MARIANA SCHUTZER RAGGHianti ZANGRANDO

Análise radiográfica do tratamento de defeitos infra-ósseos humanos por meio de retalho de espessura total repostado associado ou não à proteína da matriz do esmalte: resultados após dois anos

São Paulo

2010

MARIANA SCHUTZER RAGGHIANI ZANGRANDO

Análise radiográfica do tratamento de defeitos infra-ósseos humanos por meio de retalho de espessura total repostado associado ou não à proteína da matriz do esmalte: resultados após dois anos

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Pugliesi
Alves de Lima

São Paulo

2010

FOLHA DE APROVAÇÃO

Zangrando-Ragghianti MS. Análise radiográfica do tratamento de defeitos infra-ósseos humanos por meio de retalho de espessura total reposto associado ou não à proteína da matriz do esmalte: resultados após dois anos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2010

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho ao meu marido Denis e ao nosso filho Alexandre.

Ao meu marido, por ser um companheiro incansável e meu constante incentivador. Você é exemplo de força e determinação. Em cada parte deste trabalho, posso me recordar de todo apoio que você sempre me deu, principalmente nas horas mais difíceis. Você nunca me deixou desistir e sempre me mostrou como a vida pode ser mais feliz e levada menos a sério. Muito obrigada!

Ao meu filho, por ser o maior presente que Deus nos deu. Amo você incondicionalmente e eternamente. Em tão pouco tempo de vida você já nos ensinou muito. Você nos mostrou que somos seres desprovidos de controle e que há um alguém muito maior nos guiando e olhando por nós: Deus. E a Ele agradeço por ter nos dado você!!!

Dedico também de forma especial à minha mãe Cleiri e ao meu pai, Jonas (*in memoriam*). Às minhas irmãs, Adriana e Cristiana, aos meus sobrinhos João Pedro, Roberto e Helena e aos meus cunhados, Renato e Jailson. Minha família é meu porto seguro, agradeço a Deus por ter nascido num lar com tanto amor.

Ao Prof. Dr. Luiz, por toda atenção e auxílio durante a realização de todos os projetos que conduzimos juntos e em especial por esse trabalho. Por ser um exemplo de dedicação a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Todescan, por ter acreditado no meu potencial e por ter aberto as portas para que eu pudesse mostrar meu trabalho junto à Disciplina de Periodontia da FOU SP.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas, professores e realizadores deste trabalho, Daniela Chambrone, Ivan Munhoz Pasin e Prof. Dra. Marina Clemente Conde. Ao Prof. Dr. Cláudio Panutti, por ser um brilhante profissional e uma pessoa especial. Muito obrigada pelas inúmeras contribuições.

Ao Prof. Dr. Pustiglioni, pela sua maneira singular de incentivar-nos a buscar o melhor que existe dentro de nós.

Aos Professores Giorgio de Micheli, Roberto Fraga Lotufo (*In memoriam*), Marco Antonio Paupério Georgetti, Giuseppe Alexandre Romito pelo convívio harmonioso e por todos os ensinamentos. De forma especial ao Prof. Giuseppe, pelos conselhos e incentivo e ao Prof. Marco pela sugestões e enriquecimento deste trabalho.

Aos meus familiares, em especial a Tia Myrthes, Onivaldo, Arlete, Lucas, Livia e Letícia.

A Família Zangrando, principalmente àqueles que me receberam verdadeiramente de coração como membro da família.

Aos meus amigos Jorge e Mônica, grandes companheiros na rotina diária. Vocês são nossos irmãos de coração.

A minha amiga Sílvia, por ser uma pessoa maravilhosa, feliz, atenciosa e sempre presente nos momentos de dificuldade.

Ao meu amigo Rodrigo Carlos Nahás de Castro Pinto, por ser um parceiro inigualável na prática docente. Espero que cresçamos juntos e firmes no nosso propósito.

Ao colega Rodrigo Basílio Santos, por todos os momentos de dificuldade que passamos juntos. Hoje, podemos lembrar do passado com alívio, e pensar nas

nossas conquistas com alegria!

A todos os companheiros de Doutorado e Mestrado, em especial aos membros da minha turma: Vanessa, Flávia, Leandro, André, Daniele. E também a Verônica, Fábio e a Carla Damante, por ter me apresentado à disciplina de Periodontia da FOUSP.

Aos meus companheiros de trabalho da Prefeitura Municipal de São Vicente, por compreender minhas ausências e me apoiar nesse projeto.

