



UNIVERSIDADE DE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

JÉSSICA COSTA REIS

**Avaliação do efeito da sobrecarga oclusal no padrão de cura após tratamento da
periodontite experimental e uso do derivado da matriz do esmalte. Estudo
histomorfométrico em ratos.**

Piracicaba

2023

JÉSSICA COSTA REIS

Avaliação do efeito da sobrecarga oclusal no padrão de cura após tratamento da periodontite experimental e uso do derivado da matriz do esmalte. Estudo histomorfométrico em ratos.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Clínica Odontológica, na Área de Periodontia.

Orientador: Enílson Antonio Sallum

ESTE TRABALHO
CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA
JÉSSICA COSTA REIS E
ORIENTADA PELO
PROF. DR. ENÍLSON
ANTONIO SALLUM.

Piracicaba

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

R277a Reis, Jéssica Costa, 1994-
Avaliação do efeito da sobrecarga oclusal no padrão de cura após tratamento da periodontite experimental e uso do derivado da matriz de esmalte. Estudo histomorfométrico em ratos. / Jéssica Costa Reis. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Enílson Antonio Sallum.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Periodontite. 2. Progressão da doença. 3. Proteínas. 4. Esmalte dentário.
I. Sallum, Enílson Antonio, 1968-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Evaluation of the effect of occlusal overload on the healing pattern after treatment of experimental periodontitis and use of enamel matrix derivative. Histomorphometric study in rats.

Palavras-chave em inglês:

Periodontitis

Disease progression

Proteins

Dental enamel

Área de concentração: Periodontia

Titulação: Mestra em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

Enílson Antonio Sallum [Orientador]

Karina Gonzales Silverio Ruiz

Mônica Grazieli Corrêa

Data de defesa: 25-04-2023

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-1089-0812>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/2318241991559263>



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 25 de abril de 2023, considerou a candidata JÉSSICA COSTA REIS aprovada.

PROF. DR. ENÍLSON ANTONIO SALLUM

PROF^a. DR^a. MÔNICA GRAZIELI CORRÊA

PROF^a. DR^a. KARINA GONZALES SILVERIO RUIZ

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

Ao meu primeiro amor, Deus, minha fonte de vida. Todas as graças a Ele por ser meu sustento nos momentos de dificuldade, não só durante o desenvolvimento deste trabalho, mas também durante todo a trajetória desse curso de Mestrado.

À minha mãe, que me encoraja todos os dias com seu vigor, coragem e fé diante de tudo. Pelo apoio e ajuda em minhas decisões profissionais e pessoais. Obrigada por ser mãe, melhor amiga e meu colo em todos os momentos, você sonhou esse sonho comigo e despreendeu de muitas e muitas horas ao telefone para ouvir minhas reclamações e sobre a vontade de estar em casa. Obrigada por tudo!

Aos meus avós, meus exemplos de amor sem medidas, vocês garantiram como puderam meu bem-estar durante toda minha vida, amo vocês demais. Aos meus familiares, tios e tias, em especial minha tia Rose e tio Zé Carlos, por todo apoio de sempre. Às minhas primas, Lorena, Jamile e Franciely. À pequena Helena, que foi motivo de muitas alegrias quando estive sozinha aqui.

Ao meu estimado orientador Prof. Dr. Enílson Antonio Sallum, por estar sempre disponível para ajudar, não só a mim, mas também os pacientes e demais alunos da graduação e pós-graduação. Meus sinceros agradecimentos pela troca de conhecimento e por todos os momentos que me acolheu.

À minha querida coorientadora Prof^ª Dr^ª Karina Silveiro Ruiz, que me orientou com tanto amor em outros projetos, meu muito obrigada por tudo que fez e faz pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba e nos impacta diretamente.

Ao grupo de pesquisa com quem trabalhei esses anos, Thais Flugel, Tamires Dutra e Isabela França, vocês foram essenciais para esse trabalho, mas também para meu aprendizado em muitas outras áreas. Obrigada Team Sallum, é uma honra trabalhar com vocês!

A todos os professores da Periodontia e de todas outras áreas da FOP-Unicamp, pós doutorandos, doutorandos, mestrandos e a todos os egressos que tanto me ensinaram e dividiram tantos momentos comigo. Aos funcionários da FOP por todo apoio, obrigada a cada um que contribuiu

para a realização desse trabalho, para o atendimento de pacientes, para a manutenção dos lugares que trabalhei e para que tudo funcionasse da melhor maneira possível.

À minha querida orientadora da vida, Prof^a Dr^a Fabrícia, pelos anos como professora e por me incentivar diretamente a seguir esse sonho e por tantas boas oportunidades. Um privilégio te encontrar e poder conhecer a Periodontia por meio do seu olhar apaixonado. As professoras Letícia Fardin, Fernanda Felix e Rahyza Freire meu muito obrigada, vocês fizeram e continuarão fazendo parte dessa jornada linda na Periodontia.

Às minhas amigas, principalmente aqueles em que dividi casa e a vida nesses anos, em especial Mayara Faria, Ana Luisa Betioli, May Anny Fraga, Gabriela Magalhães e Talita Malini, vocês foram família, suporte e ombro amigo quando precisei, aprendi muito com cada uma. Aos meus amigos de Vitória, vocês torceram e torcem por mim, vocês moram em meu coração!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.

RESUMO

Introdução e objetivo: O trauma oclusal, como possível fator na progressão da doença periodontal, tem sido foco de grandes debates na periodontia. Porém, ainda há uma escassez de informações quanto à influência do trauma de oclusão no processo de cura após tratamento periodontal. O objetivo desse estudo foi avaliar, através de parâmetros histomorfométricos, o impacto do trauma oclusal no processo de cura periodontal após a raspagem e alisamento radicular (RAR) associado ou não as proteínas derivadas do esmalte (EMD) em áreas com periodontite experimental.

Metodologia: Vinte e oito ratos foram submetidos a um modelo de indução de trauma oclusal e de periodontite experimental nos primeiros molares inferiores esquerdos. Após 7 dias, todas as ligaduras foram removidas e realizou-se raspagem e alisamento radicular (RAR) em todos os dentes testes. Em seguida, os animais foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos: manutenção de sobrecarga oclusal (+OT), remoção da sobrecarga oclusal (-OT), manutenção da sobrecarga oclusal e aplicação das EMD (+OT/EMD) e remoção da sobrecarga oclusal (-OT) e aplicação das EMD (-OT/EMD). Todos os animais foram eutanasiados após 15 dias. Os parâmetros histomorfométricos avaliados foram a porcentagem de preenchimento ósseo na furca (POF) e distância entre a junção cimento-esmalte (CEJ) e a crista alveolar interproximal (CEJ-CB).

Resultados: POF foi significativamente maior no grupo -OT/EMD quando comparado ao grupo +OT/EMD e -OT ($p < 0,05$). Para CEJ-CB, o grupo +OT apresentou valores significativamente maiores que os grupos +OT/EMD e -OT ($p < 0,05$), sendo que o grupo -OT/EMD apresentou valores significativamente menores em relação aos grupos +OT/EMD e -OT.

Conclusão: Dentro dos limites do estudo, conclui-se que a despeito do efeito positivo do EMD, o trauma oclusal pode interferir negativamente no processo de cura periodontal após abordagem regenerativa.

Palavras-chave: Periodontite; Progressão da doença; Proteínas; Esmalte dentário.

ABSTRACT

Background and Objective: Occlusal trauma, as a possible factor in the progression of periodontal disease, has been the focus of great debate in periodontics. However, there is still a lack of information regarding the influence of occlusal trauma in the healing process after periodontal treatment. The aim of this study was to evaluate, through histomorphometric parameters, the impact of occlusal trauma on the periodontal healing process after scaling and root planing (RAR) associated or not with enamel-derived proteins (EMD) in areas with experimental periodontitis.

Methods: Twenty-eight rats were subjected to an induction model of occlusal trauma and experimental periodontitis on the left mandibular first molars. After 7 days, all ligatures were removed, and scaling and root planing (RAR) was performed on all test teeth. The animals were then randomly assigned into 4 groups: maintenance of occlusal overload (+OT), removal of occlusal overload (-OT), maintenance of occlusal overload and application of EMD (+OT/EMD), and removal of occlusal overload (-OT) and application of EMD (-OT/EMD). All animals were euthanized after 15 days. The histomorphometric parameters evaluated were the percentage of bone filling in the furcation (POF), distance between the cemento-enamel junction (CEJ) and the interproximal alveolar ridge (CEJ-CB).

Results: Significantly higher POF was observed in the -OT/EMD group when compared to the +OT/EMD and -OT group ($p < 0.05$). For CEJ-CB, the +OT group showed significantly greater values than the +OT/EMD and -OT groups ($p < 0.05$), and the -OT/EMD group showed significantly lower values compared to the +OT/EMD and -OT groups.

Conclusions: Within the limits of this study, it can be concluded that, in spite of the positive effect of EMD, occlusal trauma may negatively interfere in the periodontal healing process after a regenerative approach.

Keywords: Periodontitis; Disease progression; Proteins; Dental enamel.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
3 PROPOSIÇÃO.....	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
5 RESULTADOS.....	25
6 DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXOS	42
ANEXO 1 – RELATÓRIO DE SIMILARIDADE.....	42
ANEXO 2 – CERTIFICADO DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS	43

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença multifatorial crônica que causa a perda dos tecidos de suporte periodontal, através da destruição do tecido conjuntivo, fibras colágenas, ligamento periodontal e reabsorção óssea. Em casos severos da doença pode-se observar mobilidade dentária, trauma oclusal e perda da função mastigatória, sendo considerada a principal causa da perda dentária em adultos e conseqüentemente um problema de saúde pública (Chaffee et al, 2021; Loos et al, 2020; Tonetti et al, 2018). Estima-se que 796 milhões de pessoas tem periodontite severa em todo o mundo (GBD, 2017).

Trauma oclusal, trauma de oclusão ou sobrecarga oclusal são termos utilizados para descrever as forças excessivas produzidas pelos músculos mastigatórios que podem resultar em alterações teciduais no periodonto, incluindo ligamento periodontal, osso alveolar e cemento (Fan & Caton, 2018). O trauma oclusal pode ocorrer em um periodonto intacto, como no trauma oclusal primário ou em um periodonto reduzido, conhecido como trauma oclusal secundário (Berglundh et al., 2022).

