

***Maria Fernanda Santos Peres***

*Cirurgiã Dentista*

***Avaliação clínica do uso das proteínas  
derivadas da matriz do esmalte e do  $\beta$ -  
tricálcio fosfato associado à hidroxiapatita  
em lesões de bifurcações interproximais  
classe II.***

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. Renato Corrêa Viana Casarin

**Piracicaba**

**2011**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**  
Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª / 8099

P415a Peres, Maria Fernanda Santos.  
Avaliação clínica do uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte e do beta tricálcio fosfato associado à hidroxiapatita em lesões de bifurcações interproximais classe II / Maria Fernanda Santos Peres. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Márcio Zaffalon Casati.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Defeitos da furca. 2. Proteínas do esmalte dentário. 3. Substitutos ósseos. I. Casati, Márcio Zaffalon. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(eras/fop)

Título em Inglês: Clinical evaluation of the use of enamel matrix derivative and hydroxyapatite/  $\beta$ -tricalcium phosphate composite in the treatment of class II proximal furcation defects

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Furcation defects. 2. Dental enamel proteins. 3. Bone substitutes

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Márcio Zaffalon Casati, Giuseppe Alexandre Romito, Karina Gonzales Silvério Ruiz

Data da Defesa: 28-02-2011

Programa de Pós-Graduação em 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 2011, considerou a candidata MARIA FERNANDA SANTOS PERES aprovada.

Handwritten signature of Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati.

---

Prof. Dr. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

Handwritten signature of Prof. Dr. Giuseppe Alexandre Romito.

---

Prof. Dr. GIUSEPPE ALEXANDRE ROMITO

Handwritten signature of Profa. Dra. Karina Gonzales Silverio Ruiz.

---

Profa. Dra. KARINA GONZALES SILVERIO RUIZ

## **Agradecimentos**

À Universidade Estadual de Campinas e à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, por ser um centro de excelência que me acolheu por 8 anos proporcionando minha formação.

Aos professores da área de periodontia, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum e Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior por participarem ativamente da minha graduação, especialização e mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, pela oportunidade oferecida para que a realização de um sonho fosse possível.

Ao meu co-orientador e amigo Renato Corrêa Viana Casarin, pela orientação e suporte nos momentos de dúvidas. A Érica Del Peloso Ribeiro pela disposição em participar desta pesquisa como operadora mesmo tendo que se deslocar de outro estado para isso.

Aos meus colegas do mestrado em especial: Hugo Felipe Do Vale, pela ajuda nas análises estatísticas e pela amizade independente do meu humor. Aos estagiários: Miki Taketomi Saito, Lucas Moura e Tiago Taiete pela ajuda durante os procedimentos cirúrgicos, acompanhamento e manutenção dos pacientes. Às meninas do doutorado, em especial a Tati e Ana Paula pela amizade e pelas risadas que faziam meus dias mais leves.

À minha família (cheia de dentistas), que sempre me incentivou e forneceu a estrutura para que eu pudesse concluir a graduação, especialização e o mestrado. Em especial à minha mãe (Tereza) e ao meu pai (Ricardo), grande responsável pela minha paixão por periodontia. Antes mesmo de entrar na graduação eu já sabia que queria ser periodontista pois sempre o acompanhei no consultório e cursos de especialização, e admirei o clínico excepcional e professor que ele é.

Ao meu marido Bruno, pelo amor, força e incentivo, por entender minha ausência todos os dias e pela paciência em esperar minha volta definitiva para nossa casa.

À minha filha, Maria Eliza, que ainda está na barriga, pela companhia nos momentos finais da dissertação de mestrado.

## Epígrafe

“Todos os nossos sonhos podem se realizar,  
se tivermos a coragem de persegui-los”

Walt Disney

## Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, por meio de um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego a utilização do  $\beta$  tricálcio fosfato + hidroxiapatita (HA/ $\beta$ -TCP) isoladamente ou em combinação com as proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD) no tratamento de lesões de bifurcação interproximais classe II. 30 pacientes, apresentando pelo menos 1 lesão de bifurcação interproximal classe II e profundidade de sondagem  $\geq 5$ mm com sangramento a sondagem após a terapia básica foram incluídos no estudo. As lesões de bifurcação foram aleatoriamente designadas a um dos seguintes tratamentos: controle (n=15): acesso para raspagem + preenchimento do defeito com HA/ $\beta$ -TCP (BoneCeramic, Straumann®), ou, teste (n=15): acesso para raspagem + preenchimento do defeito com HA/ $\beta$ -TCP (BoneCeramic, Straumann®) associado com EMD (Emdogain, Straumann®). Os parâmetros clínicos: índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidade de sondagem (PS), posição da margem gengival relativa (PMGR), nível de inserção clínico vertical e horizontal relativo (NICVR e NICHR), nível ósseo vertical e horizontal relativo (NOVR e NOHR) e diagnóstico da lesão de bifurcação foram avaliados no baseline e 6 meses após o procedimento cirúrgico. Aos 6 meses, os ganhos de NICVR dos grupos controle e teste foram de 1,47 e 2,10mm, e de NICHR foram 1,47mm e 1,57mm respectivamente, ambos sem diferença estatística entre os grupos. Os ganhos de NOVR e NOHR para os grupos controle e teste foram de 1,47mm e 1,70mm, e 1,90mm e 1,70mm respectivamente, também sem diferença estatística entre os grupos. Na avaliação do diagnóstico da lesão após 6 meses, no grupo teste 7 lesões apresentaram fechamento, enquanto no grupo controle 4 lesões apresentaram-se fechadas, entretanto, não foi observada diferença estatística entre os grupos. Pode se concluir que ambas as terapias propostas representam uma alternativa viável para o tratamento das lesões de bifurcação interproximais classe II, uma vez que foram capazes de promover benefícios em todos os parâmetros clínicos avaliados e resolução total ou parcial do defeito de bifurcação.

**Palavras chave:** Defeitos de bifurcação interproximais, proteínas derivadas da matriz do esmalte e beta tricálcio fosfato associado a hidroxiapatita.

## **Abstract**

The aim of the present prospective, randomized, double blinded trial was to clinically evaluate the use of hydroxyapatite / $\beta$ - tricalcium phosphate (HA/  $\beta$ -TCP) isolated or in combination with enamel matrix derivative (EMD) in the treatment of proximal class II furcation defects. 30 patients, presenting at least one proximal class II furcation defect, probing depth  $\geq 5$  mm and bleeding on probing after basic therapy were included. The furcation defects were randomly assigned to receive one of the following treatments: control (n=15): open flap debridement (OFD) + HA/ $\beta$ -TCP (BoneCeramic, Straumann®) filling, or, test (n=15): OFD + HA/ $\beta$ -TCP (BoneCeramic, Straumann®) + EMD (Emdogain, Straumann®) filling. The following clinical parameters were evaluated at baseline and after 6 months: plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PD), gingival margin position (RGMP), relative vertical and horizontal attachment level (RVAL and RHAL), relative vertical and horizontal bone level (RVBL and RHBL) and furcation diagnosis. After six months, the gain of RVAL of control and test group were 1.47 e 2.10mm, while the RHAL gain were 1.47 and 1.57mm, both without statistical difference between the groups. The RVBL and RHBL gain of control and test group were 1.47 e 1.70mm, and 1.90 e 1.70mm respectively, also without statistical difference. The diagnosis of furcation lesion evaluation showed 7 closed furcations in test group, while in control group 4 lesions were observed. It could be concluded that both treatments might be a viable alternative to the treatment of proximal class II furcation defects, once both are capable to promote clinical benefits in all parameters evaluated and partial or complete furcation defect resolution.

**Key words:** Proximal furcation defects, enamel matrix derivative and hydroxyapatite-beta tricalcium phosphate.

## **Lista de Abreviaturas e siglas**

AAP - American Academy of periodontology, Academia Americana de Periodontia

BC - Bone Ceramic

BEH - Bainha Epithelial de Hertwig

BG - Bioactive Glass, Vidro Bioativo

DFDBA - Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft, aloenxerto ósseo liofilizado desmineralizado

EDTA - Ethylenediaminetetraacetic acid

EDPR - Érica Del Peloso Ribeiro

EMD - Enamel Matrix Derivative, Proteínas derivadas da matriz do esmalte

FGF-2 - Fibroblast Growth Factor 2

GI - Gingival Index

HA - Hidroxiapatita

HA/ $\beta$ -TCP - Hydroxyapatite / $\beta$ - Tricalcium phosphate,  $\beta$  Tricálciofosfato associado à Hidroxiapatita

IG - Índice Gengival

IGF2 - Insulin-like growth factor 2

IP - Índice de Placa

IL-1 - Interleucina 1

JCE - Junção Cimento-Esmalte

MFSP - Maria Fernanda Santos Peres

MMP-1 - Matrix Metalloproteinase-1

NIC - Nível de Inserção Clínico



NICHR - Nível de Inserção Clínico Horizontal Relativo

NICVR - Nível de Inserção Clínico Vertical Relativo

NGF - Nerve growth factor

NOHR - Nível Ósseo Horizontal Relativo

NOVR - Nível Ósseo Vertical Relativo

OFD - Open Flap Debridement, Acesso para raspagem

PD - Probing Depth

PDGF - Platelet-derived Growth Factor

PI - Plaque Index

PMGR - Posição da Margem Gengival Relativa

PS - Profundidade de Sondagem

PVPI - Povidone-Iodine

RCT - Randomized Clinical Trial

RCVC - Renato Corrêa Viana casarin

RGMP - Relative Gingival margin Position

RHAL - Relative Horizontal Attachment Level

RHBL - Relative Horizontal Bone Level

RTG - Regeneração Tecidual Guiada

RVAL - Relative Vertical Attachment Level

RVBL - Relative Vertical Bone Level

SS - Sangramento à Sondagem

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCP - Tricálcio Fosfato

TNF - Tumoral Necrosis Factor, Fator de Necrose Tumoral

TGF $\beta$  - Transforming Growth Factor Beta

$\beta$ TCP - Beta Tricálcio Fosfato

## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Revisão de literatura.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Lesões de Bifurcação.....</b>	<b>6</b>
2.1.1. Definição.....	6
2.1.2. Diagnóstico e classificação.....	6
2.1.3. Epidemiologia.....	10
2.1.4. Anatomia.....	12
<b>2.2. Tratamento das lesões de bifurcação interproximais.....</b>	<b>15</b>
2.2.1. Tratamento não cirúrgico.....	15
2.2.2. Tratamento regenerativo.....	17
<b>2.3. Proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD).....</b>	<b>23</b>
2.3.1. Estudos <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> e histológicos.....	23
2.3.2. Estudos clínicos em lesões de bifurcação.....	30
<b>2.4. Enxertos e Substitutos ósseos.....</b>	<b>33</b>
2.4.1. Substitutos ósseos (Materiais aloplásticos).....	33
2.4.2.β Tricálciofosfato – Hidroxiapatita.....	35
<b>2.5. Terapia combinada.....</b>	<b>40</b>
<b>3. Proposição.....</b>	<b>43</b>
<b>4. Materiais e método.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Considerações éticas.....</b>	<b>44</b>
<b>4.2. Seleção dos pacientes.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3. Preparo dos pacientes.....</b>	<b>45</b>
<b>4.4. Parâmetros clínicos e períodos de avaliação.....</b>	<b>45</b>

4.5. Procedimentos cirúrgicos.....	48
4.6. Parâmetros trans-cirúrgicos.....	51
4.7. Protocolo medicamentoso e terapia de suporte.....	53
4.8. Análise estatística.....	54
5. Resultados.....	56
5.1. Considerações Clínicas.....	56
5.2. Características da população estudada.....	57
5.3. Características dos defeitos ósseos.....	58
5.4. Parâmetros clínicos.....	59
5.4.1. Índice de placa e índice gengival.....	59
5.4.2. Presença de sangramento à sondagem e placa no sítio.....	60
5.4.3. Medidas clínicas – tecido mole.....	61
5.4.4. Medidas clínicas – sondagem óssea.....	62
5.4.5. Diagnóstico da lesão de furca.....	63
6. Discussão.....	65
7. Conclusão.....	69
8. Referências.....	70
9. Anexos.....	85



## 1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal tem como fator etiológico primário microorganismos organizados em um biofilme dental bacteriano (Teles et al.,2006), que direta ou indiretamente são capazes de causar destruição das estruturas de suporte dental (cimento, ligamento periodontal e osso). Desta forma, a doença periodontal não tratada resulta em perda de inserção progressiva, que pode levar à perda do elemento dental (Bosshardt & Sculean, 2009).

Sendo assim, a terapia periodontal relacionada à causa tem como objetivo a remoção de cálculo e biofilme aderidos à superfície radicular, e para a manutenção desta condição é determinante o controle de biofilme supra gengival realizado pelo paciente (Zander et al., 1976). Desta forma é possível reduzir as alterações inflamatórias no tecido mole e resolver das bolsas periodontais e restabelecendo a saúde (Adriaens & Adriaens, 2004). Entretanto, atualmente os objetivos da terapia periodontal vão além do restabelecimento da saúde e prevenção da perda de inserção periodontal. Também é desejável restaurar de forma previsível a arquitetura e função das estruturas de suporte perdidas, através da regeneração periodontal (Villar & Cochran, 2009).

Neste contexto, as lesões de bifurcação interproximais representam um desafio para a terapia periodontal, visto que este tipo de lesão responde pobremente à terapia relacionada à causa (não cirúrgica) (Ribeiro et al., 2007) e à terapia regenerativa com membranas (Metzler et al.,1991; Pontorieiro & Lindhe, 1995; Avera et al, 1998; Villar & Cochran, 2009). Essa pobre resposta está relacionada com fatores locais, como a anatomia complexa da região proximal e posição das entradas das furcas em relação ao arco dental que dificultam a remoção do biofilme pelo paciente e descontaminação pelo clínico (Avera et al., 1998; Ribeiro et al., 2007; Casarin et al., 2008). Além disso, na regeneração tecidual guiada (RTG), é difícil a adaptação da membrana no espaço interproximal

e manutenção da mesma recoberta por tecido mole (Metzler et al., 1991; Pontoriero & Lindhe, 1995; Avera et al., 1998; Villar & Cochran, 2009).

Desta forma, a terapia regenerativa nas lesões de bifurcação proximais com técnicas que não sejam utilizadas membranas são melhor indicadas. Assim, a utilização das proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD) ou de enxertos ou substitutos ósseos poseriam ser uma alternativa viável.

As proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD) comercialmente disponíveis (Emdogain®, Straumann, Malmo, Suíça), parecem favorecer a regeneração periodontal, caracterizada pela presença de um novo cemento acelular/celular, com fibras colágenas inseridas e novo osso alveolar (Yukna et al., 2000; Bosshardt et al., 2005). Sua utilização baseia-se em mimetizar os eventos específicos que ocorrem no desenvolvimento dos tecidos de suporte durante a organogênese dental (Giannobile & Sommerman, 2003). Previamente à formação do cemento dental, a bainha epitelial de Hertwig secreta as EMD, que por sua vez são capazes de induzir formação de cemento acelular e consequente formação do ligamento periodontal e osso alveolar (Hammarstrom, 1997 a,b; Hammarstrom et al., 1997).

Alguns estudos demonstraram a capacidade das EMD em promover a proliferação de células do ligamento periodontal (Gestrelius et al., 1997), estimular a angiogênese (Kauvar et al., 2010), aumentar a formação de matriz mineralizada, e liberação de fatores de crescimento como: FGF-2, TGF $\beta$ , IGF; diminuindo a concentração de MMP1, e bloqueando a via de maturação dos osteoclastos (pela via RANKL/OPG) (Van der Pave et al., 2000; Haase & Bartold, 2001; Keila et al., 2004) e promover uma redução local dos microorganismos patogênicos, criando um ambiente mais favorável para a regeneração periodontal (Sculean et al., 2001; Walter et al., 2006).

Clinicamente, as EMD têm sido utilizadas no tratamento de defeitos infra ósseos e demonstrado resultados favoráveis com relação à redução da

profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento do defeito periodontal (Giannobile & Somerman, 2003). Com relação ao tratamento de furcas mandibulares, as EMD são capazes de promover resultados clínicos animadores (Donos et al., 2003), quando comparadas ao acesso para raspagem. Neste caso, são observados ganhos adicionais no nível de inserção clínica horizontal, nível ósseo vertical e horizontal e, por consequência, favorecimento da resolução completa ou parcial do defeito de bifurcação (Chitsazi et al., 2006).

Todavia, quando utilizadas isoladamente em defeitos de bifurcação interproximal classe II, as EMD parecem não promover benefícios na redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo vertical e horizontal, quando comparadas ao acesso para debridamento (Casarin et al. 2008). Os resultados modestos obtidos com as EMD podem estar relacionados às propriedades físicas do material pois sua natureza viscosa faz com que as EMD não sejam capazes de promover um suporte para o tecido mole, o que, durante a cicatrização, seria necessário para prevenir retração gengival e formação de crateras. Além disso, a viscosidade das EMD não é capaz de manter o espaço necessário para a formação dos novos tecidos, impedindo uma regeneração periodontal adequada (Mellonig, 1999; Lekovic et al. 2000; Zucchelli et al., 2003; Gurinsky et al. 2004).

Assim como as proteínas derivadas da matriz do esmalte, os enxertos e substitutos ósseos têm sido amplamente utilizados no tratamento de defeitos ósseos periodontais, mostrando benefícios clínicos no tratamento de lesões de furca classe II mandibulares, quando comparados a acesso cirúrgico para debridamento isoladamente (Reynolds et al., 2003).

Diferentes materiais têm sido propostos para o tratamento de defeitos ósseos periodontais, e de acordo com a fonte da qual são obtidos podem ser autógenos (osteocondutores, osteoindutores e osteogênicos), alógenos (osteocondutores e osteoindutores), xenógenos (osteocondutores) e aloplásticos



(osteocondutores) (Reynolds et al., 2010). Neste contexto, os materiais aloplásticos possuem algumas vantagens sobre os demais materiais com relação a facilidade de obtenção e aceitação pelo paciente, uma vez que não é necessário um sítio doador autógeno, utilização de bancos de tecidos humanos ou uso de enxertos provenientes de outras espécies.

Os materiais aloplásticos fornecem um esqueleto capaz de conduzir formação de osso sobre a superfície do material enxertado (Reynolds et al., 2010). Clinicamente, o uso de substitutos ósseos visa prevenir o colapso do retalho para o interior do defeito periodontal, aumentando a estabilidade do retalho e mantendo o espaço necessário para a regeneração ocorrer (Zafiropoulos et al., 2007).

Recentemente, um biomaterial cerâmico, totalmente sintético foi introduzido para o tratamento de defeitos periodontais. Consiste em um composto bifásico (HA/ $\beta$ -TCP) com 60% de hidroxiapatita (HA) e 40%  $\beta$  tricálcio fosfato ( $\beta$ -TCP) na forma particulada (Zafiropoulos et al., 2007), comercialmente disponível como Bone Ceramic® (BC) (Straumann, Malmo, Suíça). Embora esta combinação tenha sido recentemente introduzida e os benefícios clínicos de sua utilização em defeitos de bifurcação sejam desconhecidos, ambos os materiais ( $\beta$ TCP e HA) têm sido utilizados isoladamente no tratamento de defeitos ósseos periodontais.

