

RENATO CORRÊA VIANA CASARIN

Cirurgião-dentista

**AVALIAÇÃO DO USO DAS PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ
DO ESMALTE NO TRATAMENTO DE LESÕES DE BIFURCAÇÃO
PROXIMAIS CLASSE II. ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO
RANDOMIZADO.**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de
Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para
obtenção do Título de Mestre
em Clínica Odontológica, Área
de concentração de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Co-orientador: Prof.Dr. Sérgio de Toledo

PIRACICABA

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

C263a Casarin, Renato Corrêa Viana.
Avaliação do uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte no tratamento de lesões de bifurcação proximais classe II. Estudo clínico controlado randomizado. / Renato Corrêa Viana Casarin. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientadores: Márcio Zaffalon Casati, Sérgio de Toledo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Regeneração óssea. 2. Periodontite. I. Casati, Márcio Zaffalon. II. Toledo, Sérgio de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Evaluation of the enamel matrix derivate proteins in the treatment of proximal class II furcation involvements. A randomized controlled clinical study

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Bone regeneration. 2.

Periodontitis

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Márcio Zaffalon Casati, Enilson Antônio Sallum, Cláudio Mendes Pannuti

Data da Defesa: 28-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 28 de Fevereiro de 2007, considerou o candidato RENATO CORRÊA VIANA CASARIN aprovado.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "M. Zaffalon Casati", written over a horizontal line.

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "C. Mendes Pannuti", written over a horizontal line.

PROF. DR. CLAUDIO MENDES PANNUTI

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "E. Antonio Sallum", written over a horizontal line.

PROF. DR. EMLSON ANTONIO SALLUM

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Campinas e seu magnífico Reitor Prof. Dr. José Tadeu Jorge, por ser um centro de excelência e proporcionar que vivenciasse essa magia de descobrir a ciência.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, por ter sido a minha casa nestes 7 anos e o lugar em que realizei todos os meus sonhos. Por me proporcionar obter a minha sempre desejada profissão, por me ensinar a viver na ciência e poder fazer dela um sentido na minha vida.

Ao diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto, e seus antecessores, por tornar a FOP uma faculdade conceituada e um ícone na ciência internacional.

A Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Garcia Rodrigues, coordenadora do curso de Clínica Odontológica e ao Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoretti, coordenador dos cursos de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo empenho oferecido ao programa.

Aos professores da Área de Periodontia, Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum, Prof. Dr. Sérgio de Toledo, Prof. Dr. Enílson Antônio Sallum e Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, por me ensinarem a pensar, viver e amar a periodontia. Obrigado pela oportunidade de participar desse programa de excelência.

Aos professores Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury e Profa. Dra. Cínthia Pereira Machado Tabchoury, por me iniciarem na pesquisa durante a minha primeira iniciação científica, por me darem exemplos de dedicação exclusiva à

ciência, por despertar em mim o ímpeto de descobrir cada vez mais. Obrigado por me guiarem nos primeiros passos desse longo caminho.

Aos outros professores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, por me ensinarem tudo o que sei e sou na minha profissão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, por acreditar que um aluno do terceiro ano poderia ter potencial de ser um pesquisador, me oferecendo a oportunidade de realizar esse sonho. Obrigado por confiar em mim, sempre, e por ser um exemplo de professor. Obrigado por ser também um exemplo de profissional com caráter e estar preocupado não apenas com os trabalhos científicos, mas também com quem faz o trabalho científico. Obrigado por mostrar como ser um profissional ético, como pensar objetivamente, como tentar por sonhos em prática, como se preocupar com as pessoas e como buscar sempre um ideal. Tenho certeza de que o Enrico terá um pai exemplar.

À minha orientadora do estágio em Bioestatística, Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano por me mostrar novos caminhos dentro da ciência, me ensinar como trilhar esses caminhos com bom senso e sempre da maneira mais correta. Obrigado pelo constante bom humor e paciência infinita, exemplo que quero seguir sempre.

Ao Prof. Dr. Flávio Baggio Aguiar, por participar da minha banca de qualificação, contribuindo muito para a qualidade desse trabalho. Pela amizade e exemplo de profissional.

À FAPESP, pela minha bolsa e auxílio financeiro, essenciais para a realização desta pesquisa.

À Eliete e a Mari, não por participarem diretamente desse estudo, mais por dar o respaldo necessário para que esse e todos os outros estudos da disciplina possam ser realizados. Obrigado pela paciência, bom humor, alegria e jovialidade de ambas, alegrando os minutos que convivemos juntos por dia.

À Rosângela, Cida Riva e Rosa, secretárias da clínica de especialização, principalmente pelo apoio dado na realização desta pesquisa. Sem elas a clínica não funcionaria. Obrigado pelo companheirismo, pela ajuda sempre oferecida, pelas paçocas comidas escondidas e pelas risadas que demos juntos nesses anos.

Aos funcionários da Faculdade, em especial à Marilei e às faxineiras, que sempre me ajudaram com muito bom humor e disponibilidade.

À minha turma de graduação, em especial Aline, Vanessa, Marcel, Marcelo, Cabral, Morgana, Maitê, Daniela, Yoko, Fred, Ingrid, Gisele, Carol, Fernando, por me darem a melhor graduação que alguém pode querer. À Giovana e Paulinho, meus compadres, pela amizade incondicional oferecida a mim e a Thalita. Obrigado por tudo.

Aos irmãos que escolhi, Severino, Kpiva, Bomba e Murilo, por sempre estarem presentes em todas as ocasiões da minha vida. Vocês são pessoas essenciais na minha vida e a nossa casa me dá saudades todos os dias. Obrigado por toda a alegria que me deram nessa vida, e por toda que ainda trarão.

À Ana Zilda e a Daiane Peruzzo por todas as caronas de graça que me deram nesses dois anos. Se um dia tiver que pagá-las precisarei de um empréstimo. Obrigado pelas ótimas horas regadas a conversas científicas, conselhos e risadas que tivemos.

À Adriana Soares, por acreditar em meu potencial e permitir trabalhar com ela em seu estágio de Trauma. Por me dar oportunidade de ensinar o que aprendi nesses anos e por me incluir em seus planos.

À turma de doutorado antiga, Bruno Gurgel, Poliana, João, Renato, PatFu, Ângela, Suzana, Luciana e, em especial, Fernando, por mostrarem na clínica o que era fazer periodontia e mostrar como era a vida de pós-graduando. A turma mais nova de doutorado, Bruno Benatti, Daiane, Saulo, Roberta, Goiano, Cléverson e Gabriela por proporcionarem horas de alegria e de ensinamento.

Aos meus colegas de pós-graduação, em especial minha amiga de 10 anos, Fer Regina, por sempre estarem prontos a me ensinar e ajudar, pelas risadas nas clínicas de graduação e pelos churrascos de tese que fui e vou.

Ao amigo Nelson Tetsu Yriama, que sempre estará na nossa memória, pela alegria que viveu todos os seus dias e pela amizade que sempre nos ofereceu.

Ao Sandro por me ensinar muito sobre periodontia, por me dar a oportunidade de trabalharmos juntos e por sempre me incentivar e confiar em mim.

À Érica, primeiro por participar da idéia e execução deste trabalho, sempre disponível a fazer as cirurgias, mesmo as noturnas. Segundo por ser um exemplo de organização, dedicação, confiabilidade, amabilidade e ética. Por ser sempre a minha companheira de clínica, quase 12 horas por dia, 5 dias por semana. Este trabalho é seu também.

À minha turma de mestrado, Bia, Alynne, Mauro, Dani, Fernanda, Thaís, Kamille, Fabrícia, Wagner e Liana, por todo o aprendizado que tivemos juntos. Por todas as discussões e os momentos agradáveis que passamos juntos. Obrigado por fazerem esses dois anos serem inesquecíveis.

A Bia, Alynne e Fykrie, pelas horas de conversa, pelos jantares nordestinos e churrascos, pela alegria que trazem para os dias em Piracicaba. Pela confiança que tenho e que vocês têm por mim.

À Dani e ao Mauro pela amizade e confiança que construímos. A todo o apoio que me dão para crescer e ser mais. A todas as opiniões sobre este trabalho e todos os conselhos que dão para minha vida. A toda a torcida que nos damos para que tudo corra bem. A toda a fé que depositamos uns nos outros, por acreditarmos que somos capazes de fazer e ser melhor. A todas as barreiras e dificuldades que me ajudaram a quebrar no dia-a-dia da pós-graduação. E por me deixar dividir as minhas e as suas alegrias.

À Fernanda, minha dupla, minha amiga e confidente. Obrigado pelo apoio em todos os momentos, pela sua capacidade de trabalho que emprestou nas cirurgias desse estudo, por dividir comigo suas dúvidas e confiar em meus conselhos. Pelo sorriso constante em seu rosto, pela disponibilidade de ajudar quando possível, pela ajuda que me dá sem que eu peça. Pelo incentivo em todas as horas e por sempre acreditar que passaríamos por tudo isso juntos, desde a iniciação até o nosso futuro doutorado.

À minha família e meus sogros, que sempre acreditaram em mim, que sempre desejaram o melhor para mim e sempre me fiseram feliz. Sou grato a Deus por ter todos vocês por perto.

À minha querida Bruna, que Deus quis perto dele tão cedo. Nunca vou esquecer você e seu sorriso maravilhoso. Obrigado pela alegria e carinho que me deu enquanto te tive perto de mim.

Às minhas avós, Vanda e Lourdes, uma perto física e outra perto espiritualmente, e também aos meus avôs, Carlito e Jaime, por me apoiarem em todos os momentos difíceis da minha vida, me darem segurança e conforto quando precisei, por ser um refúgio e um porto seguro.

Aos meus irmãos, que não sabem como são importantes, mas que amo incondicionalmente. Desculpem ser um irmão mais velho tão “mais velho”.

À minha vida, Thalita. Ao contrário de todas as outras pessoas, à você eu confio o meu futuro. A você eu dedico este trabalho e todos os outros que farei. A você eu dedico todas as minhas dificuldades de agora e as que virão. À você eu dou todas as alegrias que tenho e as que terei. A você eu dou todo o amor que tenho e todo o que você me fará ter. A você eu dou a minha vida de hoje e todo o resto dela. Você é a mulher que eu preciso e quero para ser feliz. Obrigado pelo amor que me dá e espero te dar muito mais, sempre, para sempre.

Aos meus pais. Pela vida, pelo amor, pela possibilidade de realizar meus sonhos, pela entrega aos filhos, pela confiança em mim. Obrigado por dizerem sim antes mesmo de eu explicar o que e por que. Obrigado por me permitirem sonhar com vôos altos, sempre me incentivando a buscar todos os meus desejos. Vocês são um exemplo de força, de que não haverá dificuldade que o amor e união não possa vencer, de que não existe nada maior que o amor de mãe e pai. Nunca vou conseguir agradecer a oportunidade que vocês me dão, de buscar meu caminho. Mas sei que só consigo por que vocês estão sempre do meu lado e são a minha força.

A Deus, que acredito do meu jeito, mas sei que sempre esteve do meu lado. Obrigado por me dar tudo o que preciso para ser feliz.

Aos pacientes que participaram a pesquisa por acreditarem em mim e confiar no meu trabalho

***“É melhor ser alegre que ser triste,
Alegria é a melhor coisa que existe,
É assim como a luz no coração”***

Vinícius de Moraes

O objetivo do presente estudo foi avaliar a resposta clínica das lesões de bifurcação proximais tratadas com proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD). Foram selecionados 24 pacientes com pelo menos uma lesão de bifurcação proximal classe II apresentando profundidade de sondagem (PS) ≥ 5 mm e presença de sangramento a sondagem. As furcas foram divididas aleatoriamente em 2 grupos: Grupo controle (n=20) – acesso para raspagem e alisamento radicular e aplicação de EDTA 24% (PrefGel®); Grupo Teste (n=20) – acesso para raspagem e alisamento radicular + aplicação de EDTA 24% + aplicação das EMD (Emdogain®). Os pacientes foram avaliados quanto ao Índice de Placa (IP) e Sangramento à Sondagem (SS), Profundidade de Sondagem (PS), Posição da Margem Gengival (PMG), Nível Clínico de Inserção Vertical e Horizontal Relativo (NICVR e NICHR, respectivamente), Nível Ósseo Vertical e Horizontal (NOV e NOH) e fechamento da lesão. As avaliações foram realizadas antes do tratamento, 2, 4 e 6 meses após. Aos 6 meses de acompanhamento o ganho de NICVR dos grupos controle e teste foram de 0,63 e 0,74 mm, enquanto o ganho de NICHR foram 1,13 e 1,64 mm, ambos sem diferença entre os grupos. O ganho de NOV e NOH para os grupos controle e teste foram de 0,98 e 0,85 mm e 0,94 e 1,08 mm respectivamente, também sem diferença estatística entre os grupos. Na avaliação do número de bifurcações fechadas aos seis meses, no grupo teste houve fechamento de 4 lesões, enquanto no grupo controle não ocorreu nenhum fechamento ($p < 0,05$). Pode-se concluir que, embora os defeitos de bifurcação proximais tenham apresentado ganhos semelhantes de NICVR, NICHR, NOV e NOH, o uso do EMD possibilitou um maior fechamento completo das bifurcações que o acesso para raspagem e alisamento radicular e biomodificação radicular com EDTA 24%.

Palavras Chaves: Defeitos de Furca, Terapia Regenerativa e Proteínas derivadas da matriz do esmalte.

The aim of the present study was to evaluate the clinical response of proximal furcations treated with enamel matrix derived proteins (EMD). Twenty four patients with at least one class II proximal furcation involvements presenting probing depth (PD) ≥ 5 mm and bleeding on probing were selected. The patients were randomly assigned to: Control Group (n=20) – Open Flap Debridement (OFD) + EDTA 24% conditioning (PrefGel®); Test Group (n=20) – OFD + EDTA 24% conditioning + EMD application (Emdogain®). Plaque Index (PI), Bleeding on Probing (BOP), Probing Depth (PD), Gingival Margin Position (GMP), Relative Vertical and Horizontal Clinical Attachment Level (RVCAL and RHCAL, respectively), Vertical and Horizontal Bone Level (VBL and HBL) and Furcation Closure were evaluated immediately before and 2, 4 and 6 months after the surgeries. At 6th month the gain of RVCAL of control and test group were 0.63 e 0.74 mm, while the RHCAL gain were 1.13 e 1.64 mm, both without statistical difference between the groups. The VBL and HBL gain of control and test group were 0.98 and 0.85 mm and 0.94 and 1.08 mm respectively, also without statistical difference. Four closed furcations were observed at 6th month in the test group, while no closed furcations was observed at control group ($p < 0.05$). It could be conclude that, although the proximal furcations showed similar gains of RVCAL, RHCAL, VBL and HBL at 6th month, the EMD application promote a superior, but unpredictable, frequency of closed furcations than that found with open flap debridement and EDTA 24% conditioning.

Keywords: Furcation defects, Regenerative procedures, Enamel Matrix Derived Proteins.

