar (HAMMARSTROM, 1997b), proporcionando uma regeneração parcial 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 cemento 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 cemento 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 fortemente 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). 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 inerente variabilidade biológica, assim como da necessidade de se estabelecer a eficácia e a previsibilidade em seres humanos, este estudo teve como objetivo avaliar clínica e radiograficamente o resultado do tratamento de defeitos periodontais intra-ósseos e interproximais de 1 ou 2 paredes ósseas em dentes unirradiculares, através da aplicação tópica do gel de proteínas da matriz do esmalte adjunto à cirurgia periodontal e compará-lo com a instrumentação radicular com acesso cirúrgico.

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 de no nível de inserção clínica e 1,1mm em média 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 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, demonstrou 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 cimento 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 cimento 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

2.3. CARACTERÍSTICAS E BIOCOMPATIBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA MATRIZ DO ESMALTE

As proteínas 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 periodontal 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 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

* BIORA AB, Malmö, Sweden

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 cemento acelular sobre o cemento 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.

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 significante 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, SCULEAN 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.

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 Graduação, Pós-Graduação e Especialização da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP. Para esta seleção os pacientes passaram por uma anamnese cuidadosa, exame clínico e radiográfico, sendo que os selecionados deveriam apresentar:

- diagnóstico de periodontite moderada ou avançada.
- defeitos intra-ósseos interproximais em dentes uniradiculares composto por preferencialmente 1 e 2 paredes ósseas.
- os defeitos deveriam apresentar profundidade maior ou igual a 4mm e largura maior ou igual a 2mm medidos através de régua milimetrada na radiografia periapical.
- profundidade de sondagem maior ou igual a 5mm.

Foram selecionados 17 pacientes adultos, sendo 12 mulheres e 5 homens, na faixa etária de 30 a 69 anos, totalizando 21 defeitos intra-ósseos com predominantemente 1 e 2 paredes ósseas.

Serviram de critério para exclusão da amostra:

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

- pacientes que fizessem uso de medicamentos que também pudessem interferir no processo de cicatrização (corticosteróides, moduladores imunes, quimioterápicos, etc) por um período menor que 6 meses em relação ao início do estudo.
- 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	d 12	M	35	m 34	F	46
2	d 44	F	30	d 44	F	39
3	m 43	M	30	d 23	F	43
4	d 12	F	50	d 25	F	43
5	m 25	M	49	m 43	F	31
6	d 25	F	39	m 15	F	40
7	d 23	F	39	d 11	F	42
8	m 42	M	40	d 32	M	42
9	d 34	M	40	m 43	F	69
10	m 43	F	43	d 41	F	39
11	m 34	F	39			

F = sexo feminino M = sexo masculino
m = face mesial d = face distal

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 17 pacientes selecionados, apresentando um total de 21 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 associado com as proteínas do esmalte e 10 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 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 aparelhos orientadores 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 posicionada 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 (PMG): 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 PMG, NIC e PS foram avaliadas nas seguintes ocasiões:

1ª) Baseline

2ª) Pós-operatório de 6 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
- 3ª) Pós-operatório de 3 meses
- 4ª) Pós-operatório de 6 meses

3.6. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS RADIOGRÁFICOS

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

As 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 Duralay^{*}, 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^{*} 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.

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

⁺ XCP, Rinn Corporation, USA.

^{*} Duralay Powder, Reliance Dental MFG Company Worth III, USA.

^{*} sensores radiográficos DIGORA

Em testes preliminares, foi definido a padronização do contraste e da densidade das radiografias, através da regulagem do aparelho radiográfico com kilovoltagem de 75kvp, miliamperagem de 10mA e tempo de exposição de 0,25s. As radiografias digitais foram obtidas através de um processador de imagens* 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

3.7. 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® apresenta-se em 2 frascos esterilizados, sendo que um deles contém 30 mg da matriz derivada do esmalte liofilizada e o segundo contém 1ml da solução veículo que é o alginato de propilenoglicol (figura 3). Portanto, para o preparo do gel foi utilizada uma seringa de 5ml e uma agulha descartável 1,25 x 50mm estéreis, de tal forma que 1ml da solução veículo pudesse ser

* processador de imagens DIGORA

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.

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.