A hidroxiapatita tem demonstrado benefícios clínicos em defeitos infra-ósseos (Reynolds et al., 2003). Histologicamente, observa-se formação óssea; entretanto, após 12 meses, ainda existem partículas do material enxertado (Stahl & Froum, 1987). O  $\beta$ TCP consiste na forma porosa do cálcio fosfato, com proporções de ambos os componentes similar ao osso. Clinicamente, promove benefícios no ganho de inserção clínica, mas histologicamente, não promove a regeneração periodontal, e sim reparo, através do preenchimento do defeito e da formação do epitélio juncional longo. Desta forma pode-se inferir que o  $\beta$ TCP possui o potencial de osteocondução (Hashimoto-Uoshima et al., 1995).

Quando utilizados isoladamente, ambos os materiais apresentam propriedades biológicas limitadas, sendo assim, o desenvolvimento de um compósito de  $\beta$ TCP e HA possibilita a melhora das propriedades osteocondutoras dos materiais, através do controle do tempo para reabsorção e manutenção de espaço. Este efeito sinérgico, que resulta no aumento da regeneração óssea, pode ser obtido através da combinação de uma maior porcentagem de HA (60-65%) e menor de  $\beta$ TCP (35-40%) (Nery et al., 1992). O  $\beta$ TCP seria capaz de fornecer o arcabouço necessário para a neoformação óssea simultaneamente ao período em que ocorre sua reabsorção, enquanto as partículas de hidroxiapatita seriam responsáveis pela estabilidade da região operada durante a cicatrização da ferida cirúrgica (Schwarz et al., 2007).

Com o objetivo de melhorar os resultados clínicos até então obtidos com a utilização das EMD e do  $\beta$ TCP-HA isoladamente em defeitos de bifurcação, idealizou-se a terapia combinada. Sendo assim, a utilização das EMD associadas à substitutos ósseos é uma alternativa viável (Lekovic, 2000; Velasquez-Plata 2002), já que seria possível adicionar às propriedades biológicas do EMD os benefícios de osteocondução e manutenção de espaço fornecidos pelos substitutos ósseos (Sculean et al., 2007).

Alguns estudos utilizando o tratamento combinado de EMD com algum tipo de enxerto substituto ósseo, como o vidro bioativo (Sculean et al., 2005, 2007), osso bovino liofilizado (Lekovic et al., 2002), aloenxerto ósseo liofilizado desmineralizado (DFDBA) (Gurinsky et al. 2004) e osso autógeno (Guida et al, 2007; Trombelli et al., 2006; Cochran et al. 2003) em diferentes tipos de defeitos ósseos periodontais, mostram resultados clínicos melhores quando comparados ao uso de terapias isoladas. Entretanto, não existem na literatura estudos abordando o uso combinado das EMD e do BoneCeramic (BC) (Straumann®) em defeitos ósseos de lesões de furca proximais. Desta forma o objetivo do presente estudo foi avaliar clinicamente o uso do BC isoladamente ou em combinação com as EMD, no tratamento de lesões de furca grau II interproximais.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Lesões de bifurcação**

#### **2.1.1. Definição**

Segundo o glossário de termos periodontais da Sociedade Brasileira de Periodontia (2005), lesão de furca é aquela que ocorre pela perda de inserção dos tecidos de sustentação nas áreas de furca, e deve ser avaliada em seu componente vertical e horizontal. A Academia Americana de Periodontia (AAP, 2001) define lesão de furca como uma reabsorção patológica de osso no interior de furca.

#### **2.1.2. Diagnóstico e classificação**

O adequado diagnóstico das lesões de bifurcação depende da avaliação clínica, radiográfica e trans-operatória detalhada. Embora a avaliação clínica da perda de inserção horizontal realizada sistematicamente no exame periodontal seja fundamental para o diagnóstico das lesões de bifurcação, o conhecimento da morfologia do complexo radicular e das características radiográficas são muito importantes no diagnóstico e tomada de decisão (Muller & Eger, 1999; Papapanou & Tonetti, 2000).

Por definição, a perda de inserção vertical é medida com uma sonda periodontal reta a partir da junção cimento esmalte até a porção mais apical do epitélio juncional, ou em outras palavras, às fibras mais coronárias do aparato de inserção existentes. Com relação à perda de inserção horizontal, que se estabelece a partir do momento em que a lesão inflamatória atinge a entrada da bifurcação, o ponto de referência para sua mensuração é estimado a partir de uma tangente que passa por ambos os cones radiculares no ponto da entrada da bifurcação. Nos casos em que a entrada da bifurcação está subgingival, a concavidade radicular será atingida pela sonda primeiramente, e em seguida o operador deve penetrar na lesão interradicular propriamente dita, sendo assim,

esta variação pode gerar problemas para a realização desta medida e diagnóstico (Muller & Eger, 1999).

O diagnóstico fica ainda mais difícil em molares superiores nos quais, além da entrada de bifurcação vestibular, ainda existem as furcas proximais (mesial e distal). Devido a anatomia característica da região de furca e dificuldade do exame clínico com as sondas retas, desenvolveu-se uma sonda específica para a realização deste exame clínico, denominada sonda Nabers.

Em uma série de artigos, Eickholz e colaboradores (Eickholz & Staehle, 1994; Eickholz, 1995; Eickholz & Kim, 1998) estimaram a validade e confiabilidade da mensuração da perda de inserção horizontal, investigando a sonda de nabers em comparação com a sonda reta rígida. Para todas as sondas utilizadas, a validade da mensuração era maior em molares com entradas da furca mais amplas e nas furcas vestibulares e mesiais, quando o dente adjacente estava ausente (Eickholz & Staehle, 1994). Adicionalmente, observou-se que as sondas horizontais podem frequentemente subestimar a extensão vertical da lesão (Eickholz & Kim, 1998). Contudo, mesmo utilizando instrumentos específicos como a sonda Nabers, Zappa et al (1993) observaram presença de super e subestimação dessas lesões, explicitando a dificuldade do diagnóstico clínico isolado.

Além da avaliação da perda de inserção horizontal, pode-se avaliar a topografia óssea e a extensão real da destruição do tecido duro através das medidas trans cirúrgicas. Estas características acabam muitas vezes por alterar a tomada de decisão quanto ao tipo de tratamento a ser aplicado devido ao fato de que algumas características como tipo de defeito ósseo, número de paredes do defeito, concavidades e projeções e eficiência da instrumentação, podem ser verificadas somente após a reflexão do retalho e instrumentação radicular (Muller & Eger, 1999).

Todavia, para avaliação pós cirúrgica do tratamento aplicado, muitas vezes a reabertura é inviável, sendo assim, a sondagem óssea pode ser útil para

avaliação do preenchimento ósseo. Mealey et al.(1994) avaliaram a acurácia das mensurações dos defeitos de bifurcação comparando a sondagem óssea com as medidas intra-cirúrgicas. Para tanto, 67 pacientes com periodontite moderada ou avançada foram avaliados através da mensuração vertical e horizontal do defeito ósseo sob anestesia local, antes e durante o procedimento cirúrgico. Os resultados mostraram uma concordância entre ambas as medidas; entretanto, a sondagem óssea revelou uma subestimação de aproximadamente 2mm em relação ao trans cirúrgico em 88% dos casos. Sendo assim, geralmente a sondagem óssea subestimava a extensão da lesão, sofrendo influência do tipo do dente e a localização da entrada da furca, que era facilitada após a elevação do retalho e remoção do tecido de granulação.

Semelhantemente, em 2002, Suh et al., avaliaram a acurácia da sondagem óssea para avaliação da topografia do tecido duro. Foram examinadas 30 lesões de bifurcação antes e durante a abertura cirúrgica, posteriormente as mensurações foram comparadas. Em média, a sondagem óssea subestimou a sondagem cirúrgica em 0,9 a 1,1mm. Segundo os autores esta diferença pode ser resultado da remoção involuntária de tecido ósseo quando da instrumentação do tecido de granulação, mesmo assim, os autores afirmaram que a sondagem óssea pode ser uma alternativa confiável das medidas ósseas das lesões de bifurcação.

Adicionalmente, o exame radiográfico tem sido amplamente utilizado como auxiliar no diagnóstico das lesões de bifurcação, em especial para as furcas livres (Do Vale et al. 2009).

Mas, é importante ressaltar que este exame apresenta uma imagem bidimensional das estruturas dentais, provocando sobreposição de tecido ósseo, estrutura radicular e tecido mole. Esta sobreposição, para as bifurcações interproximais dos molares superiores, dificulta o diagnóstico e determinação exata dos limites da lesão. Visando aumentar a precisão da avaliação radiográfica das furcas proximais, Carnevalle et al. (2004) sugeriram a realização de radiografias com diferentes angulações do feixe central para que a perda óssea inter-radicular 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 interproximais.

Sendo assim, para o diagnóstico acurado das lesões de bifurcação faz-se necessária a utilização de exame clínico e radiográfico para a tomada de decisão quanto a indicação do tratamento mais adequado (Papapanou & Tonetti, 2000). Entretanto, em alguns casos as características observadas no momento do acesso cirúrgico podem ser decisivas na tomada de decisão.

Uma vez que a extensão da destruição dos tecidos de suporte inter-radulares é determinante na tomada de decisão terapêutica, diversos autores propuseram classificações levando em conta principalmente a extensão horizontal da perda óssea na região de bifurcação.

Baseando-se na extensão de destruição do tecido ósseo no interior da furca, Glikman (1958), descreveu primeiramente como grau I uma lesão inicial ou incipiente, associada à bolsa supra óssea e leve perda óssea inter-radicular. Na lesão Grau II observa-se uma destruição óssea maior todavia permitindo a penetração parcial da sonda na lesão. Na classe III, o osso inter-radicular está completamente ausente, porém a entrada da bifurcação ainda está recoberta por tecido mole; por fim na classe IV, além da destruição completa do tecido duro, observa-se recessão gengival, deixando a entrada da bifurcação clinicamente visível.

Subsequentemente, a maioria dos autores utilizaram a perda de inserção horizontal absoluta para definir graus ou classes de envoltimentos de bifurcação. Por exemplo, uma perda de inserção horizontal até 2mm (Ramfjord & Ash 1979) ou 3mm (Lindhe & Nyman 1975; Hamp et al., 1975) é designada como grau I, enquanto uma perda horizontal excedendo 2 ou 3mm, mas não trespassando a extensão completa da área da furca, grau II, e, quando o tecido ósseo inter-radicular está totalmente perdido, possibilitando a passagem completa da sonda através da furca, grau III.

Hou et al. (1998), propuseram uma nova classificação dos envoltimentos de bifurcação baseados não somente na perda de inserção vertical

e horizontal, mas também no tamanho do tronco radicular, associando a classificação proposta por Hamp et al.(1975) com três tipos de tronco A, B e C, sendo A o tronco mais curto compreendendo até 1/3 do comprimento do complexo radicular, e C o tronco mais longo, excedendo 2/3 do comprimento total. Concluíram que levar em consideração não só a perda de inserção horizontal e vertical, mas também o comprimento do tronco radicular pode facilitar o diagnóstico, prognóstico e plano de tratamento.

Dentre as diversas classificações propostas a classificação mais utilizada é a de Hamp et al. de 1975, é universalmente aceita, possui alta aplicabilidade e reprodutibilidade. Nessa classificação é avaliada a extensão da perda horizontal dos tecidos de suporte. A penetração da sonda na região inter-radicular menor que 3mm determina a classe I, envoltimentos maiores que 3mm, sem envolver totalmente a região inter-radicular denota classe II, enquanto aquelas em que toda extensão inter-radicular é comprometida seriam classe III. Esta classificação tem sido amplamente utilizada por diversos autores, e será utilizada no presente estudo.

### **2.1.3. Epidemiologia**

Os molares são frequentemente os dentes com maiores percentuais de perda, uma das possíveis causas para esta alta taxa de perda dental é a presença de lesões de bifurcação associadas a estes elementos. Algumas das explicações mais comuns para o envolvimento de furca em molares é a conformação anatômica dos mesmos, a posição mais distal no arco dental (o que dificulta a higienização dos pacientes), e o difícil diagnóstico precoce deste tipo de lesão (Cattabriga et al., 2000).

Diversos estudos epidemiológicos foram realizados a fim de verificar a prevalência das lesões de bifurcação em diferentes populações.

Svärdström & Wennström (1996) 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 (IP) e sangramento à sondagem (SS) e presença de lesão de bifurcação segundo Hamp et al. (1975). Observaram que os molares apresentaram maiores IP e SS, independente da idade do paciente. Quanto a presença de lesões de furca, verificou-se que os molares superiores foram os dentes com maior frequência de lesões, sendo que 50% dos pacientes com mais de 30 anos apresentavam lesão de bifurcação em pelo menos um molar superior. 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 e a dificuldade de higienização da entrada das furcas mais central na face distal. 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 a perda de suporte alveolar possa envolver as áreas de bifurcação mais rapidamente (Svardstron & Wennstrom, 1996).

Soikkonen et al. (1998) avaliaram em uma população de 169 idosos finlandeses (76-86 anos), através de exames radiográficos a ocorrência de cálculo, extensão da perda óssea horizontal, defeitos infra ósseos, número de lesões de furca e restaurações interproximais com sobrecontorno. Apesar do exame utilizado não apresentar uma forte acurácia, observaram que 28% dos indivíduos apresentaram lesões de bifurcação associadas com a presença de restaurações com sobrecontorno e com a presença de defeitos infra-ósseos.

Albandar et al. (1999) avaliaram a prevalência e extensão das doenças periodontais nos Estados Unidos de 1988-1994, através da análise dos dados do NHANES III. Com relação ao envolvimento de bifurcação, a prevalência foi de 13,7% dos indivíduos, representando 6,8% dos dentes posteriores por indivíduo. A prevalência e extensão das lesões de furca aumentou com a idade, sendo que 5,4 % dos pacientes e 2% dos dentes afetados pertenciam aos indivíduos de 30-39 anos e 37,9% dos pacientes e 22,2% dos dentes pertenciam ao grupo etário



de 80-90 anos. Sendo que os dentes mais afetados eram os primeiros molares maxilares e os primeiros molares mandibulares.

Poucos são os estudos que avaliaram clínica e radiograficamente a presença e extensão das lesões de bifurcação, sendo que os existentes foram realizados em diferentes populações, com diversas faixas etárias. Desta maneira, os valores apresentados acima não refletem as condições da população em geral. Estudos mais antigos (Mc Fall 1982, Goldman et al., 1986, Wood, 1989) revelam que, de modo geral, a prevalência de lesões de bifurcação variou de 25-52% dos molares superiores, enquanto os molares inferiores variam de 16-35%. Corroborando com os estudos previamente apresentados, uma maior incidência em molares superiores pode estar relacionada com fatores anatômicos, dificuldade de higienização por conta do paciente e de diagnóstico precoce pelo clínico.

#### **2.1.4. Anatomia**

O conhecimento da morfologia radicular é essencial para o diagnóstico precoce da lesão de bifurcação e tratamento. Quando o suporte periodontal está íntegro, alguns detalhes anatômicos como as concavidades e convexidades estão relacionados com o aumento da área de inserção das fibras do ligamento periodontal, otimizando a ancoragem dos dentes (Hermann et al., 1983).

Entretanto, com a evolução da destruição periodontal, estas áreas anatômicas passam a ficar expostas ao meio bucal, permitindo sua colonização por biofilme dental bacteriano. Visto que as bases da terapia periodontal envolvem a remoção de placa bacteriana, cálculo e descontaminação da superfície radicular pelo clínico (Frumker & Gardner, 1956), o conhecimento da morfologia do complexo radicular (tronco radicular e cones radiculares) é de extrema importância para adequada instrumentação. Em mais da metade dos casos (57%), a entrada da lesão de bifurcação possui diâmetro inferior à largura da lâmina da maioria dos

instrumentos raspadores manuais, demonstrando a dificuldade de acesso ao interior destas lesões (Bower, 1979).

Diversos estudos biométricos foram realizados avaliando a anatomia dos molares e as diferentes estruturas que formam o complexo radicular.

Com relação ao tronco radicular, trata-se de uma estrutura comum à todas as raízes de dentes multirradiculares, tendo como limites a junção cimento esmalte (coronariamente) e o início da bifurcação radicular propriamente dita (apicalmente) (Conde et al., 2001). Em um estudo *in vitro*, Rosemberg (1988) observou uma altura de tronco média de 3 mm na face mesial e na face distal de 5 mm. Estes achados corroboram com os estudos de Gher & Verino (1981) e Gher & Dunlap (1985), que relataram que a entrada da furca mesial seria a mais próxima à JCE, seguida da distal e por fim da furca vestibular.

Wheeler (1977) observou equivalência de altura de tronco para as faces vestibular e mesial, e a face distal apresentando um maior comprimento de tronco. Conde (1994) verificou valores de comprimento médio muito próximos para as três faces, sendo que o tronco da face vestibular tende a ser mais curto do que os das demais faces. O comprimento do tronco radicular deve ser conhecido e levado em consideração no plano de tratamento e quando se avalia o prognóstico de molares com diferentes graus de envolvimento de furca.

Hou et al. (1998) apresentaram uma nova classificação para lesões de furca baseada não somente na perda de inserção horizontal, mas também na perda de inserção vertical e comprimento do tronco radicular. Em molares superiores observaram a seguinte incidência para troncos curtos (terço cervical do comprimento do complexo radicular), troncos médios (metade do comprimento do complexo radicular) e troncos longos (2/3 do comprimento do complexo radicular): 41,0%, 47,1% e 11,9%, respectivamente. Apesar de troncos longos apresentarem a menor incidência, são os tipos de tronco que apresentam pior prognóstico quando combinadas com lesões de bifurcação, uma vez que ao

menos 2/3 do comprimento do complexo radicular encontram-se desprovidos de suporte periodontal.

Nesta região existem ainda variações anatômicas como as projeções cervicais de esmalte, que são prolongamento do esmalte coronário sobre o tronco radicular em direção à concavidade que antecede a entrada da furca. Estas projeções foram classificadas em graus I, II e III, de acordo com o seu grau de avanço pelo tronco radicular (Masters & Hoskins, 1964), sendo que as de grau III invadem a entrada da furca.

Grewe et al. (1965) avaliaram a prevalência, localização e extensão das projeções de esmalte em molares mandibulares e maxilares extraídos. Observaram nos 1<sup>os</sup> e 2<sup>os</sup> molares superiores uma incidência de 8,2% e 23,7%, respectivamente. Sendo que nos 2<sup>os</sup> molares superiores, a prevalência de mais de uma projeção de esmalte é de 3,3%. Com relação à extensão da projeção, observou-se 2 vezes mais projeções classe III, do que classe I, especialmente na face vestibular.

Estes tipos de projeções podem influenciar no tratamento e prognóstico das lesões de bifurcação uma vez que devido a necessidade de existir um espaço biológico mínimo entre a margem gengival e a crista óssea alveolar, o desenho da margem da crista óssea acompanha a morfologia da junção cimento-esmalte (Swann & Hurt, 1976). Sendo assim, dentes com projeções de esmalte grau III, a entrada da furca localiza-se muito próxima à margem gengival, sendo recoberta apenas por epitélio juncional, e mesmo uma mínima perda de inserção leva a exposição da furca (Conde et al., 2001).

Com relação a entrada da região de bifurcação, Gher & Dunlap (1985) estudaram as variações na área da superfície radicular de 20 molares maxilares extraídos e analisaram a localização das entradas das furcas, separação radicular e teto da furca. Verificaram que, em média, a distância da JCE à entrada da furca mesial, vestibular e distal era de 3,6 mm, 4,2 mm e 4,8 mm respectivamente. A

distância da JCE ao ponto em que as raízes se separavam do tronco radicular era de 5,0mm na mesio-vestibular e 5,5 mm na disto vestibular. Quanto à perda de inserção horizontal, quando esta resulta em 6,0 mm ou mais, clinicamente observa-se lesão de bifurcação grau III.