Aos meus alunos, com vocês, nós aperfeiçoamos ainda mais a arte da docência, pois aprendemos muito com seus questionamentos.

As funcionárias Márcia, Mara, Vera e Marília, por estarem sempre presentes, pela paciência e pela amizade.

Aos pacientes desta pesquisa, pela confiança e por participarem desse trabalho e da concretização de mais uma importante etapa na minha carreira.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) que viabilizou a realização deste trabalho.

Às bibliotecárias da FOUSP, pelo imenso auxílio na confecção deste trabalho.

RESUMO

Zangrando-Ragghianti MS. Análise radiográfica do tratamento de defeitos infra-ósseos humanos por meio de retalho de espessura total repostado associado ou não à proteína da matriz do esmalte: resultados após dois anos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

O objetivo deste estudo clínico aleatório, boca dividida e duplo cego foi avaliar por meio de mensurações radiográficas lineares, o tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes com retalho de espessura total repostado (RET) associado ou não à proteína derivada da matriz do esmalte (PME) após 24 meses. Foram avaliados 10 pacientes com periodontite crônica apresentando 2 ou mais defeitos infra-ósseos, totalizando 43 defeitos. As tomadas radiográficas foram realizadas antes do procedimento cirúrgico e após 24 meses. Foram confeccionados registros oclusais individualizados para padronização das radiografias. As películas radiográficas foram digitalizadas (500dpi/8bits) em um escaner (SprintScan 35 Plus scanner-Polaroid). O software AxioVision (version 3.0-Carl Zeiss) foi utilizado para mensurar as distâncias da junção esmalte-cimento (JEC) à crista óssea alveolar (CO), JEC ao fundo do defeito (FD) e o ângulo do defeito infra-ósseo. Uma escala milimétrica foi adquirida através da calibração de uma tela radiográfica de 1x1mm. Um examinador cego e calibrado realizou todas as mensurações radiográficas. A análise estatística utilizou nível de significância $p=0,05$. Após 24 meses, foi observada uma significativa perda da crista óssea (JEC-CO) para PME (1,01mm; $p=0,049$), mas não para RET (0,14mm; $p=0,622$), no entanto, sem diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p=0,37$). A redução da profundidade do defeito ósseo (JEC-FD) foi significativa para RET (0,70mm; $p=0,005$), mas não para PME (-0,04mm; $p=0,86$), sem diferenças detectadas entre os grupos ($p=0,87$). Ambos PME (0,69°; $p=0,82$) e RET (5,71°; $p=0,24$) demonstraram um aumento nas medidas do ângulo do defeito, mas sem diferenças após 24 meses ou entre os grupos ($p=0,35$). Nesta amostra, a análise por meio de medidas radiográficas lineares computadorizadas não foi capaz de demonstrar superioridade do tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 e 3 paredes com a aplicação da PME em comparação ao RET após 24 meses.

Palavras-chave: Técnicas de diagnóstico e procedimentos. Radiografia. Periodontia (Regeneração). Periodontia.

ABSTRACT

Zangrando-Ragghianti MS Radiographic analysis of the treatment of human infrabony defects using repositioned flap associated or not to enamel matrix protein: results after two years [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

The aim of this randomized, double-blind, split-mouth clinical trial was evaluate, using linear radiographic measurements, infra-bony defects treated with enamel matrix protein (EMP) or repositioned flap (RF), after 24 months. Ten healthy patients with chronic periodontitis presenting 2 or more defects were selected, totalizing 43 defects. Radiographic data were collected just before surgery and after 24 months. An individualized film holder was used to take standardized radiographs. Images were digitized (500dpi/8bits) with the SprintScan 35 Plus scanner (Polaroid). The AxioVision (version 3.0) software (Carl Zeiss) was used to measure the distances from the cemento-enamel junction (CEJ) to the alveolar crest (AC), CEJ to the bottom of the defect (BD) and infra-bony defect angle. A milimetric scale was achieved after calibration with a 1x1mm grid. A blind calibrated examiner performed all radiographic measurements. Statistical analysis used a level of significance of $p=0,05$. After 24 months, a significant crestal bone loss (CEJ-AC) was observed for EMP (1,01mm; $p=0,049$) but not for RF (0,14mm; $p=0,622$), however, no differences were detected between groups ($p=0,37$). Reduction of the bone defect depth (CEJ-BD) was significant for RF (0,70mm; $p=0,005$) but not for EMP (-0,04mm; $p=0,86$), while no differences were detected between them ($p=0,87$). Both EMP ($0,69^\circ$; $p=0,82$) and RF ($5,71^\circ$; $p=0,24$) showed an improvement in defect angle measurements but no significant differences were observed after 24 months or between them ($p=0,35$). In this sample, the linear radiographic analysis was not able to demonstrate the superiority of EMP treated infra-bony defects when compared to RF alone after 24 months.