Estudos indicam que o trauma oclusal não gera periodontite (Sallum et al., 1976; Decker & Wang, 2018; Zhu et al., 2022), entretanto a literatura demonstra que ele parece ser um fator importante na progressão da doença periodontal, através da desorientação e diminuição da quantidade de fibras colágenas, necrose das células do ligamento periodontal e aumento do infiltrado de células imunológicas e alterações vasculares gerando mudanças na remodelação óssea (de Oliveira Diniz et al., 2012; Itoiz et al., 1963). Em alguns casos pode ocorrer reabsorção radicular e alterações no cemento. Além disso, sinais clínicos comumente observados no trauma oclusal são mobilidade e fraturas dentárias, já os sinais radiográficos são aumento do espaço periodontal ou reabsorção óssea alveolar (Ispas et al., 2018; Fan & Caton, 2018).

Existem impasses sobre o diagnóstico do trauma oclusal, pois para ser confirmado exige a histologia do local e seu diagnóstico clínico depende de indicadores clínicos e radiográficos que dificultam os estudos clínicos, logo o tratamento do trauma oclusal também é afetado (Fan & Caton, 2018). Sendo a mobilidade o sinal clínico mais recorrente, as possibilidades de tratamento estão associadas a esse sinal e incluem ajuste oclusal ou terapia oclusal e esplintagem dentária,

associados a terapias periodontais quando há periodontite. Porém, esses tratamentos e os resultados da terapia oclusal disponíveis na literatura ainda não são bem estabelecidos como totalmente favoráveis para ganho no nível clínico de inserção e redução da mobilidade dentária. (Dommisch et al., 2021; Jin & Cao, 1992; Burgett et al., 1992; Gher, 1998; Fleszar et al., 1980)

O tratamento da doença periodontal pode contribuir para o tratamento do trauma oclusal e pode ser realizado a partir da terapia básica, constituída por raspagem e alisamento radicular, e quando indicado a associação às técnicas cirúrgicas ressectivas ou regenerativas. As terapias regenerativas são realizadas com o objetivo de manter dentes com pouco suporte periodontal e presença de bolsas profundas e defeitos ósseos (Cortellini et al., 2015). Para tal, o EMD é amplamente utilizado, por sua capacidade de biomimetizar a cementogênese, estimulando a diferenciação de células mesenquimais em cementoblastos que, por sua vez, produzem o cimento acelular de fibras extrínsecas e posteriormente fibras do ligamento periodontal e osso alveolar. As proteínas derivadas da matriz do esmalte também podem contribuir para o processo de cura periodontal melhorando a cicatrização das áreas manipuladas (Smiley et al., 2015; Tavelli et al., 2020; Heijl et al., 1997; Hammarstrom et al., 1997).

O trauma oclusal associado à doença periodontal e os tratamentos vêm sendo estudados há muitos anos, com o intuito de entender e explicar a interferência desta força na progressão da periodontite (Pihlstrom et al., 1986). Ademais, busca-se compreender como essas forças atuam diante do tratamento e processo de cura periodontal, mas poucos estudos existem para elucidar esse tema (Nakatsu et al., 2014; Burgett et al. 1992). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar, em modelo animal, através de parâmetros histomorfométricos, o impacto do trauma oclusal no processo de cura periodontal após o tratamento periodontal (RAR), associado ou não ao EMD, em áreas com periodontite experimental induzida por ligadura.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Mecanismos e efeitos do trauma oclusal no periodonto e na periodontite.

Existem muitos estudos sobre a tentativa de elucidar os efeitos e mecanismos que o trauma oclusal pode gerar no periodonto. Estudos *in vivo* serão foco principal nessa seção, mas estudos clínicos nos ajudam a entender conceitos importantes dentro do tema proposto.

Considera-se a mobilidade dentária um sinal clínico de trauma oclusal, ademais a mobilidade atualmente é considerada uma preditora para o risco de perda dentária. O risco aumenta quando os dentes também possuem perda de inserção e lesões de furca (Helal et al., 2019). Outra condição que os estudos mostram, é que o ajuste oclusal em dentes com mobilidade ou com contatos prematuros pode melhorar o nível de inserção clínico, enquanto a esplintagem dentária pode trazer conforto mastigatório ao paciente e parece reduzir mobilidade em dentes com periodonto reduzido. Os autores relataram que não é possível chegar a uma conclusão definitiva sobre as melhorias clínicas da esplintagem, além disso consideram que esse procedimento nem sempre melhora a sobrevivência de dentes com mobilidade em pacientes com periodontite estágio IV. (Dommisch et al., 2021).

Fan & Caton (2018) elaboraram uma importante revisão narrativa para determinar os efeitos do trauma oclusal e da sobrecarga oclusal no periodonto. Vários estudos em animais comprovaram (Polson et al., 1974; Polson 1974; Polson et al., 1976; Polson et al, 1976; Polson & Zander, 1983; Lindhe & Svanberg, 1974; Lindhe & Ericsson I, 1976; Lindhe & Ericsson 1982; Ericsson & Lindhe, 1982) que na periodontite experimental com trauma oclusal houve maior perda de volume ósseo e maior perda de inserção do tecido conjuntivo, além de aumento da mobilidade. (Nakatsu et al., 2014). Diferente da situação em que havia higiene oral e controle da inflamação, que apesar de também apresentar aumento da mobilidade e da perda de densidade óssea, não apresentou perda de inserção do tecido conjuntivo. Ademais, se as forças oclusais fossem removidas, a perda de densidade óssea era reversível. Os estudos clínicos citados na revisão (Stillman, 1925; McCall, 1939; Macapanpan & Weinmann, 1954; Glickman & Smulow, 1969; Orban & Weinmann, 1933; Waerhaug, 1979). abordam a dificuldade do diagnóstico da sobrecarga oclusal e consideram a mobilidade dentária como um sinal clínico comum no trauma oclusal. No geral, dentes com

mobilidade não ganharam tanta inserção clínica quanto aqueles sem mobilidade após o tratamento periodontal, assim como dentes com mobilidade tratados com regeneração tiveram pior resposta que dentes sem mobilidade (Fleszar et al., 1980; Wang et al., 1994). Logo, a redução da mobilidade dentária pode aumentar o efeito positivo da terapia periodontal. Sobre o ajuste oclusal, os autores trazem que pode existir um efeito benéfico de realizar a terapia oclusal com o tratamento periodontal, principalmente para o conforto do paciente e para melhora da função mastigatória. Portanto, na presença de trauma oclusal, a terapia pode retardar a progressão da periodontite e melhorar o prognóstico (McGuire & Nunn, 1996 e 1996; Harrel & Nunn, 2001). Concluem também que a sobrecarga oclusal não inicia doenças periodontais induzidas por placa.

Pihlstrom et al. (1986) avaliaram a associação entre sinais de trauma oclusal e a severidade da doença periodontal. Aproximadamente 300 primeiros molares superiores de pacientes foram avaliados quanto a sinais e sintomas de trauma, parâmetros periodontais e nos exames radiográficos. Apenas 14 dentes foram incluídos no estudo e os resultados indicaram que dentes com mobilidade e espessamento do ligamento periodontal ou presença de cálculo visto nas radiografias tiveram mais profundidade de sondagem, mais perda de nível clínico inserção e menos suporte ósseo radiográfico do que dentes sem esses achados. Quando os dentes tinham níveis clínicos de inserção iguais, os dentes com evidência de mobilidade e espessamento do ligamento periodontal tiveram menos suporte ósseo radiográfico do que dentes sem esses achados. Os autores perceberam realmente uma associação dos sinais de trauma oclusal, características radiográficas e a doença periodontal.

Levando em consideração a necessidade de melhorar a avaliação clínica e o diagnóstico do trauma oclusal e das condições periodontais, Zhou et al (2017) também realizaram um estudo clínico com o objetivo de determinar se existe associação de dentes com sobrecarga oclusal e os sinais de trauma oclusal e condições periodontais em pacientes com periodontite. Para isso, avaliaram os parâmetros periodontais e sinais de trauma oclusal de 807 dentes de 30 indivíduos com periodontite crônica (periodontite estágio III ou IV, grau B), ainda sem tratamento. Também utilizaram um sistema de análise da oclusão com software que determina os contatos oclusais e demonstra a máxima intercuspidação, lateralidade e protusão. Os principais resultados encontrados foram que dentes com sobrecarga oclusal apresentaram-se mais comumente associados a molares, maior profundidade de sondagem, maior de índice de sangramento à sondagem, maior

espessamento do ligamento periodontal em radiografias de dentes posteriores e mobilidade nos dentes posteriores superiores. Os autores concluíram que dentes com sobrecarga oclusal em pacientes com periodontite sem tratamento podem aumentar o risco de destruição periodontal.

Nakatsu et al. (2014) fizeram um estudo em ratos para investigar os efeitos do trauma na destruição periodontal, principalmente da perda de inserção, no início da periodontite experimental. Os quatro primeiros grupos receberam lipopolissacarídeo (LPS) intraperitoneal. O primeiro grupo recebeu também indução de trauma oclusal com fio metálico no molar (grupo T). O segundo grupo teve aplicação tópica de LPS no sulco gengival para indução de periodontite experimental e inflamação (grupo I). O terceiro grupo teve indução do trauma oclusal e da periodontite experimental (grupo T+I). O quarto grupo apenas soro tamponado com fosfato (grupo PBS). O quinto grupo recebeu indução do trauma e da periodontite experimental (grupo n (T+I)). Foi realizada a histopatologia e a coloração imunohistoquímica para C1qB (um marcador de complexos imunes no epitélio juncional e no tecido conjuntivo adjacente). Os resultados mostraram que houve aumento significativo na perda de inserção (distância da junção cimento-esmalte (CEJ) até a posição coronal da inserção do epitélio juncional) e no número de osteoclastos no grupo T+I. Além disso, observou-se uma ampla distribuição de imunocomplexos no grupo T + I. O grupo PBS, o grupo T e o grupo n (T+I) não apresentaram perda de inserção no dia 5 ou no dia 10. Demonstraram que o trauma oclusal combinado com a inflamação produziu mais perda de inserção no início da periodontite experimental e maior quantidade de imunocomplexos.