Quanto a conformação do teto da furca, em 55% dos molares o teto da furca estava coronal ao ponto de separação radicular, formando uma concavidade (Gher & Dunlap, 1985). Svadstron & Wennstrom (1988) através de um método fotogramétrico, examinaram a topografia da região de bifurcação e observaram a presença de picos, pontes e barreiras de dentina na região inter-radicular, esta topografia característica, clinicamente dificulta a descontaminação pelo clínico.

Outro fator que influencia no sucesso da instrumentação da região de furca, é a divergência radicular, visto que quanto menos divergente, maior é a dificuldade de entrada do instrumento raspador, influenciando diretamente na quantidade de cálculo residual (Parashis et al.,1993). 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.

Desta forma, uma vez que a entrada, posição e topografia da furca podem determinar o sucesso da terapia, o conhecimento da anatomia e morfologia da região de bifurcação, especialmente das bifurcações proximais de molares superiores, é fundamental para determinar o planejamento mais adequado e prognóstico.

## **2.2. Tratamento das lesões de bifurcação interproximais**

### **2.2.1. Tratamento não cirúrgico**

As lesões de furca representam um desafio para a terapia periodontal de forma geral. Estudos longitudinais demonstraram que dentes com envolvimento de furca apresentam uma maior taxa de perda do que aqueles sem este tipo de lesão (Ross et al., 1978; Hirschfeld et al, 1978). A menor taxa de sucesso

observada em molares com envolvimento de furca pode resultar em parte da incompleta remoção de biofilme e cálculo subgingival devido a anatomia peculiar da região de bifurcação, e em parte do inadequado controle de placa diário realizado pelo paciente, o que pode levar a recolonização por um tipo de biofilme similar ao observado antes da terapia periodontal (Cattabriga et al., 2000).

As lesões de bifurcação classe I (Hamp et al., 1975) têm sido tratadas com sucesso através da terapia não cirúrgica (raspagem e debridamento) e alterações na anatomia da região (Muller et al., 1995). Contudo, a raspagem e alisamento tem se demonstrado inadequada na maioria dos casos, como demonstrado por Wylam et al. (1986), que observou a presença de cálculo residual e placa em 95% dos molares tratados.

A dificuldade de realizar um adequado debridamento através de métodos mecânicos exclusivamente, levou à utilização combinada de agentes químicos nestas regiões. Com o objetivo de avaliar o tratamento não cirúrgico de lesões de furca classe II, Ribeiro et al. (2006), compararam o debridamento radicular isoladamente com o uso adjunto de PVP-I (10%) como solução irrigante. Após 6 meses observaram redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica vertical e horizontal em ambos os tratamentos. Os valores observados foram 2,31mm, 1,17mm e 1,00 mm respectivamente, no grupo controle, e 2,31mm, 1,23mm, e 1,02mm no grupo teste. Entretanto, o uso adjunto do PVP-I não promoveu benefícios adicionais para os parâmetros clínicos estudados.

Em 2007, o mesmo grupo de pesquisadores comparou a resposta de lesões de bifurcação classe II livres e interproximais ao debridamento não cirúrgico sem o uso adjunto de PVPI. Para tanto, 21 furcas livres e 19 proximais foram debridadas com ultrassom e avaliadas por 6 meses. Após este período verificou-se que as furcas proximais apresentaram menor redução da profundidade de sondagem em comparação às furcas livres ( $3,85 \pm 1,13$  e

4,87±0,87mm, respectivamente), sendo estatisticamente significativa. Além disso, observou-se uma maior porcentagem de sítios com profundidade de sondagem ≥ 5mm nas bifurcações interproximais durante todo o período de avaliação e a necessidade de retratamento foi superior para este grupo aos 3 meses de acompanhamento ( $p < 0,05$ ). Os autores concluíram que as lesões de bifurcação proximais apresentam pior resposta ao tratamento não cirúrgico do que as bifurcações livres (Ribeiro et al., 2007).

Conforme o previamente exposto, os piores resultados observados em lesões de bifurcação estão relacionados à dificuldade em se obter um adequado debridamento na região de bifurcação, à anatomia peculiar da região e às dimensões da entrada da bifurcação, dificultando a penetração de instrumentos manuais e ultrassônicos, e à dificuldade de higienização por parte do paciente que está relacionada à anatomia radicular e à posição distal dos molares no arco dental (Cattabriga et al., 2000).

Adicionalmente, deve-se ressaltar que os dentes com envolvimento de bifurcação classe I apresentam alta taxa de sobrevida após terapia não cirúrgica (Huynh-Ba et al., 2009). Com relação aos envoltimentos de furca proximal grau II em face da pobre resposta à terapia não cirúrgica, mais estudos comparando a resposta deste tipo de lesão a diferentes terapias, como o uso adjunto de antimicrobianos, devem ser submetidas a avaliação visando aumentar o sucesso da terapia. Além disso, o desenvolvimento de terapias regenerativas adequadas para a região interproximal devem ser testadas visando a resolução total ou parcial dos defeitos reduzindo assim, a morbidade e aumentando a taxa de sucesso no tratamento dessas lesões.

### **2.2.2. Tratamento regenerativo**

Segundo a Academia Americana de Periodontia (AAP) (2001), a regeneração periodontal consiste na restauração do periodonto perdido. Portanto envolve a formação de novo cemento sobre uma superfície radicular previamente

contaminada, associada a um novo ligamento periodontal e osso alveolar (Cortelli et al., 2005).

O conceito de que as células que repovoam a superfície radicular após a cirurgia periodontal define o tipo de inserção que será formada foi extensivamente estudado (Melcher et al., 1976). Sendo assim, acredita-se que o fator responsável por não ocorrer regeneração periodontal após a terapia periodontal convencional é a migração das células epiteliais para a região do defeito periodontal, previamente à migração das células mesenquimais indiferenciadas (Listgarten et al., 1979), o que leva à formação do epitélio juncional longo (Caton et al., 1980, Bowers et al., 1989, Lindhe et al., 1984). Já a migração de células do tecido conjuntivo, levaria à formação de uma inserção de tecido conjuntivo, seguida de reabsorção radicular (Villar et al., 2010).

Baseando-se nestas hipóteses, e visando a regeneração periodontal, foi desenvolvida a técnica de regeneração tecidual guiada (RTG), cujo princípio biológico consiste na utilização de barreiras físicas com o objetivo de prevenir a migração apical de células epiteliais e do tecido conjuntivo para o defeito periodontal, bem como preservar espaço para que as células do ligamento periodontal e mesenquimais indiferenciadas povoem a ferida cirúrgica, promovendo assim a regeneração periodontal (Gottlow et al., 1986).

Diversos estudos foram realizados a fim de avaliar clinicamente o uso da RTG. De modo geral, esta técnica tem mostrado sucesso no tratamento de defeitos infraósseos e de bifurcação livre (Villar & Cochran, 2010). Contudo, estes resultados não podem ser transpostos para lesões de bifurcação interproximais, as quais apresentam baixa previsibilidade (Murphy & Gunsolley, 2003).

Metzler et al. (1991) avaliaram clinicamente o uso da RTG em lesões de bifurcação de molares superiores. Para tanto, 17 pares de lesões de bifurcação, sendo que destes, 5 pares eram furcas proximais, foram designados a receber um dos seguintes tratamentos: controle: acesso cirúrgico para raspagem e alisamento

radicular e teste: raspagem e alisamento radicular associado a utilização de uma membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e). Após 6 meses, ambos os grupos apresentaram um aumento significativo na recessão gengival, redução da profundidade de sondagem e ganho no nível de inserção clínica, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos para estes parâmetros. Entretanto, observou-se diferença entre os grupos quanto a redução dos componentes vertical e horizontal de lesão de bifurcação, embora o impacto clínico desta diferença seja discutível.

Os autores observaram que as lesões proximais incluídas no estudo apresentaram uma resposta inferior em comparação às furcas livres. Segundo os autores, essa pobre resposta se deve a anatomia do defeito ósseo associado e da região inter-radicular. Nesta região, o pequeno espaço para a entrada de instrumentos raspadores e a dificuldade técnica de adaptação da membrana explicariam os modestos resultados com a RTG.

De forma semelhante, Pontoriero & Lindhe (1995) avaliaram o efeito clínico do uso da RTG no tratamento de lesões de bifurcação classe II maxilares. Um total de 28 pares de defeitos de bifurcação contra laterais, sendo 18 interproximais e 10 livres foram aleatoriamente designados a receber um dos seguintes tratamentos: acesso para raspagem e alisamento radicular isoladamente ou em combinação com o uso de uma membrana de PTFE-e. Após 6 meses, foram realizadas cirurgias de reentrada e avaliação clínica. Nas bifurcações livres, após o acesso para raspagem e alisamento radicular, observou-se aumento da recessão gengival, redução da profundidade de sondagem. Entretanto, não foram observados benefícios no nível de inserção clínica e no preenchimento do defeito ósseo. Já com a utilização da RTG, houve menos retração gengival, maior ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito.



Com relação as lesões de bifurcação interproximais, não foi observada diferença estatística entre os grupos para nenhum dos parâmetros clínicos avaliados. Os parâmetros ósseos verificados na cirurgia de reentrada mostraram que o uso da RTG em bifurcações proximais foi capaz de promover pequenas mudanças na arquitetura óssea inter-radicular, entretanto, sem diferença para as lesões que receberam apenas o acesso para raspagem e alisamento radicular.

Os resultados obtidos por Pontoriero & Lindhe (1995) corroboram com os achados de Metzler et al. (1991) e as possíveis justificativas para os insuficientes resultados obtidos com RTG em bifurcações interproximais novamente são a dificuldade de acesso para raspagem, presença de sulcos que dificultam a adaptação da membrana e a anatomia do defeito proximal.

Avera et al. (1998) avaliaram clinicamente a resposta de 8 pares de bifurcações mesiais ao tratamento com membranas de PTFE-e. Cada lado dos pares de lesões de bifurcação foi aleatoriamente designado a receber o tratamento controle (acesso para debridamento) ou tratamento teste (acesso para debridamento associado à membrana). Após 9 meses foram realizadas cirurgias de reentrada para a avaliação do preenchimento ósseo do defeito e diferentemente dos estudos previamente apresentados, observou-se diferença estatística entre os grupos quanto à redução da profundidade de sondagem ( $1,50 \pm 0,53$  mm a favor da RTG) e ganho de inserção clínica ( $1,50 \pm 0,46$  mm a favor da RTG), revelando melhores resultados quando foram utilizadas membranas de PTFE-e. Quanto ao preenchimento do defeito de bifurcação, na cirurgia de reentrada também foram observados melhores resultados para o grupo teste.

Entretanto, algumas observações importantes devem ser levadas em consideração na interpretação destes resultados. No estudo de Avera et al. (1998), o preenchimento da furca por um tecido borrachóide foi considerado como sucesso, mas a presença deste tecido não indica se houve regeneração

verdadeira (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar). Em outros trabalhos, durante a cirurgia de reentrada o referido tecido borrachóide é removido previamente às medidas de preenchimento ósseo da região. Esta diferença metodológica pode ter gerado resultados divergentes entre os estudos.

Apesar dos resultados a princípio animadores encontrados por Avera et al.(1998), o tratamento com RTG em lesões de bifurcação interproximais não é previsível, e os resultados observados são inferiores e inconstantes em relação às bifurcações livres (Jepsen et al., 2002). É recorrente nos trabalhos previamente descritos a justificativa de que a baixa previsibilidade da técnica regenerativa em furcas proximais está relacionada à dificuldade de acesso dos instrumentos raspadores e principalmente à adaptação e recobrimento das membranas por tecido mole e exposição precoce das membranas.

Neste contexto, Villaça et al.(2004) avaliaram a influência das concavidades radiculares quando é realizada RTG. 10 pacientes exibindo 10 pares de bifurcações classe II mandibulares receberam RTG, sendo que em um dos grupos foi utilizada a membrana convencional, e no outro foi realizada uma modificação na membrana visando uma melhor adaptação na região de concavidade. Após 1 ano, não foram observadas diferenças entre os grupos nos parâmetros clínicos: redução da profundidade de sondagem, mudanças no nível de inserção clínica e resolução do defeito vertical. Foi observada diferença na porcentagem de resolução do defeito de bifurcação. Apesar da diferença observada na última variável, fica evidente a influência da concavidade radicular, que está presente em 94% dos dentes com envolvimento de bifurcação (Lu et al., 1992).

Sendo assim, os autores concluíram que a modificação na conformação da membrana pode resultar em benefícios clínicos com relação a resolução do defeito horizontal. Contudo, o estudo de Villaça et al. (2004) foi realizado em bifurcações mandibulares. Quando se considera as bifurcações proximais

adicionalmente a presença da concavidade, ainda existe a complexidade da adaptação da membrana no reduzido espaço interproximal e a dificuldade da manutenção da membrana recoberta por tecido mole.

Neste contexto, Machtei et al. (2001) realizaram uma meta-análise sobre o efeito da exposição precoce da membrana sobre os resultados obtidos com a RTG quando utilizada em defeitos infra ósseos, de bifurcação e ao redor de implantes. Com relação aos defeitos de bifurcação foram incluídos estudos em maxila e em mandíbula totalizando 101 sítios. Quarenta e três destes sítios sofreram exposição precoce enquanto 58 permaneceram submersos. Foi realizada a comparação entre os sítios expostos e submersos e verificou-se que a média de ganho de inserção horizontal foi ligeiramente maior nos sítios recobertos do que nos expostos ( $3,72\pm 0,15$  e  $3,06\pm 0,15$ , respectivamente), demonstrando assim a influência ainda que sutil da exposição da membrana nos resultados obtidos com RTG.

Na referida meta-análise não foi feita a separação entre lesões de bifurcação livres e interproximais, sendo assim o real efeito da exposição da membrana nesta região ainda é desconhecido, uma vez que somado ao efeito da exposição da membrana ainda existe a dificuldade de higienização crítica na região interproximal favorecendo a colonização bacteriana.

No estudo de Avera et al. (1998), realizado exclusivamente em lesões de bifurcação interproximais, a taxa de exposição de barreiras chegou a 100%. 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, contaminação da membrana e 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 a um ganho inferior (1 mm em média) àqueles sítios em que a membrana foi exposta após a 4ª semana.

Observou ainda 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.

Desta forma, pode-se inferir que os modestos resultados da RTG em bifurcações interproximais está relacionado à dificuldade técnica do uso das membranas no espaço interproximal, adaptação nesta região com anatomia peculiar e manutenção das mesmas recobertas por tecido mole

Sendo assim, o uso de técnicas regenerativas que não envolvam o uso de membranas seriam de grande utilidade nas regiões interproximais. Neste contexto, o uso de enxertos e substitutos ósseos, proteínas derivadas da matriz do esmalte ou o uso combinado dessas técnicas podem ser alternativas viáveis para o tratamento destes defeitos críticos.

### **2.3. Proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD)**

#### **2.3.1 Estudos *in vitro*, *in vivo* e histológicos**

A regeneração das estruturas de suporte perdidas devido a doença periodontal é o objetivo final da terapia periodontal (Caton & Greenstein, 1993). Uma estratégia para promover a regeneração periodontal é mimetizar eventos específicos que ocorrem no desenvolvimento dos tecidos de suporte durante a organogênese dental (Giannobile & Somerman, 2003); a utilização das proteínas derivadas da matriz do esmalte baseia-se neste princípio.

As EMD consistem em uma combinação de proteínas derivadas da matriz do esmalte provenientes de dentes suínos em desenvolvimento (Hammarstrom & Gestrelus, 1997). Sua composição é semelhante as EMD humanas diferindo somente pela quantidade de proteínas ricas em prolina - não amelogeninas (Sculean et al., 2003). Sugere-se que este material - em especial a fração amelogenina do composto - possui a capacidade de induzir a formação de cimento acelular e assim contribuir para a regeneração dos tecidos periodontais (Chitsazi et al., 2007).

Estas proteínas são capazes de mimetizar os eventos que ocorrem durante o desenvolvimento do elemento dental. O desenvolvimento dos tecidos periodontais ocorre durante o crescimento e formação dos dentes, no início da fase embrionária, quando as células do tubo neural do embrião migram para o primeiro arco branquial, formando uma faixa de ectomesênquima. Após a formação da lâmina dental, iniciam-se os estágios que darão origem ao dente e seus tecidos periodontais, são as fases de botão, capuz e campânula. Durante o estágio de capuz, as células ectomesenquimais se condensam em relação ao epitélio oral (órgão dental), formando a papila dentária e o folículo dentário que dará origem aos tecidos periodontais de suporte.

As células do órgão dental proliferam-se na direção apical formando uma dupla camada denominada bainha epitelial de hertwig (BEH). Quando a formação da dentina radicular começa, as células internas da BEH sintetizam e liberam proteínas relacionadas a matriz do esmalte, provavelmente pertencentes à família da amelogenina. Ao final do processo de formação da raiz, a BEH se fenestra e as células ectomesenquimais entram em contato com a superfície radicular e com as proteínas derivadas matriz do esmalte. Desta forma diferenciam-se em cementoblastos e iniciam a produção de tecido cementóide, fibroblastos do ligamento periodontal e osteoblastos, produzindo a camada mais superficial do processo alveolar (Lindhe et al., 2004).

Nesse processo de formação do ligamento periodontal, células ectomesenquimais indiferenciadas oriundas do folículo dentário permanecem aprisionadas no ligamento, participando da renovação dos tecidos locais (Hammarstrom, 1997). A indução de diferenciação destas células mesenquimais indiferenciadas aprisionadas no ligamento através do uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte é capaz de promover a regeneração periodontal.

Através do conhecimento do papel das EMD na formação de cemento acelular e ligamento periodontal, diversos estudos foram realizados avaliando o seu potencial regenerativo.

Um dos primeiros estudos realizados com as EMD foi o de Hammarstrom et al. (1997). Com o objetivo de avaliar os efeitos da aplicação local de proteínas derivadas da matriz do esmalte em diferentes veículos, os autores realizaram um estudo histomorfométrico em defeitos de deiscência em macacos. Três veículos foram testados: dextranos, hidroxietil celulose e alginato propilenoglicol. Defeitos de deiscência foram criados na veribular do 1º molar superior, e as várias composições de EMD foram aplicadas. Após 8 semanas, o padrão de cicatrização foi avaliado sob microscopia de luz e comparações morfométricas foram realizadas.

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 controles, nos quais não foram aplicadas nenhuma das formulações teste, 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.

Com o objetivo de investigar os mecanismos pelos quais as EMD induzem a regeneração periodontal, Gestrelus et al. (1997,b) realizaram um estudo *in vitro* avaliando a habilidade das EMD em estimular migração, aderência, proliferação, atividade biosintética e formação de nódulos minerais nas células do ligamento periodontal.

Os resultados demonstraram que as EMD aumentaram a proliferação de células do ligamento periodontal, mas o mesmo não ocorreu para as células epiteliais. Houve aumento na produção de proteínas e fibras colágenas das células do ligamento periodontal e, através do ensaio de Von Kossa, verificou-se que as EMD foram capazes de promover a formação de nódulos minerais. Os autores avaliaram também a presença de fatores de crescimento (GM-CSF, calbindin D, EGF, fibronectin, bFGF, gamma-interferon, IL-1 beta, 2, 3, 6; IGF-1,2; NGF, PDGF, TNF, TGF beta), porém, não foi observada a presença de nenhum destes. Sendo assim, concluíram que os agregados proteicos 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, conseqüentemente, a regeneração periodontal.