Keywords: Procedures and diagnostic techniques. Radiography. Periodontics (Regeneration). Periodontics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 – Reveladora automática (A/T 2000XR- Air Techniques).....	26
Figura 4.2 – Escaner de slides (Sprint Scan 35 Polaroid)	27
Figura 4.3 – Programa de computador Axiovision v 3.0 (Carl Zeiss)	27
Figura 4.4 – Tela radiográfica para criação de escala milimetrada	28
Figura 4.5 – Identificação das referências anatômicas JEC e FD	28
Figura 4.6 – Medida em milímetros da distância JEC-FD	29
Figura 4.7 – Identificação das referências anatômicas JEC e CO	29
Figura 4.8 – Medida em milímetros da distância JEC-CO.....	30
Figura 4.9 – Identificação das referências anatômicas JEC, CO e FD.....	30
Figura 4.10 – Medida angular baseada nas duas linhas JEC-FD e CO-FD	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Tempos de exposição pré-definidos no aparelho de raios-x.....	26
Tabela 4.2 – Coeficiente de correlação intra-classe (ICC).....	32
Tabela 5.1 – Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação à JEC-CO.....	34
Tabela 5.2 – Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação à JEC-FD.....	35
Tabela 5.3 – Média, mediana, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação ao ângulo.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	ápice radicular
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CO	crista óssea
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FD	fundo do defeito
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
IG	Índice Gengival
IP	Índice de Placa
JEC	junção esmalte-cimento
NCI	nível clínico de inserção
NCIR	nível clínico de inserção relativo
PCS	profundidade clínica de sondagem
PME	proteína da matriz do esmalte
RET	retalho de espessura total
RWM	retalho de Widman modificado
SR	superfície radicular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
3 PROPOSIÇÃO	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Delineamento do estudo e seleção dos pacientes	23
4.2 Fase Cirúrgica	24
4.3 Avaliação Radiográfica.....	25
4.4 Análise estatística	32
5 RESULTADOS.....	33
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO

O principal objetivo da terapêutica periodontal é cessar a progressão da doença, enquanto o objetivo ideal dos tratamentos cirúrgicos utilizados em Periodontia é a recuperação dos tecidos periodontais perdidos. A regeneração periodontal deve ser entendida como a reconstrução dos tecidos perdidos com as mesmas características e funções que eles possuem, ou seja, a formação de novo cemento, novo osso alveolar e ligamento periodontal funcional (American Academy of Periodontology, 1992). Desta forma, vários materiais e técnicas vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de regenerar o periodonto (Parashis; Tsiklakis, 2000). Diferentes modalidades de tratamentos de defeitos ósseos localizados estão relacionadas a este propósito, incluindo diferentes tipos de enxertos ósseos (Todd Scheyer et al., 2002; Velasquez-Plata et al., 2002), regeneração tecidual guiada (Sculean et al., 2001c; Zucchelli et al., 2002), diferentes fatores de crescimento, proteínas morfogenéticas (Garret, 1996; Bartold et al., 2000) e proteínas derivadas da matriz do esmalte (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Tonetti et al., 2002; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009).

Dentre esses procedimentos, o uso de proteína da matriz do esmalte (PME) tem como princípio biológico a mimetização de eventos específicos que ocorrem durante o desenvolvimento do periodonto (Giannobile; Somerman, 2003). Durante a formação da raiz dental, uma camada fina de material semelhante à matriz do esmalte produzida por ameloblastos é depositada sobre a superfície radicular. A amelogenina, principal componente desta matriz, parece ter um significativo papel na formação de cemento acelular. Estudos *in vitro*, em animais e humanos demonstraram que a PME parece controlar e promover a regeneração periodontal, possuindo um importante papel na cementogênese e na formação do ligamento periodontal e osso alveolar (Hammarström, 1997; Heijl, 1997; Hoang et al., 2000; Kalpidis; Ruben, 2002; Windisch et al., 2002).