1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. Lesões de Bifurcação.....	4
2.1.1. Definição.....	4
2.1.2. Diagnóstico e Classificação.....	4
2.1.3. Epidemiologia.....	6
2.1.4. Anatomia da região de bifurcação.....	8
2.2. Tratamento das Lesões de Bifurcação Proximais.....	9
2.2.1. Tratamento não cirúrgico.....	9
2.2.2. Tratamento Regenerativo de Bifurcações Proximais.....	10
2.3. Proteínas Derivadas da Matriz do Esmalte.....	17
2.3.1. Estudos “in vitro” e histológicos.....	17
2.3.2. Estudos clínicos em lesões de bifurcação.....	25
3. Proposição.....	29
4. Materiais e Métodos.....	30
4.1. Considerações Éticas.....	30
4.2. Seleção dos Pacientes.....	30
4.3. Preparos dos Pacientes.....	31
4.4. Parâmetros Clínicos e Períodos de Avaliação.....	31
4.5. Parâmetros Transcirúrgicos.....	34
4.6. Procedimentos Cirúrgicos.....	34
4.7. Protocolo Medicamentoso e Terapia de Suporte.....	39
4.8. Análise Estatística.....	39
5. Resultados	41
5.1. Considerações Clínicas.....	41
5.2. Características da população estudada.....	41
5.3. Características dos defeitos ósseos.....	41
5.4. Parâmetros Clínicos.....	42
6. Discussão.....	49

7. Conclusão.....	55
8. Referências.....	56
9. Anexo 1.....	66

O acúmulo de biofilme dental produz reações diretas, como a liberação de enzimas líticas e produtos citotóxicos, e reações indiretas, desencadeando reações inflamatórias, resultando na destruição dos tecidos de suporte do dente, ou seja, osso alveolar, cemento e ligamento periodontal (Kinane & Lindhe, 2004). Embora a terapia associada à causa, realizada com raspagem e alisamento radicular, seja capaz de restabelecer a saúde dos tecidos periodontais (Heitz-Mayfield *et al*, 2002), atualmente um dos focos da terapia periodontal é a regeneração dos tecidos periodontais.

Dentre as técnicas com maior índice de sucesso, a Regeneração Tecidual Guiada (RTG) é a que apresenta resultados clínicos mais favoráveis a longo prazo. A RTG se baseia na colocação de barreiras de diferentes tipos para recobrir o osso e o ligamento periodontal, separando-os temporariamente do epitélio gengival, prevenindo a migração epitelial e favorecendo a recolonização por células oriundas do ligamento periodontal e osso (Gottlow *et al*, 1984, Nyman *et al*, 1982, Murphy & Gunsolley, 2003).

Esta técnica possibilita alcançar resultados favoráveis em defeitos infra-ósseos (Christgau, *et al*, 2002, Parashis *et al*, 2004) e lesões de bifurcação classe II, especialmente em bifurcações mandibulares (Mellonig *et al* 1994, Pontoriero & Lindhe, 1995, Lekovic *et al*, 1998, Eickholz *et al*, 2001, Cury *et al* 2003 a,b). Contudo, em bifurcações maxilares proximais, os resultados têm se mostrado limitados e imprevisíveis. Metzler *et al* (1991) mostraram resultados insatisfatórios em relação à profundidade de sondagem, retração e nível de inserção clínica em defeitos de bifurcação proximais após o uso de membranas não absorvíveis. Estudos clínicos controlados mostraram que as lesões de bifurcação proximais que receberam técnica regenerativa com membranas, responderam de forma equivalente àquelas que foram tratadas apenas com acesso para raspagem e alisamento radicular (Pontoriero e Lindhe, 1995, Avera *et al*, 1998). Esses

resultados mostram a baixa previsibilidade do uso de membranas neste tipo de defeito periodontal.

Dentre os inúmeros fatores citados que justificam os modestos resultados clínicos decorrentes do tratamento de lesões de bifurcação proximal pela técnica de RTG estão: a) a dificuldade de adaptação da membrana no espaço interproximal, b) a dificuldade de descontaminação devido à anatomia dessas áreas e c) a dificuldade em manter as membranas recobertas pelo tecido gengival (Metzler *et al*, 1991, Mellonig *et al* 1994, Avera *et al*, 1998, Rosen *et al*, 1997, Pontoriero e Lindhe, 1995).

Lu (1992) mostrou que 94% dos dentes superiores com envolvimento de bifurcação apresentavam concavidades que dificultam a adaptação da membrana, podendo não impedir a migração apical do epitélio. Além disso, a freqüente incidência de exposição da membrana (Metzler *et al* 1991, Avera *et al*, 1998, Rosen *et al*, 1997, Cortellini e Tonetti, 2000, Christgau, 2002) leva a uma possível contaminação, justificando o alto índice de insucesso no tratamento destes defeitos (Mombelli *et al*, 1993, Temporetti *et al*, 1993, Nowzari *et al*, 1996, Gottlow e Nyman, 1996, Machtei, 2001).

Uma opção terapêutica ao uso de membranas seriam as proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD). Essas proteínas têm a capacidade de mimetizar os eventos que ocorrem durante a cementogênese inicial, nos quais as EMD, secretadas pela bainha epitelial de Hertwig, induzem a formação do cemento acelular e conseqüente formação do ligamento periodontal e osso alveolar (Hammarstrom 1997 a,b, Hammarstrom *et al*, 1997). Grestelius *et al* (1997b) demonstraram que a aplicação das EMD promove aumento da proliferação de células do ligamento periodontal aumentando a síntese de proteínas e a formação de nódulos minerais por estas células. Além disso, possuem a capacidade de reduzir a proliferação das células epiteliais do epitélio juncional, modulando o padrão de cura da região do defeito periodontal.

Além disso, as EMD promovem um aumento da formação da matriz e da mineralização, estimula a liberação de fatores de crescimento (FGF2, TGF β , IGF),

diminuindo a concentração de MMP1, e bloqueando a via de maturação dos osteoclastos (pela via RANKL/OPG). Promove também uma redução na microbiota patogênica local, criando assim um ambiente favorável para a regeneração periodontal (Van der Pawn *et al*, 2000, Haase e Bartold, 2001, Sculean *et al*, 2001, Arweiler *et al*, 2002, Mizutani *et al*, 2003, Keila *et al*, 2004, Galli *et al*, 2006, Walter *et al*, 2006).

Clinicamente, a aplicação dessas proteínas derivadas da matriz do esmalte em defeitos infra-ósseos e lesões de bifurcação livres promoveu benefícios clínicos equivalentes ao uso de membranas, com ganho de inserção e redução da profundidade de sondagem (Parashis *et al*, 2000, Mellonig, 1999, Villalpando *et al*, 2001, Donos *et al*, 2003, Parashis *et al*, 2004, Jepsen *et al*, 2004, Meyle *et al*, 2004, Hoffman *et al*, 2006).

Assim, diante da ausência de estudos que avaliem o uso das EMD em defeitos de bifurcação proximais, dos resultados insatisfatórios obtidos com a utilização de técnicas regenerativas nestes defeitos (Metzler *et al*, 1991, Mellonig *et al* 1994, Avera *et al*, 1998, Rosem *et al*, 1997, Pontoriero E Lindhe, 1995) e dos bons resultados observados com o uso das EMD em defeitos de bifurcação em faces livres (Donos *et al*, 2003, Jepsen *et al*, 2004, Meyle *et al*, 2004, Hoffman *et al*, 2006), o objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, a utilização das proteínas derivadas do esmalte no tratamento de lesões de bifurcações proximais grau II.

2.1 Lesões de Bifurcação

2.1.1 Definição

A reabsorção patológica do osso no interior da furca foi a definição dada em 2001 pela Academia Americana de Periodontia para as lesões de bifurcação. Além da perda de inserção e tecido ósseo inter-radicular, Cattabriga *et al* (2000) acrescentaram que lesões de bifurcação decorrem de uma destruição associada ao acúmulo de biofilme.

Segundo o Glossário de Termos Periodontais, da Sociedade Brasileira de Periodontia (Cortelli *et al*, 2005), lesão de furca é aquela que ocorre pela perda de inserção dos tecidos de sustentação nas áreas de furca, devendo ser avaliada no seu componente vertical e horizontal.

2.1.2 Diagnóstico e Classificação

Papapanou & Tonetti (2000) sugeriram que a combinação de um exame clínico adequado e a obtenção de radiografias diagnósticas de qualidade são fundamentais para o diagnóstico de lesões ósseas.

Embora apresente alta sensibilidade, o exame clínico não é capaz de determinar a arquitetura e extensão da lesão. Além disso, sondagem de molares superiores para a verificação da presença de lesões de bifurcação deve seguir a anatomia da região. Assim o exame da bifurcação entre as raízes mésio-vestibular e palatina, chamada de bifurcação mesial, deve ser realizado mais próxima da região palatina, devendo ser sondado pela palatina. Já as bifurcações oriundas da união das raízes disto-vestibular e palatina, chamada de distal, podem ser examinadas tanto pela vestibular como palatina, já que essas se encontram em uma porção mais central da face distal do dente (Carnevale *et al*, 2004). Devido à

anatomia da região e dificuldade do exame clínico, foi desenvolvida uma sonda específica para a realização desse exame clínico, chamada de sonda Nabers, sendo de grande auxílio no diagnóstico das lesões de bifurcações. Contudo, mesmo utilizando instrumentos específicos como a sonda Nabers, Zappa *et al* (1993) observou presença de super e subestimação dessas lesões, explicitando a dificuldade do diagnóstico clínico isolado.

Em 2002, Suh *et al*, avaliaram a sondagem óssea como técnica para determinar a arquitetura da lesão com maior precisão. Foram examinadas trinta lesões de bifurcação, antes e após a abertura cirúrgica, sendo esses valores comparados entre si. Em média a sondagem cirúrgica foi 0,9 a 1,1 mm maior que a sondagem óssea. Essa diferença se deve, segundo os autores, a remoção involuntária de tecido ósseo quando da remoção do tecido de granulação, e afirmam que a sondagem óssea pode ser uma alternativa confiável das medidas ósseas de lesões de bifurcação.

Em relação ao exame radiográfico vale ressaltar que este representa uma visão em 2 dimensões das estruturas dentais, provocando a sobreposição das mesmas. Essa sobreposição do tecido ósseo, estrutura radicular e tecido mole é inerente à análise radiográfica de lesões de bifurcação proximais dos molares superiores, dificultando assim seu diagnóstico e determinação exata de seus limites. A fim de aumentar a precisão do exame radiográfico, Carnevale *et al*, (2004) sugeriram radiografias em diferentes angulações do feixe central para que a perda óssea inter-radicular desses elementos seja evidenciada. Hardekopf *et al* (1987) sugeriram que a presença de um “triângulo radiolúcido” na região interproximal dos molares superiores pode indicar a presença de lesões de bifurcação proximais, embora sua ausência não seja determinante de ausência.

Dessa forma, a união desses dois métodos é fundamental para aumentar a precisão do diagnóstico das lesões de bifurcação, especialmente em molares superiores, já que um diagnóstico preciso é necessário para um planejamento adequado (Papapanou & Toneti, 2000).

Sabendo que a quantidade de destruição dos tecidos inter-radiculares é determinante para a decisão do melhor tratamento a ser seguido pelo profissional, inúmeras classificações foram propostas para dividir as lesões de bifurcações em diferentes classes.

Glickman (1958) foi o primeiro a dividir as lesões em classes dependentes da perda óssea horizontal que apresentavam. Dessa forma, uma ligeira perda de tecido inter-radicular foi definida como Classe I. As bifurcações Classe II seriam aquelas que apresentavam perda óssea horizontal dentro da região inter-radicular, contudo sem ultrapassar os limites do elemento dental, as quais seriam inferidas como Classe III.

Dentre as classificações desenvolvidas a mais utilizada e aceita foi descrita por Hamp *et al* em 1975. Nessa classificação a penetração da sonda na região inter-radicular de até 3 mm seria determinante de uma lesão Classe I. Medidas maiores que 3 milímetros, sem envolver toda a extensão da região inter-radicular seriam lesões Classe II e aquelas em que a sonda ultrapassasse toda a extensão inter-radicular seriam lesões de bifurcação Classe III. Essa classificação é a mais aceita na literatura e foi escolhida como critério de inclusão e parâmetro clínico por este estudo.

2.1.3 Epidemiologia

Molares são frequentemente os dentes com maiores percentuais de perda em indivíduos tratados ou não. Uma das possíveis razões para essa alta taxa de mortalidade é a presença de lesões de bifurcação associadas a esses elementos. A conformação anatômica, a posição mais distal desses elementos no arco dental e a dificuldade de higienização dos pacientes são explicações comuns para essa taxa de insucesso. Além disso, o difícil diagnóstico precoce dessas lesões permite que a destruição periodontal ocorra por mais tempo, diminuindo o índice de sucesso do tratamento periodontal posterior (Cattabriga *et al*, 2000).

Estudos epidemiológicos que verificaram a prevalência de lesões de bifurcação são esparsos na literatura. Além disso, alguns desses avaliaram a presença dessas lesões em maxila e mandíbulas secas, enquanto outros avaliaram em pacientes que procuraram tratamento periodontal. Dessa forma, os valores referentes a esses estudos não podem ser designados para a população em geral (Cattabriga, *et al*, 2000, Papapanou & Tonetti, 2000). De modo geral, a prevalência de lesões de bifurcação variou de 25 a 52% dos molares superiores examinados, enquanto os molares inferiores apresentaram prevalência de 16 a 35% (Mcfall 1982, Goldman *et al*, 1986, Wood, 1989).

O estudo de Svärðström & Wennström (1996) é um dos poucos trabalhos que avaliaram clínica e radiograficamente a presença de lesões de furca em uma população representativa. Os autores examinaram 222 pacientes (14 a 73 anos) quanto aos parâmetros de Índice de Placa e Sangramento a Sondagem e Presença de Lesão de Bifurcação segundo Hamp *et al* (1975). Os molares apresentaram maiores Índices de Placa e Sangramento a Sondagem, independente da idade do paciente. A avaliação da presença de lesões de furca mostrou que os molares superiores foram os dentes com maior frequência de lesões, 50% dos pacientes com mais de 30 anos apresentavam lesão de bifurcação em pelo menos um molar superior. Nos molares inferiores esse índice de pelo menos um dente afetado só era alcançado nos pacientes acima de 40 anos de idade.

Dentre os dentes superiores, a distal do primeiro molar superior foi o sítio com maior frequência de lesões, 50%, enquanto a mesial do segundo apresentou a menor taxa, apenas 20%.

Os autores sugerem que a maior prevalência entre os molares superiores, especificamente da distal destes, se deve a anatomia da região. A localização mais central da bifurcação distal dificulta a higienização e pode ser a responsável pela alta frequência de lesões. Além disso, a localização do fórnix da furca está muito mais próxima da junção cimento esmalte (JCE) em molares superiores do que em molares inferiores, fazendo com que perda de suporte alveolar possa

envolver as áreas de bifurcação mais rapidamente (Svardstron & Wennstrom, 1996).

2.1.4 Anatomia da região de bifurcação

A morfologia dos dentes superiores foi avaliada em outro estudo (Rosenberg, 1988). Este estudo *in vitro* mediu as distâncias da JCE até o fórnix das bifurcações. Na face mesial essa distância foi em média de 3 mm, enquanto na face distal a distância foi de 5 mm. Os resultados mostram que o fórnix da furca é inclinado e apresenta uma anatomia intrincada, que dificulta o acesso de instrumentos raspadores.

Svårdström & Wennström (1988) utilizaram um método fotogramétrico para examinar a topografia da região de furca. As imagens tridimensionais mostraram a presença de picos, pontes e barreiras de dentina na região inter-radicular.

Entre as dimensões da topografia radicular, a divergência das raízes talvez seja a que mais influencia o tratamento periodontal, visto que quanto menor a entrada da bifurcação, menor a entrada do aparelho raspador nessa região, influenciando a quantidade de cálculo residual (Parashis *et al*, 1993).

Bower (1979) avaliando 114 molares superiores e 103 mandibulares observou que 53% das entradas eram menores que as medidas de curetas periodontais. Chiu *et al* (1991) mostraram que 39% e 43% das furcas mesiais e distais, respectivamente, eram inferiores a 0,75mm, indicando a dificuldade da penetração dos instrumentos raspadores.

Visto que a entrada, posição e aspecto da furca podem determinar o sucesso da terapia, o conhecimento da topografia e morfologia da região de bifurcação, especialmente das bifurcações proximais de molares superiores, é fundamental para determinar qual o tratamento mais adequado.