Posteriormente aos estudos em animais e *in vitro*, Heijl et al. (1997), realizaram o primeiro estudo histológico em humano. Em 1 voluntário que possuía um incisivo inferior indicado para extração foi realizada a cirurgia experimental na qual foi criado um defeito de deiscência na vestibular, seguida da aplicação de EMD e reposicionamento e sutura dos retalhos. Durante o período de cicatrização não foi registrado nenhum problema; após 4 meses, o dente em questão e o tecido de suporte adjacente foram removidos para avaliação histológica.

A avaliação histológica revelou a formação de novo cemento acelular de fibras extrínsecas (CAFE), o qual estava firmemente aderido a dentina subjacente e recobria 73% do defeito. Adicionalmente, um novo ligamento

periodontal com fibras colágenas inseridas e osso alveolar estavam presentes, sendo que o ganho de osso alveolar era de 65% da altura do defeito antes da cirurgia. Os autores concluíram que o uso das EMD pode fornecer o potencial para que ocorra verdadeira regeneração periodontal.

Após o primeiro estudo realizado em humanos, e os bons resultados da utilização das EMD tendo como veículo o alginato de propilenoglicol, essa combinação passou a ser comercializada (EMDOGAIN®). A partir desse momento inúmeros estudos foram realizados visando o melhor entendimento dos mecanismos pelo quais as proteínas derivadas da matriz do esmalte promovem a regeneração periodontal.

Van der Paw et al. (2000) avaliaram *in vitro* o efeito das EMD nos fibroblastos do ligamento periodontal e gengivais. As amostras foram coletadas de indivíduos periodontalmente saudáveis e cultivadas em meio de cultura contendo EMD, colágenos tipo I purificado ou seus respectivos veículos, por 48 horas. Observaram que os fibroblastos gengivais pouco aderiram e espalharam-se sobre o substrato contendo EMD, enquanto que os fibroblastos do ligamento periodontal aderiram-se nas primeiras 24 horas. Verificaram ainda que na presença das EMD houve um aumento da expressão e atividade de fosfatase alcalina (especialmente no ligamento periodontal) e da síntese e liberação de TGF 1 $\beta$  (fibroblastos do ligamento periodontal e gengivais). A fosfatase alcalina está associada à diferenciação celular e cementogênese, já TGF 1 $\beta$  é um fator de crescimento associado à cicatrização dos tecidos e à regeneração periodontal. Sendo assim, os autores sugeriram que as EMD são capazes de estimular a proliferação das células do ligamento periodontal e influenciar sua diferenciação em cementoblastos beneficiando conseqüentemente a regeneração periodontal.

Além do estímulo à adesão e diferenciação fibroblástica, sugere-se que as EMD são capazes de induzir tanto os fibroblastos do ligamento periodontal quanto os do tecido gengival a produzir hialuronidase e proteoglicanas que são substâncias presentes na matriz do ligamento periodontal. Uma vez que a matriz é



a base para agregação e diferenciação celular, as EMD seriam capazes de, indiretamente, iniciar um processo que levaria à regeneração dos tecidos periodontais (Haase & Bartold, 2001).

Adicionalmente, Keila et al. (2004) investigaram os efeitos das EMD em fibroblastos gengivais e células da medula óssea de ratos. Com relação aos efeitos sobre os fibroblastos gengivais, as EMD foram capazes de estimular a proliferação de fibroblastos, entretanto não foram capazes de induzir a diferenciação osteoblástica. Já sobre as células da medula óssea, as EMD levaram ao aumento da capacidade osteogênica, evidenciada pelo aumento da fosfatase alcalina e formação de nódulos minerais.

Além do estímulo de células como fibroblastos, do ligamento periodontal e medula óssea, sugere-se que as EMD possuem capacidade angiogênica, como foi observado por Kauvar et al. (2010). Os autores avaliaram *in vivo* a atividade angiogênica utilizando EMD na membrana coriônica de ovos de galinha em desenvolvimento. Ao final do estudo observaram que os ovos tratados com EMD apresentaram um grau de vascularização comparável ao obtido com a utilização de fator de crescimento vascular endotelial.

Tendo sido realizados diversos estudos investigando os diferentes mecanismos pelos quais as EMD levam a regeneração periodontal, ao longo do tempo uma gama de estudos histológicos foram realizados para comprovar *in vivo* os resultados obtidos com as EMD.

Yukna et al. (2000) avaliaram histologicamente em humanos o efeito das EMD no padrão de cicatrização do defeito periodontal. Dez dentes com periodontite crônica avançada e defeito infra-ósseo foram tratados por meio de acesso para raspagem e aplicação das EMD. Após 6 meses, foram realizadas biópsias incluindo o dente experimental e o tecido periodontal circunjacente. A avaliação histológica mostrou que em 3 casos houve a regeneração periodontal propriamente dita (formação de novo cemento, ligamento periodontal e osso

alveolar), em 3 casos apenas reinserção das fibras e em 4 casos houve a formação de epitélio juncional. Os autores concluíram, dentro dos limites do estudo, que o Emdogain é capaz de promover a regeneração periodontal, contudo de forma inconsistente.

Em 2004, Sakallioğlu et al. realizaram um trabalho histológico avaliando o padrão de cicatrização do defeito periodontal em cães, comparando o uso das EMD ao condicionamento da superfície radicular com ácido ortofosfórico. As avaliações foram realizadas após 7, 14, 21 e 28 dias. Como resultado, os autores observaram que as EMD promoveram 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 cimento acelular. A análise histopatológica dos dentes mostrou que o grupo que recebeu EMD apresentou uma maturação óssea maior aos 28 dias e um menor epitélio juncional, quando comparado ao grupo controle. Os autores afirmam que o uso das EMD pode promover a regeneração periodontal em cães, com novo cimento acelular, ligamento e osso alveolar, com maturação adequada dos tecidos neoformados, após 28 dias.

Outro estudo em cães, realizado por Sallum et al. (2004) avaliou o uso das EMD utilizadas isoladamente em comparação à RTG, associação de RTG e EMD e acesso para raspagem e alisamento radicular isoladamente. Histologicamente, os autores observaram que para o grupo que recebeu acesso para raspagem e alisamento radicular (OFD) o padrão de cicatrização mais frequentemente encontrado era a formação do epitélio juncional longo. Em todos os grupos, incluindo o grupo OFD observou-se a formação de cimento extendendo-se coronariamente em variados graus, sendo que no grupo OFD foi mais limitada.

Em todos os grupos tratados com EMD, a presença de cimento acelular foi mais constante do que nos demais grupos. Além disso, a formação

óssea pareceu ser mais evidente nos grupos que receberam EMD. Os resultados histométricos verificaram uma formação de novo cimento, estatisticamente superior, para os grupos EMD, RTG ou a associação desses em comparação ao grupo controle. Dessa forma, os autores mostraram que a associação das técnicas regenerativas não promove benefício adicional ao tratamento em relação ao uso das mesmas técnicas isoladamente, sendo assim as EMD poderiam ser uma alternativa viável.

Desta forma, os estudos *in vitro*, *in vivo* e histológicos forneceram evidência com relação aos efeitos do uso das EMD no padrão de cura do defeito periodontal e os mecanismos de ação pelos quais pode promover a regeneração periodontal. Posteriormente, diversos estudos clínicos foram realizados em humanos, em defeitos infra ósseos, lesões de bifurcação e recessão gengival a fim de avaliar clinicamente os benefícios da utilização das EMD.

### **2.3.2 Estudos clínicos em lesões de bifurcação**

Diversos autores avaliaram a utilização das EMD no tratamento de defeitos infra ósseos e lesões de bifurcação mandibulares e maxilares, entretanto poucos são os estudos clínicos controlados randomizados (RCTs) em lesões de bifurcação. Os estudos apresentados a seguir foram selecionados por tratarem-se de RCTs e que portanto podem trazer uma evidência científica forte.

Jepsen et al. (2004) avaliaram clinicamente a utilização das EMD (teste) em lesões de bifurcação mandibulares classe II em comparação ao uso de membranas (controle). Após 14 meses observaram que ambos os tratamentos proporcionaram ganhos clínicos significativos com relação a redução da profundidade de sondagem horizontal do defeito. Entretanto observou-se uma maior frequência de fechamento completo da lesão no grupo teste (18%) do que no grupo controle (7%). Os autores concluem que ambos os tratamentos estariam indicados para lesões de bifurcação mandibulares cl II, entretanto o EMD mostrou-se superior com relação a redução da profundidade horizontal do defeito. Sugerem

que as barreiras, apesar de também serem capazes de promover o fechamento completo da lesão, o fazem de forma imprevisível.

Adicionalmente, o mesmo grupo de autores (Meyle et al., 2004) publicou os resultados referentes às variáveis secundárias do estudo previamente mencionado (alterações marginais no tecido duro, nível da margem gengival, profundidade vertical de sondagem, nível de inserção clínica, índice de placa e sangramento a sondagem) após o mesmo período de avaliação (14 meses). Não observaram diferenças estatísticas em favor do EMD para nenhuma das variáveis secundárias, exceto para a posição da margem gengival. Observou-se uma maior retração gengival na face vestibular no grupo tratado com membrana (-0,5 mm) enquanto no grupo tratado com EMD a alteração da posição da margem gengival foi insignificante (-0,13 mm).

Hoffman et al. (2006) avaliou no mesmo grupo de pacientes dos estudos previamente mencionados (Jepsen et al., 2004; Meyle et al., 2004) a influência de fatores relacionados ao paciente, como fumo, idade, gênero e higiene bucal nas variáveis clínicas primárias e secundárias estudadas. Com relação ao parâmetro redução da profundidade horizontal do defeito (variável primária) observou que nos pacientes não fumantes houve superioridade do tratamento com as EMD quando comparado com o uso de membrana, enquanto no grupo dos fumantes não foi observada esta diferença, sugerindo uma possível influência do fumo nos resultados de regeneração. Relatou ainda que em pacientes do gênero masculino, maiores de 54 anos, e com pobre higiene bucal ainda foi possível observar uma menor redução da profundidade de sondagem e profundidade horizontal do defeito.

Ainda no tratamento de lesões de furca grau II mandibulares, Chitsazi et al. (2007), avaliaram o uso das EMD em comparação ao acesso para raspagem. Após 6 meses observaram no grupo tratado com EMD, maior ganho de inserção clínica horizontal (30% maior que no grupo de acesso para raspagem

isoladamente), maior preenchimento vertical e horizontal do defeito ósseo (32% mais). Os autores concluíram que o uso do EMD adjunto ao acesso para raspagem pode melhorar os resultados clínicos e resolução do defeito.

De modo geral, os estudos que utilizaram EMD em lesões de bifurcação mandibulares classe II demonstraram uma melhora nos parâmetros clínicos horizontais de tecido mole e duro (Jepsen et al., 2004; Meyle et al., 2004; Hoffmann et al., 2006; Chitsazi et al., 2007). Todavia, nas lesões classe II proximais (maxilares), os resultados clínicos não são tão promissores, em parte devido a anatomia complexa da região, dificuldade de descontaminação e higienização diária.

Com relação às lesões de bifurcação maxilares, Casarin et al. (2008) avaliaram clinicamente a utilização das EMD em lesões de bifurcação interproximal comparando com o uso de EDTA 24%. Após um período de 6 meses não se observou diferença estatística entre os grupos para profundidade de sondagem, retração gengival, nível de inserção clínica vertical e horizontal e nível ósseo vertical e horizontal. Entretanto observou-se uma maior frequência de conversão de lesões de furca grau II para grau I no grupo tratado com EMD.

Após 2 anos (24 meses), os mesmos parâmetros clínicos foram reavaliados (Casarin et al., 2010), e os resultados observados aos 6 meses com relação a diferença entre os tratamentos se mantiveram, ou seja, sem diferença para todos os parâmetros clínicos entre os grupos. Com relação a frequência de lesões de furca que permaneceram grau II, foi observada uma maior frequência (2x mais) no grupo que recebeu acesso associado ao EDTA 24%, do que no grupo tratado com EMD.

Desta forma, considerando os resultados modestos obtidos com EMD em lesões de furca proximais, a utilização deste material associado aos enxertos e substitutos ósseos pode ser uma alternativa viável, pois combinaria as propriedades biológicas do EMD com a osteocondução promovida pelos

substitutos ósseos, assim podendo melhorar a resolução do defeito e regeneração periodontal.

## **2.4. Enxertos e Substitutos ósseos**

### **2.4.1. Substitutos ósseos (Materiais aloplásticos)**

Os substitutos ósseos têm sido amplamente utilizados com o objetivo de promover neo formação óssea e regeneração periodontal. O acesso para raspagem e alisamento radicular fornece condições para descontaminação das superfícies radiculares, bem como para a realização de alterações anatômicas ósseas e dentais, porém, não tem por si só o potencial de restauração ou regeneração da estrutura periodontal perdida. Desta forma, uma grande variedade de materiais como enxertos e substitutos ósseos, tem sido utilizada e avaliada clinicamente incluindo enxertos autógenos, alógenos, xenógenos e materiais aloplásticos (Reynolds et al.,2010).

Os substitutos ósseos, que são sintéticos ou podem ser obtidos do processamento do exoesqueleto de outras espécies, são uma alternativa aos enxertos autogenos ou alógenos. Estes materiais não fornecem os elementos celulares necessários para osteogênese ou osteoindução. Sua função é atuar como arcabouço ou matriz para a adesão, proliferação e ancoragem de osteoblastos, ou seja, funcionar como osteocondutor (Aichelmann-Reidy & Yukna, 1998).

Quando se utiliza um material aloplástico para preenchimento de um defeito periodontal, não se promove regeneração periodontal verdadeira, mas sim, reparo periodontal, desta forma não ocorre a restauração completa anatômica e morfológica do aparelho de inserção. Clinicamente, o sucesso da terapia regenerativa é verificado através da redução da profundidade de sondagem, aumento da inserção clínica, e evidência radiográfica de preenchimento ósseo.

Sendo assim, a evidência definitiva da regeneração periodontal só pode ser fornecida após a avaliação histológica.

Neste contexto, Reynolds et al. (2003) realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de verificar a eficácia clínica dos substitutos ósseos no tratamento de defeitos ósseos periodontais, em comparação com o acesso para raspagem e alisamento radicular. Após a revisão sistemática e meta-análise de estudos clínicos controlados e randomizados, os autores concluíram que para defeitos infra-ósseos estes materiais eram capazes de aumentar o preenchimento ósseo, reduzir a reabsorção da crista óssea alveolar, aumentar a inserção clínica e reduzir a profundidade de sondagem, quando comparados ao acesso para raspagem e alisamento radicular.

Com relação ao tratamento das lesões de bifurcação classe II, devido a insuficiência de estudos com metodologia similar, não foi possível realizar a meta-análise, entretando, após a revisão sistemática, os autores concluíram que de forma geral os estudos apontavam benefícios na redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento do defeito com o uso dos substitutos ósseos em relação ao acesso.

Histologicamente, os enxertos autogenos e alógenos foram capazes de promover a formação de um novo aparato de inserção; já os materiais aloplásticos, promoveram reparo periodontal (Hanes et al., 2007; Reynolds et al., 2010).

Os materiais aloplásticos são substitutos ósseos biocompatíveis, inorgânicos e sintéticos. Estes materiais são divididos em duas grandes classes: cerâmicos e polímeros, sendo que a composição, morfologia e topografia de superfície são responsáveis pela propriedade osteocondutora que favorece o crescimento ósseo sob a superfície do material. Os materiais cerâmicos, como o HA/ $\beta$ -TCP, exercem sua função através da osteocondução, outros materiais

cerâmicos comercialmente disponíveis incluem o tricálcio fosfato, a hidroxiapatita, o sulfato de cálcio e o vidro bioativo (Laurencin et al, 2006).

#### **2.4.2. $\beta$ Tricálcio fosfato – Hidroxiapatita**

Os substitutos ósseos aloplásticos apresentam propriedades osteocondutoras e de manutenção de espaço, e têm sido utilizados isoladamente, ou em associação com outros materiais e RTG.

Dentre os diversos materiais disponíveis, recentemente foi introduzido um material totalmente sintético, composto por uma mistura bifásica particulada de 60% de hidroxiapatita (HA) e 40% de  $\beta$  tricálcio fosfato ( $\beta$ -TCP) (Zafiropoulos et al., 2007). O referido material encontra-se comercialmente disponível sob o nome de Bone ceramic® (Straumann, Malmo, Suíça).

Os benefícios clínicos da utilização do uso do composto HA/ $\beta$ -TCP no tratamento de lesões de bifurcação ainda não foi elucidado, entretando, ambos os componentes da mistura, tanto a hidroxiapatita quanto o  $\beta$  tricálcio fosfato têm sido estudados ao longo do tempo no tratamento de defeitos periodontais.

Kenney et al. (1988) avaliaram clinicamente a utilização de hidroxiapatita porosa (HA) (teste) em defeitos de bifurcação classe II em molares inferiores em comparação ao acesso para raspagem e alisamento radicular (controle). Após 6 meses, foram realizadas medidas clínicas para avaliação de profundidade de sondagem e nível de inserção clínica, e cirurgia de re-entrada para mensurar o preenchimento ósseo do defeito. Os autores verificaram que o grupo que recebeu HA mostrou maior redução na profundidade de sondagem, melhora no nível de inserção clínica e preenchimento do defeito do que o grupo controle.

Similarmente, Lekovic et al (1990) avaliaram a utilização da hidroxiapatita porosa em combinação com RTG no tratamento de lesões de bifurcação classe II mandibulares e compararam os resultados obtidos com o uso



de RTG isoladamente. Após 6 meses os autores realizaram medidas clínicas e trans-cirúrgicas e observaram que o grupo que recebeu o tratamento combinado (HA associado a RTG) apresentou menos recessão gengival, e maior preenchimento do defeito do que o grupo tratado com RTG exclusivamente.

Ellinger et al.(1986), em um relato de caso avaliou histologicamente a utilização de HA e observou que o material era capaz de fornecer um adequado arcabouço para o crescimento de novo osso.

Adicionalmente, o tricálcio fosfato tem sido avaliado clínica e histologicamente no tratamento de defeitos infra ósseos (Jarcho et al., 1981; Stahl et al., 1986; Bowers et al., 1986; Froum et al.,1987).

Stahl et al.(1986) utilizaram o tricálcio fosfato em 8 defeitos infra ósseos, após 8 meses, foram realizadas avaliações clínicas e remoção em bloco dos dentes experimentais e periodonto circunjacente. Clinicamente os autores observaram uma recessão gengival média de 2,9mm e um ganho de inserção clínica de 2,6mm. Histologicamente foram observadas partículas do material enxertado em todas as amostras. Observaram também que as partículas não pareceram aumentar a nova inserção ou elicitarem algum tipo de resposta inflamatória, funcionando, portanto, como material de preenchimento inerte. Microscopicamente, o fechamento das lesões observado clinicamente era traduzido em reparo com limitada evidência de nova inserção conjuntiva, adjacente ao preenchimento observou-se a presença de epitélio juncional longo.

De maneira similar, Bowers et al.(1986) avaliaram histologicamente a utilização de tricálcio fosfato em defeitos infra-ósseos. Após 1 ano as biópsias apresentaram partículas cerâmicas, associadas à evidência de formação de tecido osteoide e fragmentos de osso maduro, evidenciando a propriedade osteocondutora do material.