Jiang et al. (2022) abordaram os mecanismos envolvidos na reabsorção óssea e na resposta inflamatória do periodonto frente ao trauma oclusal. O grupo analisou a via de apoptose induzida por inflamação conhecida como piroptose. Com o mesmo modelo animal e indução de periodontite experimental e trauma oclusal, como no de Nakatsu et al. (2014), os autores desenvolveram várias metodologias de análise: reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qRT-PCR), microtomografia computadorizada (micro-CT), histologia do tecido, coloração com fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), imunohistoquímica e imunofluorescência. Os resultados mostraram que o trauma oclusal induziu a expressão de fatores piroptóticos durante os estágios iniciais, enquanto o trauma oclusal com periodontite aumentou a expressão de fatores piroptóticos nos estágios posteriores. Os dados de qRT-PCR, coloração TRAP e micro-CT mostraram que o trauma oclusal com periodontite aumentou a produção de citocinas pró-inflamatórias, levando a perda

óssea severa. Enquanto o inibidor de NLRP3, reduziu a piroptose nos tecidos periodontais levando à diminuição da inflamação e reabsorção óssea. Os resultados confirmam a hipótese que piroptose esteve envolvida na perda óssea induzida por trauma oclusal com ou sem periodontite, e o inibidor de NLRP3 foi considerado um novo alvo terapêutico para o tratamento do trauma oclusal.

Procurando explicar o mecanismo biológico e morfológico que ocorre no tecido do ligamento periodontal quando a sobrecarga oclusal induz o trauma oclusal, Tsuzuki et al (2016) fizeram um estudo em ratos. Utilizaram histologia para avaliar a perda óssea por meio de osteoclastos, e para investigar a relação entre a sobrecarga oclusal e a regeneração da matriz celular. Para tal, examinaram a expressão de colágeno usando imunohistoquímica e PCR. O número de osteoclastos aumentou significativamente nas regiões de furca e na face lingual 4 dias após a indução da sobrecarga. O colágeno do tipo XII (estabiliza as fibras de colágeno e aumenta a resistência de um tecido às forças) foi gradualmente regulado após a indução da sobrecarga, de maneira dependente do tempo. Os autores sugeriram que existe um mecanismo de reparação dos tecidos periodontais como resposta ao trauma oclusal.

Para além da destruição periodontal por meio de perda de inserção, aumento de osteoclastos e da remodelação das fibras do ligamento periodontal Kvinnsland et al (1992) observaram que o trauma oclusal inicia respostas de fluxo sanguíneo em dentes de ratos. Para avaliar a situação utilizaram microesferas fluorescentes (FM), com objetivo de visualizar e semi-quantificar o fluxo no ligamento periodontal (PDL) e na polpa dentária durante a oclusão traumática experimental nos dentes teste. Nos estágios iniciais, um aumento no fluxo sanguíneo na PDL, na polpa dentária e na mandíbula foi encontrado no lado experimental em comparação com o lado contralateral. O estudo indicou que a oclusão traumática não é puramente um fenômeno local, mas provavelmente uma reação inflamatória mais geral na polpa e no periodonto, induzida por um estímulo local.

2.2. Mecanismo e processos de cura com uso de EMD

Os benefícios do uso de EMD no tratamento de defeitos infra-ósseos é apoiado por evidências histológicas humanas, estudos de casos, meta-análises de ensaios clínicos randomizados controlados e grandes ensaios multicêntricos. Clinicamente, a taxa de cicatrização de feridas após a aplicação de EMD parece ser aumentada, ocorre redução da profundidade da bolsa, ganho de

nível clínico de inserção e nível ósseo radiográfico. (Cortellini et al, 2015; Tonetti et al., 2002). Existem também benefícios de ordem prática, já que o EMD possui potencial antimicrobiano, é um biomaterial de fácil manipulação e seus custos estão se tornando mais acessíveis (Miron et al., 2014).

Corrêa et al., (2010, 2012 e 2014). buscaram avaliar a cicatrização de defeitos periodontais em ratos diabéticos, expostos a fumaça de cigarro ou a estresse crônico após o tratamento com EMD. Em 2010, o grupo 1 foi exposto a inalação da fumaça do cigarro (n = 11) e grupo 2 não foi exposto (n = 11). Em 2012, o grupo 1 foi induzida a diabetes (n = 10) e grupo 2 não foi induzida (n = 10). Em 2014, o grupo 1 foi exposto a estresse crônico (n = 10) e o grupo 2 não foi exposto (n = 10). Os defeitos de fenestração bilateral foram criados primeiro molar mandibular. Após as cirurgias, os defeitos de cada animal foram atribuídos aleatoriamente a dois subgrupos: não tratados (controle) e tratados com EMD. Os animais foram sacrificados 21 dias depois. Os resultados do mostraram que o EMD favorece o aumento da porcentagem de preenchimento dos defeitos periodontais diante de diferentes cenários sistêmicos, mas os fatores sistêmicos podem prejudicar a formação de novo cimento.

Garcia et al. (2022) observaram reparo de defeitos ósseos usando EMD ou fotobiomodulação na tíbia de setenta e dois ratos, que foram distribuídos nos seguintes grupos: 1- controle: sem tratamento; 2-EMD; 3-PBM: terapia de fotobiomodulação; 4-EMD + PBM. Os animais de cada grupo foram sacrificados após 10, 30 e 60 dias. Análises histológicas e imunohistoquímicas foram realizadas. Todos os tratamentos realizados resultaram em um aumento do preenchimento e maturação do tecido ósseo, sendo maior nos grupos EMD e EMD + PBM no período de 30 dias, em comparação com o grupo controle. O TRAP foi maior em 30 dias em todos os grupos tratados e menor nos grupos EMD e PBM após 60 dias, em comparação com o controle no mesmo período. Houve maior imunocoloração no grupo EMD + PBM após 10 dias do que nos grupos controle e EMD no mesmo período. Esses resultados levaram os autores a sugerir que os tratamentos com EMD e PBM, isolados e em associação, foram eficazes no preenchimento e amadurecimento do tecido ósseo nas cavidades ósseas tibiais, com maior eficácia no período de 30 dias nos grupos EMD e EMD + PBM.

Maymon-Gil et al (2016) desenvolveram um estudo *in vivo* sobre efeitos do EMD na cicatrização de feridas cirúrgicas de ratos. Os resultados histológicos e imunohistoquímicos demonstraram que EMD, nos dias 5 e 9, apresentou maior contagem de células proliferativas e aumentou significativamente o número de vasos sanguíneos e o conteúdo de colágeno. Além disso, a análise de expressão gênica revelou que o tratamento EMD resultou em níveis mais altos de mRNA de IL-1 β , matriz metaloproteinase-1 (MMP-1), fatores de crescimento transformadores β 1 e β 2, VEGF, versican e fibronectina. Por um lado, o EMD induziu a expressão de mRNA da IL-1 β e MMP-1, moléculas associadas com promoção da reepitelização, e inibiu a proliferação de queratinócitos. Assim, o EMD promoveu vários eventos biológicos, como angiogênese, fibroplasia e formação de matriz extracelular, que por sua vez melhoram a cicatrização de tecidos moles.

Levando em consideração esta aceleração no processo de cicatrização promovido pelo EMD, Aspriello et al (2011) realizaram um estudo clínico. Este estudo teve o objetivo de avaliar se existe variação na angiogênese em bolsas periodontais com a aplicação tópica de EMD. Foram selecionados 28 pacientes e, para cada um, foram escolhidos dois sítios que obtiveram o diagnóstico histológico de periodontite crônica grave localizada (Periodontite estágio III e IV grau C) e necessitavam de regeneração periodontal. Os 56 sítios periodontais selecionados foram tratados com uma única sessão de raspagem sob anestesia. Observou-se que a expressão endotelial de fator de crescimento endotelial vascular foi maior nos sítios tratados com EMD em comparação com os não tratados. O estudo concluiu que EMD induz proliferação, viabilidade e angiogênese de células microvasculares humanas, por isso ajuda a elucidar a capacidade cicatricial observada quando utilizamos EMD.

2.3. Influência do trauma oclusal no processo de reparação periodontal

Estudos sobre a influência do efeito trauma oclusal ou do ajuste oclusal na reparação periodontal tem metodologias muito variadas. Portanto, a literatura sobre este tema é limitada e voltada para estudos clínicos das décadas de 80 e 90. Hakkarainen et al (1986) desenvolveu uma metodologia que não relatou medidas de desfecho primário ou secundário, talvez por isso, encontrou resultados que não corroboram com a maioria dos autores que concluem que a terapia oclusal influencia na redução da progressão da doença periodontal (Burgett et al., 1992; Harrel et al., 2001; Wang et al., 2013; Weston et al., 2016; Foz et al., 2012).

Hakkarainen et al (1986) realizou um estudo clínico, que observou a influência da RAR e do ajuste oclusal no fluxo de fluido crevicular e na resolução da inflamação de bolsas periodontais profundas (maior que 5 mm) e com mobilidade. Os pacientes foram submetidos a raspagem supragengival, instrução de higiene e coleta do fluido crevicular. Cada paciente foi atribuído aleatoriamente ao grupo A ou ao grupo B. Os dentes do grupo A foram submetidos a RAR, grupo B foram submetidos a ajuste oclusal. Após 14 dias, o fluxo de fluido foi registrado e em seguida o grupo A recebeu ajuste oclusal e o grupo B recebeu RAR. Após 28 dias, foi feita nova coleta de fluido. As médias das taxas de fluxo do grupo A e do grupo B diminuíram significativamente em todas as amostras, porém os grupos não apresentaram diferenças entre si. De acordo com os resultados do estudo, as interferências oclusais não têm efeito sobre a quantidade de fluxo do fluido crevicular, sendo a principal razão para ajustes oclusais associados a terapia periodontal o conforto do paciente.

Burgett et al. (1992) desenvolveu um estudo clínico randomizado para verificar a influência do ajuste oclusal com terapia periodontal nos níveis clínicos de inserção, profundidade de sondagem e mobilidade dentária. Cinquenta pacientes foram aleatorizados sendo que 22 pacientes receberam ajuste oclusal e 28 não receberam. Dois meses após o ajuste oclusal, os pacientes receberam a cirurgia para raspagem em campo aberto ou a RAR, os pacientes foram mantidos com profilaxia feita a cada 3 meses e avaliados anualmente. Após analisar dados de dois anos, houve um ganho significativamente maior de nível clínico de inserção periodontal em pacientes que receberam ajuste oclusal em comparação com aqueles que não receberam. Os lados tratados cirurgicamente e não cirurgicamente responderam de forma semelhante ao ajuste oclusal.