2.2 Tratamento de Lesões de Bifurcação Proximais

2.2.1 Tratamento não cirúrgico

Embora existam na literatura inúmeros trabalhos mostrando os resultados do tratamento não cirúrgico de lesões de bifurcação, e comparando esses resultados a dentes uniradiculares, ainda são raros os trabalhos que avaliem especificamente a resposta de lesão de bifurcação proximal de molares superiores.

Na literatura existe apenas um estudo clínico controlado que avalia a resposta de lesões de bifurcação proximais ao tratamento não cirúrgico, comparando-a a resposta de lesões de bifurcação livres.

Ribeiro *et al* (2006) avaliaram 21 furcas livres e 19 furcas proximais, após o debridamento com ultra-som, por seis meses. Os resultados mostraram que as furcas proximais apresentaram menor redução da profundidade de sondagem em comparação às furcas livres ($3,85 \pm 1,13$ e $4,87 \pm 0,87$ aos seis meses, respectivamente), com diferença estatisticamente significativa.

Além disso, a porcentagem de sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm foi maior no grupo de bifurcações proximais em todos os períodos de avaliação, também apresentando diferença estatística para o grupo de bifurcações livres ($p < 0,05$). O Índice de necessidade de retratamento (determinado pela presença de profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sangramento à sondagem) foi estatisticamente superior para as furcas proximais, em comparação as bifurcações livres, aos 3 meses de acompanhamento.

Os autores concluíram que as lesões de bifurcação proximais apresentam pior resposta ao tratamento não cirúrgico em comparação a bifurcações livres (Ribeiro *et al*, 2006).

Baseado no que foi visto anteriormente, lesões de bifurcação nas faces mesial e distal dos molares superiores apresentam: maior prevalência, maior dificuldade de diagnóstico, maior acúmulo de biofilme e dificuldade de

higienização, além de uma anatomia extremamente específica que contribui para uma pior resposta ao tratamento periodontal. Dessa forma, mais estudos clínicos controlados deveriam ser realizados a fim de determinar a resposta e até mesmo desenvolver novas técnicas de tratamento a fim de aumentar o sucesso da terapia.

Além disso, visto que a perda de tecido duro e a morbidade de molares superiores com lesões de bifurcação proximais ocorrem de maneira mais severa, técnicas regenerativas que promovam a neoformação das estruturas perdidas na doença seriam de grande valia para aumentar o sucesso do tratamento dessas lesões.

2.2.2 Tratamento Regenerativo de Bifurcações Proximais

Regeneração periodontal é, segundo a Academia Americana de Periodontia (2001), a restauração do periodonto perdido. A formação de novo cemento sobre uma superfície radicular contaminada, associada a um novo ligamento periodontal e osso neoformado, são as características que definem a regeneração periodontal no Glossário de Termos Periodontais da Sociedade Brasileira de Periodontia (Cortelli *et al*, 2005).

A técnica com maior base científica focada na regeneração periodontal é a Regeneração Tecidual Guiada (RTG). Essa técnica se baseia no conhecimento do papel de cada tecido periodontal na fase de cicatrização de um sítio tratado.

Melcher, em 1976, verificou que o tipo de célula que repovoa a ferida periodontal é responsável pelo tipo de inserção ocorrida. Células epiteliais, células derivadas do tecido conjuntivo gengival, células derivadas do osso e células derivadas do ligamento periodontal são os tipos celulares que podem povoar a região operada e determinar o tipo de tecido formado. Assim, seus postulados deram início às pesquisas que investigaram o papel de cada uma dessas células, suas características e velocidade de crescimento.

Dentre esses estudos, o trabalho de Karing *et al* (1985) merece destaque. Os autores extraíram os incisivos de cães e reimplantaram de forma a manter a viabilidade das células do ligamento. Os resultados histológicos mostraram uma nova inserção de fibras nas áreas em que o ligamento foi mantido viável, mostrando a capacidade regenerativa dessas células. Além disso, este mesmo estudo observou que as células do epitélio gengival podem migrar apicalmente na região de cicatrização formando um epitélio juncional longo, impedindo o contato das células do ligamento com a superfície radicular, diminuindo consequentemente, a ocorrência de regeneração.

A partir desses conhecimentos adquiridos por esses e outros estudos subsequentes, iniciou-se a idéia da Regeneração Tecidual Guiada. Gottlow *et al*, (1984) em um estudo em macacos, preveniu o contato das células epiteliais e do tecido gengival com a superfície radicular por meio da interposição de uma membrana. Desse modo, as células do ligamento periodontal obtinham espaço e tempo para povoar a área cirúrgica. As superfícies radiculares que foram “protegidas” das células epiteliais apresentavam a formação de novo cemento e osso alveolar, fenômeno não observado nos dentes sem o uso da membrana. Com esse trabalho, Gottlow *et al* iniciaram a Regeneração Tecidual Guiada.

Baseado nesse conhecimento, inúmeros trabalhos clínicos foram desenvolvidos, mostrando que defeitos infraósseos e lesões de bifurcação livres de molares inferiores e superiores são sítios que respondem de forma satisfatória ao tratamento regenerativo, com formação de tecido ósseo e restabelecimento da saúde periodontal, seja com membranas não absorvíveis ou absorvíveis, com resultados estatisticamente superiores em comparação aos defeitos tratados apenas com acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular (Christgau, *et al*, 2002, Parashis *et al*, 2004, Metzler *et al*, 1991, Mellonig *et al* 1994, Pontoriero e Lindhe, 1995, Lekovic *et al*, 1998, Eickholz *et al*, 2001, Cury *et al* 2003, Murphy & Gunsolley, 2003).

Embora alguns estudos mostrem uma média ponderada de ganho de inserção inter-radicular de $2,3 \pm 1,2$ mm com o uso de membranas em lesões de

bifurcação classe II livres, esses resultados não podem ser transpostos para lesões de bifurcação proximais, as quais apresentam baixa previsibilidade (Murphy & Gunsolley, 2003).

Metzler *et al*, em 1991, foram os primeiros a avaliar a regeneração tecidual guiada com membranas em lesões de bifurcação de molares superiores. Dos 17 pares de furcas avaliados, 5 pares eram lesões de bifurcação proximais (mesial ou distal). Esses pares de furcas foram divididos em lado controle: acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular; e lado teste: acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular associado à colocação de uma membrana de politetrafluoretileno expandido.

Os resultados mostraram que ambos os grupos se comportaram de forma semelhante, com aumento significativo de recessão gengival, redução da profundidade de sondagem e ganho de nível clínico de inserção. Contudo, não houve diferença estatística entre os grupos quanto aos parâmetros clínicos avaliados. Somente foi observada diferença entre os grupos quanto à redução do componente vertical e horizontal da lesão de bifurcação, embora a significância clínica dessa diferença seja discutível.

Os autores constataram que as lesões proximais incluídas no estudo apresentaram uma resposta inferior em comparação aos outros pares de furcas livres. Segundo os autores, a resposta mínima conseguida nesses pares de bifurcações proximais se deve a anatomia do defeito ósseo associado e também da anatomia de região inter-radicular. O pequeno espaço para a entrada de instrumentos raspadores e a dificuldade técnica de adaptação da membrana na região interproximal explicariam a baixa taxa de sucesso da terapia com RTG nesses defeitos proximais de bifurcação.

Pontoriero e Lindhe (1995) foram os primeiros autores a segregar as furcas maxilares estudadas em lesões livres (vestibulares) e proximais (mesial e distal). Esses autores acompanharam 10 pares de bifurcações livres e 18 pares de lesões proximais (10 mesiais e 8 distais) por 6 meses. Os resultados mostraram que ambos os tratamentos reduziram significativamente a profundidade de sondagem e

promoveram ganho de inserção. Contudo, para as lesões proximais não foi observada diferença estatística entre os grupos, enquanto para as lesões livres (vestibulares) foi detectada diferença entre os grupos em todos os parâmetros, sempre a favor da RTG.

Os parâmetros ósseos, verificados na cirurgia de reentrada, mostraram ainda que o uso da RTG em bifurcações proximais promoveu pequenas mudanças na arquitetura óssea inter-radicular, sem diferença para as lesões que receberam apenas o acesso para raspagem e alisamento radicular. Além disso, as bifurcações distais apresentaram os piores resultados dentre as bifurcações estudadas. Mais uma vez, as bifurcações livres mostraram ganho de osso horizontal e preenchimento ósseo da furca significativamente superior quando comparadas às bifurcações proximais.

Os resultados encontrados neste estudo de Pontoriero e Lindhe (1995) são muito semelhantes aos resultados encontrados por Metzler *et al*, em 1991, descrito anteriormente. Os autores ressaltam ainda que o ganho de inserção clínica foi cerca de 60% menor que o conseguido em lesões livres mandibulares. Dificuldade no acesso para raspagem, presença de sulcos que dificultam a adaptação da membrana e a anatomia do defeito proximal foram novamente as explicações para a ausência de resultados na regeneração com RTG nessas lesões.

Até o trabalho de Avera *et al*, de 1998, só existia na literatura estudos que incluíam furcas livres e proximais entre as lesões de bifurcação maxilares. Nesse estudo os autores avaliaram a resposta ao tratamento com RTG de 8 pares de bifurcações mesiais. No lado teste essas bifurcações foram debridadas e receberam membranas de e-PTFE, enquanto o lado controle recebeu apenas o debridamento periodontal da região. Esses pares de bifurcação foram acompanhados clinicamente por 9 meses, quando cirurgias de reentrada foram realizadas para verificação da formação óssea inter-radicular.

Os resultados desse trabalho diferem dos descritos anteriormente, uma vez que os autores observaram uma diferença estatística entre os grupos quanta à

redução na profundidade de sondagem ($1,50 \pm 0,53$ mm a favor da RTG) e também quanto ao ganho de inserção clínica ($1,50 \pm 0,46$ mm a favor da RTG). A cirurgia de reentrada também verificou uma maior quantidade de tecido neoformado no interior da bifurcação a qual recebeu o tratamento regenerativo. Contudo, algumas ressalvas têm de ser feitas quanto aos resultados.

Embora os autores tenham realizado as medidas com guias orientadores de sondagem (stents), as medidas eram tomadas na porção mais vestibular e palatina da face mesial. Como visto anteriormente no trabalho de Carnevalle *et al* (2004), bifurcações mesiais devem ser sondadas pela palatina, onde se localiza a entrada destas. Além disso, os autores consideraram como preenchimento da furca, um tecido borrachóide, o qual não indica que houve regeneração verdadeira, com formação de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. Outros trabalhos relacionados a lesões de bifurcação afirmavam retirar todo o tecido borrachóide para realizar as medidas de preenchimento ósseo da região, o que poderia ter gerado essa diferença entre os estudos.

Independente das diferenças metodológicas encontradas entre os estudos, os autores afirmam que o tratamento regenerativo com RTG em lesões de bifurcação proximais não é previsível. Embora diferente do grupo controle, os resultados encontrados estão abaixo dos encontrados com a RTG em furcas livres, e, além disso, não foram um achado constante entre as lesões estudadas.

Dentre as considerações feitas pelos autores para explicar a baixa previsibilidade da técnica regenerativa nesse tipo de defeito estão a dificuldade de acesso dos instrumentos raspadores, e, principalmente, a adaptação e recobrimento das membranas no ato cirúrgico. Neste trabalho houve exposição de 100% das membranas entre as 3 primeiras semanas de cicatrização.

Rosen *et al*, em 1997, e Giusto, em 2005, também avaliaram a regeneração em bifurcação classe II proximais. Contudo os autores utilizaram uma técnica combinada, associando a RTG com enxertos autógenos e alógenos e vidros bioativos, respectivamente. Os resultados desses trabalhos diferem dos estudos vistos anteriormente, onde foi observada uma taxa de fechamento completo da

furca em 73% das 15 bifurcações avaliadas no estudo de Rosen *et al* (1997) e fechamento completo em 2 dos 3 casos acompanhados por Giusto (2005). Entretanto, essas séries de casos também relataram a dificuldade de acesso e debridamento da região interproximal e a freqüente exposição da membrana nas primeiras semanas pós-operatórias.

Dentro desse contexto fica claro que o insucesso e a baixa previsibilidade da RTG em bifurcações proximais se devem, em grande parte, a exposição precoce das membranas utilizadas.

A taxa de exposição de barreiras chegou a 100% em um dos estudos citados anteriormente (Avera *et al*, 1998). Cortellini e Tonetti (2000) em uma revisão de literatura sugeriram uma taxa de exposição variando dentro de 70 a 80% dos casos. A exposição da membrana está associada ao insucesso da terapia com RTG pela sua relação com a formação de abscessos e contaminação dos sítios operados (Nowzari *et al*, 1996).

Nowzari *et al*, (1996) avaliaram 42 defeitos infra-ósseos quanto a microbiota subgengival, a contaminação da membrana e os resultados clínicos. Houve uma correlação negativa entre o ganho de inserção clínica e a contaminação da membrana ocorrida dentro de três minutos na cavidade oral. Quanto maior a contaminação por periodontopatógenos, menor o ganho de inserção. Além disso, a exposição da membrana nas primeiras 2 semanas leva um ganho inferior (1 mm em média) àqueles sítios que a membrana foi exposta após a 4ª semana.

Ainda é desconhecida na literatura a real causa da exposição da membrana. Não se sabe ao certo se a colonização precoce da membrana pode causar a exposição ou a contaminação é uma reação secundária. Em muitos casos, o fechamento da região interproximal pelos tecidos não é conseguido, ou não é estável. Nestes casos, há um reduzido suprimento sanguíneo, com possível necrose das extremidades dos retalhos, levando a uma recessão gengival e conseqüente exposição das membranas (Nowzari *et al*, 1996).

Trombelli *et al*. (1995) observou uma correlação negativa entre a formação de tecido e a exposição das membranas. Sander & Karring (1995) observaram

75% a 100% de novo tecido conjuntivo em áreas com a membrana recoberta, enquanto apenas 30% a 59% em sítios com membrana exposta.

Em uma meta-análise, Machtei (2001) avaliou a influência da exposição da membrana para os resultados da regeneração periodontal, seja em defeitos infra-ósseos interproximais ou lesões de bifurcação. A ocorrência de exposição da membrana ocorreu em 43 dos 101 sítios avaliados. Além disso, a análise dos dados mostrou uma menor média ponderada de ganho de inserção para o grupo em que ocorreu a exposição precoce da membrana ($3,06 \pm 0,15$ mm), com diferença estatisticamente significativa para o grupo sem exposição ($3,72 \pm 0,15$ mm).

O estudo de Nowzari *et al* (1996) observou que em sítios onde não ocorreu a contaminação da membrana por periodontopatógenos houve menor exposição, com diferença estatística para o grupo em que ocorreu a contaminação. Assim, os autores sugerem que a contaminação da região é a principal causa da exposição das membranas, e conseqüentemente, responsável por parte do insucesso da terapia regenerativa com RTG em espaço interproximais. Essa dificuldade da adaptação das membranas, com conseqüente contaminação, muitas vezes se deve a específica anatomia da região.

Lu (1992) mostrou que 94% dos dentes superiores com envolvimento de bifurcação apresentavam concavidades que dificultam a adaptação da membrana. Os autores afirmaram que a colocação da membrana de 1 a 2 mm abaixo da junção cimento-esmalte pode aumentar a distância da superfície radicular para a membrana e, conseqüentemente, não impedir que ocorra a migração apical do epitélio, prejudicando assim a RTG.

Sanz & Giovannoli (2000), em uma extensa revisão sobre regeneração em defeitos de bifurcação, foram categóricos ao afirmar que a regeneração tecidual guiada em molares superiores deve ser evitada, por apresentar baixa previsibilidade e baixo índice de sucesso.

Fica claro que o fracasso da técnica de RTG em molares superiores, em especial em lesões de bifurcação proximais, está associado à dificuldade técnica

do uso das membranas no espaço interproximal e adaptação dessas com o elemento dental.