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

3.7.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após desinfecção e anestesia local por infiltração ou bloqueio, foram realizadas incisões intra-sulculares e um retalho mucoperiosteal 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 dental 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 separados (figuras 4 a 11).

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

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

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

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

Fig. 8: Condicionamento químico 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.

3.7. AVALIAÇÃO TRANSCIRÚRGICA DOS DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS

Os defeitos intra-ósseos podem apresentar variações no número de paredes ósseas que compõem o defeito, 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 morfologia do defeito na direção vertical. Contudo, o exame radiográfico apresenta limitações na precisão do diagnóstico para esse tipo de 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 foram tomadas medidas de altura e largura do defeito com o uso de um fio de aço de

0,5mm e um *stop* de borracha, sendo que a leitura das medidas foi feita com paquímetro digital, evitando-se a aproximação e possibilitando medidas exatas dentro do milímetro. As medidas tomadas foram:

B.d - JCE: distância da base do defeito até a JCE.

L.d: largura do defeito.

3.8. 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.

3.9. 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.

3.10. TERAPIA DE MANUTENÇÃO

Durante um período de 6 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 e quando necessário foi feita instrumentação periodontal subgingival nas áreas que não estavam sendo avaliadas neste estudo.

3.11. EXAMES DE REAVALIAÇÃO

Os exames de reavaliação foram realizados na 1ª, 2ª, 4ª e 6ª semanas, no 3º e 6º mês pós-cirúrgico. No 6º mês foram reavaliados todos os parâmetros clínicos e radiográficos utilizados no baseline.

3.12. SUBTRAÇÃO RADIOGRÁFICA

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

* Imagelab, Softium, SP, Brasil.

3.12.1. EQUALIZAÇÃO

Apesar de todos os cuidados para padronizar as tomadas radiográficas (kVp, mA, distância focal, sensor), ainda assim, foi necessário equalizar as duas imagens digitalizadas, inicial e final, em relação aos padrões de cinza, para que fossem equivalentes e pudessem ser comparadas.

Esse processo foi feito através da obtenção de histogramas de tons de cinza para cada uma das imagens radiográficas, sendo que o histograma de melhor ajuste foi tomado como modelo para cada caso, e a partir deste foi equalizada a outra radiografia. Para essa etapa, o programa possui uma ferramenta que possibilita fazer o ajuste dos histogramas automaticamente, tendo como resultado alguma alteração nos tons de cinza da 2ª radiografia, para que esta se equipare a radiografia modelo, sem que haja distorção excessiva (figura 12).

Fig. 12: Processo de equalização: ajuste dos histogramas de cinza das imagens radiográficas inicial e final.

3.12.2. SOBREPOSIÇÃO E SUBTRAÇÃO

Depois de equalizadas, as imagens radiográficas inicial e final foram sobrepostas manualmente, rotacionando e transladando uma em relação a outra, até a máxima coincidência possível das estruturas anatômicas comuns. Após a sobreposição, a radiografia inicial foi subtraída da final, tendo como resultado uma terceira imagem. Essa subtração equivale a subtração dos valores de cinza de cada *pixel* sobreposto, sendo que esses valores se encontram no intervalo de 0 a 255 tons, zero que corresponde ao preto absoluto até 255 que representa o branco absoluto.

Para evitar que o resultado dessa subtração desse um valor negativo e para o qual não haveria um tom de cinza correspondente, o programa usa automaticamente como artifício matemático a soma do valor 128 para se fazer a subtração radiográfica de uma determinada área.

Assim, a subtração radiográfica de uma área em que não houve variação de cinza entre as tomadas inicial e final, não apresenta o valor zero como resultado, mas sim o valor 128.

3.12.3. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE CONTROLE

Depois da subtração foi necessário determinar uma densidade controle, ou seja, um valor médio dos tons de cinza, de uma área diferente da área do defeito estudado e na qual sabia-se que não houve alteração de uma radiografia para outra.

Essa densidade foi tomada como padrão, apresentava um valor igual ou próximo de 128 e era específica para cada par de radiografias subtraídas.