Nos estudos com objetivo de avaliar os resultados de terapias regenerativas é de suma importância que se utilizem métodos seguros e confiáveis de diagnóstico para obtenção de informação precisa da resposta aos tratamentos. Desta forma, existem as avaliações histológicas, os procedimentos de reentrada cirúrgica,

métodos de avaliação clínica dos tecidos moles (profundidade clínica de sondagem, nível clínico de inserção, índices de placa e sangramento, etc.) e os métodos radiográficos, que verificam alterações no tecido duro (Toback et al., 1999).

Existem diferentes formas de avaliar radiograficamente os resultados de terapias regenerativas, dentre elas, a análise de medidas lineares da altura óssea e mensurações de área e volume ósseo (Reddy, 1992). As técnicas que possibilitam a digitalização e o tratamento das imagens tornam possível o acompanhamento das mudanças ósseas e a visualização de lesões muito pequenas de maneira superior aos métodos convencionais. Isto é possível devido às altas taxas de sensibilidade e especificidade que são traduzidos numa significativa melhora na precisão de diagnóstico e no acompanhamento de terapias regenerativas (Jeffcoat et al., 1995; Reddy, 1997; Toback et al., 1999; Brägger, 2005).

Alguns estudos realizados em humanos puderam demonstrar, por meio de avaliações clínicas e radiográficas, os resultados favoráveis ao utilizar PME no tratamento de defeitos infra-ósseos. Os autores observaram diminuição da profundidade clínica de sondagem (PCS), aumento do nível clínico de inserção (NCI) e preenchimento ósseo visualizado radiograficamente (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Francetti et al., 2004). Outros ensaios clínicos (Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009), com o mesmo objetivo, já não demonstraram superioridade da PME em relação ao grupo controle (RET). Esposito et al. em 2007 realizaram uma revisão sistemática sobre o tema e afirmaram não haver benefícios clínicos e radiográficos significativos com a utilização da PME. Desta forma, ainda há necessidade de estudos adicionais no que se refere à previsibilidade clínica da utilização de PME em defeitos ósseos periodontais. Os estudos comparativos entre as técnicas de RET para debridamento associado ou não a PME possuem metodologias diferentes entre si e esta heterogeneidade sugere que os resultados devam ser interpretados com cautela (Esposito et al., 2007),

Ao avaliar a literatura referente à utilização da PME, constatou-se também que existem poucos ensaios clínicos aleatórios, controlados e com avaliações longitudinais de seu efeito regenerativo, utilizando medidas radiográficas lineares computadorizadas (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009). Desta maneira, acredita-se que seja necessária a realização de mais estudos clínicos

radiográficos para melhor avaliação do efeito da PME e para a determinação do real benefício de sua utilização a longo prazo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nos estudos clínicos longitudinais realizados em humanos com o objetivo de avaliar o potencial regenerativo de diferentes materiais, vários métodos de diagnóstico podem ser empregados. Uma das melhores formas de avaliação é a análise histológica. Devido a razões éticas óbvias e a morbidade associada à biópsia e extração de dentes, raramente este tipo de análise é realizada em humanos (Toback et al., 1999; Reddy; Jeffcoat, 1999; Windisch et al., 2002). Além desse fator, a análise histológica de modelos animais ou humanos permitem uma única avaliação no tempo, não sendo possível utilizá-la em ensaios longitudinais, sendo assim, outros métodos devem ser utilizados (Reddy; Jeffcoat, 1999).

A histologia é geralmente empregada para demonstrar o potencial regenerativo de uma determinada técnica e as medidas cirúrgicas diretas, sondagem e radiografias são utilizadas para avaliar a eficácia clínica de métodos para regeneração periodontal (Reddy; Jeffcoat, 1999).

O procedimento de reentrada cirúrgica possui a vantagem de possibilitar a aferição de medidas definitivas da resposta do tecido duro à terapia (Eickholz; Hausmann, 1999). No entanto, o preenchimento ósseo do defeito não necessariamente representa um processo de regeneração real (Windisch et al., 2002). Outras limitações desta forma de análise são a dificuldade em se obter amostra de pacientes que aceitem os procedimentos de reentrada e a morbidade proveniente das múltiplas reavaliações durante o tempo de estudo (Machtei, 1997). Além disso, deve-se considerar que o próprio procedimento cirúrgico para as aferições pode influenciar na remodelação óssea durante o processo de reparação e/ou regeneração (Reddy; Jeffcoat, 1999; Toback et al., 1999).