Assim, o uso de técnicas regenerativas que sejam capazes de promover a nova formação de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar sem a necessidade de adaptação de uma membrana, são alternativas interessantes para a regeneração das lesões de bifurcação proximais dos molares superiores.

Dentre essas técnicas, o uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte tem apresentado resultados clínicos favoráveis ao seu uso, podendo ser uma opção no tratamento das lesões proximais.

2.3 Proteínas Derivadas da Matriz do Esmalte

2.3.1 Estudos “in vitro” e histológicos

Em 1997, uma seqüência de estudos *in vitro*, histológicos e *in vivo* propuseram o uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte como opção terapêutica focada na regeneração dos tecidos periodontais. Essas proteínas são capazes de mimetizar a seqüência de acontecimentos que ocorre durante a formação do ligamento periodontal, no desenvolvimento do elemento dental.

De forma resumida, essas etapas se iniciam após a proliferação apical das células do órgão dental, a qual forma uma dupla camada de células chamadas de Bainha Epitelial de Hertwig. As células internas dessa camada induzem as células da papila dentária a se transformar em odontoblastos e formar a dentina radicular. Com o início da formação da dentina radicular, as camadas internas da Bainha de Hertwig liberam as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

Com a formação da raiz, a Bainha epitelial de Hertwig se fenestra, permitindo que células ectomesenquimais do folículo dentário penetrem e entrem em contato com a superfície da raiz e conseqüentemente com as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

Com o contato das células ectomesenquimais e as proteínas da matriz do esmalte essas se diferenciam em cementoblastos, produzindo tecido cementóide, fibroblastos do ligamento periodontal e osteoblastos, produzindo a camada mais superficial do processo alveolar. Nesse processo de formação do ligamento periodontal, células ectomesenquimais indiferenciadas oriundas do folículo dentário permanecem aprisionadas do ligamento, participando da renovação dos tecidos locais (Hammarstrom, 1997).

Essas células indiferenciadas que permaneceram no ligamento periodontal é que permitem que a aplicação posterior de proteínas derivadas da matriz do esmalte possa promover a regeneração periodontal. Baseado no conhecimento desses processos de formação do ligamento do periodontal inúmeros pesquisadores testaram o potencial regenerativo dessas proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD).

Hammarstrom *et al*, em 1997, avaliaram o uso das EMD em defeitos de deiscência em macacos. Para a aplicação das proteínas foram testados também três veículos, dextranos, hidroxietil celulose e alginato propilenoglicol. Os resultados histológicos mostraram que houve regeneração periodontal, com formação de cemento acelular, com fibras inseridas neste cemento, e formação de osso alveolar em 60 a 80% das raízes em que foram aplicadas as EMD e que utilizaram o alginato propilenoglicol como veículo. Além disso, foi observado que nos sítios que receberam as EMD não houve migração epitelial e conseqüente formação de epitélio juncional longo. Nos dentes controle não ocorreu regeneração dos tecidos periodontais e ao contrário do grupo teste, houve a formação do epitélio juncional longo. Assim os autores afirmaram pela primeira vez que as EMD, utilizando-se alginato de propilenoglicol como veículo, são capazes de promover a regeneração periodontal.

Embora os resultados histológicos tenham mostrado a ocorrência de regeneração, o meio pelo qual isso ocorria era desconhecido. Dessa forma, Gestrelus *et al*, em 1997(a), avaliaram in vitro os mecanismos pelos quais as EMD induzem a regeneração periodontal. Em contato com células do ligamento

periodontal, as EMD foram capazes de estimular a proliferação e produção de proteínas e fibras colágenas, bem como a formação de nódulos minerais na cultura dessas células. Em contraste, quando em contato com células epiteliais, as EMD não provocaram alterações na velocidade de proliferação. Os autores avaliaram também a presença de fatores de crescimento dentre as proteínas derivadas da matriz do esmalte. Como não foi observada a presença deste, o que justificaria os resultados mostrados anteriormente, os autores sugeriram que os agregados protéicos formados pelas EMD em temperatura e pH fisiológico podem servir como uma matriz extracelular, criando um ambiente favorável para a proliferação e diferenciação celular, promovendo, consequentemente, a regeneração periodontal.

Sabendo que as EMD precipitam formando agregados protéicos quando em condições fisiológicas, os mesmos autores (Grestelius *et al*, 1997b) estudaram a cinética dessas proteínas associadas ao alginato de propilenoglicol como veículo, além de determinar seus efeitos sobre células do ligamento periodontal *in vivo*. Este estudo comprovou a precipitação das EMD em condições fisiológicas, contudo a associação das EMD ao veículo permite que uma melhor viscosidade seja alcançada, permitindo o manuseio durante a aplicação. Além disso, este estudo mostrou que as EMD se aderem à superfície radicular mineral ou colágena (com outras camadas de EMD se aderindo sucessivamente à primeira), e permanecem *in loco* por até 2 semanas, tempo suficiente para a colonização celular.

Apesar dos resultados histológicos satisfatórios, para o uso em humanos era necessário que se determinasse a biocompatibilidade das EMD somadas ao alginato propilenoglicol. Dessa forma, Zetterstrom *et al*, (1997) testou o potencial imunogênico das EMD em pacientes submetidos a cirurgia periodontal por 3 anos. Não foi verificada reação imunológica relacionada a algum tipo de reação alérgica em nenhum dos pacientes testados, indicando uma segurança no uso do EMD combinado ao alginato de propilenoglicol.

Baseado nesses estudos anteriores que sugeriram o potencial regenerativo e a segurança no uso das EMD, Heijl (1997) avaliou histologicamente em humanos o resultado dessas proteínas. Em um dente indicado para extração foi aplicado EMD e, depois de 4 meses, o dente e o tecido adjacente foi removido, permitindo a verificação histológica da formação de cemento acelular com fibras inseridas e osso alveolar. Dessa forma, um primeiro estudo clínico foi realizado, testando a regeneração com EMD em defeitos infra-ósseos (Heijl *et al*, 1997). Os resultados mostraram que houve um ganho significativo de inserção clínica, redução da profundidade de sondagem e ganho ósseo radiográfico, com valores sempre a favor do uso das EMD.

Diante dos bons resultados dos estudos iniciais das EMD associadas ao alginato de propilenoglicol, essa combinação passou a ser comercializado com o nome comercial de EMDOGAIN®. A partir desse momento inúmeros estudos foram realizados para o melhor entendimento dos mecanismos pelo quais as proteínas derivadas da matriz do esmalte promovem a regeneração periodontal.

Haase e Bartold (2001) mostraram *in vitro* que o Emdogain® é capaz de estimular células fibroblásticas do ligamento a produzir hialuronidase e proteoglicanas, substâncias presentes na matriz do ligamento periodontal. Com o estímulo da formação da matriz, o Emdogain® pode ser capaz de, indiretamente, iniciar uma reação em cascata que leva a regeneração periodontal, já que a matriz é a base para a agregação e diferenciação celular em células com potencial regenerativo.

Como os estudos iniciais de Hammarstron e Gestrelus, em 1997, mostraram que o Emdogain® não possui fatores de crescimento em sua formulação, vários autores iniciaram estudos que verificavam a influência do Emdogain® sobre esses fatores.

Van der Pauw *et al*, em 2000, estudaram os mecanismos pelos quais o Emdogain® age sobre o metabolismo celular de fibroblastos gengivais e do ligamento periodontal. Foi verificado que o Emdogain® aumentou a proliferação dos fibroblastos do ligamento, além de estimular a produção de fibronectina (fator

associado à proliferação) em ambos os grupos de células. Além disso, a produção de TGF β foi aumentada na cultura de fibroblastos periodontais quando em contato com o Emdogain[®]. O TGF β é um fator de crescimento associado à cicatrização dos tecidos e também à regeneração periodontal. Outro importante achado deste estudo é a aumentada concentração de fosfatase alcalina nas culturas, especialmente nas de fibroblastos do ligamento periodontal. Essa enzima está ligada à diferenciação celular, e tem papel importante na cementogênese. Dessa forma os autores sugeriram que o Emdogain[®] é capaz de estimular a proliferação das células do ligamento periodontal e influenciar sua diferenciação em cementoblastos, promovendo, conseqüentemente, a regeneração periodontal.

Outro fator de crescimento estimulado pelo Emdogain[®] foi avaliado por Mizutani *et al* (2003). Neste estudo, as células acondicionadas com Emdogain[®] tiveram uma proliferação aumentada e uma diferenciação diminuída. Isso pode ser explicado pelo aumento da concentração de FGF₂ na cultura dessas células. O FGF₂ (Fibroblast Growth Factor 2) age regulando a proliferação, diferenciação e migração dos fibroblastos. Contudo, este fator de crescimento diminui a diferenciação em osteoblastos (Hurley *et al*, 1993). A maneira como o Emdogain[®] induz a produção de FGF₂ foi associada ao estímulo à produção de COX₂, e, conseqüentemente, PGE₂. A PGE₂ tem um papel fundamental na remodelação óssea, controlando a formação óssea.

Além disso, essa alta produção de FGF₂ também influenciou na redução da produção de MMP1 e RNAm-MMP1, Metaloproteinase da Matriz 1 – responsável pela degradação do colágeno, encontrado em altas concentração na periodontite e gengivite. Dessa forma, o Emdogain[®] parece possuir uma via de regulação da formação óssea ligada à liberação de fatores de crescimento, envolvidos na remodelação óssea.

Para determinar se o Emdogain[®] possui alguma influência sobre células indiferenciadas, Keila *et al*, em 2004, avaliou os efeitos das EMD sobre as células colhidas da medula óssea e fibroblastos gengivais de ratos. Os resultados mostraram que as EMD foram capazes de promover uma maior proliferação e

diferenciação das células mesenquimais da medula óssea em osteoblastos, com maior produção de nódulos minerais e atividade de fosfatase alcalina. Ao mesmo tempo, as EMD estimularam a proliferação das células fibroblásticas do tecido gengival, sem provocar mineralização dessas células.

Além dessas possíveis vias de atuação na remodelação óssea, o Emdogain® também mostrou influência na via RANKL/RANK, RANKL/OPG (Galli *et al*, 2006). RANKL é um fator de necrose tumoral que se liga a seu receptor no pré-osteoclasto, promovendo sua maturação, induzindo a reabsorção óssea. Esse fator é encontrado em osteoblastos e linfócitos T, em forma solúvel ou como receptor de membrana. O controle dessa via se dá pela OPG (Osteoprotegenina), um receptor antagonista que se liga ao RANKL, impedindo sua ligação com o pré-osteoclasto. Dentro desse contexto, os autores mostraram que células osteoblásticas, em contato com o Emdogain®, produzem maior quantidade de OPG e menor de RANKL, interferindo nessa via de reabsorção óssea, criando um micro ambiente favorável para a formação óssea. Essa informação foi comprovada também pelo aumento da liberação de fosfatase alcalina (indicador de mineralização óssea) e pelo aumento de nódulos minerais nas células quando acondicionadas com Emdogain®.

Além do potencial de modulação celular, mostrado pelos estudos anteriores, o potencial antibacteriano do Emdogain foi avaliado em alguns estudos.

Arweiler *et al*, (2002) avaliaram esse potencial por meio de um estudo clínico com 14 voluntários. Após 2 dias de suspensão da higiene oral, os pacientes bochecharam soluções de Clorexidina 0,12%, EMD, Alginato de propilenoglicol e NaCl (controle negativo). Os resultados mostraram que tanto as EMD, quanto o veículo alginato de propilenoglicol possuem uma capacidade antibacteriana, comprovada pela diminuição da vitalidade do biofilme bacteriano removido dos voluntários. Entretanto esse potencial ainda é menor que o *gold standard*, Clorexidina 0,12%. Outro trabalho, dessa vez in vitro, sugeriu que esse potencial antibacteriano é atribuído ao veículo, já que quando incubou-se *P. gingivalis* +

Amelogenina houve um aumento de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), com diferença estatisticamente significativa (Walter *et al*, 2006).

Dessa forma, o Emdogain® promove um aumento da formação da matriz e também aumento da mineralização, além de estimular a liberação de fatores de crescimento (FGF2, TGFβ, IGF), diminuindo a concentração de MMP1, e bloqueando a via de maturação dos osteoclastos (pela via RANKL/OPG), promovendo também uma redução na carga microbiana local, criando assim um ambiente favorável para a regeneração periodontal.

Para comprovar a ação do Emdogain® vista nos estudos *in vitro*, inúmeros estudos histológicos foram realizados.

Quando associados à membranas reabsorvíveis, o Emdogain® promoveu ganho de osso e tecidos minerais de forma equivalente à RTG isolada em lesões de furca III em cães (Araújo e Lindhe, 1998). Entretanto a análise histológica mostrou que o tipo de cemento formado sofreu influência das proteínas derivadas da matriz do esmalte. Na porção mais apical dos defeitos foi detectada a presença de um cemento acelular com fibras inseridas apenas no grupo que recebeu o Emdogain®. Os autores sugerem que a aplicação das proteínas pode modular o tipo de a velocidade de formação do cemento, promovendo a regeneração de forma mais semelhante as estruturas originais do periodonto.

Uma análise de 8 dentes com defeitos infra-ósseos indicados para extração foi feita por Yukna e Mellonig, em 2000. Os dentes foram submetidos à cirurgia e aplicação de Emdogain® e, após seis meses, foram removidas biópsias para avaliação do tipo de tecido formado. A análise histológica mostrou que em 3 casos houve a regeneração periodontal propriamente dita (formação de novo cemento, ligamento periodontal e osso alveolar) e em 3 casos apenas reinserção das fibras e em 4 casos houve a formação de epitélio juncional. Os autores afirmaram, dentro dos limites do estudo, que o Emdogain é capaz de promover a regeneração periodontal, contudo de forma inconsistente.

Na tentativa de investigar o tipo de resposta periodontal de defeitos infra-ósseos com perda óssea avançada, Sculean *et al* (2003) aplicaram Emdogain®

subgingivalmente sem realizar uma cirurgia para acesso. A análise histológica desses defeitos indicou que, embora com melhoras clínicas, o Emdogain não foi capaz de promover regeneração periodontal completa, havendo uma pequena formação de cemento apenas na porção mais apical do defeito, sem diferença para os dentes que não receberam as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

Donos *et al* (2003) avaliaram em três macacos o uso do Emdogain[®], da RTG e da sua associação no tratamento de lesões de furca classe III, comparando-os a um grupo controle sem tratamento regenerativo. Embora o número de dentes avaliados tenha sido pequeno, e a exposição das membranas tenha sido um achado constante, os resultados histológicos mostraram que tanto o Emdogain[®] quanto a RTG, bem como a associação de ambos, foi capaz de promover a regeneração tecidual na região da furca, embora não tenha ocorrido o fechamento completo de nenhuma delas. Não foi encontrada diferença estatística entre o uso do Emdogain[®] e RTG quanto a formação de novo osso, novo cemento e inserção conjuntiva. Os autores ressaltaram que o Emdogain[®] não foi capaz de promover a formação de cemento acelular, em contraste aos trabalhos iniciais de Heijl (1997) e Hammarstrom *et al* (1997).

Entretanto, o trabalho de Sakallioğlu *et al* (2004) em cães demonstrou que o Emdogain[®] pode promover a formação de um cemento acelular na superfície radicular. Comparando ao grupo sem tratamento regenerativo, o Emdogain promoveu maior e mais rápida formação óssea (início em torno dos 14 dias após aplicação do Emdogain e 21 dias para o grupo controle), bem como a formação de maior quantidade de cemento acelular com fibras intrínsecas. A análise histopatológica dos dentes mostrou que o grupo que recebeu Emdogain[®] apresentou uma maturação óssea maior aos 28 dias e um menor epitélio juncional, quando comparado ao grupo controle. Os autores afirmam que o uso do Emdogain[®] pode promover a regeneração periodontal em cães, com novo cemento acelular, ligamento e osso alveolar, com maturação adequada dos tecidos neoformados, após 28 dias.