Harrel et al. (2001) buscaram estabelecer a relação de causa e efeito entre discrepâncias oclusais e doença periodontal. Realizaram uma análise dos registros completos de exames periodontal e análise oclusal, que foram registrados com pelo menos 1 ano de intervalo. Os pacientes foram divididos em um grupo que não tinha nenhum tratamento (sem discrepâncias oclusais), aqueles com apenas tratamento não cirúrgico (parcialmente tratado) e um grupo controle que havia completado todo o tratamento recomendado (tratado cirurgicamente). Os resultados indicaram que nos dentes sem discrepâncias oclusais e nos dentes com discrepâncias oclusais tratadas havia menor probabilidade de piorar a condição clínica ao longo do tempo, em comparação com dentes com discrepâncias oclusais não tratadas. Dentes com discrepâncias oclusais não

tratadas também mostraram ter um aumento significativamente maior na profundidade de sondagem por ano. Tal estudo fornece evidências de uma associação entre discrepâncias oclusais não tratadas e a progressão da doença periodontal. Ademais tratamento oclusal reduz significativamente a progressão da doença periodontal ao longo do tempo e pode ser uma terapia adjuvante da doença periodontal.

Wang et al. (2013) avaliaram o efeito da RAR e do ajuste oclusal nos parâmetros clínicos e oclusais em dentes com periodontite crônica (periodontite estágio III ou IV, grau B), e trauma oclusal secundário. Dezoito pacientes com periodontite crônica e trauma oclusal foram incluídos e divididos aleatoriamente no grupo A e no grupo B. No baseline (dia 0), o grupo A foi tratado com RAR e o grupo B foi tratado por ajuste oclusal no local do trauma oclusal. No dia 28, o grupo A foi tratado por ajuste oclusal no local do trauma oclusal, e o grupo B foi tratado por RAR. O resultado mais relevante mostrou que no dia 56, não houve diferença significativa nos parâmetros clínicos, porém houve redução do trauma oclusal no grupo A. Concluíram, portanto, que a terapia com RAR pode eliminar a inflamação e diminuir o trauma oclusal no dente e a combinação de RAR com ajuste oclusal pode alcançar resultados mais estáveis.

3 PROPOSIÇÃO

Esse projeto teve como objetivo avaliar, através de parâmetros histomorfométricos, o impacto do trauma oclusal no processo de cura periodontal após o tratamento periodontal (RAR), associado ou não ao EMD, em áreas com periodontite experimental induzida por ligadura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Animais

28 ratos machos da linhagem Wistar, com aproximadamente 150 gramas e 4 semanas, fornecidos pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB/Unicamp), foram mantidos no biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/Unicamp), durante todo o período experimental. Os animais foram alojados em grupos de 4 animais, em gaiolas coletivas. Foi fornecida ração normocalórica para os roedores e água à vontade. A temperatura foi mantida em aproximadamente 22 graus Celsius, em ciclos de 12 horas de luz e escuridão. Os animais foram aclimatizados por 30 dias, até atingirem cerca de 300 gramas. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade de Campinas (6080-1/2022).

Desenho do Estudo

O desenho experimental pode ser observado na Figura 1. Foi induzida doença periodontal por ligadura com sobrecarga oclusal em **28** ratos machos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) por 7 dias (Garcia et al., 2010; Almeida et al., 2007; Johnson, 1975). Para a indução de periodontite por ligadura, os animais foram sedados e anestesiados via intramuscular com Ketamina (1 ml/kg, Dopalen® Sespo Indústria e Comércio Ltda, Paulínea, SP, Brasil) e Xilazina (0,03 ml/kg, Xilazin® Rhobifarma Indústria Farmacêutica Ltda, Hortolândia, SP, Brasil). Então, uma ligadura de fio de seda (3.0, Ethicon) foi posicionada no 1º molar mandibular esquerdo de cada animal, para causar o acúmulo de biofilme e provocar a doença periodontal. Em seguida, foi induzido o trauma oclusal em todos os animais, através da colocação de um segmento de fio ortodôntico (Ø0.5 mm e 1.5 mm de comprimento) com resina polimerizável (3M ESPE, Sumaré, SP, Brasil) na oclusal do 1º molar inferior, unilateralmente do lado esquerdo (Oliveira Diniz et al., 2012; Nakatsu et al., 2014).

Após 7 dias os animais foram sedados e anestesiados e as ligaduras foram removidas com o auxílio de uma pinça clínica e tesoura. Em seguida, com o auxílio de uma mini-cureta gracey, foi realizado a raspagem e o alisamento radicular em 10 movimentos mesio-distal por face dos dentes testes de cada animal. Os animais foram aleatoriamente designados para os grupos:

Grupo +OT: Periodontite experimental + RAR + Sobrecarga oclusal (n=7);

Grupo +OT/EMD: Periodontite experimental + RAR + EMD + Sobrecarga oclusal (n=7)

Grupo -OT: Periodontite experimental + RAR + Remoção da sobrecarga oclusal (n=7);

Grupo -OT/EMD: Periodontite experimental + RAR + EMD + Remoção da sobrecarga oclusal (n=7);

Os animais foram randomizados em relação a aplicação do EMD e sobre a manutenção ou remoção do trauma oclusal utilizando envelopes pardos com a descrição dos grupos, que eram abertos após a sedação. Nos grupos com a remoção da sobrecarga oclusal, os fios metálicos e as resinas foram removidos cuidadosamente, com auxílio de mini curetas gracey e brocas em baixa rotação. Após irrigação com soro fisiológico, o EMD foi aplicado (Corrêa et al., 2010, 2012 e 2014) por 2 minutos com pontas específicas para diâmetro do dente (cânula fina), sem condicionamento prévio e a aplicação foi realizada pela técnica não cirúrgica. Após a intervenção, os animais receberam uma dose única de analgésico Profenid (Cetoprofeno® 20 mg/ml, Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda, Suzano, SP, Brasil) e foram observados 6, 12 e 24 horas após os procedimentos. O período de avaliação após a remoção das ligaduras foi de 15 dias e então foi realizada a eutanásia utilizando sobredose de solução anestésica, sendo 30mg/kg de Cloridrato de Xilazina e 300mg/kg de Ketamina. Logo depois, as mandíbulas foram removidas, hemi-seccionadas e processadas para análise histomorfométrica.

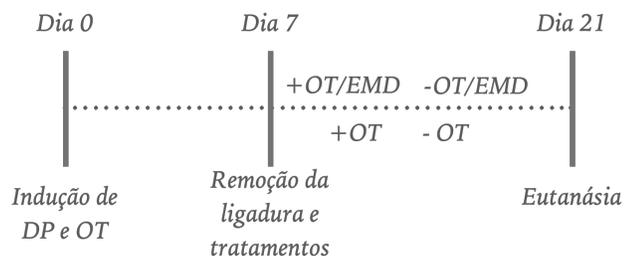


Figura 1. Ilustração esquemática do desenho experimental.

Procedimento Histológico e Histomorfométrico

As amostras foram imersas em formol a 10% com tampão fosfato (pH: 7,5), por 48 horas e o líquido foi trocado nas primeiras 24 horas. Em seguida, as amostras foram lavadas em água

corrente por 24 horas. A análise histomorfométrica foi feita com as amostras de todos os animais de cada grupo experimental, que foram descalcificadas em solução de EDTA 10%, com trocas diárias de solução à temperatura ambiente. Após a descalcificação, os espécimes foram desidratados em etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Foram realizadas secções longitudinais méso-distais de 6 μm de espessura, obtidas com auxílio de um micrótomo (Leica RM2155, Germany). Após excluir a primeira e a última seção em que a região de furca era presente, cinco secções equidistantes de cada espécime foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E) para análise histológica e histométrica. As análises foram realizadas por um examinador com experiência, calibrado e cego, utilizando o microscópio óptico em aumento de 50X (2,5X de objetiva e 10X de ocular; Axioskop 2 plus, Zeiss, Jena, Germany). A análise da calibração foi realizada pelo coeficiente de correlação intraclasse (CCI) para o examinador ILFG no software JMP Pro 16, tendo como resultado o valor de 0,7798 (resultado que segundo Cicchetti DV (1994) é considerado adequado). Com o auxílio do sistema de pontos de um retículo quadriculado (AxioVision Release 4.8.1 (11-2009)), Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) e utilizando a ferramenta de cálculo da área, foram mensurados os seguintes parâmetros histomorfométricos:

1- Porcentagem de preenchimento ósseo na furca - POF - (desfecho primário): Área de osso mineralizado e medula óssea no interior do furca, expressa em percentagem da área delimitada pelo teto da furca até limite de 1000 μm apical. (César-Neto et al, 2006). (Figura 2)

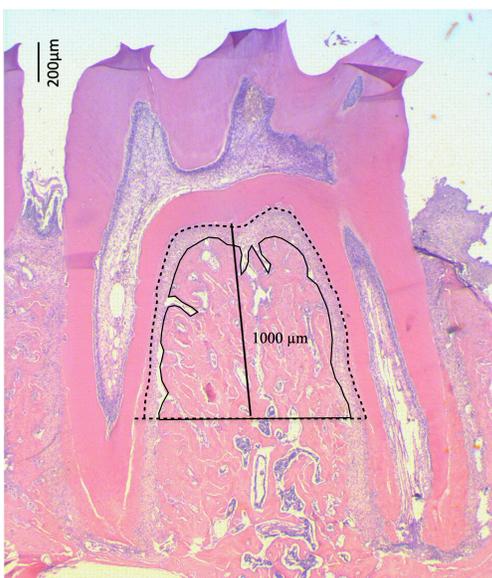


Figura 2. Fotomicrografia ilustrando porcentagem de preenchimento ósseo na furca (2,5X). Escala = 200 μ m.

2- Distância linear na região interproximal entre a junção cimento-esmalte (CEJ) e a crista alveolar (CEJ-CB), num ponto com ligamento periodontal de largura normal (Oliveira et al, 2016).