3.12.4. DETERMINAÇÃO DO GANHO E PERDA DE DENSIDADE

Com base no valor da densidade controle, determinou-se as áreas de ganho e de perda de densidade em relação a área total do defeito, ou seja, a partir do histograma de cinza da área de análise, estabelecia-se os tons de cinza com valores acima da densidade controle, e então, obtinha-se a área de ganho de densidade dentro da área total do defeito, e que era representado em verde na imagem. Da mesma forma, determinava-se os tons de cinza que estavam abaixo da densidade controle, e obtinha-se a área de perda de densidade do defeito, sendo esta demonstrada em vermelho.

Portanto, a metodologia de subtração radiográfica permite calcular os seguintes parâmetros:

- Área de ganho de densidade radiográfica, em percentual da área total do defeito intra-ósseo
- Área de perda de densidade radiográfica, em percentual da área total do defeito intra-ósseo
- Densidade radiográfica correspondente a área de ganho
- Densidade radiográfica correspondente a área de perda

Fig. 13: Pseudocolorização das áreas de ganho de densidade radiográfica (verde) e de perda de densidade radiográfica (vermelho).

3.13. 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*) e finais (6 meses) dentro dos grupos, aplicando-se o Teste t de Student.

Além disso, para os dados radiográficos foi aplicado o Teste de Correlação de Pearson entre as áreas de ganho e perda de densidade óssea radiográfica, e também entre as densidades ópticas médias das áreas de ganho e perda radiográfica em ambos os grupos. Valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

4.1. AVALIAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO TRANS CIRÚRGICA DOS DEFEITOS INTRA-ÓSSEOS

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

Tabela 2: Classificação e medidas de altura e largura, em milímetros, dos defeitos intra-ósseos nos grupos teste e controle.

Sítio	Teste			Controle		
	n° de paredes	altura	largura	n° de paredes	altura	largura
1	1	12,19	3,39	1	6,47	3,72
2	2	5,94	3,12	1	6,28	2,84
3	1	9,12	3,34	1	8,15	4,92
4	1	6,3	2,8	2	7,02	4,55
5	2	7,05	2,65	1	10,48	3,71
6	2	8,71	2,95	1	7,59	3,57
7	2	11,0	4,65	1	5,4	4,33
8	2	11,56	3,15	2	12,0	1,8
9	2	6,71	1,64	2	11,18	8,22
10	2	11,17	3,51	2	6,81	3,03
11	2	6,16	2,62			

4.2. RESULTADOS CLÍNICOS

A Terapia de Manutenção realizada durante os 6 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 mensal dos Índices de Placa e de Sangramento à Sondagem (AINAMO & BAY,1975) 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 (PMG), nível de inserção clínica relativo (NICR) e profundidade de sondagem (PS), no início e 6 meses após o tratamento estão apresentadas na tabela 3.

Tabela 3: Médias das alterações das medidas clínicas de sondagem dos grupos teste e controle (média em milímetros e desvio padrão).

	Teste			Controle		
	Inicial	Final	Diferença	Inicial	Final	Diferença
PMG	7,83 ± 1,11	9,33 ± 1,63 *	1,50 ± 0,87	8,23 ± 1,60	9,77 ± 1,30 *	1,54 ± 0,72
NIC	14,83 ± 1,84	12,93 ± 1,99 *	1,90 ± 1,19	14,93 ± 2,19	13,53 ± 1,85 *	1,40 ± 1,09
PS	6,99 ± 1,22	3,59 ± 1,04 *	3,40 ± 1,28	6,69 ± 1,06	3,75 ± 0,79 *	2,94 ± 0,95

* Diferença significativa entre inicial e final pelo teste t pareado ($p < 0,05$).