Embora os trabalhos tenham mostrado o potencial regenerativo do Emdogain[®] usado isoladamente, Sallum *et al*, em 2004, avaliaram a associação desse com a RTG. Em sete cães foram selecionados 4 dentes que receberam ou o Emdogain[®] isolado, ou a membrana reabsorvível isolada (RTG), ou a associação de ambas as técnicas (Emdogain[®]+RTG), ou apenas o acesso para a raspagem e alisamento radicular. Os resultados histométricos mostraram uma formação de novo cemento, estatisticamente superior, para os grupos Emdogain[®], RTG ou a associação desses em comparação ao grupo controle. Dessa forma a os autores mostraram que a associação das técnicas regenerativas não promove benefício adicional ao tratamento.

De forma a comparar os resultados histológicos de seis modalidades terapêuticas regenerativas, Sculean *et al* (2005) selecionaram 18 dentes com defeitos infra-ósseos indicados para extração. Os autores avaliaram o uso de membranas bioabsorvíveis (RTG), Emdogain[®], Emdogain[®]+Bioglass, Osso Bovino, Osso Bovino+RTG e Osso Bovino + Emdogain[®]. Não houve diferença na formação de cemento entre as modalidades testadas, entretanto o autor assegura que: em humanos, o cemento formado é celular e que as fibras têm orientação paralela ao longo eixo do dente. Além disso, a formação e tipo de cemento não sofrem influência da modalidade regenerativa escolhida.

2.3.2 Estudos clínicos em lesões de bifurcação

Embora haja inúmeros estudos clínicos randomizados e revisões sistemáticas que avaliaram o uso do Emdogain[®] no tratamento de defeitos infra-ósseos (com ganho de inserção clínica médio de $4,07 \pm 0,03$ mm), ainda há a necessidade de mais estudos randomizados avaliando seu uso em lesões de bifurcação (Venezia *et al*, 2004, Giannobile e Sommerman, 2002).

Em lesões de bifurcação mandibulares classe III de Hamp (1975), o Emdogain, associado ou não à membranas reabsorvíveis promoveu um fechamento parcial das lesões de bifurcação em 5 de 14 casos operados (Donos

et al, 2003). Embora lesões de bifurcação classe III sejam defeitos ósseos críticos para a regeneração, os autores mostraram que esses tratamentos (Emdogain®, Emdogain® +RTG e RTG) produzem algum benefício. Embora a maioria das furcas tenha se mantido com a mesma classificação, houve uma redução na profundidade de sondagem de 1,5 a 2 mm após 12 meses de acompanhamento. Pelo pequeno número de dentes envolvidos os autores não sugerem nenhuma medida terapêutica para o tratamento desse tipo de lesão de bifurcação, entretanto ressaltam que em alguns casos o Emdogain pode produzir algum benefício adicional.

Em relação a lesões de bifurcação classe II de Hamp (1975) os resultados são mais promissores.

Donos *et al*, em 2003, avaliaram 16 lesões de bifurcação mandibulares classe II após o tratamento com Emdogain® por 36 meses. Os resultados mostraram um ganho de inserção clínica vertical e horizontal estatisticamente significante aos 6 meses de acompanhamento ($1,3 \pm 1,0$ e $1,4 \pm 1,2$ mm, respectivamente). Contudo o acompanhamento longitudinal mostrou que esse ganho não se manteve durante a avaliação, sendo que os valores, principalmente para o nível de inserção horizontal, chegaram muito próximos às medidas iniciais. Vale ainda ressaltar que só foi observado ganho significante nas furcas mandibulares vestibulares, enquanto o ganho das furcas linguais foi inferior e não significante estatisticamente.

Para justificar a ausência de resultados a longo prazo, os autores discutem a importância da anatomia do defeito, como a altura da entrada da furca, a divergência das raízes, bem como a forma do defeito ósseo.

Os resultados clínicos da aplicação do Emdogain® em furcas mandibulares foram publicados em uma sequência de 3 artigos (Jepsen *et al*, 2004, Meyle *et al*, 2004, Hoffmann *et al*, 2006).

Jepsen *et al* (2004) mostraram os resultados clínicos principais do uso do Emdogain® e RTG em furcas mandibulares livres. Foram avaliados 45 pares de bifurcações contra-laterais por 14 meses, quando os pacientes foram submetidos

a cirurgias de reentrada para avaliação do fechamento horizontal da bifurcação. O ganho horizontal nos dentes que receberam as proteínas derivadas da matriz do esmalte foi de $2,6 \pm 1,8$ mm e $1,9 \pm 1,4$ mm nas bifurcações mandibulares do grupo controle. Essa diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa. Além disso, o Emdogain® promoveu o fechamento completo em 8 furcas, enquanto a RTG promoveu o fechamento em três defeitos. A análise do pós-operatório também favoreceu o uso do Emdogain®, uma vez que ocorreu exposição das membranas, com ocorrência de dor e infecção após a cirurgia.

Os resultados secundários desses pacientes foram publicados por Meyle *et al* (2004). Nessa seqüência, os autores mostraram os resultados das variáveis clínicas das lesões de bifurcação em que foram aplicadas o Emdogain® e daquelas que receberam as membranas bioabsorvíveis (RTG). Foi observada diferença entre os grupos apenas na redução da profundidade de sondagem na área da bifurcação, a favor do grupo teste. Contudo a significância clínica desse ganho adicional foi desprezível. Os autores avaliaram também as mudanças na arquitetura do defeito ósseo após os tratamentos. Foi detectada uma diferença estatística para a reabsorção óssea na porção central da raiz mesial a favor no Emdogain®. Contudo, também não houve uma diferença clínica significativa. Também foram correlacionados a forma inicial do defeito e o ganho horizontal de inserção. Não foi observada influência da morfologia do defeito na resposta ao tratamento.

Dentro dos resultados encontrados, os autores avaliaram a influência das características do paciente nos ganhos clínicos conseguidos com os procedimentos regenerativos (Hoffman *et al*, 2006) Os autores relataram que em pacientes com pobre higiene, fumantes, do sexo masculino e com mais idade, o Emdogain® promoveu um benefício adicional, superior estatisticamente, comparado à RTG nas furca mandibulares livres.

Dentro desse contexto, o uso do Emdogain® em furcas mandibulares livres parece promover um benefício clínico, mesmo quando utilizado isoladamente.

Esse benefício parece ser equivalente ao promovido pela técnica de RTG, já fundamentada na literatura.

Dessa forma, considerando os bons resultados do Emdogain® como promotor da regeneração periodontal, a utilização desse em furcas proximais pode superar as dificuldades e a baixa previsibilidade da RTG nesses defeitos.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, por meio de um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, a utilização das proteínas derivadas do esmalte no tratamento de lesões de bifurcações proximais grau II.

4.1 Considerações Éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP sob o protocolo 006/2005 (anexo 1).

4.2 Seleção de pacientes

Foram selecionados pacientes dentre aqueles que procuraram tratamento periodontal na clínica de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, e apresentavam os seguintes critérios de inclusão:

- Presença de periodontite crônica moderada a severa;
- Idade superior a 36 anos;
- Presença de defeitos de bifurcação classe II (Hamp *et al*, 1975) proximais em molares superiores;
- Presença de profundidade de sondagem, após raspagem e alisamento radicular sem acesso cirúrgico, maior ou igual a 5 mm, com presença de sangramento a sondagem;
- Presença de adequado controle de placa bacteriana após a terapia básica, ou seja, presença de índice de placa total inferior a 20% (Ainamo & Bay, 1975) e ausência de placa bacteriana nos dentes envolvidos no estudo.

Os critérios de exclusão foram:

- Presença de doenças sistêmicas que possam influenciar na etiologia e/ou resposta ao tratamento periodontal;
- Utilização de medicamentos que possam influenciar na etiologia e/ou resposta ao tratamento periodontal;
- Realização de tratamento periodontal nos 6 meses anteriores ao estudo;
- Presença do hábito do tabagismo;

- Presença de alteração periapical ou pulpar nos dentes envolvidos no estudo.

4.3 Preparo dos Pacientes

Primeiramente, todos os pacientes selecionados receberam tratamento periodontal completo. Somente foram incluídos aqueles que continuaram a apresentar profundidade de sondagem $\geq$ a 5 mm, com presença de sangramento a sondagem, em molares superiores com defeitos de bifurcação grau II em faces proximais seis meses após a terapia básica (figuras 4 e 5).

4.4 Parâmetros Clínicos e Períodos de avaliação

Todos os parâmetros clínicos foram realizados por um único examinador, previamente calibrado (Índice kappa = 0,91 para o parâmetro NICRV) e cego quanto ao tratamento recebido pelo paciente. Para a padronização das sondagens foram confeccionados guias orientadores de sondagem confeccionados com placas de acrílico de 1,0 mm de espessura a partir de modelos de estudo em gesso pedra. Foi estabelecido um ponto na entrada da bifurcação selecionada e confeccionada uma canaleta, orientando assim todas as sondagens (figuras 1 e 2). Os períodos de avaliação foram: pré-operatório imediato, 2, 4 e 6 meses pós-operatório para todos os parâmetros clínicos descritos abaixo.



Figuras 1 e 2. Guias orientadores de sondagem (“Stents”) e canaleta (seta) para identificação da entrada da bifurcação.

Os parâmetros clínicos avaliados foram:

- ❖ *Posição da margem gengival (PMG)*: distância da demarcação no aparelho orientador de sondagem até a margem gengival livre.
- ❖ *Profundidade de Sondagem (PS)*: distância da margem gengival à base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.
- ❖ *Nível Clínico de Inserção Vertical Relativo (NICVR)*: distância da demarcação no aparelho orientador até a base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.
- ❖ *Nível Clínico de Inserção Horizontal Relativo (NICHHR)*: distância da demarcação no aparelho orientador até a porção mais profunda do componente horizontal, clinicamente detectável, da lesão de bifurcação.

Nos períodos pré-operatório e aos 6 meses pós-operatório foram realizadas sondagens ósseas. Para a realização dessas medidas, os sítios foram previamente anestesiados e a sonda milimetrada inserida até que o osso alveolar fosse tocado. Os parâmetros avaliados foram:

- ❖ *Nível Ósseo Vertical (NOV)*: distância vertical da demarcação no aparelho orientador até a crista óssea alveolar.
- ❖ *Nível Ósseo Horizontal (NOH)*: distância horizontal da demarcação no aparelho orientador até a base óssea do componente horizontal da lesão de bifurcação.

As avaliações clínicas verticais (PMG, PS, NICVR e NOV) foram realizadas com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada de 15 mm de comprimento (PCP15, Hu-Friedy, Chicago, USA) e, para a avaliação das variáveis horizontais (NICHHR e NOH), foi utilizada uma sonda milimetrada curva de 15 mm de comprimento (Neumar, São Paulo - SP) específica para medição de defeitos de

furca. Todas as avaliações foram realizadas com aproximação para o milímetro mais próximo (figura 3).



Figura 3. Sonda Milimetrada Curva específica para medidas horizontais da lesão de bifurcação (acima) e Sonda milimetrada reta convencional, para medidas verticais do defeito.

Além da avaliação dos parâmetros clínicos dos sítios envolvidos no estudo, foram utilizados índices de placa e sangramento gengival no intuito de monitorar a higiene bucal dos pacientes, tanto no período pré-operatório como no período pós-operatório. Foram empregados os seguintes índices dicotômicos:

- ❖ Índice de Placa Visível – IP (Ainamo & Bay, 1975);
- ❖ Índice de Sangramento à Sondagem – SS (Muhleman & Son, 1972);

Além da avaliação desses Índices em toda a cavidade bucal, a avaliação da presença de biofilme bacteriano e de sangramento a sondagem foi realizada especificamente para os sítios incluídos no estudo.

4.5 Parâmetros transcirúrgicos

Durantes os procedimentos cirúrgicos foram realizadas medidas para determinação da anatomia do defeito. Os parâmetros avaliados foram:

- ❖ Altura da Perda óssea: distância da JCE até a base do defeito ósseo;
- ❖ Distância Interdental: distância entre as raízes do dente selecionado para a do dente adjacente, na base do defeito;
- ❖ Divergência das Raízes: distância entre as raízes do dente selecionado, 2 mm abaixo do fórnix do dente;
- ❖ Altura da Furca: medida do fórnix até a base do defeito na porção central da lesão de bifurcação;
- ❖ Medida Horizontal Direta: medida da entrada da furca até o limite do defeito no interior da furca.
- ❖ Tronco radicular: medida do fórnix até a junção cimento-esmalte do dente.

Para as medidas transcirúrgicas foi utilizada sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (PCP15, Hu-Friedy, Chicago, USA). Para a Medida Horizontal Direta foi utilizado um cursor endodôntico de silicone (Maillefer, Berna, Suíça) acoplado a sonda periodontal milimetrada para facilitar a determinação dos limites do defeito.

4.6 Procedimentos cirúrgicos

Após a fase de preparação dos pacientes, estes foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos. Antes do início das cirurgias, todos os pacientes realizaram bochecho com 15 mL de uma solução de Digluconato de Clorexidina

0,12% por 1 minuto para antiseptia intra-oral. Para antiseptia intraoral foi utilizada solução iodada (Povidine Iodine).

Foi realizada anestesia infiltrativa da região com Lidocaína a 2% com adrenalina 1:100.000 (DFL, Jacarepaguá- RJ). Retalhos de espessura total com extensão adequada para acesso à região de bifurcação foram elevados, e a área foi instrumentada com o uso de aparelho ultra-sônico (Cavitron – Dentsply, Tulsa, OK, USA) e pontas específicas para área de bifurcação (KFS328, Hu-Friedy, Chicago, USA) e curetas Gracey (Hu-Friedy, Chicago, USA) (Figura 6).

Após a instrumentação adequada e confirmação da lesão de bifurcação proximal tipo II, o sítio foi designado a um dos grupos experimentais, por meio de sorteio. Os grupos experimentais foram:

- ❖ Grupo controle (n=20) - Aplicação de EDTA 24% (PrefGel[®], Straumann, Switzerland);
- ❖ Grupo teste (n=20) - Aplicação de EDTA 24% (PrefGel[®], Straumann, Switzerland) + Aplicação das EMD (Emdogain[®], Straumann, Switzerland).

O gel de EDTA 24% (PrefGel[®], Straumann, Switzerland) foi aplicado na região de bifurcação com o auxílio de uma seringa e mantido na região por 2 minutos, conforme as orientações do fabricante, tanto no grupo controle como no grupo teste (Figura 7). Posteriormente a remoção do gel de EDTA 24%, foram aplicadas as EMD no grupo teste (Emdogain[®], Straumann, Switzerland), a partir do centro da lesão de bifurcação até seu total preenchimento (Figura 8). Os retalhos foram então reposicionados e suturados com pontos colchoeiro modificado com fio de sutura de Poligalactina 910 5.0 (Vycril[®], Ethicon – São José dos Campos - SP) (Figura 9).



Figura 4. Aspecto inicial do elemento 16 incluído no estudo.



Figura 5. Presença de Profundidade de sondagem de 7mm, antes do tratamento na região da bifurcação.