Planejamento estatístico/delineamento experimental

O tamanho da amostra foi calculado no software GPower, versão 3.1.9.4, o animal foi considerado como a unidade experimental e a porcentagem de preenchimento ósseo na furca a variável primária. Para estimar o tamanho da amostra que fornecesse 95% de poder, foi determinado uma diferença significativa de 20% entre os grupos e um desvio padrão de 15%, com o intervalo de confiança de 95% (Prietto NB et al 2020, Messoria MR et al 2016). Obteve-se um tamanho amostral de cinco animais por grupo. Contudo, considerando as possíveis complicações no manuseio animal, foram utilizados 7 animais por grupo experimental (n=28).

Para a análise dos resultados, o teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a normalidade dos dados. Quando a normalidade foi confirmada, a comparação dos grupos foi realizada com o teste ANOVA, quando não-normal, o teste de Kruskal-Wallis foi realizado. Foi adotado nível de significância de 5% para todos os testes ($p < 0,05$). Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão. Todas as análises foram realizadas no software GraphPad Prism 9.

5 RESULTADOS

Análise clínica

Finalizou-se a amostra com 24 ratos (n=6 por grupo), 2 animais não resistiram as intercorrências anestésicas, 1 foi excluído por não ter mantido o trauma oclusal e a ligadura nos primeiros 7 dias e o 1 foi excluído de forma aleatória para balancear os grupos amostrais. Após 7 dias da indução do trauma oclusal e da periodontite experimental, constatou-se mobilidade dentária acentuada na maioria dos animais, inflamação dos tecidos periodontais e acúmulo de biofilme nas ligaduras. Após a remoção das ligaduras e durante a RAR foi observada mobilidade dental.

Análise histomorfométrica

Os resultados histométricos podem ser observados nos gráficos da Figura 2. Nota-se que o preenchimento ósseo na furca para o grupo -OT/EMD foi significativamente superior ao observado no grupo +OT/EMD e -OT ($P < 0.05$) (Fig. 3A).

Em relação a distância CEJ-CB, o grupo +OT apresentou valor significativamente maior que os grupos +OT/EMD e -OT. Em contraste, o grupo -OT/EMD apresentou valores significativamente menores em relação aos grupos e -OT (Figura 3B).

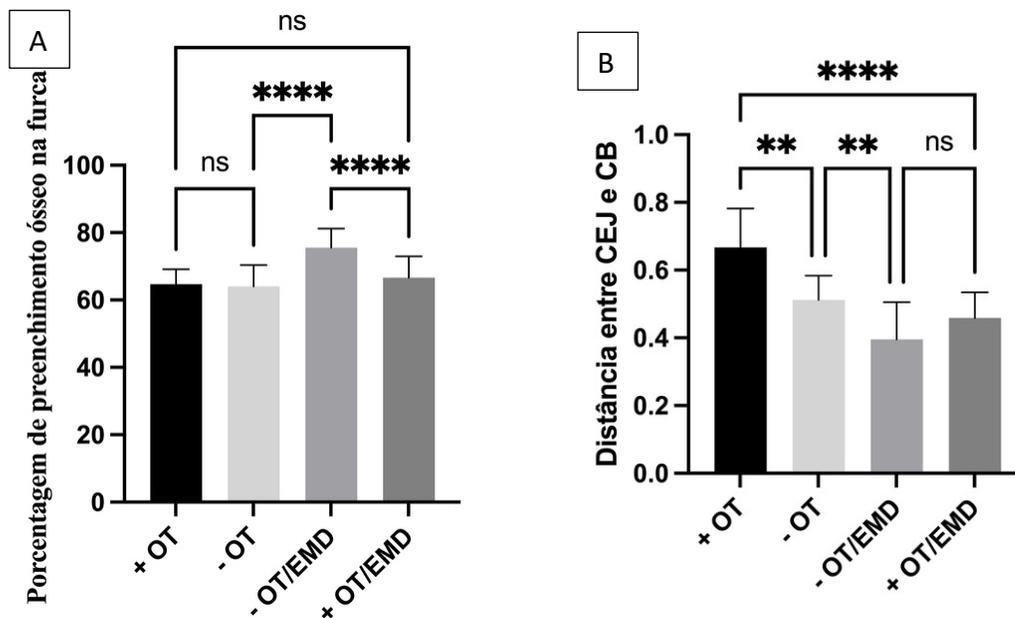


Figura 3. Gráficos representando média dos parâmetros avaliados nos diferentes grupos. ns - $p > 0.05$ * - $p \leq 0.05$ ** - $p \leq 0.01$ *** - $p \leq 0.001$ **** - $p \leq 0.0001$. Diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos

(TESTE: teste de Kruskal-Wallis/Dunn's). (A) Resultados da diferença de porcentagem de preenchimento ósseo na furca entre os grupos. (B) Resultado da diferença da distância da CEJ e CB.

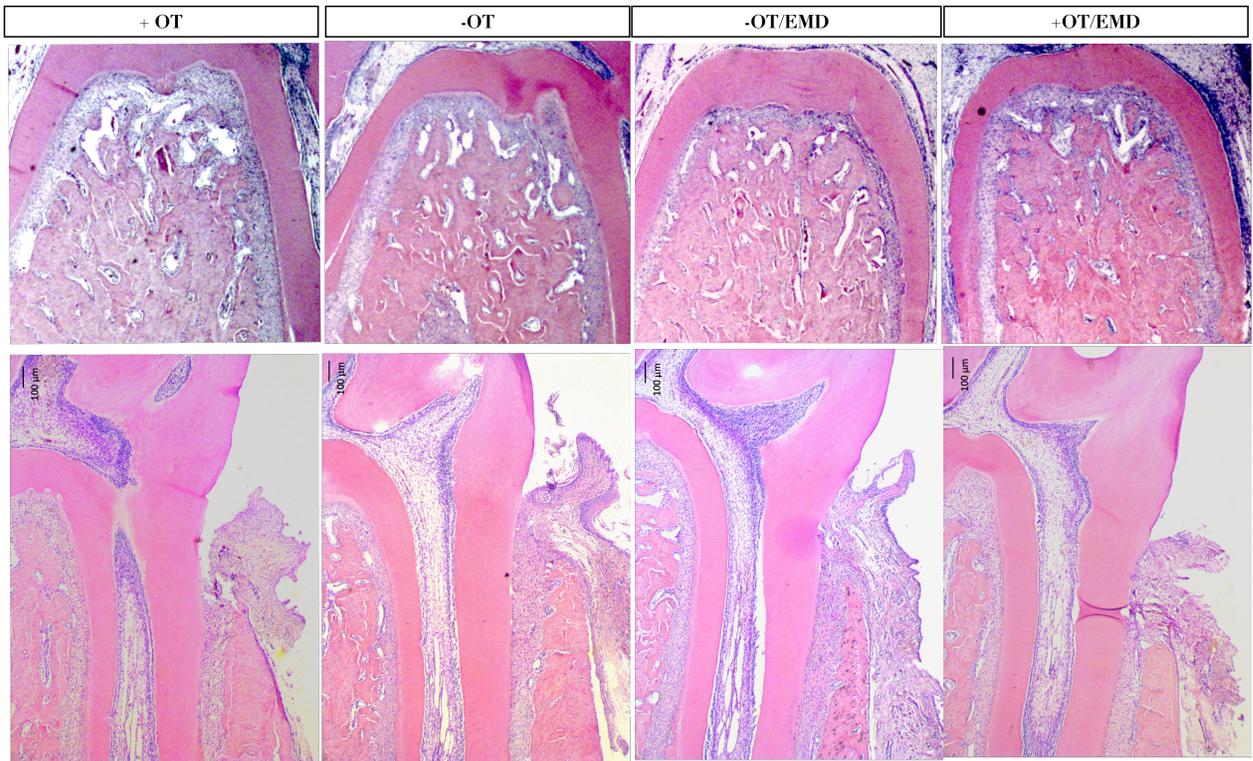


Figura 4. Fotomicrografias ilustrando a área periodontal e a perda óssea na região da furca (2,5X) e da região proximal mesial (5X) em coloração H&E. Grupo +OT: Periodontite experimental + RAR + Sobrecarga oclusal. Grupo -OT: Periodontite experimental + RAR + Remoção da sobrecarga oclusal. Grupo -OT/EMD: Periodontite experimental + RAR + EMD + Remoção da sobrecarga oclusal. Grupo +OT/EMD: Periodontite experimental + RAR + EMD + Sobrecarga oclusal. Escala = 100 μ m.

6 DISCUSSÃO

Apesar de muitos experimentos relevantes com animais terem sido realizados anteriormente para avaliar o papel do trauma oclusal no periodonto (Jiang et al., 2022; Nakatsu et al., 2014; Yoshinaga et al., 2007), existem poucos estudos sobre os efeitos do trauma oclusal no processo de cura periodontal (Burgett et al., 1992; Harrel et al., 2001; Wang et al., 2013; Hakkarainen et al., 1986) bem como na tentativa de regeneração periodontal. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo inovador, avaliar o impacto do trauma oclusal na cura periodontal após tratamento com RAR, associado ou não ao EMD, em áreas com periodontite experimental induzida em ratos *Wistar*. Dentro dos limites do conhecimento dos autores, esta seria a primeira investigação com estas características.

De acordo com os resultados obtidos, o preenchimento ósseo na furca (POF) para o grupo -OT/EMD foi significativamente superior ao observado no grupo +OT/EMD, o que demonstra que o trauma de oclusão afeta negativamente o processo de cura, mesmo na presença do biomaterial EMD. Nota-se que para a distância CEJ-CB interproximal, o efeito negativo do trauma de oclusão foi também observado na comparação entre os grupos +OT e -OT, com uma maior distância linear entre CEJ-CB para o grupo +OT ($P < 0.05$). Apesar das diferenças metodológicas, estas observações podem ser relacionadas a relatos anteriores sobre o efeito do traumatismo oclusal no tecido ósseo (Sallum et al., 1976; Brandini et al., 2016) nos quais foram demonstradas alterações no periodonto, como menor área óssea e maior espessamento do ligamento periodontal.