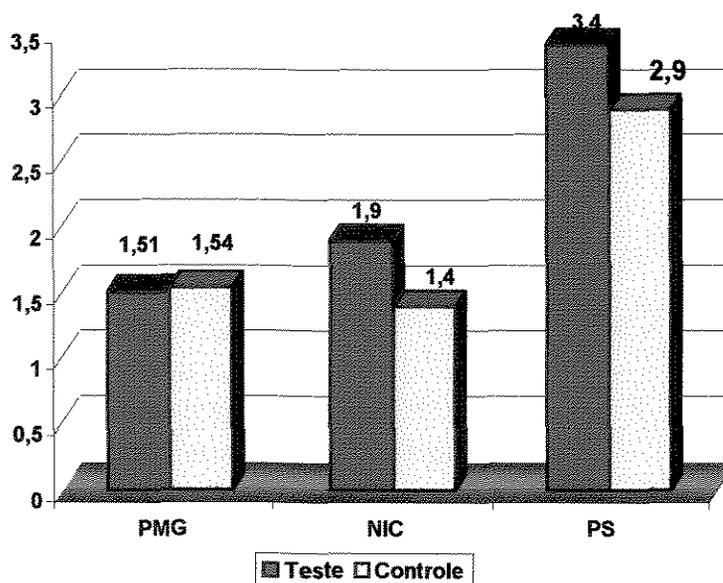


Gráfico 1: Diagrama de barras das médias de alterações das medidas clínicas de sondagem dos grupos teste e controle (média em milímetros).

O grupo teste apresentou uma média de retração gengival de $1,5 \pm 0,87\text{mm}$ no final do período experimental. Essa alteração na posição da margem gengival em relação ao exame inicial foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,001$). De forma semelhante, constatou-se no grupo controle uma retração média e, estatisticamente significativa de $1,54 \pm 0,72\text{mm}$, $p \leq 0,001$.

A comparação entre as médias de retração da margem gengival obtidas nos grupos teste e controle não apresentaram diferença estatística, ($p=0,916$).

Para o nível clínico de inserção relativo, o grupo teste apresentou uma média inicial de $14,83 \pm 1,84\text{mm}$ e uma média final de $12,93 \pm 1,99\text{mm}$, sendo esse ganho médio de inserção estatisticamente significativo ($p \leq 0,001$). No grupo controle, a média inicial foi de $14,93 \pm 2,19\text{mm}$ e a final $13,53 \pm 1,85\text{mm}$, também apresentando diferença estatística significativa entre os exames inicial e final, ($p= 0,0027$). Já a diferença observada no ganho médio de inserção clínica do grupo teste de $1,9 \pm 1,19\text{mm}$ e do grupo controle $1,4 \pm 1,09\text{mm}$ não diferiram estatisticamente, $p= 0,331$.

A redução na profundidade de sondagem foi observada no grupo teste e no grupo controle. No grupo teste, a média inicial da profundidade de sondagem foi de $6,99 \pm 1,22\text{mm}$ e a média final foi de $3,59 \pm 1,04\text{mm}$, para o grupo controle a média inicial da profundidade de sondagem de $6,69 \pm 1,06\text{mm}$ alcançou $3,75 \pm 0,79\text{mm}$ em média no final do tratamento, demonstrando diferenças estatísticas significativas, com valores de $p \leq 0,001$ para ambos os grupos. No entanto, a redução média na profundidade de sondagem no grupo teste de $3,4 \pm 1,28\text{mm}$, não foi estatisticamente diferente da redução média obtida no grupo controle de $2,9 \pm 0,95\text{mm}$, com $p= 0,376$.

4.3. RESULTADOS RADIOGRÁFICOS

A avaliação por subtração das imagens radiográficas permitiu identificar as áreas de ganho e de perda de densidade óssea radiográfica em percentual da área total do defeito, bem como a densidade radiográfica correspondente a essas áreas.

Tabela 4: Médias das áreas de ganho e perda de densidade radiográfica nos grupos teste e controle (média em percentual e desvio padrão).

	Área			
	Ganho		Perda	
Teste	62,04 ± 34,06	a A	16,00 ± 19,09	b A
Controle	50,41 ± 25,53	a A	27,74 ± 17,01	a A

Médias seguidas de letras distintas (minúsculas na horizontal e maiúsculas na vertical) diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$).

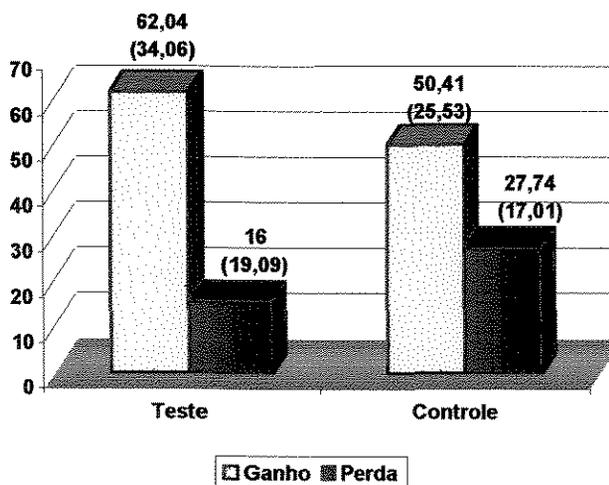


Gráfico 2: Diagrama de barras das médias das áreas de ganho e perda de densidade radiográfica nos grupos teste e controle (média em percentual e desvio padrão).