De modo geral, o uso do tricálcio fosfato tem se mostrado capaz de promover benefícios na redução da profundidade de sondagem e preenchimento do defeito. Entretanto, histologicamente, não promove a formação de inserção periodontal, osteogenese ou cementogênese. Contrariamente, observa-se a formação de um epitélio juncional longo, e presença de partículas do material enxertado em avaliações de curto prazo (3-6 meses). Adicionalmente, o tricálcio fosfato sofre reabsorção de maneira imprevisível nos fluidos bucais e em uma variedade de solventes. Portanto, o tricálcio fosfato poderia não fornecer um arcabouço seguro para o crescimento de novo osso (Jarcho et al., 1986; Jepsen et al., 2002).

Contudo, estudos de desenho similar aos previamente descritos mas, com períodos de observação mais longos (16-40 meses) observaram nova formação óssea e degradação do material enxertado.

Saffar et al. (1990) avaliaram em 5 biopsias a capacidade osteocondutora do tricálcio fosfato. As avaliações histológicas foram realizadas de 16 a 40 meses após a colocação do biomaterial. Nas amostras menos maduras (16 meses) observaram a presença do material enxertado circundado por um tecido conjuntivo altamente fibroso, celular e pobremente vascularizado. Na superfície do material observaram cavidades similares a lacunas de Howship contendo fagócitos. Após um maior período de observação (40 meses) os grânulos de TCP apresentaram-se inseridos em um material fibroso e acelular que passou por mineralização (do espaço medular em direção aos grânulos), sendo evidente a presença de osso neoformado. Os autores concluíram que o TCP possui um potencial osteocondutor e pode ser degradado em humanos.

Handschel et al.(2002) avaliou o potencial de osteocondução e a capacidade de reabsorção do tricálcio fosfato em defeitos de calvária em ratos. Após 6 meses os animais foram sacrificados e foi realizada a análise histológica. Observaram que não existia evidência de degradação do TCP, o qual se

apresentava circundado por uma fina camada fibrosa sem a presença de osteoblastos ou evidências de mineralização. Sendo assim, a divergência entre os estudos leva à incerteza quanto ao potencial osteocondutor do tricálcio fosfato utilizado isoladamente.

Embora ambos os materiais, tanto o HA quanto o TCP, sejam amplamente utilizados no tratamento de defeitos ósseos periodontais, suas propriedades biológicas (osteocondução/degradação) possuem limitações. O composto HA/ $\beta$ -TCP foi desenvolvido com o objetivo de superar estas limitações, aumentando a propriedade de osteocondução através do controle de sua degradação e manutenção da característica de arcabouço.

Em 1992, Nery et al. realizaram um estudo em modelo animal com o objetivo de determinar uma taxa ótima de HA/ $\beta$ -TCP para melhorar a efetividade do reparo em defeitos ósseos periodontais. Sete tipos de misturas contendo diferentes taxas de HA/ $\beta$ -TCP e 1 grupo controle foram utilizadas, e os sítios foram avaliados clinicamente e histologicamente após 6 meses. Todas as misturas levaram a maiores ganhos na PS e no NIC do que o grupo controle. Dentre os 7 grupos testados, dois deles contendo uma proporção de 65/35 e 85/15 de HA/ $\beta$ -TCP, respectivamente, apresentaram maiores ganhos na profundidade de sondagem e no nível de inserção clínica do que os grupos que possuíam 100% de HA ou de  $\beta$ -TCP. Histologicamente, as misturas que possuíam uma maior taxa de HA mostraram neo formação óssea acelerada e nova inserção. Sendo assim, observou-se um efeito sinérgico com a utilização de uma maior taxa de HA (60-65%) e menor de  $\beta$ -TCP (35-40%).

Fleckenstein et al (2006) avaliaram o efeito do uso do HA/ $\beta$ -TCP no reparo ósseo em defeitos críticos em calvária em ratos. Quatro tratamentos foram testados: (DFDBA), disco macroporoso, microporoso e grânulos de HA/ $\beta$ -TCP. Dez semanas após o procedimento cirúrgico as amostras foram avaliadas histometricamente. O grupo que recebeu DFDBA apresentou maior neo formação

óssea do que os demais grupos, entretanto, os grupos que receberam os tratamentos contendo HA/ $\beta$ -TCP também foram capazes de elicitar neo formação óssea, devido a sua capacidade de arcabouço e manutenção de espaço, bem como pela presença de poros favorecendo o crescimento vascular.

Em humanos, o uso do HA/ $\beta$ -TCP foi avaliado no tratamento de defeitos infra-ósseos em comparação ao acesso para raspagem e alisamento radicular e preenchimento do defeito com osso autógeno. Após 3 anos de avaliação, o ganho de inserção clínica observado foi de 1,0mm no grupo tratado com HA/ $\beta$ -TCP, 0,9mm no grupo de acesso e 0,4mm no grupo tratado com osso autógeno. Embora o grupo que recebeu HA/ $\beta$ -TCP tenha apresentado um maior ganho, a diferença não foi estatisticamente significativa, e os autores concluíram que os três tratamentos foram igualmente eficientes no ganho de inserção (Nery et al., 1990).

Apesar dos resultados desanimadores observados por Nery et al. (1990), em 2007, Zafirooulos et al. avaliaram o HA/ $\beta$ -TCP em combinação com RTG e osso autógeno, e comparado com RTG + osso autogeno + osso bovino, e RTG + osso autógeno. Após 12 meses, os grupos RTG + osso autogeno + osso bovino e RTG + osso autogeno + HA/ $\beta$ -TCP apresentaram melhores resultados com relação a preenchimento do defeito e ganho de inserção clínica do que o grupo que recebeu somente osso autógeno. Os melhores resultados observados poderiam ser atribuídos à capacidade osteocondutora do material aloplástico.

Poucos estudos clínicos foram realizados com a utilização deste material em defeitos infra-ósseos, e não existem estudos clínicos que avaliem os resultados clínicos da utilização de HA/ $\beta$ -TCP em defeitos de bifurcação, especialmente nos defeitos interproximais. De maneira geral, sabe-se que os substitutos ósseos são osteocondutores, e clinicamente são capazes de promover melhoras no NIC, PS e preenchimento do defeito, todavia, discute-se a capacidade destes materiais em promoverem regeneração periodontal verdadeira. Visando a regeneração periodontal e melhores resultados clínicos, seria uma

alternativa combinar as propriedades osteocondutoras dos materiais aloplásticos com as propriedades biológicas das proteínas derivadas da matriz do esmalte.

## **2.5. Terapia combinada**

Uma vez que a utilização de membranas para o tratamento de bifurcações interproximais tem se mostrado insatisfatória (Pontoriero & Lindhe, 1995; Metzler 1991), outras alternativas de tratamento regenerativo foram propostas para o tratamento de bifurcações interproximais. Todavia, o tratamento alternativo proposto por Casarin et al. (2008), utilizando proteínas derivadas da matriz do esmalte não demonstrou a curto e longo prazo benefícios nos parâmetros clínicos PS, NIC vertical e horizontal, nível ósseo (NO) vertical e horizontal.

Possivelmente, os resultados obtidos com o uso das EMD podem ter sofrido influência de fatores locais e técnicos como a localização do sítio, morfologia do defeito ósseo e da raiz, e características físicas do material escolhido. As EMD por exemplo, por possuírem uma natureza viscosa, fazem com que o gel não seja capaz de promover um suporte para o tecido mole, o que, durante a cicatrização, seria necessário para prevenir retração gengival e formação de crateras. Além disso, a viscosidade da EMD não é capaz de manter o espaço necessário para a formação dos novos tecidos, dificultando uma regeneração periodontal adequada (Mellonig, 1999; Lekovic et al. 2000; Zucchelli et al., 2003; Gurinsky et al. 2004).

Com o objetivo de melhorar os resultados clínicos, o uso de terapias regenerativas combinadas parece ser promissor. Sendo assim, a utilização de EMD associado a enxertos substitutos ósseos é uma alternativa (Lekovic, 2000; Velasquez-Plata 2002), já que seria possível adicionar às propriedades biológicas do EMD os benefícios fornecidos pelos enxertos substitutos ósseos (Sculean et al., 2007).

Alguns estudos utilizando o tratamento combinado de EMD com algum tipo de enxerto substituto ósseo em defeitos infra ósseos, como o vidro bioativo (Sculean et al., 2005, 2007), osso bovino liofilizado (Camargo et al., 2001; Lekovic et al., 2002), DFDBA (Gurinsky et al. 2004; Harris et al., 2007) e osso autógeno (Guida et al., 2007; Trombelli et al., 2006; Cochran et al. 2003) mostraram resultados clínicos melhores quando comparados ao uso de terapias isoladas.

Com relação a terapia combinada em lesões de bifurcação, avaliando o uso da terapia combinada (EMD + substituto ósseo) somente 2 estudos foram encontrados, sendo um em modelo animal e outro em humanos.

Fernandes et al. (2005) investigaram histológica e histometricamente a eficácia das EMD associada ao vidro bioativo (BG) e membrana absorvível, no tratamento de lesões de furca classe III em cães. Os tratamentos compreenderam 3 modalidades: teste 1- EMD + BG + membrana, teste 2- EMD + membrana e controle- BG + membrana. Após 90 dias, as três modalidades de tratamento apresentaram preenchimento parcial do defeito e resultados similares com relação a formação de cimento, extensão do epitélio juncional, preenchimento ósseo, tecido conjuntivo e regeneração (soma da área de cimento e novo osso). Os autores concluíram que as três modalidades de tratamento foram capazes de promover preenchimento parcial do defeito e regeneração periodontal limitada à porção mais apical dos defeitos.

Entretanto deve-se considerar que trata-se de um estudo em animais, com um defeito crítico (classe III), pouco previsível quando se considera a terapia regenerativa. Outro fator que pode ter contribuído para os resultados similares entre os grupos é a utilização da RTG.

Somente 1 estudo clínico foi realizado em humanos avaliando o uso da terapia combinada EMD + enxerto ósseo em defeitos de bifurcação classe II, sem a utilização da RTG adjunta. Aimetti et al. (2007) avaliaram clinicamente os resultados obtidos no tratamento de lesões de bifurcação mandibulares classe II

utilizando a combinação EMD + osso autógeno. Após 24 meses observaram ganhos significantes nos níveis de inserção clínica vertical e horizontal, sendo que de 11 sítios tratados, 4 apresentaram fechamento completo de lesão de bifurcação e os demais foram reduzidos para defeitos classe I. Entretanto, por se tratar de uma série de casos não houve comparação com outros grupos de tratamento, como somente enxerto, ou somente EMD. Sendo assim, existe uma falta de evidência científica avaliando o benefício da utilização da terapia combinada (substituto ósseo + EMD) em relação ao uso das terapias isoladas (substituto ósseo ou EMD), e RTG.

Dentre os diversos substitutos ósseos disponíveis para utilização combinada, uma opção seria o HA/ $\beta$ -TCP, uma vez que o material possui capacidade osteocondutora e de manutenção de espaço, e associado às EMD poderia promover um efeito sinérgico ao efeito biológico, sem contudo, influenciar como osteoindutor ou osteogênico.

### **3. PROPOSIÇÃO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar, clinicamente, por meio de um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego a utilização do  $\beta$  tricálcio fosfato + hidroxiapatita (HA/ $\beta$ -TCP) isoladamente ou em combinação com as proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD) no tratamento de lesões de bifurcação interproximais classe II.



## **4. MATERIAIS E MÉTODO**

### **4.1. Considerações éticas**

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade estadual de campinas (FOP-UNICAMP), sob o protocolo nº 127/2008, em 13/11/2008. Foi elaborado um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) de acordo com as normas estabelecidas pelo comitê de ética e o mesmo foi entregue aos pacientes antes do início do tratamento periodontal.

### **4.2. Seleção dos pacientes**

Após o exame de triagem (realizado entre 01/12/2008 e 01/04/2009), foram selecionados para serem submetidos às terapias regenerativas propostas, 45 pacientes dentre aqueles que procuraram tratamento periodontal na clínica de pós graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão:

- Presença de periodontite crônica moderada a severa;
- Presença de defeitos de bifurcação classe II (Hamp et al, 1975) interproximais em molares superiores (mesial ou distal);
- Profundidade de sondagem, após raspagem e alisamento radicular sem acesso cirúrgico, maior ou igual a 5 mm, com sangramento à sondagem (45 dias após a terapia básica);
- Adequado controle de placa bacteriana após a terapia básica, ou seja, presença de índice de placa total inferior a 20% (Ainamo & Bay, 1975);

Critérios de exclusão:

- 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 (a partir de 6 meses antes do início do tratamento);
- Presença do hábito do tabagismo;
- Presença de alteração periapical ou pulpar nos dentes envolvidos no estudo;
- Dentes tratados endodonticamente;

#### **4.3. Preparo dos pacientes**

Todos os pacientes selecionados foram submetidos à anamnese, exame extra e intra oral, e exame periodontal completo incluindo avaliação dos índices de placa e gengival (Ainamo & Bay, 1975) e de sangramento à sondagem (Mulleman & Son, 1972), profundidade de sondagem (PS), posição da margem gengival (PMG), nível de inserção clínica (NIC) e lesão de bifurcação. Adicionalmente, foram realizadas radiografias periapicais de boca toda.

Após estas avaliações, os pacientes receberam tratamento periodontal incluindo orientação de higiene bucal, raspagem supra gengival, remoção de fatores de retenção de placa (restaurações com excesso ou mal adaptadas) e raspagem subgengival nos sítios que apresentaram doença.

Após a terapia básica periodontal, aqueles pacientes que apresentaram pelo menos uma lesão de bifurcação interproximal com  $PS \geq 5\text{mm}$ , com sangramento a sondagem, foram selecionados para receber a terapia regenerativa.

#### **4.4. Parâmetros clínicos e períodos de avaliação**

Para a análise dos parâmetros clínicos o estudo contou com apenas um examinador previamente calibrado, submetido a um teste de concordância intra-examinador e cego (MFSP).

Para a calibração intra examinador um total de 15 indivíduos (não incluídos no estudo) apresentando lesões de bifurcação interproximais classe II foram selecionados. Dentro de um período de 24 hrs, com pelo menos 1 hr de

intervalo entre os exames, estes indivíduos foram submetidos à mensuração das variáveis nível de inserção clínico vertical relativo (NICVR) e nível de inserção clínico horizontal relativo (NICHR). A reprodutibilidade das mensurações era considerada satisfatória quando a porcentagem de concordância ( $\pm 1$ mm) entre as medidas repetidas era de 90%. A correlação intra classe foi calculada para cada um dos parâmetros resultando em 91% de reprodutibilidade para o NICVR e 93% para o NICHR.

Com relação à randomização e ao cegamento, o tratamento que seria empregado em cada lesão de bifurcação foi definido durante o procedimento cirúrgico por meio de sorteio. O sorteio foi realizado por um operador (RCVC) diferente daquele que realizou o procedimento cirúrgico (EDPR) e diferente do examinador (MFSP). O tratamento ao qual a lesão de bifurcação foi designada não foi revelada ao paciente, ao examinador e ao esteticista.

Para padronização da localização e angulação da sonda periodontal durante os exames clínicos de sondagem nos períodos pré-operatório imediato e 6 meses após o procedimento cirúrgico, foram confeccionados guias orientadores de sondagem obtidos a partir de modelos de estudo em gesso comum, com placas de acrílico de 1,0 mm de espessura, em plastificador a vácuo. Foi identificado o ponto de entrada da lesão de bifurcação (mesio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual ou disto-lingual), e nesta região, foi confeccionada uma canaleta, no guia orientador de sondagem, com o propósito de padronizar as sondagens realizadas no baseline e após 6 meses (Figura 1).



Figura 1. Guia orientador de sondagem (Stent) e canaleta para identificação da entrada da bifurcação (seta).

As mensurações dos parâmetros clínicos verticais (posição da margem gengival, profundidade de sondagem, nível de inserção clínico vertical relativo e nível ósseo vertical relativo) foram realizadas com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada de 15 mm de comprimento (Carolina do Norte, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) e, para a avaliação dos parâmetros horizontais (nível de inserção clínico horizontal relativo e nível ósseo horizontal relativo) utilizou-se uma sonda milimetrada curva de 15 mm de comprimento (Trinity, São Paulo, SP, Brasil) específica para medição de defeitos de furca (Figura 2). Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados no baseline (antes do procedimento cirúrgico) e após 6 meses:



Figura 2. Sonda Carolina do Norte (localizada na parte inferior da figura) e sonda milimetrada curva específica para avaliação dos parâmetros horizontais (localizada na parte superior da figura)

**a- Posição da margem gengival relativa (PMGR):** distância da demarcação no guia orientador de sondagem até a margem gengival.

**b- Profundidade de Sondagem (PS):** distância da margem gengival à base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

**c- Nível de inserção clínico vertical relativo (NICVR):** distância da demarcação no guia orientador de sondagem até a base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

**d- Nível de inserção clínico horizontal relativo (NICHHR):** distância da demarcação no guia orientador de sondagem à porção mais profunda do componente horizontal, clinicamente detectável, da lesão de bifurcação.

**e- Nível ósseo vertical relativo (NOVR):** distância vertical da demarcação no guia orientador de sondagem até a crista óssea alveolar.

**f- Nível ósseo horizontal relativo (NOHR):** distância horizontal da demarcação no guia orientador de sondagem até a base óssea do componente horizontal da lesão de bifurcação.

Adicionalmente, no intuito de monitorar a higiene bucal dos pacientes foram realizados índices de placa e gengival de boca toda (Ainamo & Bay, 1975) e presença ou ausência de biofilme e sangramento à sondagem (Mulleman & Son, 1971) na região da furca proximal incluída no estudo, tanto no período baseline como no período pós-operatório.

#### **4.5. Procedimentos cirúrgicos**

Antes do início dos procedimentos cirúrgicos todos os pacientes realizaram bochecho com uma solução de digluconato de clorexidina a 0,12% e foi feita antissepsia extra bucal com clorexidina a 0,2%.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um único operador (EDPR), diferente do examinador (MFSP).

Realizou-se a sondagem do defeito de bifurcação com uma sonda Nabers graduada, a seguir foi aplicada na região anestesia infiltrativa com lidocaína a 2% + epinefrina 1:100 000 (DFL, Jacarepaguá, RJ, Brasil) posteriormente, com uma lâmina 15 C (Swann-Morton, Sheffield, England) foram realizadas incisões intra-sulculares e um retalho de espessura total, com adequada extensão para acesso ao defeito de bifurcação, foi elevado (Figura 3). A remoção de cálculo e tecido de granulação foi realizada com curetas de Gracey (Hu-friedy, Chicago, IL, USA) e com um aparelho ultrassônico (Cavitron, Dentsply, Tulsa, OK, USA) utilizando pontas específicas para defeitos de bifurcação (UI25KFPset, Hu-Friedy. Chicago, IL, USA).

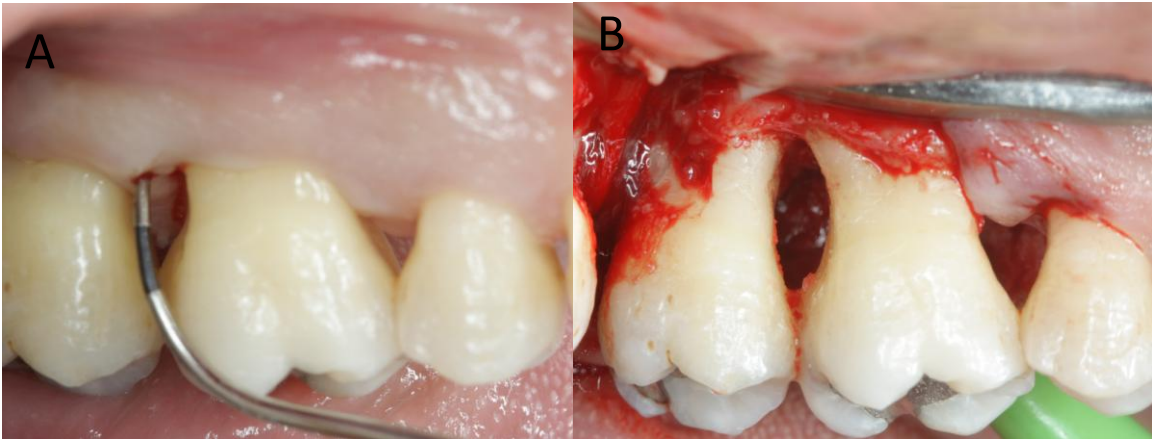


Figura 3. (A) Sondagem do defeito de bifurcação com a sonda nabers (pré operatorio imediato) (B) Retalhos totais elevados, visualização do defeito de bifurcação e defeito ósseo adjacente (vestibular).