Os efeitos benéficos do EMD foram observados anteriormente (Corrêa et al., 2012, Donos et al., 2003), motivando a sua escolha como abordagem regenerativa no presente estudo. Dentre estes efeitos temos: potencial antimicrobiano (Miron et al., 2014), favorecer angiogênese e fibrogênese (Maymon-Gil et al., 2016) e a formação de cemento radicular (Sallum et al., 2004), diminuir expressão de IL-1 β , RANKL, aumentar a expressão de prostaglandina E2, OPG e a proliferação e migração de linfócitos T, melhorando a resposta inflamatória, cicatrização e regeneração (Miron et al., 2014; Miron et al., 2016; Sanz et al., 2004). Porém Nokhbehsaim e colaboradores (2011) realizaram estudos *in vitro* que analisaram este potencial benéfico do EMD para a regeneração periodontal frente a forças biomecânicas aplicadas em células do ligamento periodontal. Diante da deformação cíclica, as células PDL humanas tratadas com EMD

apresentaram redução significativa no número de células, na adesão e na expressão de TGF- β 1, VEGF, colágeno e RUNX2. Também observou-se significativamente menos deposição de cálcio induzida por EMD. Dessa forma, novos estudos são necessários para avaliar o potencial do EMD frente ao trauma oclusal e a tratamentos periodontais. Portanto, a presente investigação avalia, *in vivo*, a associação desses fatores e o possível efeito no padrão de cura periodontal.

A influência positiva do EMD no parâmetro POF foi observada na ausência do trauma de oclusão (-OT/EMD versus -OT, $P < 0.05$) porém não na sua presença (+OT/EMD versus +OT, $P > 0.05$). Assim sendo, a associação do EMD promoveu uma maior porcentagem de preenchimento ósseo na região de furca (Heijl et al., 1997; Al-Hezaimi et al., 2021; Wennström et al., 2002) apenas no grupo onde o trauma de oclusão foi removido (ausência de sobrecarga oclusal durante o processo de cura: grupo -OT/EMD), acredita se que isso se deva ao fato de que o trauma pode gerar uma desorganização das estruturas periodontais com necrose das células do ligamento periodontal ou aumento do infiltrado de células imunológicas e alterações venosas (de Oliveira Diniz et al., 2012; Itoiz et al., 1963) e influência negativamente o processo de cura periodontal. Na ausência do EMD (grupos que receberam apenas RAR) não foi possível observar a influência do trauma neste parâmetro (-OT versus +OT, $P > 0.05$), talvez pela limitação do estímulo para a regeneração nestes grupos.

Em relação ao parâmetro distância CEJ-CB interproximal (mesial e distal), os valores observados para os grupos que receberam EMD foram significativamente maiores quando comparados aos sem EMD, o que mostra o efeito positivo do EMD no reparo tecidual ($P < 0.05$). Nota-se que a remoção da sobrecarga oclusal favoreceu a altura das cristas interproximais, mesmo na ausência do EMD (+OT versus -OT, $P < 0.05$). Como as distâncias CEJ-CB interproximais observadas nos grupos que receberam EMD foram menores, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os grupos com ou sem trauma na presença do EMD, mesmo com uma tendência para valores superiores no grupo +OT/EMD. Outros estudos também mostram que a perda óssea interproximal e fatores destrutivos do periodonto foram mais expressivos nos grupos que havia sobrecarga oclusal (Nakatsu et al., 2014; Jiang et al., 2022; Yoshinaga et al., 2007). Nakatsu et al., (2014) utilizaram o mesmo modelo animal e o mesmo parâmetro interproximal para investigar os efeitos do trauma na destruição periodontal. Os autores observaram que a perda óssea interproximal foi maior no grupo onde foi induzida a inflamação e no grupo da associação trauma

oclusal com inflamação. Jiang e colaboradores, (2022) pesquisaram os mecanismos envolvidos na reabsorção óssea e na resposta inflamatória do periodonto frente ao trauma oclusal, em modelo de rato com sobrecarga oclusal produzida pela cimentação de uma coroa e doença periodontal induzida por LPS. Neste estudo, os autores utilizaram microtomografia para concluir que no grupo de trauma oclusal com periodontite experimental, ocorreu significativamente menos densidade mineral óssea, volume ósseo por fração de volume de tecido e espessura trabecular que nos grupos controle, grupo da periodontite ou grupo trauma oclusal isolado. Yoshinaga e colaboradores (2007) observaram a distribuição de células inflamatórias no periodonto de ratos durante a inflamação induzida por LPS, com ou sem trauma oclusal. No grupo de trauma oclusal com periodontite experimental mais osteoclastos foram observados em comparação com outros grupos, e esse achado foi associado à maior reabsorção óssea no osso alveolar.

O grupo -OT/EMD apresentou significativamente mais preenchimento óssea na furca em comparação aos outros grupos e menor distância CEJ-CB interproximal em comparação ao grupo -OT, o que indica que a remoção da sobrecarga oclusal e a aplicação do EMD pode melhorar o padrão de cura periodontal. Polson et al, (1976) observaram em modelo animal (macacos) que após o ajuste oclusal o periodonto tem reversibilidade significativa da perda óssea sem inflamação ocasionada pela periodontite experimental. Ao avaliar resultados em estudos clínicos prévios, Burgett et al., (1992) relataram que houve um ganho significativamente maior no nível clínico de inserção (NIC) em pacientes que receberam ajuste oclusal, em comparação com os que não receberam. Harrel et al., (2001) mostraram que a terapia oclusal pode ser adjuvante ao tratamento e redução significativa da progressão da doença periodontal. No entanto, outro estudo clínico (Hakkarainen et al.,1986) concluiu, após a coleta de amostra de fluido crevicular, que as interferências oclusais não têm efeito sobre a variação na quantidade de fluxo do fluido crevicular, sugerindo que o trauma oclusal pode não influir no grau de inflamação. Sendo assim, a literatura apresenta resultados controversos quanto ao efeito da terapia oclusal sobre a progressão da periodontite.

Uma observação interessante neste estudo foi a presença de mobilidade dentária após os 7 dias da indução da doença periodontal associada ao trauma oclusal, um parâmetro de difícil registro e quantificação (Weston et al., 2016). Essa alteração é também descrita por outros estudos clínicos e pré-clínicos que mostraram que, a sobrecarga oclusal em um periodonto saudável ou reduzido,

pode resultar em reabsorção óssea alveolar com consequente aumento da mobilidade dentária (de Oliveira Diniz et al., 2012; Pihlstrom et al., 1986; Jin & Cao, 1992). A mobilidade pode representar uma adaptação fisiológica do ligamento periodontal e osso alveolar às forças de sobrecarga oclusal (Ramfjord e Ash, 1981), e pode ser revertida ou melhorada com a remoção do trauma oclusal, mas também pode representar uma resposta à indução da doença periodontal (ligadura) e cabe salientar a limitação da ausência do grupo controle para avaliar esse sinal clínico. Também pode ocorrer melhora da mobilidade e do nível de inserção clínica após o tratamento periodontal (Zhou et al., 2017; Berglundh et al., 2022; Fleszar et al., 1980). Sugere-se mais estudos sobre a interrelação entre a mobilidade dental, tratamento periodontal (incluindo também a tentativa de regeneração) e remoção da sobrecarga oclusal, pois o presente estudo demonstrou *in vivo* que o trauma oclusal pode gerar mobilidade e pode interferir no processo de cura periodontal. A literatura relata que bolsas em dentes com maior mobilidade (grau II e III) não respondem tão bem ao tratamento periodontal e às tentativas de regeneração como bolsas em dentes sem mobilidade (Cortellini et al., 2015). Uma alternativa para auxiliar dentes com perda de inserção periodontal avançada (trauma de oclusão secundário) seria a contenção (esplintagem) dental por meio de fios ortodônticos e compósitos fotoativáveis (Schulz et al. 2000; Ramfjord e Ash, 1981) o que, em tese, poderia favorecer a estabilização do coágulo e possibilitar melhor reorganização celular e tecidual (Fleszar et al., 1980; Cortellini et al., 2015).

A metodologia do estudo se baseia em modelos prévios de indução de periodontite experimental (Almeida et al., 2007), indução de trauma oclusal (Oliveira Diniz et al., 2012 e Nakatsu et al., 2014) e aplicação de EMD (Corrêa et al., 2010, 2012 e 2014). Os modelos animais que utilizam o rato são comumente usados em estudos de periodontite experimental pelo baixo custo, resposta biológica semelhante à humana, desenvolvimento e composição do biofilme dentário, histopatologia de lesões periodontais e imunobiologia básica (Klausen; 1991; De Almeida et al., 2015; Johnson, 1975). No entanto, esta área do conhecimento abordada neste trabalho necessita de investigações adicionais. Neste aspecto, é importante ressaltar que os resultados de estudos em modelos animais, como o presente estudo, não devem ser diretamente extrapolados para humanos. Isto posto, dentro dos limites da presente investigação, é possível concluir que a persistência do trauma de oclusão durante o processo de cura pode gerar efeitos negativos, mesmo na presença do EMD.

7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do estudo, conclui-se o trauma oclusal interferiu negativamente no processo de cura periodontal, mesmo na presença de técnicas regenerativas (EMD). Sugere-se que mais estudos sejam realizados para o conhecimento do mecanismo biológico associado a este efeito.

REFERÊNCIAS

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Al-Hezaimi K, Al-Askar M, Al-Fahad H, Al-Rasheed A, Al-Sourani N, Griffin T, O'Neill R, Javed F. Effect of enamel matrix derivative protein on the healing of standardized epithelial wounds: a histomorphometric analysis in vivo. *Int Wound J*. 2012 Aug;9(4):436-41. doi: 10.1111/j.1742-481X.2011.00904.x. Epub 2011 Dec 19. PMID: 22182231; PMCID: PMC7950445.

Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG (2007) Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 78:566–575. doi:10.1902/jop.2007.060214.

Aspriello SD, Zizzi A, Spazzafumo L, Rubini C, Lorenzi T, Marzioni D, Bullon P, Piemontese M. Effects of enamel matrix derivative on vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in gingival tissues of periodontal pocket: a comparative study. *J Periodontol*. 2011 Apr;82(4):606-12. doi: 10.1902/jop.2010.100180. Epub 2010 Sep 15. PMID: 20843235.

Berglundh T., Giannobile W.V., Lang N.P., Sanz M. *Lindhe's clinical periodontology and implant dentistry*. Seventh edition. Hoboken : John Wiley & Sons, Inc.,; 2022.

Brandini DA, Amaral MF, Poi WR, Casatti CA, Bronckers AL, Everts V, Beneti IM. The effect of traumatic dental occlusion on the degradation of periodontal bone in rats. *Indian J Dent Res* 2016;27:574-80.