Assim sendo, o grupo teste apresentou uma média de área de ganho de densidade radiográfica que foi de $62,04 \pm 34,06\%$, sendo esta, superior a do Grupo Controle que foi de $50,41 \pm 25,53\%$ e ainda, uma média de área de perda de densidade de $16,00 \pm 19,09\%$, que foi menor que o controle de $27,74 \pm 17,01\%$. Apesar disso, a comparação dos tratamentos teste e controle não mostrou diferença estatística entre as médias de ganho de densidade em área ($p= 0,391$), nem mesmo entre a perda de densidade em área ($p=0,155$).

Para as médias de área de ganho $62,04 \pm 34,06\%$ e de perda de densidade $16,00 \pm 19,09\%$ no grupo teste, observou-se diferença estatisticamente significativa ($p= 0,015$), e contrariamente, para o grupo controle, as áreas de ganho $50,41 \pm 25,53\%$ não diferiram estatisticamente das áreas de perda de densidade $27,74 \pm 17,01\%$, sendo $p= 0,119$.

Tabela 5: Médias das densidades correspondentes às áreas de ganho e perda óssea radiográfica nos grupos teste e controle.

	Densidade			
	Ganho		Perda	
Teste	$151,70 \pm 18,52$	a A	$100,23 \pm 34,56$	b A
Controle	$151,33 \pm 12,01$	a A	$108,20 \pm 8,88$	b A

Médias seguidas de letras distintas (minúsculas na horizontal e maiúsculas na vertical) diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$).

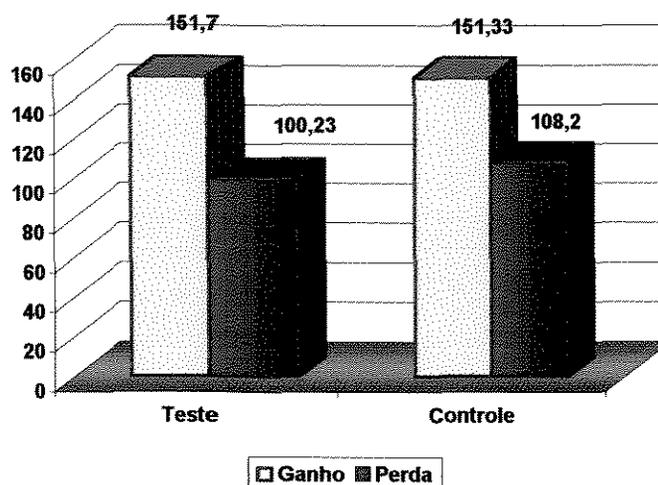


Gráfico 3: Diagrama de barras das médias das densidades correspondentes às áreas de ganho e de perda óssea radiográfica nos grupos teste e controle

Em relação a densidade radiográfica correspondente às áreas de ganho e de perda, houve diferença estatisticamente significativa para o Grupo Teste, sendo a média da densidade radiográfica nas áreas de ganho igual a $151,7 \pm 18,52$ e a densidade radiográfica correspondente às áreas de perda $100,23 \pm 34,56$ e $p = 0,002$. Essa diferença também foi demonstrada estatisticamente para o Grupo Controle, no qual a média de densidade radiográfica nas áreas de ganho foi de $151,33 \pm 12,01$, nas áreas de perda foi de $108,20 \pm 8,88$ e $p \leq 0,001$.

A comparação da densidade radiográfica equivalente às áreas de ganho entre os grupos Teste e Controle não foi estatisticamente significativa ($p = 0,958$). Da mesma forma, a densidade radiográfica relativa às áreas de perda não diferiu entre os dois grupos ($p = 0,475$).

Paralelamente, o teste de correlação de Pearson demonstrou haver uma correlação negativa forte ($r = -0,951$ e $p \leq 0,001$) entre as áreas de ganho e as de perda de densidade no Grupo Teste.