A região foi lavada com soro fisiológico estéril e o diagnóstico da lesão de bifurcação classe II foi confirmado com sonda Nabers graduada (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) (Figura 4).



Figura 4. Confirmação do diagnóstico da lesão de bifurcação após debridamento e raspagem e alisamento radicular.

Neste momento, conforme previamente descrito, por meio de sorteio cada dente foi aleatoriamente designado a receber um dos seguintes tratamentos : Grupo controle: Preenchimento do defeito com HA/ $\beta$ -TCP (BoneCeramic,



Straumann®) (Figura 5). Para utilização do bone ceramic o mesmo foi hidratado com solução fisiológica estéril por meio de gotejamento. O material foi então acomodado no defeito de bifurcação com o auxílio de uma espátula de inserção.



Figura 5. Grupo Controle: Preenchimento do defeito ósseo e de bifurcação com BoneCeramic (Straumann®) hidratado com soro fisiológico.

Grupo teste: Aplicação de EMD (Emdogain, Straumann®) sobre a superfície radicular, associado ao preenchimento do defeito com a mistura de HA/ $\beta$ -TCP e EMD (Figura 6), seguido de nova aplicação de EMD após a sutura.

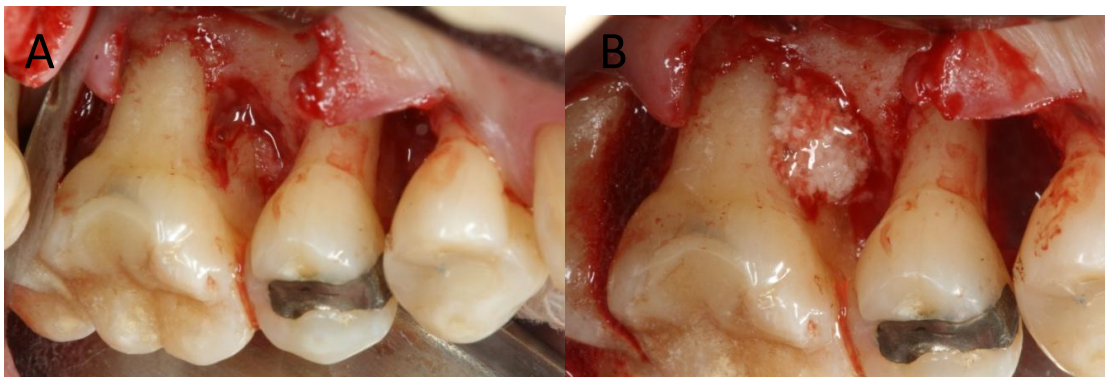


Figura 6. Grupo teste: EMD aplicado sobre a superfície radicular (A), defeito preenchido com BoneCeramic (Straumann®) hidratado com EMD (B).

Finalmente, os retalhos foram reposicionados e suturados com um fio de poligalactina 5.0 (Vicryl, Johnson&Jonhson, São José dos Campos, Brazil), com suturas de colchoeiro modificado e simples (Figura 7).

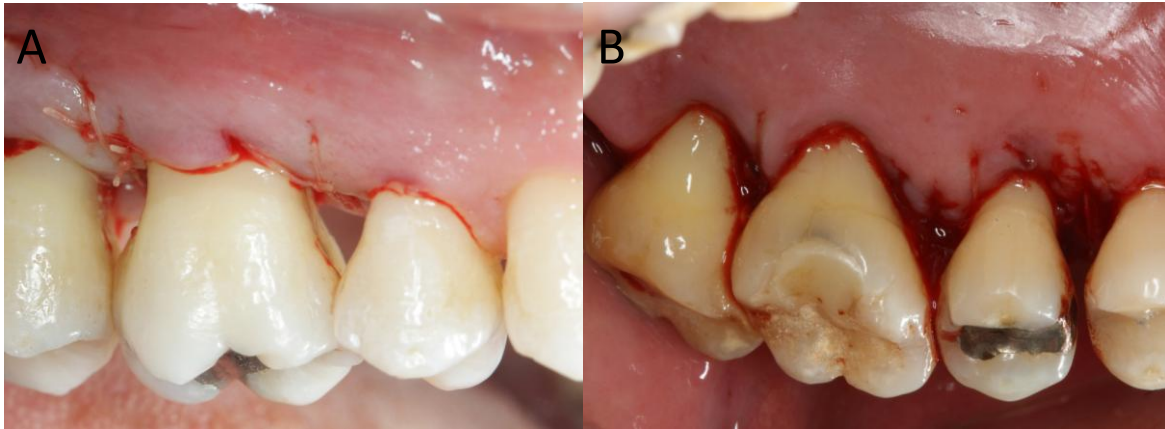


Figura 7. Retalhos reposicionados e suturados. (A) - Grupo controle, (B) – Grupo teste.

#### 4.6. Parâmetros trans-cirúrgicos

Com a finalidade de determinar as características anatômicas do defeito de bifurcação foram realizadas mensurações trans-cirúrgicas dos seguintes parâmetros:

- a- Medida vertical do defeito ósseo: distância da JCE até a base do defeito ósseo (figura 8 - x);
- b- Distância Interdental: distância entre as raízes do dente selecionado para a do dente adjacente, na base do defeito;
- c- Divergência das Raízes: distância entre as raízes do dente selecionado, 2 mm abaixo do fórnix do dente (figura 9);
- d- Altura da Furca: medida do fórnix até a base do defeito na porção central da lesão de bifurcação (figura 8 - y);
- e- Medida Horizontal do defeito ósseo: medida da entrada da furca até o limite do defeito no interior da furca (figura 10).



f- Tronco radicular: medida do fórnix até a junção cimento-esmalte do dente (figura 8 - z).

Adicionalmente, era anotado o tipo de defeito ósseo presente na região, sendo classificado como defeito horizontal, vertical (nº paredes) ou cratera. As medidas transcirúrgicas foram realizadas pelo operador que realizou os procedimentos cirúrgicos (EDPR) com a utilização de uma sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (PCP15, Hu-Friedy, Chicago, USA).

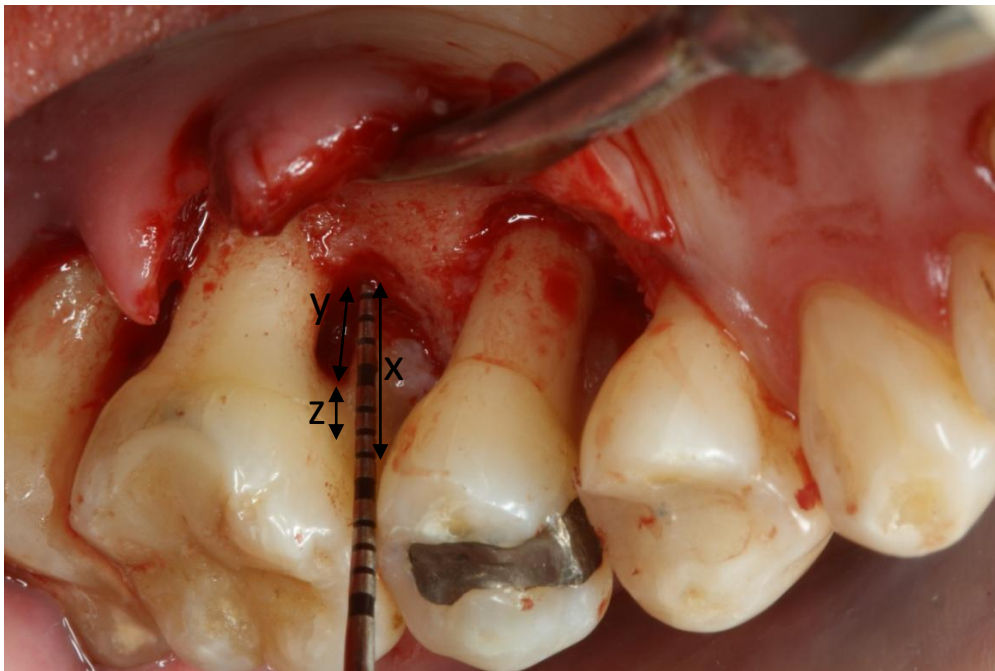


Figura 8. Medida vertical do defeito ósseo: distância da JCE até a base do defeito ósseo (x); altura da Furca: medida do fórnix até a base do defeito na porção central da lesão de bifurcação (y); tronco radicular: medida do fórnix até a junção cimento-esmalte do dente (z).

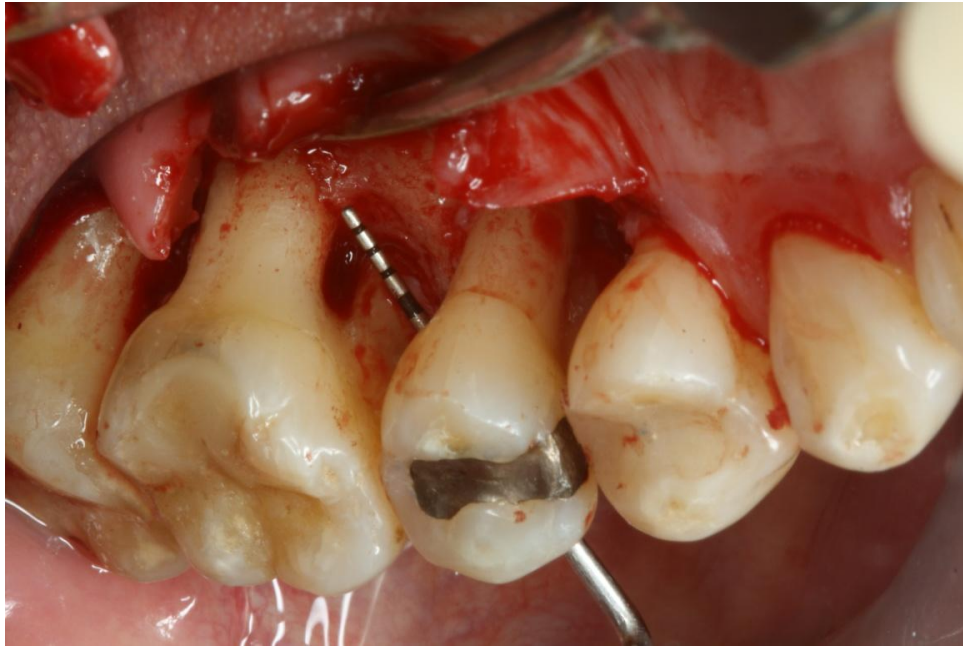


Figura 9. Divergência das Raízes: distância entre as raízes do dente selecionado, 2 mm abaixo do fórnix do dente.



Figura 10. Medida Horizontal do defeito ósseo: medida da entrada da furca até o limite do defeito no interior da furca.

#### **4.7. Protocolo medicamentoso e terapia de suporte**

Foi solicitado que os pacientes suspendessem a escovação da região operada por 15 dias, até que fosse removida a sutura, e para controle do biofilme supra gengival, foram instruídos a realizar bochechos com uma solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, duas vezes ao dia, por 15 dias, 30 minutos após a escovação dos demais dentes.

Em relação ao controle da dor e desconforto, foi realizada analgesia pré emptiva, administrando-se 1 comprimido de dexametasona (4 mg) (EMS, S. Bernardo do Campo, SP, Brasil) 1 hora antes do procedimento cirúrgico, e no período pós opreatório, os pacientes foram instruídos a ingerir 1 comprimido de Dipirona 500mg (EMS, S. Bernardo do Campo, SP, Brasil) a cada 4 horas, nas primeiras 48 horas.

Todos os pacientes entraram num progama de terapia de suporte com chamadas regulares, realizadas quinzenalmente, no primeiro mês, e mensalmente até o sexto mês. Durante estas consultas, o examinador (MFSP) questionava os pacientes quanto a alterações na história médica sistêmica e avaliava os parâmetros clínicos periodontais. Posteriormente, era realizada profilaxia e raspagem supra e/ou sub gengival conforme o necessário.

#### **4.8. Análise estatística**

O cálculo da amostra foi realizado no software Biostat 4.0, e para detectar uma diferença de 2 mm entre os tratamentos, com o  $\alpha = 0.05$  e desvio padrão de 1 mm, o tamanho da amostra foi determinado em 13 pacientes para cada grupo. Devido ao fato de que alguns pacientes poderiam ser excluídos do estudo, após a fase de terapia básica, ou no momento do procedimento cirúrgico pelo fato de o diagnóstico da lesão não ser confirmado como classe II, inicialmente foram selecionados 50 pacientes.

Para verificar a diferença entre as idades médias dos pacientes entre os grupos, foi utilizado o teste t de Student não pareado. Os parâmetros anatômicos

dos defeitos de cada grupo foram avaliados também por meio do teste t Student não pareado.

As variáveis PMGR, PS, NICVR, NICHR, NOVR e NOHR (paramétricas) apresentaram variância homogênea, sendo aplicada a Análise de Variância de Medidas Repetidas (ANOVA) para a comparação entre os grupos e entre os tempos de avaliação (baseline e 6 meses). O teste Tukey foi realizado para verificar as diferenças observadas no ANOVA, estas análises foram realizadas utilizando o programa SAS 9.0.

Os percentuais de Índice de Placa e Sangramento dos pacientes para avaliação entre os tempos e entre os grupos foram analisados pela análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) e pelo teste de Tukey, utilizando o programa SAS 9.0.

A análise da mudança de classe da lesão de bifurcação foi realizada pelo teste exato de Fisher. O nível de significância determinado para todos os testes realizados foi de 5%.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Considerações Clínicas**

Trezentos pacientes foram examinados entre 01/12/2008 e 01/04/2009. Destes, 50 foram classificados como elegíveis por apresentarem lesão de bifurcação interproximal inicialmente diagnosticada como classe II. Após a terapia básica, 5 pacientes foram excluídos por não apresentarem  $PS \geq 5$  mm com sangramento à sondagem no sítio correspondente a lesão de bifurcação. Quarenta e cinco pacientes foram selecionados para o procedimento cirúrgico por apresentarem após a terapia básica os critérios de inclusão pré-estabelecidos. Dos 45 pacientes selecionados após a terapia básica, 15 foram excluídos, sendo que, 14 foram excluídos durante o procedimento cirúrgico (5 apresentavam furca I, 9 apresentavam furca III) e 1 devido ao não comparecimento na avaliação pós operatória de 6 meses (Figura 11).

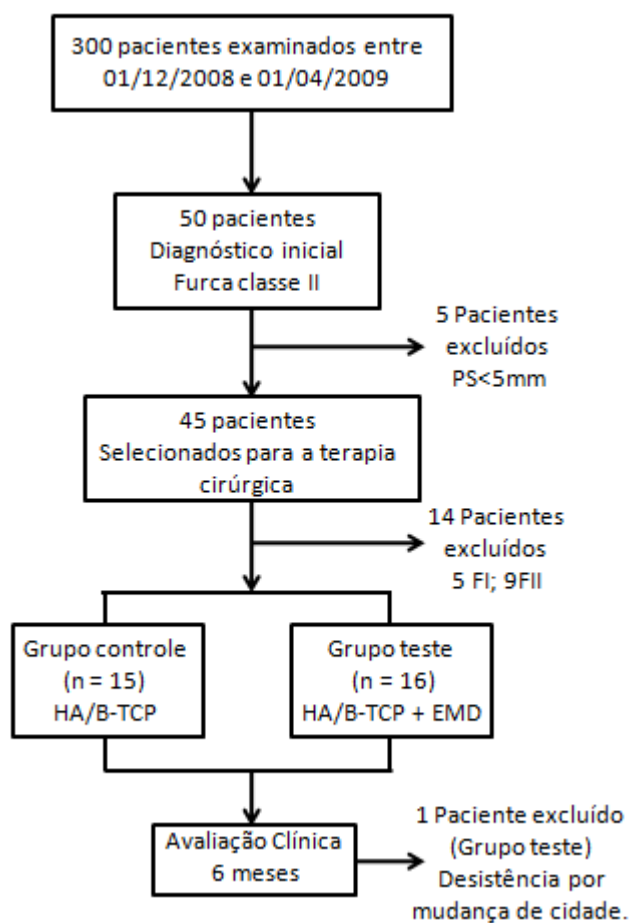


Figura 11. Fluxo de pacientes envolvidos no estudo.

Não foram observados em nenhum dos grupos a ocorrência de processos agudos ou intercorrências de maior importância, entretanto observou-se a presença de crateras interproximais na região operada em 18 pacientes, especialmente durante os primeiros três meses de acompanhamento.

## 5.2. Características da população estudada

Foram incluídos no estudo e acompanhados por 6 meses, 30 pacientes (9 homens e 21 mulheres), que contribuiriam com 30 lesões de bifurcação interproximais. A idade média foi de 44 ( $\pm 8,12$ ) anos, 40,7 anos no grupo controle e 48 anos no grupo teste, sem diferença entre os grupos.

### 5.3. Características dos defeitos ósseos

As características anatômicas dos defeitos incluídos no estudo estão apresentadas na tabela 1. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e teste em nenhum dos parâmetros transcirúrgicos (características anatômicas), sendo que o parâmetro “medida horizontal direta” apresentou valores médios de  $4,27 \pm 1,39$  mm no grupo controle e  $3,87 \pm 1,13$  mm no grupo teste, caracterizando lesões de furca grau II (Hamp, 1975).

Tabela 1. Medidas (média  $\pm$  desvio padrão) anatômicas dos defeitos incluídos no estudo.

	Divergência	Medida vertical do defeito ósseo	Medida Horizontal do defeito ósseo	Distância Interdental	Tronco Radicular	Altura Furca
CONTROLE	2,27 $\pm$ 0,70	7,53 $\pm$ 1,95	4,27 $\pm$ 1,39	3,00 $\pm$ 0,68	3,96 $\pm$ 0,91	3,75 $\pm$ 1,86
TESTE	2,04 $\pm$ 1,10	7,67 $\pm$ 1,96	3,87 $\pm$ 1,13	2,80 $\pm$ 0,59	3,93 $\pm$ 1,27	3,67 $\pm$ 1,45
p*	0,53	0,85	0,39	0,39	0,94	0,89

\* Teste t de student não pareado.

A tabela 2 apresenta a distribuição dos tipos de defeito ósseo associados à lesão de furca. Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto ao tipo de defeito ( $p > 0,05$ ), sendo que no grupo controle houve 9 lesões associadas a defeitos horizontais, 3 lesões associadas a crateras e 3 a verticais. No grupo teste 8, 2 e 5 respectivamente.

Tabela 2. Distribuição, número (%) dos defeitos ósseos associados às lesões de furca segundo sua morfologia (tipo do defeito).