Burgett FG, Ramfjord SP, Nissle RR, Morrison EC, Charbeneau TD, Caffesse RG. A randomized trial of occlusal adjustment in the treatment of periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 1992 Jul;19(6):381-7. doi: 10.1111/j.1600-051x.1992.tb00666.x. PMID: 1634627.

César-Neto JB, Benatti BB, Sallum EA, Casati MZ, Nociti FH Jr. The influence of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats. *J Periodontal Res*. 2006 Apr;41(2):118-23. doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00844.x. PMID: 16499714.

Chaffee BW, Couch ET, Vora MV, Holliday RS. Oral and periodontal implications of tobacco and nicotine products. *Periodontol 2000*. 2021 Oct;87(1):241-253. doi: 10.1111/prd.12395. PMID: 34463989; PMCID: PMC8444622.

Corrêa MG, Campos ML, Benatti BB, Marques MR, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA. The impact of cigarette smoke inhalation on the outcome of enamel matrix derivative treatment in rats: histometric analysis. *J Periodontol*. 2010 Dec;81(12):1820-8. doi: 10.1902/jop.2010.100200. Epub 2010 Jul 14. PMID: 20629543.

Corrêa MG, Gomes Campos ML, Marques MR, Bovi Ambrosano GM, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA. Outcome of enamel matrix derivative treatment in the presence of chronic stress: histometric study in rats. *J Periodontol*. 2014 Jul;85(7):e259-67. doi: 10.1902/jop.2013.130383. Epub 2013 Nov 28. PMID: 24283657.

Corrêa MG, Gomes Campos ML, Marques MR, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA. Histometric analysis of the effect of enamel matrix derivative on the healing of periodontal defects in rats with diabetes. *J Periodontol*. 2013 Sep;84(9):1309-18. doi: 10.1902/jop.2012.120354. Epub 2012 Nov 3. PMID: 23121457.

Cortellini P, Tonetti MS. Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects. *Periodontol 2000*. 2015 Jun;68(1):282-307. doi: 10.1111/prd.12048. PMID: 25867990.

De Almeida J, Ervolino E, Bonfietti LH, Novaes VC, Theodoro LH, Fernandes LA, Martins TM, Faleiros PL, Garcia VG. Adjuvant Therapy With Sodium Alendronate for the Treatment of Experimental Periodontitis in Rats. *J Periodontol*. 2015 Oct;86(10):1166-75. doi: 10.1902/jop.2015.150166. Epub 2015 Jun 11. PMID: 26062841.

de Oliveira Diniz CK, Corrêa MG, Casati MZ, Nociti FH Jr, Ruiz KG, Bovi Ambrosano GM, Sallum EA. Diabetes mellitus may increase bone loss after occlusal trauma and experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2012 Oct;83(10):1297-303. doi: 10.1902/jop.2012.110514. Epub 2012 Feb 6. PMID: 22309176.

Decker AM & Wang HL. Effects of occlusion on periodontal wound healing. *Compend Contin Educ Dent*. 2018; 39(9):608-612.

Dommisch H, Walter C, Difloe-Geisert JC, Gintaute A, Jepsen S, Zitzmann NU. Efficacy of tooth splinting and occlusal adjustment in patients with periodontitis exhibiting masticatory dysfunction: A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2022 Jun;49 Suppl 24:149-166. doi: 10.1111/jcpe.13563. Epub 2021 Dec 1. PMID: 34854115.

Donos N, Sculean A, Glavind L, Reich E, Karring T. Wound healing of degree III furcation involvements following guided tissue regeneration and/or Emdogain. A histologic study. *J Clin Periodontol*. 2003 Dec;30(12):1061-8. doi: 10.1046/j.0303-6979.2003.00429.x. PMID: 15002892.

Ericsson I, Lindhe J. Effect of longstanding jiggling on experimental marginal periodontitis in the beagle dog. *J Clin Periodontol*. 1982;9:497-503.

Fan J, Caton JG. Occlusal trauma and excessive occlusal forces: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S214-S222. doi: 10.1002/JPER.16-0581. PMID: 29926937.

Fleszar TJ, Knowles JW, Morrison EC, Burgett FG, Nissle RR, Ramfjord SP. Tooth mobility and periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1980 Dec;7(6):495-505. doi: 10.1111/j.1600-051x.1980.tb02156.x. PMID: 6938529.

Foz AM, Artese HP, Horliana AC, Pannuti CM, Romito GA. Occlusal adjustment associated with periodontal therapy--a systematic review. *J Dent*. 2012 Dec;40(12):1025-35. doi: 10.1016/j.jdent.2012.09.002. Epub 2012 Sep 13. PMID: 22982113.

Garcia VG, Calil VS, Cardoso JM, Hinz M, da Rocha TE, Ervolino E, Miessi DM, Toro LF, Brandini DA, Theodoro LH. In vivo comparative study of the effects of using the enamel matrix derivative and/or photobiomodulation on the repair of bone defects. *J Clin Exp Dent*. 2022 Feb 1;14(2):e114-e122. doi: 10.4317/jced.59179. PMID: 35173893; PMCID: PMC8842292.

Garcia VG, Fernandes LA, de Almeida JM, Bosco AF, Nagata MJ, Martins TM, Okamoto T, Theodoro LH. Comparison between laser therapy and non-surgical therapy for periodontitis in rats treated with dexamethasone. *Lasers Med Sci*. 2010 Mar;25(2):197-206. doi: 10.1007/s10103-009-0678-z. Epub 2009 May 14. PMID: 19440786.

GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1789-1858. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32279-7. Epub 2018 Nov 8. Erratum in: *Lancet*. 2019 Jun 22;393(10190):e44. PMID: 30496104; PMCID: PMC6227754.

Gher ME. Changing concepts. The effects of occlusion on periodontitis. *Dent Clin North Am*. 1998 Apr;42(2):285-99. PMID: 9597338.

Glickman I, Smulow JB. The combine defects of inflammation and trauma from occlusion in periodontitis. *Int Dent J*. 1969;19:393– 407.

Hakkarainen K. Relative influence of scaling and root planing and occlusal adjustment on sulcular fluid flow. *J Periodontol*. 1986 Nov;57(11):681-4. doi: 10.1902/jop.1986.57.11.681. PMID: 3550034.

Hammarstrom, L., Heijl, L, & Gestrelus, S, (1997) Periodontal regeneration with En- amel Matrix Derivative in a dehiscence model in the monkey. *Journal of Clinical Periodontology* 24, 669-677.

Harrel SK, Nunn ME. The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. II. Relationship of occlusal treatment to the progression of periodontal disease. *J Periodontol*. 2001;72:495–505.

Helal O, Göstemeyer G, Krois J, Fawzy El Sayed K, Graetz C, Schwendicke F. Predictors for tooth loss in periodontitis patients: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2019 Jul;46(7):699-712. doi: 10.1111/jcpe.13118. Epub 2019 May 28. PMID: 31025366.

Ispas A, Miha CM, Crăciun AM, Constantiniuc M. Morpho-histological assessment of the periodontal support structures under the action of excessive occlusal forces and under the influence of nicotine. *Rom J Morphol Embryol*. 2018;59(1):211-217. PMID: 29940630.

Itoiz ME, Carranza FA Jr, Cabrini RL. Histologic and histometric study of experimental occlusal trauma in rats. *J Periodontol* 1963;34:305-314.

Jiang M, Shang Z, Zhang T, Yin X, Liang X, Sun H. Study on the role of pyroptosis in bone resorption induced by occlusal trauma with or without periodontitis. *J Periodontal Res.* 2022 Jun;57(3):448-460. doi: 10.1111/jre.12974. Epub 2022 Feb 9. PMID: 35141913.

Jin LJ, Cao CF. Clinical diagnosis of trauma from occlusion and its relation with severity of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1992 Feb;19(2):92-7. doi: 10.1111/j.1600-051x.1992.tb00446.x. PMID: 1602041.

Johnson IH. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J Periodontal Res.* 1975 Dec;10(6):332-45. doi: 10.1111/j.1600-0765.1975.tb00042.x. PMID: 129558.

Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol.* 1991 Jan;62(1):59-73. doi: 10.1902/jop.1991.62.1.59. PMID: 2002433.

Kvinnslund S, Kristiansen AB, Kvinnslund I, Heyeraas KJ. Effect of experimental traumatic occlusion on periodontal and pulpal blood flow. *Acta Odontol Scand.* 1992 Aug;50(4):211-9. doi: 10.3109/00016359209012765. PMID: 1514395.

L Heijl, G Heden, G Svärdröm, A Ostgren. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *Clinical Trial J Clin Periodontol.* 1997; 24(9 Pt 2):705-14.

Lindhe J, Ericsson I. The effect of elimination of jiggling forces on periodontally exposed teeth in the dog. *J Periodontol.* 1982;53:562– 567.

Lindhe J, Ericsson I. The influence of trauma from occlusion on reduced but healthy periodontal tissues in dogs. *J Clin Periodontol.* 1976;3:110–122.

Lindhe J, Svanberg G. Influence of trauma from occlusion on progression of experimental periodontitis in the beagle dog. *J Clin Periodontol.* 1974;1:3–14.

Loos BG, Needleman I. Endpoints of active periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):61-71. doi: 10.1111/jcpe.13253. PMID: 31912527; PMCID: PMC7670400.

Macapanpan LC, Weinmann JP. The influence of injury to the peri-odontal membrane on the spread of gingival inflammation. *J Dent Res*. 1954;33:263–272.

Maymon-Gil T, Weinberg E, Nemcovsky C, Weinreb M. Enamel Matrix Derivative Promotes Healing of a Surgical Wound in the Rat Oral Mucosa. *J Periodontol*. 2016 May;87(5):601-9. doi: 10.1902/jop.2016.150567. Epub 2016 Jan 16. PMID: 26777768.

McCall JO. Traumatic occlusion. *J Am Dent Assoc*. 1939;26:519– 526.

McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. II. The effectiveness of clinical parameters in developing an accurate prognosis. *J Periodontol*. 1996;67:658–665.

McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. *J Periodontol*. 1996;67:666–674.

Messora MR, Pereira LJ, Foureaux R, Oliveira LF, Sordi CG, Alves AJ, Napimoga MH, Nagata MJ, Ervolino E, Furlaneto FA. Favourable effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on experimental periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2016 Jun;66:108-19. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.02.014. Epub 2016 Feb 26. PMID: 26945169.