Também houve correlação negativa significativa entre as áreas de ganho de densidade e as de perda no Grupo Controle ($r = -0,911$ e $p \leq 0,001$). Já para a densidade radiográfica das áreas de ganho e de perda não houve correlação significativa dessas variáveis tanto no Grupo Teste como no Grupo Controle, sendo $p > 0,05$.

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 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 também promoveu benefícios no tratamento de defeitos intra-ósseos de 1 ou 2 paredes ósseas, entretanto, não apresentou resultados clínicos estatisticamente diferentes do tratamento cirúrgico convencional.

Apesar disso, 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. 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 publicados posteriormente, 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).

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 maior ou igual 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.

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.

Além disso, é preciso considerar que, clinicamente, a comparação do tratamento teste e controle demonstrou apenas uma pequena diferença na alteração do nível de inserção, não resultando em significância estatística. Esse resultado se justifica na medida em que o processo de cura periodontal, do ponto de vista clínico, é determinado de maneira semelhante tanto para o grupo teste quanto para o grupo controle, ou seja, o nível de inserção é determinado pela extensão da penetração da sonda no sulco

gengival ou bolsa periodontal, sem considerar o nível de inserção histológica (CATON et al., 1982). Isto significa que o principal determinante da extensão que a sonda penetrará é o status dos tecidos gengivais e periodontais, ou seja, o grau de inflamação e o conteúdo relativo de fibras e células (VAN DER VELDEN, 1979). Deste modo, quando parâmetros como controle de placa do paciente, tipo de sonda, pressão à sondagem, examinador são padronizados para ambos os grupos, pode-se presumir que as medidas do nível clínico de inserção sejam próximas.

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). Recentemente, 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, foram incluídos 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 consequência 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).

Esses 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.

Ainda em relação ao controle da placa bacteriana, HEDEN et al., 1999 sugeriram 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, foram tomados os cuidados de modificar a técnica de escovação para uma escovação mais suave da área operada, além do controle químico da placa com digluconato de clorexidina 0,12% duas vezes ao dia. No entanto, alguma movimentação dos tecidos moles pode ter havido durante esse período inicial de cicatrização.

A retração da margem gengival observada neste estudo foi em média de 1,5mm após o procedimento cirúrgico regenerativo e de 1,54mm após o procedimento cirúrgico convencional. 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 recessão 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., 1999)

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. No entanto, o uso do derivado da matriz do esmalte associado a outras técnicas regenerativas ainda precisa ser submetido a experimentos clínicos controlados que testem essas possíveis combinações.

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.

A técnica de subtração radiográfica utilizada no presente estudo identificou áreas de ganho e de perda de densidade óssea radiográfica em percentual da área total do defeito nos grupos teste e controle, o que ilustra uma maior sensibilidade dessa metodologia comparada às medidas lineares de altura óssea radiográfica na detecção das alterações do osso alveolar (Mc HENRY et al., 1987). Isso também sugere uma concordância com estudos clínicos e histológicos que demonstram, após o tratamento de defeitos periodontais intra-ósseos, áreas de reabsorção como também de formação óssea (CORTELLINI et al., 1993b), ou ainda, presença de osso maturo e de osso imaturo (MELLONIG, 1999).

Os resultados da avaliação por subtração das imagens radiográficas mostraram que no grupo teste houve uma maior área de ganho de densidade radiográfica, e ao mesmo tempo, uma menor área de perda de densidade radiográfica em relação às respectivas médias do grupo controle. Apesar disso, a comparação entre os grupos das médias das áreas de ganho de densidade radiográfica, bem como das áreas de perda de densidade, não diferiram estatisticamente.

No entanto, a comparação entre as médias das áreas de ganho e de perda de densidade radiográfica diferiu estatisticamente no grupo teste, enquanto que, essa mesma comparação não mostrou diferença estatística para o grupo controle. Isso pode indicar que no grupo teste houve uma maior tendência de promover formação óssea como também uma menor tendência de reabsorção óssea, em relação ao grupo controle, e que houve uma diferença significativa entre as áreas de ganho e de perda

de densidade radiográfica no grupo teste, favorecendo, no cômputo geral, a formação óssea radiográfica.