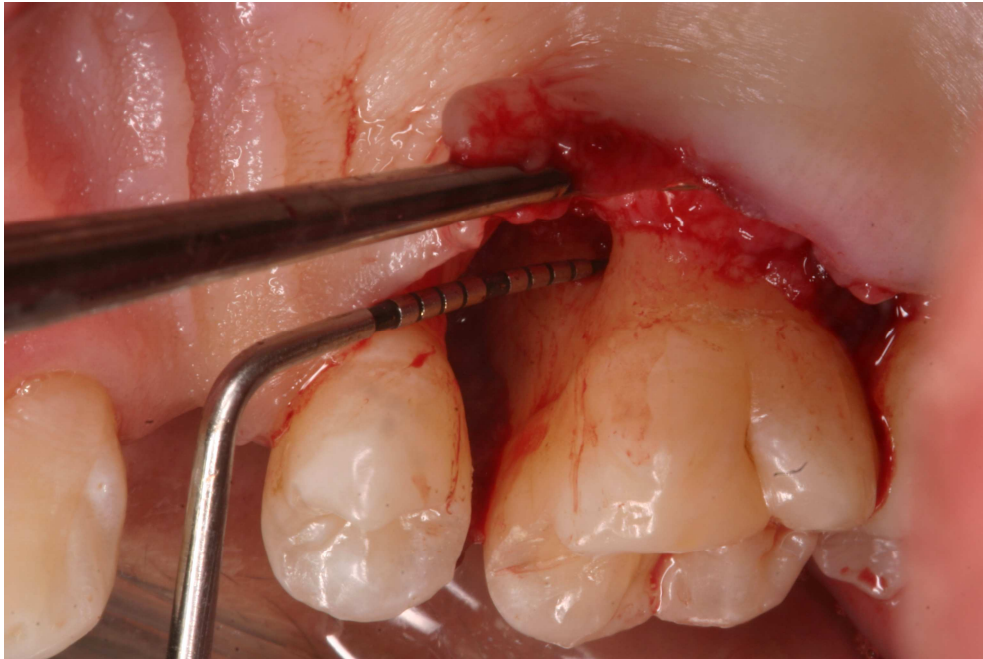


Figura 6. Confirmação da presença da lesão proximal da face mesial após o descolamento dos tecidos e instrumentação da região.



Figura 7. Aplicação de EDTA 24% (PrefGel®, Straumann, Switzerland).



Figura 8. Aplicação das proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®, Straumann, Switzerland), apenas no grupo teste.



Figura 9. Sutura da região com pontos colcheiro modificado.

4.7 Protocolo Medicamentoso e Terapia de Suporte.

Todos os pacientes receberam os mesmos cuidados pré e pós-operatórios em relação ao controle da dor e da inflamação, através do uso de medicação pré-operatória com Dexametosona 4mg, 1 hora antes do procedimento, e medicação pós-operatória com Dipirona Sódica 500mg, a cada 6 horas por 48 horas. Foi prescrito bochecho diário de Digluconato de Clorexidina 0,12 %, a cada 12 horas por 30 dias, para controle do biofilme no período pós-operatório.

Todos os pacientes entraram num programa de terapia de suporte com chamadas regulares realizadas quinzenalmente no primeiro mês pós-operatório e mensalmente nos períodos posteriores.

4.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada para comparar os valores obtidos entre as variáveis do estudo em função do grupo a qual o sítio pertencia, além de avaliar os valores dentro dos períodos de avaliação de cada grupo.

Para verificar a diferença entre as idades médias dos pacientes foi utilizado o teste t Student.

Os parâmetros anatômicos dos defeitos de cada grupo foram avaliados também por meio do teste t Student e teste Qui-quadrado.

As variáveis paramétricas PMG, PS, NICVR, NICH, NOV e NOH apresentaram variância homogênea, sendo aplicada a Análise de Variância de Medidas Repetidas (ANOVA), utilizando o programa SAS 9.0 para a comparação entre os grupos e os tempos de avaliação. O teste Tukey foi realizado para avaliar a significância estatística das diferenças observadas no ANOVA.

Os percentuais de Índice de Placa e Sangramento à Sondagem dos pacientes foram analisados pelo teste Friedman para avaliação entre os tempos e Mann-Whitney para avaliação entre os grupos, utilizando o programa Bioestat 3.0. Para a análise da avaliação dicotômica de presença de biofilme e sangramento à

sondagem na região da lesão de bifurcação foram utilizados os teste McNemar (avaliação intra-grupo), por meio do programa SAS 9.0, e Qui-quadrado (avaliação inter-grupo), pelo programa Bioestat 3.0.

A análise da mudança de diagnóstico, ou seja, a mudança de classe da lesão de bifurcação foi realizada pelo o teste Qui-quadrado.

O nível de significância de 5% foi determinado para todos os testes realizados.

Para determinar se o tamanho da amostra estudada foi suficiente para determinar se há diferença entre os grupos, ou seja, o erro β , foi calculado o poder do teste. O presente estudo apresentou um poder mínimo de 93% (para o parâmetro NICHHR aos seis meses).

5.1 Considerações Clínicas

Foram excluídos do trabalho doze pacientes. Em sua maioria durante o ato cirúrgico quando foi verificada a presença de lesões classe III de Hamp ao invés de classe II. Além disso, dois desses pacientes foram excluídos após a cirurgia por tomarem antibióticos durante o acompanhamento dos resultados, o que poderia influenciar nos resultados clínicos. Não houve nenhum caso, em nenhum grupo, a ocorrência de processos agudos ou intercorrências que necessitassem maior atenção. Pode-se notar de forma sistemática o aparecimento de crateras gengivais na região proximal operada nos primeiros meses de avaliação.

5.2 Características da população estudada

Foram incluídos no estudo 24 pacientes (5 homens e 19 mulheres) que contribuíram com 40 bifurcações proximais. A média de idade dos pacientes foi de 49,9 anos, variando entre 36 a 65 anos, sem diferença estatística entre os sítios controle e teste $51,8 \pm 7,2$ e $49,7 \pm 6,3$, respectivamente.

5.3 Características dos defeitos ósseos

A anatomia dos defeitos incluídos nos grupos está mostrada na tabela 1. Não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre os grupos em nenhum dos parâmetros avaliados. Os dados mostram que os defeitos selecionados apresentavam uma perda óssea inter-radicular média de 5,5 e 4,9 mm para os grupos controle e teste, respectivamente, comprovando o diagnóstico de furca classe II (Hamp *et al*, 1975).

Tabela 1. Medidas (média±dp) anatômicas dos defeitos incluídos no estudo.

	Altura da perda óssea	Distância Interdental	Divergência das raízes	Medida Horizontal direta	Tronco radicular	Altura da furca
Controle	8,1±1,9	3,1±0,8	1,9±0,8	5,5±2,4	3,6±1,1	4,4±2,1
Teste	8,1±2,4	3,6±1,2	1,7±0,5	4,9±1,8	3,5±1,1	4,4±2,2
p*	1,00	0,10	0,47	0,39	0,66	0,94

*teste t Student.

Não houve diferença estatística entre os grupos quanto a tipo de defeito ósseo associado à lesão de bifurcação (Tabela 2). No grupo controle houve 50% de lesões associadas a defeitos horizontais, 15% a crateras e 35% a verticais. No grupo teste essa distribuição foi 40%, 10% e 50%, respectivamente.

Tabela 2. Porcentagem (n) dos tipos de defeitos ósseos associados à lesão de bifurcação proximal segundo sua morfologia.

	Horizontal	Cratera	Vertical
Controle	50% (10)	15% (3)	35% (7)
Teste	40% (8)	10% (2)	50% (10)
p*	0,23	0,67	0,12

*teste Exato de Fisher ($\alpha=5\%$).

5.4 Parâmetros Clínicos

5.4.1 Índice de Placa e Sangramento á Sondagem

Os valores dos índices de Placa e Sangramento a Sondagem foram mantidos abaixo de 20% em todos os períodos de avaliação. Não foi verificada diferença estatística entre os grupos ($p=0,43$) e entre os períodos de tempo ($p=0,67$) em ambos os grupos (Figura 10).

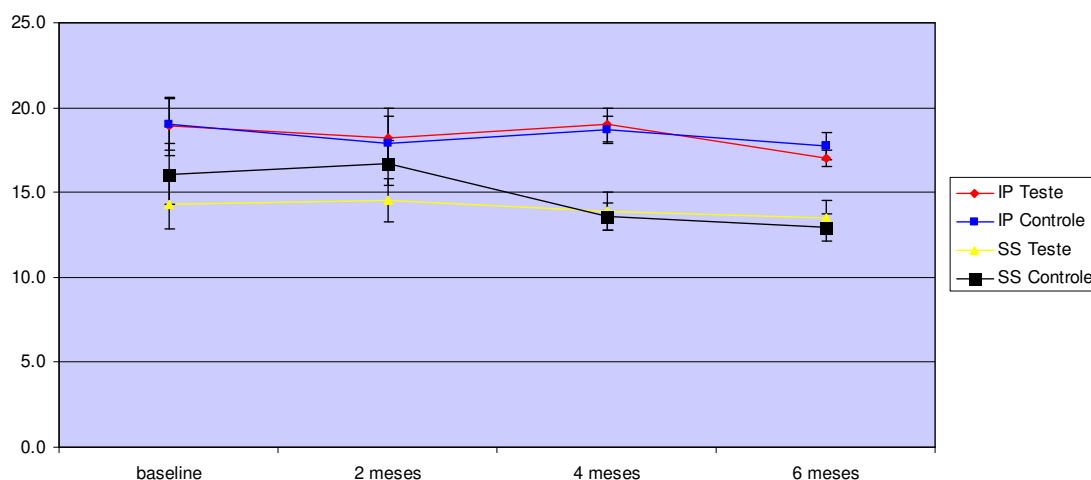


Figura 10. Variação do Índice de Placa e Sangramento a Sondagem, de toda a boca, para ambos os grupos nos diferentes períodos de avaliação.

Além da avaliação do Índice de Placa e Sangramento a Sondagem de toda a boca, foi também avaliada a presença ou ausência de biofilme e sangramento na região da lesão de bifurcação proximal incluída no estudo. Não foi observada diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$) em relação à presença de biofilme na região da lesão de furca, em nenhum período de observação (Figura 11).

Entre os períodos de avaliação foi observado um aumento na porcentagem da presença de biofilme, em ambos os grupos, em todos os períodos de avaliação. Esse aumento foi significativo em relação ao baseline aos 2 meses para ambos os grupos ($p < 0,05$). No grupo controle esse aumento se manteve significativo até o 4º mês de avaliação (Figura 11).

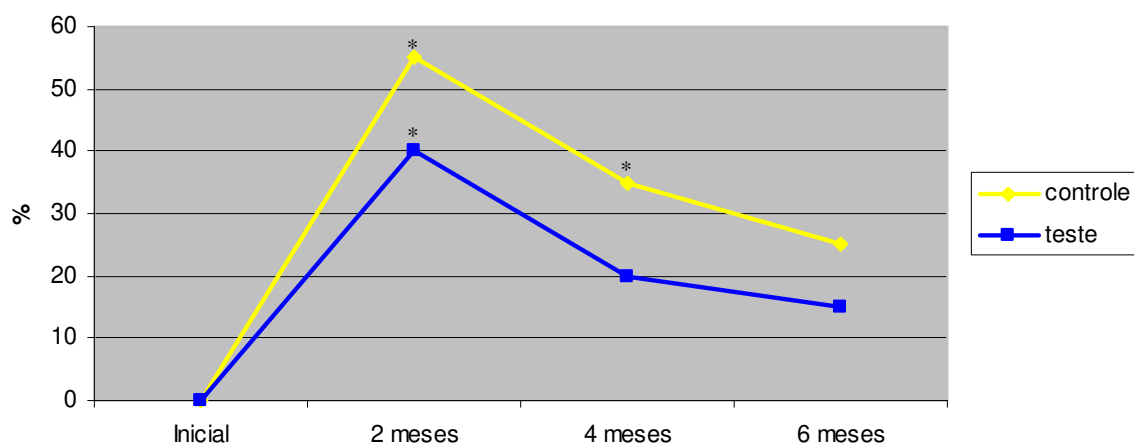


Figura 11. Variação do Índice de Placa na região da bifurcação detectada durante o exame clínico da lesão de bifurcação. (*diferença estatística para o baseline – teste McNemar).

A porcentagem de sítios que apresentaram sangramento à sondagem no período inicial era 100% em ambos os grupos. Houve uma diminuição nessa porcentagem a cada tempo avaliado, em ambos os grupos. Contudo, no grupo teste, essa diminuição do sangramento à sondagem em relação ao baseline foi estatisticamente significativa a partir no 2º mês pós-cirúrgico ($p < 0.05$), enquanto no grupo controle essa diferença só foi significativa ao 6º mês. Não foi observada diferença intergrupo em nenhum dos períodos de avaliação (Figura 12).

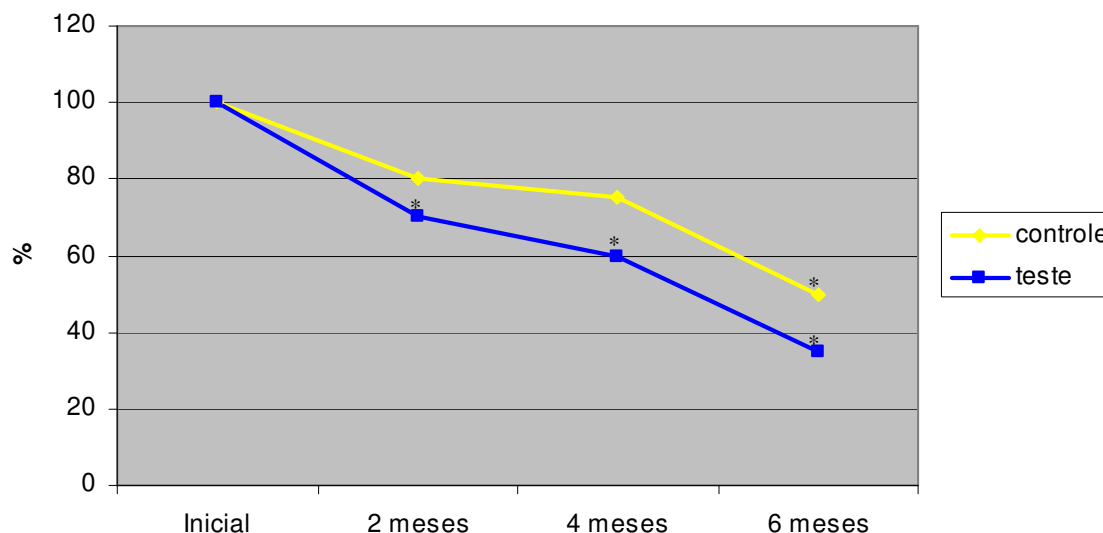


Figura 12. Variação do Índice de Sangramento a Sondagem ocorrido durante a sondagem da lesão de bifurcação nos períodos de avaliação (*diferença estatística para o baseline – teste McNemar).

5.4.2 Medidas Clínicas

5.4.2.1 Profundidade de Sondagem

Os valores de Profundidade de Sondagem indicam uma redução significativa no primeiro período de avaliação para ambos os grupos, sem diferença entre estes, e uma manutenção dos valores nos tempos consecutivos. A redução da profundidade de sondagem do baseline para os seis meses foi em média 1,97 mm para o grupo controle e 1,84 mm para o grupo teste (Tabela 3).

5.4.2.2 Posição da Margem Gengival

Pode-se notar um aumento significativo da retração gengival, com diferença estatisticamente significativa do baseline para todos os períodos de avaliação,

independente do grupo (Tabela 3). O grupo controle apresentou um aumento da retração de 1,34 mm e o grupo teste 1,11 mm.

5.4.2.3 Nível Clínico de Inserção Vertical Relativo

A variação do Nível Clínico de Inserção Vertical Relativo mostrou que apenas aos 4 meses a redução dos valores foi estatisticamente significativa para o baseline, em ambos os grupos. Os outros períodos de avaliação mostraram um ganho de inserção clínico, contudo sem diferença para o baseline (Tabela 3). Aos seis meses o ganho de inserção relativa vertical foi de 0,63 e 0,74 mm, para o grupo controle e teste respectivamente.