Miron RJ, Dard M, Weinreb M. Enamel matrix derivative, inflammation and soft tissue wound healing. *J Periodontol Res*. 2015 Oct;50(5):555-69. doi: 10.1111/jre.12245. Epub 2014 Nov 23. PMID: 25418917.

Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, Froum S, Zucchelli G, Nemcovsky C, Donos N, Lyngstadaas SP, Deschner J, Dard M, Stavropoulos A, Zhang Y, Trombelli L, Kasaj A, Shirakata Y, Cortellini P, Tonetti M, Rasperini G, Jepsen S, Bosshardt DD. Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. *J Clin Periodontol*. 2016 Aug;43(8):668-83. doi: 10.1111/jcpe.12546. Epub 2016 May 28. PMID: 26987551.

Nakatsu S, Yoshinaga Y, Kuramoto A, Nagano F, Ichimura I, Oshino K, Yoshimura A, Yano Y, Hara Y. Occlusal trauma accelerates attachment loss at the onset of experimental periodontitis in rats. *J Periodont Res* 2014; 49: 314– 322. © 2013 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd.

Nokhbehsaim M, Deschner B, Bourauel C, Reimann S, Winter J, Rath B, Jäger A, Jepsen S, Deschner J. Interactions of enamel matrix derivative and biomechanical loading in periodontal regenerative healing. *J Periodontol*. 2011 Dec;82(12):1725-34. doi: 10.1902/jop.2011.100678. Epub 2011 Mar 29. PMID: 21513471.

Oliveira GJ, Paula LG, Souza JA, Spin-Neto R, Stavropoulos A, Marcantonio RA. Effect of avocado/soybean unsaponifiables on ligature-induced bone loss and bone repair after ligature removal in rats. *J Periodontal Res*. 2016 Jun;51(3):332-41. doi: 10.1111/jre.12312. Epub 2015 Aug 6. PMID: 26248485.

Orban B, Weinmann J. Signs of traumatic occlusion in average human jaws. *J Dent Res*. 1933;13:216.

Pihlstrom BL, Anderson KA, Aepli D, Schaffer EM. Association between signs of trauma from occlusion and periodontitis. *J Periodontol* 1986;57:1-6.

Polson AM, Kennedy JE, Zander HA. Trauma and progression of marginal periodontitis in squirrel monkeys. I. Co-destructive factors of periodontitis and thermally-produced injury. *J Periodontal Res*. 1974;9:100–107.

Polson AM, Meitner SW, Zander HA. Trauma and progression of marginal periodontitis in squirrel monkeys. III. Adaption of interproximal alveolar bone to repetitive injury. *J Periodontal Res*. 1976;11:279–289.

Polson AM, Zander HA. Effect of periodontal trauma upon intra- bony pockets. *J Periodontol*. 1983;54:586–591.

Polson AM. Trauma and progression of marginal periodontitis in squirrel monkeys. II. Co-destructive factors of periodontitis and mechanically-produced injury. *J Periodontal Res.* 1974;9:108–113.

Prietto NR, Martins TM, Santinoni CDS, Pola NM, Ervolino E, Bielemann AM, Leite FRM. Treatment of experimental periodontitis with chlorhexidine as adjuvant to scaling and root planing. *Arch Oral Biol.* 2020 Feb;110:104600. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104600. Epub 2019 Nov 7. PMID: 31759184.

Ramfjord SP, Ash MM Jr. Significance of occlusion in the etiology and treatment of early, moderate, and advanced periodontitis. *J Periodontol.* 1981 Sep;52(9):511-7. doi: 10.1902/jop.1981.52.9.511. PMID: 6793705.

Sallum AW, do Nascimento A, Minervino TM. Estudo histológico do traumatismo oclusal em saguís [Histologic study of occlusal trauma in monkeys]. *Bol Fac Odontol Piracicaba.* 1976;(77):41-66. Portuguese. PMID: 829559.

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 Oct;75(10):1357-63. doi: 10.1902/jop.2004.75.10.1357. PMID: 15562913.

Schulz A, Hilgers RD, Niedermeier W. The effect of splinting of teeth in combination with reconstructive periodontal surgery in humans. *Clin Oral Investig.* 2000 Jun;4(2):98-105. doi: 10.1007/s007840050123. PMID: 11218508.

Smiley CJ, Tracy SL, Abt E, Michalowicz BS, John MT, Gunsolley J, Cobb CM, Rossmann J, Harrel SK, Forrest JL, Hujoel PP, Noraian KW, Greenwell H, Frantsve-Hawley J, Estrich C, Hanson N. Systematic review and meta-analysis on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts. *J Am Dent Assoc.* 2015 Jul;146(7):508-24.e5. doi: 10.1016/j.adaj.2015.01.028. PMID: 26113099.

Stillman PR. What is traumatic occlusion and how can it be diagnosed and corrected. *J Am Dent Assoc.* 1925;12:1330–1338.

Tavelli L, McGuire MK, Zucchelli G, Rasperini G, Feinberg SE, Wang HL, Giannobile WV. Extracellular matrix-based scaffolding technologies for periodontal and peri-implant soft tissue regeneration. *J Periodontol*. 2020 Jan;91(1):17-25. doi: 10.1002/JPER.19-0351. Epub 2019 Sep 19. PMID: 31475361.

Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S159-S172. doi: 10.1002/JPER.18-0006. Erratum in: *J Periodontol*. 2018 Dec;89(12):1475. PMID: 29926952.

Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D, Fonzar A, Fourmoussis I, Mayfield L, Rossi R, Silvestri M, Tiedemann C, Topoll H, Vangsted T, Wallkamm B. Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol*. 2002 Apr;29(4):317-25. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290407.x. PMID: 11966929.

Tsuzuki T, Kajiya H, T-Goto K, Tsutsumi T, Nemoto T, Okabe K, Takahashi Y. Hyperocclusion stimulates the expression of collagen type XII in periodontal ligament. *Arch Oral Biol*. 2016 Jun;66:86-91. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.02.009. Epub 2016 Feb 18. PMID: 26930474.

Waerhaug J. The angular bone defect and its relationship to trauma from occlusion and downgrowth of subgingival plaque. *J Clin Peri-odontol*. 1979;6:61–82.

Wang HL, Burgett FG, Shyr Y, Ramfjord S. The influence of molar furcation involvement and mobility on future clinical periodontal attachment loss. *J Periodontol*. 1994;65:25–29.

Wang PC, Tang HR, Xu J, Zhang R, Liu LX, Wang QT. [Effect of periodontal initial therapy on teeth with chronic periodontitis and secondary occlusal trauma]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2013 May;48(5):266-71. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2013.05.004. PMID: 24004621.

Wennström JL, Lindhe J. Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. *J Clin Periodontol*. 2002 Jan;29(1):9-14. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290102.x. PMID: 11846843.

Weston P, Yaziz YA, Moles DR, Needleman I. WITHDRAWN: Occlusal interventions for periodontitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Nov 28;11(11):CD004968. doi: 10.1002/14651858.CD004968.pub3. PMID: 27893154; PMCID: PMC6464553.

Yoshinaga Y, Ukai T, Abe Y, Hara Y. Expression of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand relates to inflammatory bone resorption, with or without occlusal trauma, in rats. *J Periodontal Res*. 2007 Oct;42(5):402-9. doi: 10.1111/j.1600-0765.2007.00960.x. PMID: 17760817.

Zhou SY, Mahmood H, Cao CF, Jin LJ. Teeth under High Occlusal Force may Reflect Occlusal Trauma-associated Periodontal Conditions in Subjects ^[1]_{SEP} with Untreated Chronic Periodontitis. *Chin J Dent Res*. 2017;20(1):19-26. doi: 10.3290/j.cjdr.a37738. PMID: 28232963.

Zhu R, Zhang Z, Lu B, Zhang P, Liu W, Liang X. Unloading of occlusal force aggravates alveolar bone loss in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2022 Oct;57(5):1070-1082. doi: 10.1111/jre.13047. Epub 2022 Aug 16. PMID: 35973065.

ANEXOS

ANEXO 1 – RELATÓRIO DE SIMILARIDADE

MESTRADO - TESE

ORIGINALITY REPORT

6%	7%	3%	1%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	rsdjournal.org Internet Source	3%
2	repositorio.unicamp.br Internet Source	2%
3	docplayer.com.br Internet Source	1%
4	core.ac.uk Internet Source	1%

Exclude quotes Off

Exclude matches

< 1%

Exclude bibliography On

ANEXO 2 – CERTIFICADO DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS

CERTIFICADO CEUA nº 242/2022



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **Avaliação do efeito da sobrecarga oclusal no padrão de cura após indução experimental de periodontite e tratamento com proteínas derivadas do esmalte. Estudo histomorfométrico em ratos.**, registrada com o nº **6080-1/2022**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum e Jéssica Costa Reis, Thais Flügel Mathias Paschoal**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI N° 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO N° 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de **15/08/2022**.

Finalidade:	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	05/09/2022 a 05/06/2023
Vigência da autorização para manipulação animal:	15/08/2022 a 05/06/2023
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogênico / ZFV,Hannover, Germany, 1987
No. de animais:	7
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 250.00 Gramas
Sexo:	7 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogênico / ZFV,Hannover, Germany, 1987
No. de animais:	7
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 250.00 Gramas
Sexo:	7 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogênico / ZFV,Hannover, Germany, 1987
No. de animais:	7
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 250.00 Gramas
Sexo:	7 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogênico / ZFV,Hannover, Germany, 1987
No. de animais:	7
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 250.00 Gramas
Sexo:	7 Machos
Origem:	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB)/Unicamp, serão mantidos
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, FOP/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização a junto ao **IBAMA, SISBIO** ou **CIBio** e é **restrita** a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, **30 de agosto de 2022**.

Prof. Dr. Wagner José Fávoro
Presidente

Rosângela dos Santos
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Documento assinado eletronicamente por **WAGNER JOSE FAVARO, PRESIDENTE DA CEUA/UNICAMP**, em 31/08/2022, às 10:47 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.

Documento assinado eletronicamente por **ROSANGELA DOS SANTOS, SECRETARIA EXECUTIVA DA CEUA/UNICAMP**, em 30/08/2022, às 13:14 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site:
sigad.unicamp.br/verifica, informando o código verificador:
BACE8277 90F4497D A87BBA17 3BBAE3C2