A sondagem periodontal é o exame mais frequentemente utilizado na avaliação do efeito clínico de procedimentos regenerativos (Reddy; Jeffcoat, 1999). Esse procedimento clínico não-invasivo fornece informações relevantes a respeito da redução da profundidade de bolsa e do ganho de inserção clínica. A comparação de exames sequenciais do nível clínico de inserção relativo (NCIR) a um ponto fixo, permite determinar se o nível de inserção melhorou ou não frente a uma determinada técnica regenerativa (Reddy; Jeffcoat, 1999). No entanto, esse exame pode apresentar erros em suas medidas, devido a variações na força e angulação

durante a sondagem, ao tamanho e forma da ponta da sonda e falhas na transferência dos dados (Reddy, 1997; Reddy; Jeffcoat, 1999; Toback et al., 1999). Além disso, a presença de inflamação gengival pode permitir uma maior penetração da sonda através do tecido conjuntivo (Reddy, 1997; Reddy; Jeffcoat, 1999; Toback et al., 1999).

Na tentativa de minimizar essas possíveis falhas, as sondas eletrônicas foram desenvolvidas para otimizar o exame de sondagem através da padronização da força, do tamanho e forma da ponta da sonda e transferência automática dos dados. Entretanto, Reddy e Jeffcoat (1999) afirmaram que as mensurações clínicas, independentemente se obtidas com sondas manuais ou eletrônicas, são apropriadas para avaliação dos resultados clínicos alcançados com as terapias regenerativas.

Apesar da avaliação de parâmetros clínicos atribuírem dados importantes a respeito dos resultados de terapias regenerativas, ela não prove informações referentes ao tecido duro e nem são capazes de comprovar se houve regeneração tecidual periodontal (Toback et al., 1999).

Desta forma, a análise radiográfica tem desempenhado um papel importante na determinação de resultados de tratamentos periodontais por ser um método não-invasivo para avaliação de tecidos duros. Muitas técnicas já foram descritas para avaliação longitudinal das perdas ósseas, assim como métodos utilizados para analisar os resultados da terapia regenerativa (Toback et al., 1999). Dentre as avaliações radiográficas temos o cálculo de medidas lineares (altura óssea), de 2 dimensões (área óssea) e de 3 dimensões (volume ósseo) (Reddy, 1992).

A mensuração radiográfica linear é a forma de análise radiográfica que fornece uma perspectiva unidimensional para avaliação de mudanças na altura óssea interproximal na área de defeitos ósseos (Jeffcoat et al., 1995). Estudos de validação demonstraram que as mensurações radiográficas são altamente correlacionadas a perda óssea em crânios secos (Albandar et al., 1986; Albandar, 1989). Albandar (1989) avaliou a reprodutibilidade e exatidão das medidas da crista óssea a JEC em radiografias periapicais padronizadas e não-padronizadas comparadas a mensurações diretas em crânios secos. Foi encontrada uma correlação de 98-99% entre as mensurações radiográficas e as diretas, com uma tendência a subestimar a perda óssea interproximal nas medidas radiográficas.

As mensurações de mudanças na altura óssea de exames radiográficos seqüenciais foram aperfeiçoadas com a introdução de programas de computador

(Jeffcoat et al., 1995). A resolução de medidas da altura óssea utilizando uma régua em um filme convencional pode variar aproximadamente 1mm, enquanto a variação é de 0,2mm, quando um sistema de processamento de imagens é utilizado na análise de radiografias padronizadas (Reddy, 1997). Essa padronização das radiografias para avaliações longitudinais combinadas ao processamento das imagens, resulta em maior sensibilidade na detecção e quantificação de pequenas mudanças nos tecidos (Jeffcoat et al., 1995; Toback et al., 1999; Brägger, 2005).

A forma mais simples de avaliação radiográfica quantitativa é a perda óssea alveolar medida diretamente no raio-x, entretanto, a resolução das medidas melhora significativamente quando utiliza-se radiografias padronizadas e mensurações com auxílio do computador. Existem diferentes formas de padronização da tomada radiográfica, dentre elas: a confecção de registro oclusal rigidamente fixado aos posicionadores radiográficos e o cefalostato. Ambos os métodos de padronização são comumente utilizados, sendo a técnica do posicionador empregada para qualquer dente e o cefalostato apenas para molares (Reddy, 1992). Os dois métodos possuem uma excelente reprodutibilidade (Reddy, 1992, 1997).