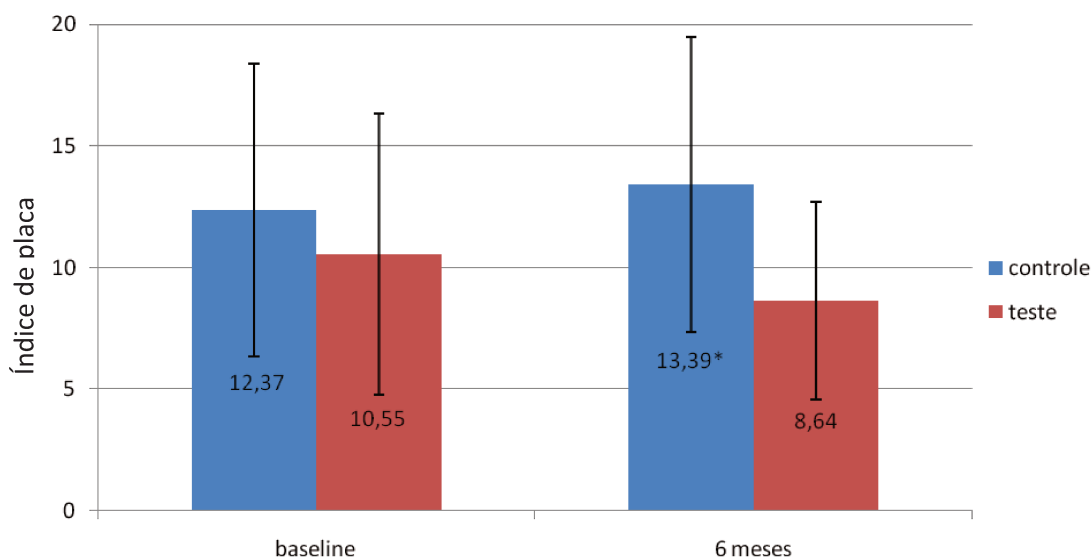
	Horizontal	Cratera	Vertical
CONTROLE	9 (60%)	3 (20%)	3 (20%)
TESTE	8 (53,3%)	2 (13,3%)	5 (33,3%)

\* Teste Exato de Fisher. Ausência de diferença estatística ( $p > 0.05$ )

## 5.4. Parâmetros clínicos

### 5.4.1. Índice de placa e índice gengival

Os valores de índice de placa e gengival de boca toda foram mantidos inferiores a 20% durante todo o período de avaliação do estudo. No baseline não foi observada diferença estatística entre os grupos, entretanto, após 6 meses o grupo controle apresentou maior valor de índice de placa em relação ao grupo teste, sendo estatisticamente significativa ( $p = 0.02$ ) (figura 12).

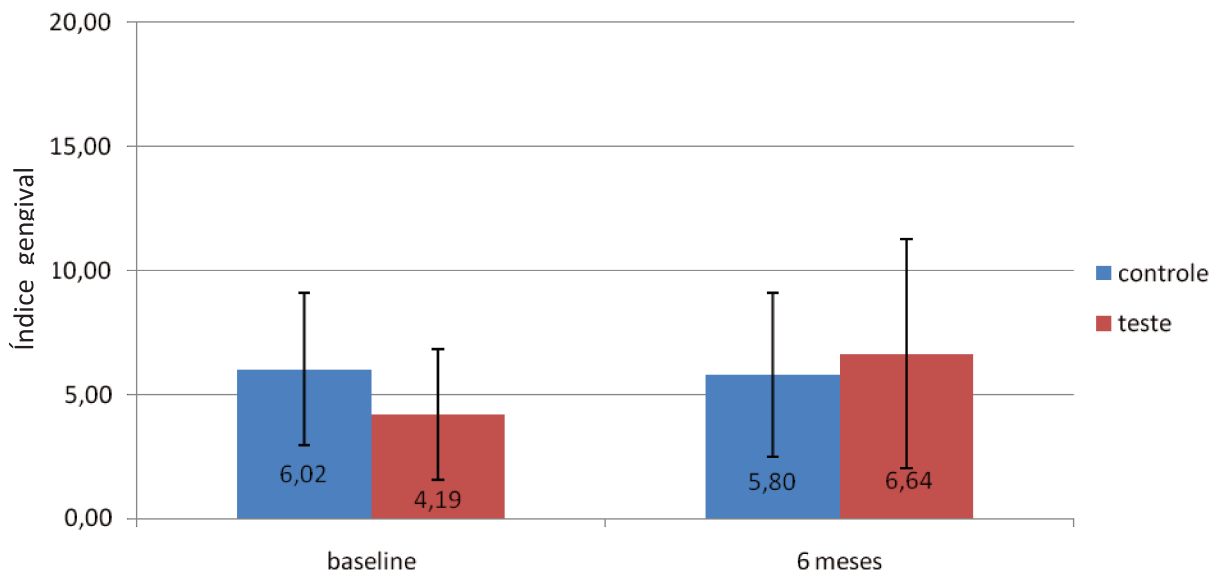


\* ANOVA de medidas repetidas – Tukey ( $p < 0,05$ ).

Figura 12. Índice de placa de toda a boca, para ambos os grupos nos diferentes períodos de avaliação.



Com relação ao índice gengival, não foi observada diferença estatística intra e inter grupo no baseline e após 6 meses (figura 13).



ANOVA de medidas repetidas – Tukey, ausência de diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

Figura 13. Índice gengival de toda a boca, para ambos os grupos nos diferentes períodos de avaliação.

#### 5.4.2. Presença de sangramento a sondagem e placa no sítio

Foi avaliada a presença ou ausência de sangramento e biofilme na região da furca proximal incluída no estudo. No baseline, não foi observada diferença estatística entre os grupos na frequência de sítios com sangramento a sondagem (100% em ambos os grupos) e com presença de placa (46,7% em ambos os grupos). Após 6 meses, observou-se uma maior frequência de sítios com sangramento a sondagem no grupo controle (33,3%), enquanto no grupo teste nenhum sítio apresentou sangramento à sondagem ( $p < 0,05$ ) (tabela 3). Com relação à presença de placa, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (tabela 4).

Tabela 3. Frequência e % de sítios exibindo sangramento à sondagem após 6 meses.

SANGRAMENTO À SONDAJEM		
	PRESEANÇA	AUSÊNCIA
CONTROLE	5 (33,3%)*	10 (66,7%)
TESTE	0 (0%)	15 100%)

\*Teste exato de Fisher – (p=0,02).

Tabela 4. Frequência e % de sítios com presença de placa no sítio tratado após 6 meses.

PLACA		
	PRESEANÇA	AUSÊNCIA
CONTROLE	7 (46,7%)	8 (53,3%)
TESTE	6 (40%)	9 (60%)

Teste exato de Fisher – ausência de diferença estatística (p>0,05).

#### 5.4.3. Medidas clínicas – tecido mole

No baseline, os parâmetros clínicos PMGR, PS, NICVR e NICHR não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos, indicando homogeneidade dos dados.

Após 6 meses observou-se um aumento significativo na retração gengival (PMGR) para o grupo controle (0,77mm) e para o grupo teste (0,50mm), entretando não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Com relação as variáveis PS, NICVR e NICHR, após 6 meses houve uma redução dos valores com relação ao baseline para ambos os grupos, sem diferença estatisticamente significativa entre o grupo teste e o controle. O valor da

diferença entre baseline e 6 meses observado para PS, NICVR e NICHR foram: 2,37, 1,47 e 1,47mm para o grupo controle e 2,63, 2,10 e 1,57mm para o grupo teste (tabela 5).

Tabela 5. Medidas das variáveis clínicas – tecido mole (média ± desvio padrão) no baseline e após 6 meses.

	BASELINE	6 MESES	DIFERENÇA
<b>PMGR</b>			
Controle	3,00 (± 0,76) Ab	3,77 (± 0,88) Aa	-0,77 (± 0,65)
Teste	3,13 (± 0,93) Ab	3,63 (± 0,74) Aa	-0,50 (± 0,93)
<b>PS</b>			
Controle	5,67 (± 1,14) Aa	3,30 (± 0,92) Ab	2,37 (± 0,92)
Teste	6,07 (± 1,18) Aa	3,43 (± 0,53) Ab	2,63 (± 1,45)
<b>NICVR</b>			
Controle	8,57 (±1,52) Aa	7,10 (± 1,20) Ab	1,47 (± 0,99)
Teste	9,13 (± 1,17) Aa	7,03 (± 0,69) Ab	2,10 (± 0,87)
<b>NICHR</b>			
Controle	9,17 (± 1,68) Aa	7,70 (± 1,53) Ab	1,47 (± 1,46)
Teste	9,40 (± 1,97) Aa	7,83 (± 1,41) Ab	1,57 (± 1,58)

Letras distintas (maiúsculas na vertical para cada variável, e minúsculas na horizontal) indicam diferença estatística pelos testes ANOVA de medidas repetidas – Tukey.

#### 5.4.4. Medidas clínicas – sondagem óssea

A tabela 6 mostra a variação do nível ósseo vertical (NOVR) e horizontal (NOHR) no baseline e após 6 meses. Os valores de NOVR mostram que houve um ganho ósseo vertical nos grupos controle e teste, 1,47 mm e 1,90 mm, respectivamente, contudo sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e teste. As médias do NOHR mostram um preenchimento ósseo horizontal estatisticamente significativa em ambos os grupos, 1,70 mm para o grupo teste e para o controle. Contudo, não foi observada diferença entre os grupos quanto ao ganho ósseo horizontal.

Tabela 6. Medidas das variáveis clínicas – sondagem óssea (média ± desvio padrão) no baseline e após 6 meses.

	BASELINE	6 MESES	DIFERENÇA
NOVR			
controle	10,00 (± 1,59) Aa	8,53 (± 1,32) Ab	1,47 (± 1,13)
teste	10,37 (± 1,30) Aa	8,47 (± 1,19) Ab	1,90 (± 1,11)
NOHR			
controle	10,43 (± 1,57) Aa	8,73 (± 1,69) Ab	1,70 (± 1,26)
teste	10,70 (± 1,90) Aa	9,00 (± 1,25) Ab	1,70 (± 1,37)

Letras distintas (maiúsculas na vertical para cada variável, e minúsculas na horizontal) indicam diferença estatística pelos testes ANOVA de medidas repetidas – Tukey.

#### 5.4.5. Diagnóstico da lesão de furca

Seis meses após o tratamento regenerativo, os pacientes foram reavaliados quanto ao grau de perda de inserção horizontal na região de furca, sendo assim novamente diagnosticados quanto a classificação de Hamp (1975). A tabela 7 mostra que aos seis meses 11 lesões de bifurcação apresentaram-se fechadas, sendo 4 no grupo controle e 7 no grupo teste. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $P > 0,05$ ). Houve fechamento parcial da lesão de furca em 17 casos, sendo 10 no grupo controle e 7 no grupo teste, sendo que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Apenas 1 defeito permaneceu grau II de Hamp em cada grupo (tabela 7).

Tabela 7. Distribuição (número e %) dos defeitos de bifurcação de acordo com a classificação (Hamp et al, 1975), após 6 meses.

	Classe		
	Fechada	1	2
CONTROLE	4 (26,6%)	10 (66,6%)	1 (6,6%)
TESTE	7 (46,6%)	7 (46,6%)	1 (6,6%)

Teste exato de Fischer – ausência de diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

As lesões de bifurcação interproximais representam um desafio para a terapia periodontal, visto que este tipo de lesão responde pobremente à terapia não cirúrgica (Ribeiro et al., 2007), à terapia regenerativa com membranas (Metzler et al., 1991; Pontorieiro & Lindhe, 1995; Avera et al., 1998; Villar & Cochran, 2009) e ao uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte (Casarin et al., 2008). Já o uso de substitutos ósseos, tem mostrado benefícios clínicos no tratamento das lesões de bifurcação (Reynolds et al., 2003), entretanto sua capacidade de promover regeneração periodontal verdadeira é discutível. Sendo assim, a fim de unir as propriedades osteocondutoras e de manutenção de espaço dos substitutos ósseos às propriedades biológicas das EMD, o presente estudo avaliou a utilização do HA- $\beta$ /TCP em comparação à terapia combinada EMD + HA- $\beta$ /TCP.

Clinicamente, o sucesso das terapias regenerativas é definido pela eliminação ou redução dos componentes vertical e horizontal do defeito, sendo mensurado por meio da redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito (Reynolds et al., 2010). No presente estudo ambos os tratamentos testados foram capazes de promover redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito (mensurado através das variáveis NOVR e NOHR) com redução dos componentes vertical e horizontal, com relação ao baseline. Entretanto, não foi observada diferença estatística entre os grupos.

A ausência de diferença entre os tratamentos pode estar relacionada à utilização do material de preenchimento em ambos os grupos, uma vez que clinicamente o efeito do uso do substituto ósseo no preenchimento do defeito pode superar o efeito do uso das EMD. Os substitutos ósseos são capazes de promover benefícios na redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento do defeito em relação ao acesso (Reynolds et al., 2003), enquanto

que o uso das EMD apresenta resultados limitados com relação aos mesmos parâmetros clínicos (Casarin et al., 2008).

Apesar da dificuldade em comparar diretamente os estudos devido a diferenças metodológicas, ambos os tratamentos aplicados no presente estudo foram capazes de promover ganhos clínicos que parecem superar os ganhos relatados com o uso de RTG (Pontoriero & Lindhe 1995, Avera et al., 1998) e de EMD (Casarin et al., 2008) nas variáveis NICV, NICH, NOV e NOH. No presente estudo, as variáveis NICV e NICH respectivamente apresentaram ganhos de  $1,47 \pm 0,99$  e  $1,47 \pm 1,46$  no grupo controle, e  $2,10 \pm 0,87$  e  $1,57 \pm 1,58$  no grupo teste. Com o uso de RTG, Pontoriero & Lindhe (1995) relataram um ganho de 0,7mm para as furcas mesiais e 0,5mm para as furcas distais no NICV e Avera et al. (1998) observou um ganho de  $1,38 \pm 0,53$  para furcas mesiais; em ambos os estudos o NICH não foi avaliado. Com relação ao uso das EMD, Casarin et al. (2008) observaram um ganho clínico no NICV e NICH de  $0,54 \pm 0,95$  e  $1,36 \pm 1,26$  respectivamente.

Com relação as variáveis relativas ao preenchimento ósseo do defeito (NOVR e NOHR), o presente estudo mostrou ganho no NOVR de  $1,47 \pm 1,13$ mm no grupo controle e  $1,90 \pm 1,11$  no grupo teste, e no NOHR os ganhos observados foram de  $1,70 \pm 1,26$  no grupo controle e  $1,70 \pm 1,37$  no grupo teste. Estes resultados também foram ligeiramente superiores aos observados por Pontoriero & Lindhe (1995) (NOH 0,4mm) e por Avera et al. (1998) (NOH 1,16), com o uso de RTG, e por Casarin et al. (2008) (NOH 1,17 mm), com o uso das EMD.

A diferença observada com relação aos estudos em que se utilizou RTG, como o estudo de Avera et al. (1998), pode estar relacionada com a dificuldade da adaptação da membrana, manutenção da mesma recoberta por tecido mole, e da frequente exposição precoce ao meio bucal (Avera et al., 1998; Cortellini & Tonetti, 2000).

No presente estudo, também foi avaliada a mudança de diagnóstico da lesão de bifurcação com o uso do HA/ $\beta$ -TCP isoladamente ou em combinação com as EMD. Observou-se uma frequência de fechamento completo da lesão de bifurcação em 26,6% dos casos no grupo controle e 46,6% no grupo teste. Das lesões de bifurcação que não apresentaram fechamento completo, 66,6% no grupo controle e 46,6% no grupo teste foram convertidas para classe I, e apenas 1 lesão em cada grupo permaneceu com a mesma classificação. Estes resultados são relevantes uma vez que as lesões de bifurcação classe I são passíveis de tratamento com terapia não cirúrgica e manutenção, melhorando o prognóstico a longo prazo (Huynh-Ba et al., 2009). Estes resultados também são superiores aos relatados por Casarin et al. (2008). No referido estudo apenas 20% das lesões de bifurcação apresentaram fechamento completo, 47% foram convertidas para classe I e 32% permaneceram sem alteração do diagnóstico inicial, após 6 meses.

A diferença entre os resultados do presente estudo e os apresentados por Casarin et al. (2008) pode estar relacionada à natureza viscosa das EMD que não possuem a propriedade de manutenção de espaço e suporte para o tecido mole (Zucchelli et al., 2003; Gurinsky et al., 2004), o que pode influenciar no processo de regeneração e levar ao colapso do tecido mole no interior do defeito ósseo (Casarin et al., 2008). Contrariamente às EMD, os materiais aloplásticos como o HA/ $\beta$ -TCP, fornecem arcabouço para que as células do hospedeiro povoem sua superfície e promovam regeneração óssea via osteocondução (Gurinsky et al., 2004), além da manutenção de espaço prevenindo o colapso do retalho em direção do defeito, favorecendo a regeneração óssea (Nery et al., 1992; Zafiropoulos et al., 2007).

Além das propriedades inerentes ao HA/ $\beta$ -TCP e às EMD (isoladamente), é discutível se os resultados do presente estudo podem ter sofrido influência de algumas características anatômicas dos defeitos de bifurcação. Casarin et al. (2009) verificaram se a anatomia da bifurcação e morfologia do defeito influenciam na resposta clínica de lesões de furca grau II ao tratamento



com EMD. Os autores observaram que valores altos para as variáveis altura da perda óssea e altura da furca apresentam correlação com baixos valores de ganho ósseo horizontal. No referido estudo as médias de profundidade do defeito e altura da furca observados foram  $7,9\pm 2,4$  e  $4,2\pm 2,1$ . Similarmente, no presente estudo a altura da perda óssea e a altura da furca observadas foram  $7,53\pm 1,95$  e  $3,75\pm 1,86$ , no grupo controle e  $7,67\pm 1,96$  e  $3,67\pm 1,45$  no grupo teste. Entretanto, com a utilização do substituto ósseo estes fatores anatômicos não pareceram influenciar de maneira crítica os resultados, uma vez que não houve diferença entre os grupos para as variáveis trans-cirúrgicas e para os resultados clínicos, que por sua vez, foram superiores aos observados por Casarin et al. (2009). Todavia, mais estudos são necessários para confirmar a influência dos fatores anatômicos quando se utiliza um substituto ósseo.

Apesar dos resultados clínicos favoráveis observados tanto com o uso do HA/ $\beta$ -TCP isoladamente quanto com o uso adjunto das EMD, a verificação da ocorrência de regeneração periodontal verdadeira só pode ser verificada em estudos histológicos. Sabe-se que com o uso dos materiais aloplásticos, como o HA/ $\beta$ -TCP, a resolução do defeito ocorre por meio de preenchimento ósseo do defeito e formação de um epitélio juncional longo adjacente a raiz (Hanes et al., 2007; Reynolds et al., 2010). O uso das EMD baseia-se em sua propriedade de mimetizar os eventos que ocorrem durante o processo de formação radicular, que levam à formação de cemento e ligamento periodontal. O objetivo da terapia combinada (HA/ $\beta$ -TCP + EMD) é produzir um efeito sinérgico das propriedades biológicas das EMD com as propriedades osteocondutoras e de arcabouço do material aloplástico. É uma limitação do presente estudo a impossibilidade de verificar as diferenças histológicas entre os tratamentos aplicados, e a relevância destas diferenças, ou seja entre a ocorrência de regeneração periodontal verdadeira e reparo, só poderão ser verificadas em estudos longitudinais.

## **7. CONCLUSÃO**

Dentro dos limites do presente estudo pode-se concluir que ambas as terapias propostas representam uma alternativa viável para o tratamento das lesões de bifurcação interproximais classe II, uma vez que foram capazes de promover benefícios em todos os parâmetros clínicos avaliados e resolução total ou parcial do defeito de bifurcação.