5.4.2.4 Nível Clínico de Inserção Horizontal Relativo

O ganho clínico de inserção horizontal também apresentou diferença estatística para o baseline já no primeiro período de avaliação, para ambos os grupos. Os períodos consecutivos de avaliação mostraram uma estabilidade desse ganho, mantendo a diferença estatística para o baseline, novamente sem diferença estatística para o grupo controle. A diferença do ganho final de inserção horizontal entre os grupos foi de 0,5 mm, a favor do grupo teste (1,13 e 1,64 mm para os grupos controle e teste, respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3. Média±dp (mm) dos parâmetros clínicos avaliados nos diferentes tempos de avaliação.

		Inicial	2 meses	4 meses	6 meses
PMG	Controle	2,20±0,94Ab	3,58±0,69Aa	3,35±0,88Aa	3,45±0,96Aa
	Teste	2,30±1,08Ab	3,63±1,33Aa	3,36±0,95Aa	3,39±1,28Aa
PS	Controle	6,48±1,07Aa	4,39±0,54Ab	4,43±0,77Ab	4,58±0,92Ab
	Teste	6,40±1,30Aa	4,43±1,33Ab	4,36±0,94Ab	4,61±1,50Ab
NICVR	Controle	8,65±1,16Aa	7,97±0,87Aa,b	7,78±0,91Ab	8,00±1,00Aa,b
	Teste	8,70±1,59Aa	8,03±1,58Aa,b	7,75±1,24Ab	8,00±1,70Aa,b
NICHR	Controle	10,18±1,39Aa	8,76±1,02Ab	8,55±1,28Ab	9,11±1,67Ab
	Teste	9,95±1,69Aa	8,28±1,39Ab	8,44±1,34Ab	8,45±1,53Ab

Letras distintas (maiúsculas na vertical para cada variável e minúsculas na horizontal) indicam diferença estatística pelo teste Tukey (ANOVA).

5.4.2.5 Diagnóstico da Furca

Aos seis meses de avaliação, os pacientes foram reavaliados quanto ao grau de perda de inserção inter-radicular, sendo assim diagnosticados novamente quanto à classificação desenvolvida por Hamp, em 1975 (tabela 4). Os dados da tabela 3 mostram que aos seis meses 32% das bifurcações proximais do grupo teste mantiveram o diagnóstico de furca classe II, enquanto esse valor foi de 68% no grupo controle ($p<0,02$). Essa diferença no número de lesões inalteradas foi estatisticamente significativa. Em nenhuma lesão de bifurcação do grupo controle houve fechamento completo da lesão, enquanto 4 (21%) bifurcações do grupo teste foram incluídas nesse nível, sendo essa diferença estatisticamente significativa.

Tabela 4. Porcentagem (n) de sítios em cada classe de bifurcação (Hamp *et al*, 1975) após 6 meses de acompanhamento.

	Classe		
	2	1	fechada
controle	68% (13)	32% (6)	0 (0)
teste	32% (6)	47% (9)	21% (4)
p*	0,02	0,25	0,05

* teste Exato de Fisher.

5.4.2.6 Sondagem Óssea

A tabela 5 mostra a variação dos parâmetros ósseos após sondagem óssea. Os valores de NOV mostram que houve um ganho vertical ósseo em ambos os grupos, contudo, sem diferença estatística entre os grupos. As médias do NOH mostram um ganho de inserção óssea horizontal estatisticamente significativa em ambos os grupos, 0,94 mm e 1,08 mm para o grupo controle e teste, respectivamente. Contudo, não foi observada diferença entre os grupos quanto ao ganho ósseo horizontal.

Tabela 5. Variação das medidas (média±dp) de sondagem óssea nos períodos de avaliação.

		Baseline	6 meses
NOV	Controle	10,29+1,06Aa	9,31+1,21Ab
	Teste	10,21+1,83Aa	9,36+1,87Ab
NOH	Controle	11,21+1,61Aa	10,28+1,77Ab
	Teste	10,92+1,60Aa	9,83+1,69Ab

Letras distintas (maiúsculas na vertical para cada variável e minúsculas na horizontal) indicam diferença estatística pelo teste Tukey (ANOVA).

As lesões de bifurcação proximais representam um desafio à terapia periodontal. Há poucos estudos que avaliaram, especificamente, a resposta deste tipo de defeito frente à terapia não cirúrgica (Ribeiro *et al*, 2006) e cirúrgica (Metzler *et al* 1991, Pontoriero & Lindhe, 1995, Avera *et al*, 1998). A terapia regenerativa com o uso de RTG também mostrou ser uma alternativa com baixa previsibilidade, não se obtendo ganhos significantes com o uso de membranas nesse tipo de lesão. Sendo assim o presente estudo avaliou as proteínas derivadas da matriz do esmalte como promotor da regeneração periodontal. Contudo, os resultados não mostraram um benefício adicional das EMD em comparação ao conseguido com a terapia cirúrgica tradicional, com acesso para raspagem e alisamento radicular.

Dos poucos estudos que avaliaram a RTG em furcas proximais, o estudo de Metzler *et al* (1991) e de Pontoriero & Lindhe (1995) mostraram um ganho ósseo horizontal discreto, variando de 0,2 a 0,6 mm, sem diferença para o acesso para raspagem e alisamento radicular. Contrariamente, o estudo de Avera *et al* (1998) mostrou que o ganho de 1,19 mm conseguido com o uso da RTG em furca proximais foi estatisticamente superior ao grupo controle. Embora numericamente o ganho reportado pelos autores seja próximo ao ganho ósseo horizontal conseguido pelo presente estudo utilizando as EMD (1,08 mm), no presente estudo não foi detectada diferença estatística entre os grupos teste e controle. Essa diferença se deve principalmente ao fato de que, no estudo de Avera *et al* (1998), o grupo controle apresentou perda de inserção horizontal de 0,69 mm, enquanto no presente estudo o grupo controle também apresentou ganho ósseo horizontal, não sendo detectada, conseqüentemente, diferença estatística entre os grupos.

A diferença entre os ganhos dos grupos controle (acesso para raspagem e alisamento radicular) dos dois estudos pode ser relacionado ao fato de o presente estudo ter utilizado instrumento ultra-sônico com pontas específicas para

bifurcações no debridamento da região inter-radicular, diferentemente, do estudo de Avera *et al* (1998), o qual utilizou instrumentos manuais. Bower (1979) avaliando 114 molares superiores e 103 mandibulares observou que 53% das entradas eram menores que as medidas de curetas periodontais. Chiu *et al* (1991) mostraram que 39% e 43% das furcas mesiais e distais, respectivamente, eram inferiores a 0,75mm, indicando a dificuldade da penetração dos instrumentos raspadores manuais. Dessa forma, o uso de pontas ultra-sônicas promove um ganho adicional estatisticamente superior se comparado a instrumentos manuais no tratamento das lesões de bifurcação (Drisko *et al* 2000), justificando, assim, o melhor resultado do grupo controle do presente estudo.

Além disso, para isolar o efeito das EMD na promoção da regeneração periodontal nas lesões de bifurcação proximais, o grupo controle também recebeu biomodificação radicular com EDTA 24%, enquanto o estudo de Avera *et al* (1998) não realizou nenhum procedimento biomodificador. Não há na literatura estudos clínicos que avaliem o efeito da biomodificação radicular com EDTA 24% em lesões de bifurcação, livres ou proximais. Dessa forma, a influência que esse procedimento exerceu na resposta do grupo controle do presente estudo não pode ser determinada, devendo ser avaliada em estudos futuros.

Independente das diferenças metodológicas, todos os estudos que avaliaram a RTG em furcas proximais indicam uma baixa previsibilidade dessa técnica regenerativa. O difícil acesso à região, a posição mais distal dessas lesões no arco, dificultando a higiene bucal do paciente e a morfologia das raízes são as dificuldades citadas como responsáveis pela pior resposta ao tratamento (Svårdström & Wennström, 1996). Além disso, a baixa previsibilidade da regeneração periodontal com o uso de membranas em lesões de bifurcação proximais, está intimamente associada às dificuldades técnicas de colocação das membranas, dificuldade de adaptação dos tecidos recobrimo as membranas e a freqüente exposição precoce dessas, causando infecções pós-operatórias.

Contudo, mesmo não utilizando membranas, os ganhos clínicos promovidos pelas EMD nas lesões de bifurcação proximais do presente estudo também foram

imprevisíveis, sendo ainda inferiores aos relatados por outro estudo clínico randomizado que também utilizou as EMD.

Jepsen *et al* (2004) avaliou o uso do Emdogain® em lesões de bifurcação mandibulares. Os autores relataram um ganho ósseo horizontal de 2,88 mm, medida durante a cirurgia de reentrada realizada após 6 meses de acompanhamento. Segundo esses autores, esse ganho é ainda estatisticamente superior ao grupo controle, utilizando RTG. Para verificar as mudanças no nível ósseo, o presente estudo realizou sondagem óssea como alternativa a cirurgia de reentrada (Suh *et al*, 2002), verificando um ganho ósseo horizontal de 1,08 mm para as furcas que receberam as EMD. A diferença entre o ganho do presente estudo e do estudo de Jepsen *et al* (2004) se deve primordialmente ao tipo de lesão de bifurcação avaliada, e as dificuldades inerentes a sua anatomia.

Em regiões de bifurcação é estabelecido que a remoção de todo o cálculo subgengival é extremamente rara, tanto na terapia cirúrgica, quanto na não-cirúrgica (Matia *et al*, 1986, Parashis *et al*, 1993). Mesmo utilizando instrumentação ultra-sônica com pontas específicas para debridamento de furcas, que demonstra melhores resultados clínicos, cálculos residuais podem ter restado no interior da lesão, principalmente em lesões proximais onde a visualização do interior da bifurcação é extremamente difícil. Essa dificuldade de instrumentação devido à anatomia da lesão pode ter contribuído para a pior resposta clínica das lesões proximais tratadas com EMD quando comparadas às furca livres mandibulares.

A interferência da anatomia das lesões proximais na resposta a terapia regenerativa pode se estender até a forma como ocorre a regeneração dos tecidos. Como descrito por Glottow *et al* (1984), para haver a regeneração periodontal é necessário que células do ligamento periodontal povoem a região a ser regenerada. Dessa forma, defeitos ósseos com grande perda de tecido de suporte podem dificultar que essas células possam chegar a toda a extensão da raiz, diminuindo o sucesso da regeneração, como acontece em lesões de furca classe III. As furcas incluídas neste estudo apresentavam uma perda horizontal

direta e altura da lesão de bifurcação elevadas ($5,5\pm 2,4$ mm e $3,9\pm 2,5$ mm respectivamente), mostrando que os defeitos incluídos correspondem a defeitos extremos. Assim, lesões de furca proximais podem ser inseridos entre os tipos de defeitos em que as células do ligamento apresentam maior dificuldade de povoar a região, dificultando a regeneração periodontal, independente do método utilizado (Sanz e Giovanolli, 2000).

Além da anatomia da região, os estudos que avaliaram lesões proximais e não obtiveram resultados significantes, discutem a dificuldade de adaptação dos retalhos para recobrir a membrana e necrose das extremidades dos retalhos (Metzler *et al*, 1991, Pontoriero e Lindhe, 1995, Avera *et al*, 1998). Embora o presente estudo não tenha utilizado membrana como técnica regenerativa, também foram observados problemas semelhantes. Após o debridamento da região da lesão, e aplicação ou não do Emdogain, há uma dificuldade, inerente à técnica e à região, da adaptação dos tecidos durante as suturas. Embora em todas as cirurgias do presente estudo tenha ocorrido uma completa coaptação dos retalhos, durante a cicatrização da região ocorreu a certa necrose das extremidades dos retalhos, levando a formação de crateras gengivais nos períodos iniciais.

Considerando essa difícil cicatrização, a manutenção do produto do interior da lesão pode ser alterada. Sculean *et al* (2002), observaram que após 4 semanas da aplicação ainda era possível encontrar traços das proteínas em sítios operados. Esse tempo é maior que o encontrado por Gestrelus *et al* (1997), nos estudos iniciais, onde até 2 semanas apenas ainda detectava-se o Emdogain. Entretanto, a manutenção das proteínas em lesões proximais sob condições clínicas nunca foi observada, podendo sofrer alterações consideráveis nas condições citadas acima, refletindo na baixa previsibilidade do uso das EMD em lesões proximais vista no presente estudo.

Mesmo com todas as dificuldades relatadas acima, a aplicação do Emdogain® foi capaz de promover alguns benefícios secundários aos sítios operados. O Índice de Sangramento no sítio operado era inicialmente de 100%,

pois a presença do sangramento era um critério de inclusão do estudo. Essa porcentagem diminuiu, em ambos os grupos, em todos os tempos avaliados. Contudo, a diminuição do sangramento foi estatisticamente significativa já aos 2 meses nas lesões que receberam Emdogain®, enquanto no grupo controle só foi observada diferença estatística no 6º mês de avaliação.

Estudos *in vitro* mostram que o Emdogain® possui uma grande quantidade de efeitos sobre as células indiferenciadas, o que pode promover uma melhor cicatrização dos tecidos. As proteínas derivadas da matriz do esmalte são capazes de estimular a proliferação e produção de proteínas e fibras colágenas e estimular células fibroblásticas do ligamento a produzir hialuronidase e proteoglicanas, substâncias presentes na matriz do ligamento periodontal (Grestelius *et al*, 1997a, Van der Pauw *et al*, em 2000).

Além disso, as EMD mostraram *in vitro* a capacidade de estimular a liberação de fatores de crescimento (FGF2, TGFβ, IGF), diminuir a concentração de MMP1 (Haase e Bartold, 2001, Mizutani *et al*, 2003). O Emdogain também promove uma maior formação de vasos sanguíneos, e apresenta um potencial antibacteriano sobre periodontopatógenos (Walter *et al*, 2006). Essas situações celulares e moleculares podem promover uma melhor cicatrização dos tecidos, acelerando a formação de um tecido organizado.

Dessa forma, nos sítios em que foram aplicadas as EMD, o tecido provavelmente sofreu um processo de cicatrização, maturação e organização dos tecidos neoformados mais rápido que no grupo controle. Essa rapidez na formação e organização dos novos tecidos, confirmada em estudos histológicos em cães (Sakalliglu *et al*, 2004), pode ter refletido no Índice de Sangramento estatisticamente inferior ao baseline já no segundo mês após as cirurgias. Essa melhor cicatrização foi também relatada por outros estudos clínicos (Wennström e Lindhe, 2002, Jepsen *et al*, 2004, Meyle *et al*, 2004).

Além do menor sangramento, houve um maior fechamento de furcas tratadas com Emdogain®, 4 lesões, enquanto no grupo controle todas as lesões ainda podiam ser detectadas. O potencial do Emdogain em promover a

regeneração, com formação de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar, já foi confirmado em estudos histológicos (Heijl *et al*, 1997, Araújo e Lindhe, 1998, Sakallioğlu *et al*, 2004, Sallum *et al*, 2004) e clínicos (Jepsen *et al*, 2004). Entretanto, no presente estudo apenas 4 das 20 lesões de bifurcação proximais apresentaram fechamento após a terapia. Esse índice mostra que, mesmo que com uma diferença estatística significativa em relação ao grupo controle, o potencial regenerativo do Emdogain® em lesões proximais é imprevisível.

Dentro desse contexto, fica claro que lesões de bifurcação proximais classe II são defeitos críticos para a terapia regenerativa, independente da técnica utilizada. Esses defeitos trazem de forma inerente dificuldades técnicas de diagnóstico, higienização, visualização e tratamento, que diminuem a taxa de sucesso dos tratamentos aplicados, inclusive as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

7. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que, embora os defeitos de bifurcação proximais classe II tenham apresentado resposta semelhante aos tratamentos, o uso do EMD possibilitou um maior fechamento completo das bifurcações que o acesso para raspagem e alisamento radicular e biomodificação radicular com EDTA 24%.