Também é importante ressaltar que, o período de 6 meses de avaliação é curto para que haja maturação suficiente do tecido ósseo neoformado, assim, o tecido ósseo pode não ter sido detectado radiograficamente em muitos casos (SCULEAN et al., 1999c). Portanto, em termos de avaliação radiográfica da terapia regenerativa com proteínas da matriz do esmalte, mais estudos clínicos controlados com período de avaliação maior e métodos de diagnóstico mais precisos são necessários para suportar esse ganho ósseo adicional sobre procedimentos cirúrgicos convencionais.

Para a densidade radiográfica, correspondente às áreas de ganho e de perda óssea, a metodologia utilizada de subtração radiográfica mostrou valores médios muito similares, ou seja, a densidade radiográfica média das áreas de ganho apresentaram valores muito próximos no grupo teste e no grupo controle, e o mesmo ocorreu no valor da densidade média das áreas de perda. Isso indica que as alterações ósseas apresentadas nas imagens radiográficas que ocorreram após o tratamento se limitaram a variações de área.

Apesar da alta sensibilidade e especificidade da subtração radiográfica digital, documentada em outros estudos (JEFFCOAT et al., 1987; HAUSMANN et al., 1985) é preciso considerar que a técnica apresenta algumas limitações, na medida em que, pode 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 corrigida automaticamente através de algoritmos incluídos no programa de subtração IMAGELAB, além da kilovoltagem, 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 à subtração, contudo, a técnica do *stent* parece consumir mais tempo e requerer uma atenção meticulosa para se obter duas imagens radiográficas quase idênticas.

Ainda em relação a subtração radiográfica, JEFFCOAT, 1992 considera que uma das principais limitações do método, além da necessidade de controlar as fontes de erro, é que a alta sensibilidade da subtração radiográfica, pode detectar alterações

ósseas que representem remodelação fisiológica mais do que propriamente reabsorção patológica do osso alveolar.

É preciso salientar ainda que, o baixo potencial imunogênico do derivado da matriz do esmalte relatado por ZETTERSTROM et al., 1997, após seu uso repetido em cirurgia periodontal, durante um estudo clínico controlado, avaliando 107 pacientes teste e 33 pacientes controle, 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.

6. CONCLUSÕES

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

- o tratamento de acesso cirúrgico a instrumentação radicular unicamente e associado com proteínas da matriz do esmalte melhoraram significativamente todos os parâmetros clínicos avaliados, entretanto, não houveram diferenças estatisticamente significantes entre as duas modalidades de tratamento para qualquer um desses parâmetros clínicos.

- a avaliação por subtração radiográfica digital sugere que o tratamento cirúrgico com as proteínas da matriz do esmalte promove formação óssea radiográfica num grau maior que o tratamento cirúrgico convencional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS[†]

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. _____. *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.
7. _____. *et al.* New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. **J. Periodont.**, Chicago, v.59, n.9, p.589-594, Sept. 1988.
8. _____. *et al.* The rationale for periodontal therapy. **Periodontology 2000**, v.9, p.7-13, Oct. 1995.
9. 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.
10. _____, 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.

[†] De acordo com a NBR 6023, de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Abreviatura dos periódicos conforme o "World List of Scientific Periodicals".

11. _____, GREENSTEIN, G., POLSON, A. Depth of periodontal probe penetration related to clinical and histological signs of gingival inflammation. **J. Periodont.**, Chicago, v.52, p.626-629, 1982.
12. 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.
13. _____, _____, _____. 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.
14. _____. *et al.* Guided tissue regeneration with different materials. **Int. J. periodont. restor. Dent.**, Carol Stream, v.10, n.2, p.136-151, 1990.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. _____. *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.
20. GOTTLLOW, 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.
21. _____. *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.

22. 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.
23. _____. Enamel matrix, cementum development and regeneration. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.24, n.9, p.658-668, Sept. 1997b.
24. _____, ALAYLI, I., FONG, C.D. Origins of cementum. **Oral Diseases**, v.2, n.1, p.63-69, Mar. 1996.
25. _____, 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.
26. 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.
27. HASSEL, T. Tissues and cells of the periodontium. **Periodontology 2000**, v.3, p.9-38., 1993.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. _____. *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.