## **8. REFERÊNCIAS**

- 1.** Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000*. 2004; 36: 121-145.
- 2.** Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone replacement grafts. The bone substitutes. *Dent Clin North Am*. 1998 Jul;42(3):491-503.
- 3.** Aimetti M, Romano F, Pigella E, Piemontese M. Clinical evaluation of the effectiveness of enamel matrix proteins and autologous bone graft in the treatment of mandibular class II furcation defects: a series of 11 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007; 27(5):441-447.
- 4.** Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975; 25(4): 229-35.
- 5.** Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in United States. 1988-1994. *J Periodontol*. 1999; 70(1):13-29. Erratum in: *J Periodontol*. 1999; 70(3):35.
- 6.** American Academy of Periodontology. *Glossary of Periodontal Terms*, 4th ed, 2001.
- 7.** 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.
- 8.** Bosshardt DD, Sculean A, Windisch P, Pjetrusson BE, Lang NP. Effects of enamel matrix proteins on tissue formation along the roots of human teeth. *J Periodont Res*. 2005; 40: 158-167.
- 9.** Bosshardt DD, Sculean A. Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontol 2000*. 2009; 51: 208-219.

- 10.** Bower RC. Furcation morphology relative to periodontal treatment: Furcation entrance architecture. *J Periodontol.* 1979; 50(1): 29-7.
- 11.** Bowers GM, Vargo JW, Levy B, Emerson JR, Bergquist JJ. Histologic observations following the placement of tricalcium phosphate implants in human intrabont defects. *J Periodontol* 1986; 57(5):286-287.
- 12.** Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, Mellnog J, Corio R, Emerson J, Stevens M, Romberg E. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol.* 1989; 60(12):683-693.
- 13.** Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB, Madzarevic M. The effectiveness of enamel matrix proteins used in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(11):1016-22
- 14.** 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.
- 15.** Casarin RC, Ribeiro EDP, Nociti FH Jr, Sallum AW, Sallum EA, Ambrosano GM, Casati MZ. A double-blind randomized clinical evaluation of enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class-II furcation involvements. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(5): 429-437.
- 16.** Casarin RCV, Ribeiro ÉDP, Nociti Jr FH, Sallum AW, Ambrosano GMB, Sallum EA, Casati MZ. Enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class II furcation involvements: a prospective 24-month randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2010; doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01614.x.
- 17.** Cattabriga M, Pedrazzoli V, Wilson TG Jr. The conservative approach in the treatment of furcation lesions. *Periodontol* 2000. 2000; 22: 133-53.

- 18.** Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after regenerative procedures. *J Clin Periodontol.* 1980; 7(3):224-231.
- 19.** Caton J, Greenstein GG. Factors related to periodontal regeneration. *Periodontology 2000.* 1993; 1: 9-15.
- 20.** Chitsazi MT, Farahani RM, Pourabbas M, Bahaeddin N. Efficacy of open flap debridement with and without enamel matrix derivatives in the treatment of mandibular degree II furcation involvement. *Clin Oral Invest.* 2007; 11: 385-389.
- 21.** Cochran DL, Jones A, Heijl L, Mellonig JT, Schoolfield J, King GN. Periodontal regeneration with a combination of enamel matrix proteins and autogenous bone grafting. *J Periodontol.* 2003; 74(9):1269-81.
- 22.** Conde MC. Estudo biométrico da largura, profundidade e altura da pré furca nos primeiros molares superiores de humanos. São Paulo, 1994 90p [Dissertação de mestrado - faculdade de odontologia da USP]
- 23.** Conde M, Tristão GC, Kon S. Implicações da anatomia radicular dos molares na terapêutica periorontal. *Revista Gaúcha de Odontologia.* 2001; 49(1): 52-54.
- 24.** Cortelli JR, Lotufo RFM, Opperman RV, Sallum AW [Organizadores]. Glossário da Sociedade Brasileira de Periodontologia. São Paulo: SOBRAPE, vol.15, n.04, dez. 2005.
- 25.** 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): 507-512.
- 26.** Do Vale HF, Ribeiro EDP, Bittencourt S, Nociti FH Jr, Sallum EA, Casati MZ. *J Am Dent Assoc.* 2009; 140 (4): 434-440.

- 27.** Eickholz P, Staehle HJ. The reliability of furcation measurements. *J Clin Periodontol.* 1994; 21: 611-614.
- 28.** Eickholz P. Reproducibility and validity of furcation measurements as related to class of furcation invasion. *J Periodontol.* 2005; 66:984-989.
- 29.** Eickholz P, Kim TS. Reproducibility and validity of the assessment of clinical furcation parameters as related to different probes. *J Periodontol.* 1998; 69:328-336.
- 30.** Ellinger RF, Nery EB, Lynch KL. Histological assessment of periodontal osseous defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate ceramics: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1986; 6(3): 22-23.
- 31.** Fernandes JM, Rego RO, Spolidorio LC, Marcantonio RA, Cirelli JA. Enamel matrix proteins associated with GTR and bioactive glass in the treatment of class II furcation in dogs. *Braz Oral Res.* 2005; 19(3): 169-175
- 32.** Fleckenstein KB, Cuenin MF, Peacock ME, Billman MA, Swiec GD, Buxton TB, Singh BB, McPherson JC 3<sup>rd</sup>. Effect of a hydroxyapatite tricalcium phosphate alloplast on osseous repairs in the rat calvarium. *J Periodontol* 2006; 77(1): 39-45.
- 33.** Froum S, Stahl SS. Human intraosseous healing responses to the placement of tricalcium phosphate ceramic implants.II. 13-18 months. *J Periodontol* 1987; 58(2):103-109.
- 34.** Frumker SC, Gardner WM. The relation of the topography of the root surface to the removal of calculus. *J Periodontol.* 1956; 27(4): 292-295.
- 35.** Gestrelius 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): 685-92.

- 36.** Gher ME, Verino AR. Root anatomy: a local factor in inflammatory periodontal disease. *Int J Period Rest Dent.* 1981; 1(5): 53-63.
- 37.** Gher ME, Dunlap RW. Root morphology. Clinical significance in pathogenesis and treatment of periodontal disease. *J Amer Dent Ass.* 1980; (4): 627-633.
- 38.** Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; (1): 193-204.
- 39.** Glickman I. *Clinical Periodontology.* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1958.
- 40.** 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.
- 41.** Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, et al. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 1986; 13(6):604–16.
- 42.** Grewe LM, Meskin H, Miller T. cervical enamel projections prevalence, location, and extent; with associated periodontal implications. *J Periodontol.* 1965; 36(6): 460-465.
- 43.** Guida L, Annuziata M, Belardo S, Farina R, Tombelli L. Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects. *J Periodontol.* 2007; 78(2): 231-238.
- 44.** Gurinsky BS, Mills MP, Mellonig JT. Clinical evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft and enamel matrix derivative versus enamel matrix derivative alone for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2004; 75(10): 1309-1318.
- 45.** Haase HR, Bartold PM. Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast cells. *J Periodontol.* 2001; 72(3): 341-8.

- 46.** Hammarström L, Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2): 658-59.
- 47.** 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): 669-77.
- 48.** Hammarstrom L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 669-677.
- 49.** Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol.* 1975; 2(3): 126-35.
- 50.** Handschel J, Wiesmann HP, Stratmann U, Kleinheinz J, Meyer U, Joos U. TCP is hardly resorbed and not osteoconductive in an non-loading calvarial model. *Biomaterials* 2002; 23(7): 1689-1695.
- 51.** Hanes PJ. Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2007; 19(4):499-512.
- 52.** Hardekopf JD, Dunlap RM, Ahl DR, Pelleu GB Jr. The "furcation arrow". A reliable radiographic image? *J Periodontol.* 1987; 58(4): 258-61.
- 53.** Harris RJ, Harris LE, Harris CR, Harris AJ. Clinical evaluation of a combined regenerative technique with enamel matrix derivative, bone grafts, and guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007; 27(2):171-179.
- 54.** Hashimoto-Uoshima M, Ishikawa I, Kinoshita A, Weng HT, Oda S. Clinical and histologic observation of replacement of biphasic calcium phosphate by bone tissue in monkeys. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1995; 15(2): 205-213.
- 55.** Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(9): 693-6.



- 56.** Hermann DW, Gher Jr ME, Dunlap RM, Pelleu Jr GB. The potential attachment area of the maxillary first molar. *J Periodontol.* 1987; 54(7): 431-434.
- 57.** Hirschfel L, Wasserman B. A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *J Periodontol.* 1978; 49: 225-237.
- 58.** Hoffmann T, Richter S, Meyle J, Gonzales JR, Heinz B, Arjomand M, Sculeana A, Reich E, Jepsen K, Jepsen S, Boedeker RH. A randomized clinical multicentre trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part III: patient factor and treatment outcome. *J Clin Periodontol.* 2006; 33: 575-583.
- 59.** Hou GL, Chen YM, Tsai CC, Weinsgold AS. A new classification of molar furcation involvement based on the root trunk and horizontal and vertical bone loss. *Int J Periodont Rest Dent.* 1998; 18: 257-265.
- 60.** Huynh-Ba G, Kuonen P, Hofer D, Lang NP, Salvi GE. The effect of periodontal therapy on the survival rate and incidence of complications of multirrooted teeth with furcation involvement after an observation period of at least 5 years: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(2): 164-176.
- 61.** Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop Relat Res* 1981; 157: 259-278.
- 62.** Jarcho M. Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications. *Dent Clin North Am* 1986; 30(1):25-47.
- 63.** Jepsen S, Eberhard J, Herrera D, et al. A systematic review of guided tissue regeneration for periodontal furcation defects. What is the effect of guided tissue regeneration compared with surgical debridement in the treatment of furcation defects? *J Clin Periodontol.* 2002;29( 3):103–16.
- 64.** Jepsen S, Heinz B, Jepsen K, Arjomand M, Hoffmann T, Richter S, Reich E, Sculean A, Gonzales JR, Bodeker RH, Meyle J. Treatment of buccal class II

furcation involvement in mandibular molars. Part I: Study design and results for primary outcomes. *J Periodontol.* 2004; 75(8): 1151-1160.

**65.** Kauvar AS, Thoma DS, Carnes DL, Cochran DL. In vivo angiogenic activity of enamel matrix derivative. *J Periodontol.* 2010; [Epub ahead of print].

**66.** 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.

**67.** Kenney EB, Lekovic V, Elbaz JJ, Kovacvic K, Carranza FA, Takei HH. The use of a porous hydroxylapatite implant in periodontal defects. Treatment of class II furcation lesions in lower molars. *J Periodontol* 1988; 59(2): 67-72.

**68.** Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes. *Expert Rev Med Devices.* 2006; 3(1):49-57.

**69.** Lekovic V, Kenney EB, Carranza FA, Danilovic V. Treatment of class II furcation defects using porous hydroxylapatite in conjunction with a polytetrafluorethylene membrane. *J Periodontol* 1990; 61(9): 575-578.

**70.** Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Nedic M, Aleksic Z, Kenney EB. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol.* 2000; 71(7): 1110-1116.

**71.** Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Djordjevic M, Kenney EB. The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol.* 2001; 72(9):1157-63

**72.** Lindhe J, Nyman S. The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *J Clin Periodontol.* 1975; 2: 67-79.

- 73.** Lindhe J, Nyman S, Karring T. Connective tissue reattachment as related to presence or absence of alveolar bone. 1984; 11(1): 33-34.
- 74.** Listgarten MA, Rosenberg MM. Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. J Periodontol 1979;50(7): 333-44.
- 75.** Lu HK. Topographical characteristics of root trunk length related to guided tissue regeneration. J Periodontol. 1992; 63(3): 215-9.
- 76.** Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcomes of regenerative procedures in humans: A meta-analysis. J Periodontol. 2001; 72(4): 512-516.
- 77.** Masters DH and Hoskins SW. Projection of cervical enamel into molar furcations. J Periodontol. 1964; 35: 49-53.
- 78.** McFall WT Jr. Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease. A long-term study. J Periodontol. 1982; 53(9): 539-49.
- 79.** Mealey BL, Neubauer MF, Butzin CA, Waldrop TC. Use of furcal bone sounding to improve the accuracy of furcation diagnosis. J Periodontol. 1994; 65:649-657.
- 80.** Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol. 1976; 47(5): 256-60.
- 81.** 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.
- 82.** 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.
- 83.** Meyle J, Gonzales JR, Bodeker RH, Hoffmann T, Richter S, Heinz B, Arjomand M, Reich E, Sculean A, Jepsen K, Jepsen S. Enamel matrix derivative and

membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part II: Secondary outcomes. *J Periodontol.* 2004; 75(9): 1188-1195.

**84.** Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* 1971; 15(2): 107-13.

**85.** Muller HP, Eger T, Lange DE. Management of furcation involved teeth. A retrospective analysis. *J Clin Periodontol.* 1995; 22:911-917.

**86.** Muller HP, Eger T. Furcation diagnosis. *J Clin Periodontol.* 1999; 26: 485-498.

**87.** 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.

**88.** Nery EB, Lee KK, Czajkowski S, Dooner JJ, Duggan M, Ellinger RF, Henkin JM, Hines R, Miller M, Olson JW, et al. A veterans administration cooperative study of biphasic calcium phosphate ceramic in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* 1990; 61(12): 737-744.

**89.** Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios HA/ $\beta$ TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* 1992; 63(9): 729-735.

**90.** 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.

**91.** Papapanou PN, Tonetti MS. Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000.* 2000; 22: 8-21.

**92.** Parashis AO, Anagnou-Vareltzides A, Demetriou N. Calculus removal from multirouted 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.

- 93.** 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.
- 94.** Ramfjord SP, Ash MM. *Periodontology and periodontics.* 1979 ; 247–309. Philadelphia: Saunders.
- 95.** Rathe F, Junker R, Chesnutt BM, Jansen JA. The effect of enamel matrix derivative (Emdogain) on bone formation: a systematic review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2009; 15(3): 215-224.
- 96.** Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal; osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8(1): 227-265.
- 97.** Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. Regeneration of periodontal tissue: bone replacement grafts. *Dent Clin North Am.* 2010;54(1):55-71.
- 98.** Ribeiro EDP, Bittencourt S, Ambrosano GMB, Nociti FH, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ. Povidine-Iodine used as an adjunct to non surgical treatment of furcation involvements. *J Periodontol.* 2006; 77(2): 211-217.
- 99.** Ribeiro EDP, Bittencourt S, Nociti 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 Periodontol.* 2007; 78(2): 224 -230.
- 100.** Ross IF, Thompson RH. A long term study of root retention in the treatment of maxillary molars with furcation involvement. *J Periodontol.* 1978; 49:238-244.
- 101.** Saffar JL, Colombier ML, Detienville R. Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans. *J Periodontol* 1990; 61(4): 209-16.

- 102.** Sakallioğlu U, Acikgoz G, Ayas B, Kirtioğlu 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.
- 103.** 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.
- 104.** Schwarz F, Herten M, Ferrari D, Wieland M, Schmitz L, Engelhart E, Becker J. Guided tissue regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalciumphosphate (Bone ceramic) or collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen): an immunohisto-chemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2007; 36:1198-1206.
- 105.** 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.
- 106.** Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Gera I. Histologic evaluation of human intrabony defects following surgical therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative. *J Periodontol*. 2003; 74: 153-160.
- 107.** 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.
- 108.** Sculean A, Pietruska M, Arweiler NB, Auschill TM, Nemcovsky C. Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intra-bony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(6):507-13.

- 109.** Soikkonen K, Wolf J, Narhi T, Ainamo A. Radiographic periodontal findings in an elderly Finnish population. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(6):439-445.
- 110.** Stahl SS, Froum S. Histological evaluation of human intraosseous healing responses to the placement of tricalcium phosphate ceramic implants. I. Three to eight months. *J Periodontol* 1986; 57(4): 211-217.
- 111.** Stahl SS, Froum SJ. Histologic and clinical responses to porous hydroxylapatite implants in human periodontal defects. Three to twelve months postimplantation. *J Periodontol.* 1987; 58(10): 689-695.
- 112.** Svärdröström, G & Wennström, J. Furcation topography of the maxillary and mandibular first molars. *J Clin Periodontol.* 1988; 15: 271-75.
- 113.** Svardstrom G, Wennstrom JL. Prevalence of furcation involvements in patients referred for periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 1996; 23(12): 1093-9.
- 114.** 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): 637-642.
- 115.** Swann RH & Hurt WC. Cervical enamel projections as an etiologic factor in furcation involvement. *J Amer Dent Ass.* 1976; 93 (2): 242-245.
- 116.** Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2006; 42: 180-218.
- 117.** Trombelli L, Annunziata M, Belardo S, Farina R, Scabbia A, Guida L. Autogenous bone graft in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of deep periodontal intra-osseous defects: a report of 13 consecutively treated patients. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(1):69-75.
- 118.** Van der Paw MT, Van den Bos, T, Everts V, Beertsen W. 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.

**119.** Velasquez-Plata D, Scheyer ET, Mellonig JT. Clinical comparison of an enamel matrix derivative used alone or in combination with a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2002; 73(4):433-40. Erratum in: *J Periodontol* 2002 Jun;73(6):68.

**120.** Villaça JH, Rodrigues DC, Novaes AB Jr, Taba M Jr, Souza SLS, Grisi MFM. Root trunk concavities as a risk factor for regenerative procedures of class II furcation lesions in humans. *J Periodontol.* 2004; 75(11): 1493-1499.

**121.** Villar CC, Cochran DL. Regeneration of periodontal tissues: Guided tissue regeneration. *Dent Clin N Am.* 2010; 54: 73-92.

**122.** 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.

**123.** Wheeler , RC. Dental anatomy, physiology and occlusion. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia, WB Saunders, 1977 p. 228-246.

124. Wylam JM, Mills MP, Moskowics DG. Effectiveness of scaling on molar teeth – surgical vs. non surgical approach. *J Dent Rest.* 1986; 65: 270.

**125.** 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.

**126.** 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.



- 127.** Zander HA, Polson AM, Heijl LC. Goals of periodontal therapy. *J Periodontol.* 1976; 47(5): 261-266.
- 128.** Zafiroopoulos GGK, Hoffman O, Kasaj A, Willershausen B, Weiss O, Van Dyke TE. Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration and autogenous spongiosa alone or combined with hydroxyapatite/b-tricalcium phosphate bone substitute or bovine derived xenograft. *J Periodontol.* 2007; 78(11): 2216-2225.
- 129.** Zappa U, Grosso L, Simona C, Graf H, Case D. Clinical furcation diagnoses and interradicular bone defects. *J Periodontol.* 1993; 64: 219-227.
- 130.** Zucchelli G, Amore C, Montebugnoli L, De Sanctis M. Enamel matrix proteins and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2003; 74(12): 1725-1735.

## 9. ANEXOS

**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 do uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte e do Beta-tricalcio fosfato associado à hidroxiapatita em lesões interproximais de bifurcação classe II"**, protocolo nº 127/2008, dos pesquisadores Maria Fernanda Santos Peres e Márcio Zaffalon 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 13/11/2008.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Clinical evaluation of enamel matrix derivative and Beta-tricalcium phosphate - hydroxiapatite for the treatment of proximal class II furcation involvements"**, register number 127/2008, of Maria Fernanda Santos Peres and Márcio Zaffalon Casati, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 11/13/2008.

**Prof. Dr. Pablo Agustín Vargas**  
Secretário  
CEP/FOP/UNICAMP

**Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**  
Coordenador  
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.  
Notas: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.