8. REFERÊNCIAS

1. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975; 25(4): 229-35.
2. American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms, 4th ed, 2001.
3. Araujo MG, Lindhe J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 1998; 25(6): 524-30.
4. Arweiler NB, Auschill TM, Donos N, Sculean A., Antibacterial effect of an enamel matrix protein derivative on in vivo dental biofilm vitality. *Clin Oral Investig*. 2002; 6(4): 205-9.
5. Avera JB, Camargo PM, Klokkevold PR, Kenney EB, Lekovic V. Guided tissue regeneration in Class II furcation involved maxillary molars: a controlled study of 8 split-mouth cases. *J Periodontol*. 1998; 69(9): 1020-6.
6. Bower RC. Furcation morphology relative to periodontal treatment. Furcation entrance architecture. *J Periodontol*. 1979; 50(1): 23-7.
7. Carnevalle, G, Pontoriero, R, Lindhe, J, Tratamento de dentes com Envolvimento de Furca. In *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*, 4 edição, Rio de Janeiro, ed Guanabara-Koogan, 2004
8. Cattabriga M, Pedrazzoli V, Wilson TG Jr. The conservative approach in the treatment of furcation lesions. *Periodontol* 2000. 2000; 22: 133-53.
9. Chiu BM, Zee KY, Corbet EF, Holmgren CJ. Periodontal implications of furcation entrance dimensions in Chinese first permanent molars. *J Periodontol*. 1991; 62(5): 308-11.
10. Christgau M, Bader N, Felden A, Gradl J, Wenzel A, Schmalz G. Guided tissue regeneration in intrabony defects using an experimental bioresorbable polydioxanon (PDS) membrane. A 24-month split-mouth study. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(8): 710-23.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – grupo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

11. Cortelli, JR, Lotufo, RFM, Opperman RV, Sallum, AW. [Organizadores]. Vários autores. Glossário da Sociedade Brasileira de Periodontologia. São Paulo: SOBRAPE, vol.15, n. 04, dez. 2005.
12. Cortellini P, Tonetti MS. Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontol* 2000. 2000; 22: 104-32. Review.
13. Cury PR, Jeffcoat MK, Sallum AW, Cafesse R, Nociti Junior FH, Sallum EA. Clinical and radiographic evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of class II furcation defects. A randomized clinical trial. *Am J Dent*. 2003;16 Spec No: 13A-16A (a).
14. Cury PR, Sallum EA, Nociti FH Jr, Sallum AW, Jeffcoat MK. Long-term results of guided tissue regeneration therapy in the treatment of class II furcation defects: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2003; 74(1): 3-9 (b).
15. Donos N, Glavind L, Karring T, Sculean A. Clinical evaluation of an enamel matrix derivative in the treatment of mandibular degree II furcation involvement: a 36-month case series. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003; 23(5): 507-12.
16. Donos N, Sculean A, Glavind L, Reich E, Karring T. Wound healing of degree III furcation involvements following guided tissue regeneration and/or Emdogain. A histologic study. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(12): 1061-8.
17. Drisko CL, Cochran DL, Blieden T, Bouwsma OJ, Cohen RE, Damoulis P, *et al*. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Position paper: sonic and ultrasonic scalers in periodontics. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. *J Periodontol*. 2000; 71(11): 1792-801.
18. Eickholz P, Kim TS, Holle R, Hausmann E. Long-term results of guided tissue regeneration therapy with non-resorbable and bioabsorbable barriers. I. Class II furcations. *J Periodontol*. 2001; 72(1): 35-42.
19. Galli C, Macaluso GM, Guizzardi S, Vescovini R, Passeri M, Passeri G. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand

- modulation by enamel matrix derivative in human alveolar osteoblasts. *J Periodontol.* 2006; 77(7): 1223-8.
20. Gestrelus S, Andersson C, Johansson AC, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarstrom L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2): 678-84.
 21. Gestrelus S, Andersson C, Lidstrom D, Hammarstrom L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2): 685-92.
 22. Giannobile WV, Somerman. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; (1): 193-204.
 23. Giusto TJ. Bioactive glass and bioabsorbable membrane in the treatment of a maxillary class II furcation defect: case report with 6-month re-entry. *Compend Contin Educ Dent.* 2005; 26(1): 41-2, 44, 46
 24. Glickman I. *Clinical Periodontology*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1958.
 25. Goldman MJ, Ross IF, Goteiner D. Effect of periodontal therapy on patients maintained for 15 years or longer. A retrospective study. *J Periodontol.* 1986; 57(6): 347-53.
 26. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* 1984; 11(8): 494-503.
 27. Gottlow J, Nyman S. Barrier membranes in the treatment of periodontal defects. *Curr Opin Periodontol.* 1996; 3: 140-8.
 28. Haase HR, Bartold PM. Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast cells. *J Periodontol.* 2001; 72(3): 341-8.
 29. Hammarstrom L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2): 669-77.
 30. Hammarstrom L. The role of enamel matrix proteins in the development of cementum and periodontal tissues. *Ciba Found Symp.* 1997; 205: 246-55; discussion 255-60.

31. Hammarström, L, Enamel matrix, cementum development and regeneration. J Clin Periodontol. 1997; 24(9 Pt 2): 658-59.
32. Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirrooted teeth. Results after 5 years. J Clin Periodontol. 1975; 2(3): 126-35.
33. Hardekopf JD, Dunlap RM, Ahl DR, Pelleu GB Jr. The "furcation arrow". A reliable radiographic image? J Periodontol. 1987; 58(4): 258-61.
34. Heijl L, Heden G, Svardstrom G, Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. J Clin Periodontol. 1997; 24(9 Pt 2): 705-14.
35. Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. J Clin Periodontol. 1997; 24(9 Pt 2): 693-6.
36. Heitz-Mayfield LJ, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2002; 29 Suppl 3: 92-102; 160-2.
37. Hoffmann T, Richter S, Meyle J, Gonzales JR, Heinz B, Arjomand M, *et al.* A randomized clinical multicentre trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part III: patient factors and treatment outcome. J Clin Periodontol. 2006; 33(8): 575-83.
38. Hurley, MM, Abreu, C, Harrison JR, Basic fibroblast growth factor inhibits type I collagen gene expression in osteoblastic MC3T3-E1 cells. J bio Chem. 1993; 268: 5588-5593.
39. Jepsen S, Heinz B, Jepsen K, Arjomand M, Hoffmann T, Richter S, Reich E, *et al.* A randomized clinical trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal Class II furcation involvement in mandibular molars. Part I: Study design and results for primary outcomes. J Periodontol. 2004; 75(8): 1150-60.

40. Karring T, Isidor F, Nyman S, Lindhe J. New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *J Clin Periodontol.* 1985; 12(1): 51-60.
41. Keila S, Nemcovsky CE, Moses O, Artzi Z, Weinreb M. In vitro effects of enamel matrix proteins on rat bone marrow cells and gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2004; 83(2): 134-8.
42. Kinane, D., Berglundh, T. Lindhe, J., Interações entre parasitas e hospedeiro na doença periodontal. In: *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral.* 2004; 148-171.
43. Lekovic V, Klokkevold PR, Camargo PM, Kenney EB, Nedic M, Weinlaender M. Evaluation of periosteal membranes and coronally positioned flaps in the treatment of Class II furcation defects: a comparative clinical study in humans. *J Periodontol.* 1998; 69(9): 1050-5.
44. Lu HK. Topographical characteristics of root trunk length related to guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1992; 63(3): 215-9.
45. Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis. *J Periodontol.* 2001; 72(4): 512-6.
46. Mariotti A. Efficacy of chemical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8(1): 205-26.
47. Matia JI, Bissada NF, Maybury JE, Ricchetti P. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1986; 6(6): 24-35.
48. McFall WT Jr. Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease. A long-term study. *J Periodontol.* 1982; 53(9): 539-49.
49. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol.* 1976; 47(5): 256-60.
50. Mellonig JT, Seamons BC, Gray JL, Towle HJ. Clinical evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of grade II molar furcation invasions. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994; 14(3): 254-71.

51. Mellonig JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19(1): 8-19.
52. Metzler DG, Seamons BC, Mellonig JT, Gher ME, Gray JL. Clinical evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of maxillary class II molar furcation invasions. *J Periodontol.* 1991; 62(6): 353-60.
53. Meyle J, Gonzales JR, Bodeker RH, Hoffmann T, Richter S, Heinz B, Arjomand M, Reich E, Sculean A, Jepsen K, Jepsen S. A randomized clinical trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part II: secondary outcomes. *J Periodontol.* 2004; 75(9): 1188-95.
54. Mizutani S, Tsuboi T, Tazoe M, Koshihara Y, Goto S, Togari A. Involvement of FGF-2 in the action of Emdogain on normal human osteoblastic activity. *Oral Dis.* 2003; 9(4): 210-7.
55. Mombelli A, Lang NP, Nyman S. Isolation of periodontal species after guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1993; 64(11 Suppl): 1171-5.
56. Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* 1971; 15(2): 107-13.
57. Murphy KG, Gunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8(1): 266-302.
58. Nyman, S, Lindhe, J, Karring, T, Rylander, H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clinical Periodontology.* 1982; 9: 290-296.
59. Nowzari H, MacDonald ES, Flynn J, London RM, Morrison JL, Slots J. The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1996;67(7): 694-702.
60. Papapanou PN, Tonetti MS. Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000.* 2000; 22: 8-21.

61. Parashis AO, Anagnou-Vareltzides A, Demetriou N. Calculus removal from multirooted teeth with and without surgical access. (I). Efficacy on external and furcation surfaces in relation to probing depth. *J Clin Periodontol.* 1993; 20(1): 63-8.
62. Parashis A, Tsiklakis K. Clinical and radiographic findings following application of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. A series of case reports. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(9): 705-13.
63. Parashis A, Andronikaki-Faldami A, Tsiklakis K. Clinical and radiographic comparison of three regenerative procedures in the treatment of intrabony defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2004; 24(1): 81-90.
64. Parashis AO, Tsiklakis K, Tatakis DN. EDTA gel root conditioning: lack of effect on clinical and radiographic outcomes of intrabony defect treatment with enamel matrix derivative. *J Periodontol.* 2006; 77(1): 103-10.
65. Pontoriero R, Lindhe J. Guided tissue regeneration in the treatment of degree II furcations in maxillary molars. *J Clin Periodontol.* 1995; 22(10): 756-63.
66. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res.* 1995; 74(8): 1459-67.
67. Ribeiro EDP, Bittencourt S, Nociti Jr FH, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ. Comparative study of ultrasonic instrumentation for the non-surgical treatment of interproximal and non-interproximal furcation involvements. *J Perio.* In press.
68. Rosen PS, Marks MH, Bowers GM. Regenerative therapy in the treatment of maxillary molar Class II furcations: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997; 17(6): 516-27.
69. Rosenberg, MM, Furcation Involvement: periodontic, endodontic and restorative interrelationships. In: Rosenberg, mM, Kay, HB, Keough, BE, Holt, RL, eds. *Periodontal and Prosthetic Management of Advanced cases.* Chicago, Quintessence, 450-454. 1988.

70. Sakallioğlu U, Acikgoz G, Ayas B, Kirtiloğlu T, Sakallioğlu E. Healing of periodontal defects treated with enamel matrix proteins and root surface conditioning--an experimental study in dogs. *Biomaterials*. 2004; 25(10): 1831-40.
71. Sallum EA, Pimentel SP, Saldanha JB, Nogueira-Filho GR, Casati MZ, Nociti FH, Sallum AW. Enamel matrix derivative and guided tissue regeneration in the treatment of dehiscence-type defects: a histomorphometric study in dogs. *J Periodontol*. 2004; 75(10): 1357-63.
72. Sander L, Karring T. Healing of periodontal lesions in monkeys following the guided tissue regeneration procedure. A histological study. *J Clin Periodontol*. 1995; 22(4): 332-7.
73. Sanz M, Giovannoli JL. Focus on furcation defects: guided tissue regeneration. *Periodontol 2000*. 2000; 22: 169-89.
74. Sculean A, Auschill TM, Donos N, Brex M, Arweiler NB. Effect of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol*. 2001; 28(11): 1074-8.
75. Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Fabi B, Lundgren E, Lyngstadaas PS. Presence of an enamel matrix protein derivative on human teeth following periodontal surgery. *Clin Oral Invest*. 2002; 6:183–187.
76. Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Arweiler NB, Brex M, Gera I. Healing of intra-bony defects following treatment with a composite bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide PERIO). *J Clin Periodontol*. 2005; 32(7): 720-4.
77. Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Gera I. Histologic evaluation of human intrabony defects following non-surgical periodontal therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative. *J Periodontol*. 2003; 74(2): 153-60.
78. Sculean A, Berakdar M, Willershausen B, Arweiler NB, Becker J, Schwarz F. Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. *J Periodontol*. 2006; 77(7): 1167-72.

79. Suh YI, Lundgren T, Sigurdsson T, Riggs M, Crigger M. Probing bone level measurements for determination of the depths of Class II furcation defects. *J Periodontol.* 2002; 73(6): 637-42.
80. Svardstrom G, Wennstrom JL. Prevalence of furcation involvements in patients referred for periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(12): 1093-9.
81. Svårdström, G & Wennström, J. Furcation topography of the maxillary and mandibular first molars. *J Clin Periodontol.* 1988; 15: 271-75.
82. Tempro PJ, Nalbandian J. Colonization of retrieved polytetrafluoroethylene membranes: morphological and microbiological observations. *J Periodontol.* 1993; 64(3): 162-8.
83. Trombelli L, Schincaglia GP, Scapoli C, Calura G. Healing response of human buccal gingival recessions treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes. A retrospective report. *J Periodontol.* 1995; 66(1): 14-22.
84. Yukna RA, Mellonig JT. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol.* 2000; 71(5): 752-9.
85. VanderPaw MT, VandeBos, T, Everts V, Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor beta 1 release of ligament and gingival fibroblast. *J Periodontol.* 2000; 71:31-43.
86. Venezia E, Goldstein M, Boyan BD, Schwartz Z. The use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal defects: a literature review and meta-analysis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(6): 382-402.
87. Villalpando, KT. Utilização de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) no tratamento de defeitos intra-ósseos. Estudo clínico e radiográfico. Tese de mestrado apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da UNICAMP, 2001.
88. Walter C, Jawor P, Bernimoulin JP, Hagewald S. Moderate effect of enamel matrix derivative (Emdogain Gel) on *Porphyromonas gingivalis* growth in vitro. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(3): 171-6.

89. Wood WR, Greco GW, McFall WT Jr. Tooth loss in patients with moderate periodontitis after treatment and long-term maintenance care. *J Periodontol.* 1989; 60(9): 516-20.
90. Zappa U, Grosso L, Simona C, Graf H, Case D. Clinical furcation diagnoses and interradicular bone defects. *J Periodontol.* 1993; 64(3): 219-27.
91. Zetterstrom O, Andersson C, Eriksson L, Fredriksson A, Friskopp J, Heden G, *et al.* Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2): 697-704.



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



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação clínica da utilização das proteínas derivadas da matriz do esmalte em lesões de bifurcação classe II interproximais", protocolo nº 006/2005, dos pesquisadores **RENATO CORRÊA VIANA CASARIN** e **MÁRCIO ZAFFALLON CASATI**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 03/03/2005.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Clinical evaluation of the use of enamel matrix proteins in the treatment of interproximal class II furcations", register number 006/2005, of **RENATO CORRÊA VIANA CASARIN** and **MÁRCIO ZAFFALLON CASATI**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 03/03/2005.

Fernanda Klei. Mascena
 p/ **Cinthia Pereira Machado Tabchoury**

Secretária
 CEP/FOP/UNICAMP

Jacks Jorge Júnior
Jacks Jorge Júnior
 Coordenador
 CEP/FOP/UNICAMP