33. 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.
34. 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.
35. _____. *et al.* Extraoral control of geometry for digital subtraction radiography. **J. periodont.**, Copenhagen, v.22, n.5, p.396-402, Sept. 1987.
36. 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.
37. _____. 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.
38. 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.
39. 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.
40. _____. *et al.* "Critical probing depths" in periodontal therapy. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.9, n.4, p.323-336, July 1982a.
41. _____. *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.
42. 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.
43. _____. 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.
44. _____. 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.

45. 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.
46. _____, 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.
47. 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.
48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissues. **J. Periodont.**, Chicago, v.47, n.5, p.256-260, May 1976.
52. 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.
53. _____. 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.
54. 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.
55. 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.

-
56. PIHLSTROM, B.L. Measurement of attachment level in clinical trials: probing methods. **J. Periodont.**, Chicago, v.63, n.12, p.1072-1077, Dec. 1992.
57. _____. *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.
58. _____. *et al.* Molar and nonmolar teeth compared over 6 ¹/₂ years following two methods of periodontal therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.55, n.9, p.499-504, Sept. 1984.
59. 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.
60. 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.
61. PRITELove-CARSON, S., *et al.* Immuno-histochemical analysis of tissues regenerated form within periodontal defects treated with expanded polytetrafluoroethylene membrannes. **J. Periodont.**, Chicago, v.65, n.3, p.134-138, 1994.
62. RAMFJORD, S., KNOWLES, J., NISSLE, R. Results following three modalities of periodontal therapy. **J. Periodont.**, Chicago, v.56, p.522-526, 1975.
63. 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.
64. 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.
65. _____. *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.

66. ROSLING, B., NYMAN, S., KINDHE, 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.
67. 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.
68. 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.
69. _____. *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.
70. _____. *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.
71. 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.
72. _____, BOYDE, A. Cementum: an epithelial secretory product? **J. dent. Res.**, Washington, v.53, p.157, 1975.
73. _____, DIEKWISCH, T. Evolution in tooth developmental biology: of morphology and molecules. **Anat. Rec.**, New York, v.235, n.2, p.131-150, June 1996.
74. _____. *et al.* Hertwig's epithelial root sheat differentiation 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.
75. _____. *et al.* Human and mouse cementum proteins immunologically related to enamel proteins. **Biochim Biophys Acta.**, v.991, n.1, p.12-18, Apr. 1989b.
76. 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.

-
77. THE AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. **Glossary of Periodontal Terms**, 3rd ed., Chicago: AAP, 1992, 51p.
78. 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.
79. _____. *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.
80. VAN DER PAUW, M. T. *et al.* 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.
81. VAN DER VELDEN, U. Probing force and the relationship of the probe tip to the periodontal tissues. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.6, p.106-114, 1979.
82. VANNIER, M. W. Subtraction radiography. **J. Periodont.**, Chicago, v.67, n.9, p.949-950, Sept. 1996.
83. WESTFELT, E. *et al.* Improved Periodontal conditions following therapy. **J. clin. Periodont.**, Copenhagen, v.12, n.4, p.283-293, Apr. 1985.
84. 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



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
CEP — COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER DO CEP — FOP/UNICAMP

Comunicamos que o Protocolo de Pesquisa referente ao Projeto:

Título do Projeto de Pesquisa:

"Tratamento cirúrgico dos defeitos intra-ósseos associado com proteínas derivadas do esmalte (Endocaim). Estudo clínico e radiográfico"

Pesquisador Orientador/Orientado:

Prof. Dr. Sérgio de Toledo/Karina Teixeira Villalpando

apresentado a este Comitê para análise ética, segundo a Resolução CNS 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, de 10/10/96, foi considerado:

Aprovado.

Aprovado com pendência, devendo o Pesquisador encaminhar as modificações sugeridas em anexo para complementação da análise do Projeto.

Com pendência.

Reprovado.

Análise e parecer do relator (com resumo do projeto):

[Handwritten Signature]
CEP-FOP/UNICAMP

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 Mestrado do curso de Clínica Odontológica
- área de Periodontia, intitulada "TRATAMENTO CIRÚRGICO DE DEFEITOS INTRA-
ÓSSEOS ASSOCIADO COM PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE
(EMDOGAIN). ESTUDO 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