Uma outra forma de avaliação da validade das mensurações radiográficas lineares é a comparação com as medidas obtidas com a sonda durante o procedimento cirúrgico quando o osso está exposto (reentrada cirúrgica) (Eickholz et al., 1998). Geralmente, as medidas radiográficas tendem ser um pouco menores do que as medidas diretas trans-cirúrgicas (Hausmann, 2000).

As medidas lineares radiográficas comparadas às mensurações de reentrada cirúrgica após 12 meses demonstraram que há uma subestimação da perda óssea pré-tratamento, assim como do preenchimento ósseo pós-tratamento (Tonetti et al., 1993). Embora, Eickholz e Hausmann (1999) na avaliação de defeitos ósseos interproximais comparando-se medidas lineares a avaliação trans-cirúrgica não tenham observado grandes diferenças entre os dois métodos. As diferenças médias relacionadas à distância JEC-CO foi de 0,12mm e todas as medidas radiográficas subestimaram a distância JEC-FD (0,3 a 0,83mm) comparadas às medidas trans-cirúrgicas. Os autores justificaram a freqüente subestimação das medidas de perda óssea da distância JEC-FD, devido à presença de lesão infra-óssea não tratada com estrutura óssea difusa devido ao processo inflamatório ativo (Eickholz; Hausmann, 1999).

Dentre vários métodos de avaliação radiográfica, considerando-se a

densidade óssea, está o CADIA (análise densitométrica da imagem por computador). Este sistema quantifica as mudanças ósseas, comparando-se as densidades radiográficas em regiões de interesse predeterminadas, no início da terapia e nos controles subseqüentes (Toback et al., 1999; Brägger, 2005).

Embora os métodos de medidas lineares radiográficas e o CADIA possuam limitações, ambos apresentam fatores positivos. A medida linear prove informação clínica relevante a respeito do verdadeiro preenchimento ósseo, mas depende da avaliação subjetiva de um examinador (Reddy, 1997). As avaliações de densidade óssea não refletem correlações anatômicas bem definidas, ou seja, um ganho na densidade óssea em um defeito vertical não significa nova inserção (Brägger, 2005). Apesar de sistemas como CADIA prover pouca informação clínica relevante, tem a sensibilidade de detectar mudanças menores que 5% na densidade óssea (Reddy, 1992, 1997), enquanto que a visualização tradicional de radiografias convencionais requer uma mudança de ao menos 30% na massa mineral (Reddy 1992; Hausmann, 2000). Neste contexto, as medidas lineares são clinicamente mais relevantes, embora se trate de uma avaliação unidimensional de estruturas tridimensionais (Reddy, 1997).

Considerando-se algumas limitações da avaliação histológica, dos procedimentos de reentrada e sondagem, parece claro que os métodos radiográficos devam ser incorporados na análise dos resultados de tratamentos regenerativos. Principalmente, utilizando-se técnicas que possibilitem a padronização, digitalização e o tratamento das imagens radiográficas (Toback et al., 1999).

Alguns estudos, buscando avaliar o potencial regenerativo de materiais utilizados na terapia cirúrgica periodontal, procuraram correlacionar os parâmetros clínicos com os radiográficos. Dentre estes estudos, Christgau et al. (1996) e Eickholz e Hausmann (1998) não encontraram correlação entre os parâmetros clínicos e a mensuração radiográfica linear, enquanto que Eickholz e Hausmann (1998) não acharam correlação para os valores densitométricos (área ou volume de ganho/perda óssea), sugerindo que os dois parâmetros deveriam ser utilizados.

Por outro lado, foi encontrada correlação positiva entre os NCI vertical e nível de inserção horizontal na região de furcas grau II e III com a mensuração radiográfica linear (Eickholz; Hausmann, 1997) e com os valores densitométricos (Eickholz; Hausmann, 1999), ao utilizarem membranas absorvíveis (Polyglactin-910)

e não-absorvíveis (politetrafluoretileno expandido -PTFE).

Em 30 defeitos infra-ósseos também foi encontrada correlação positiva entre os parâmetros clínicos e os valores densitométricos após o período de 13 meses (Christgau et al., 1996). Christgau et al. em 1998, ao comparar os resultados clínicos e radiográficos em defeitos infra-ósseos após 12 meses da realização de RTG com membranas reabsorvíveis, observaram que o ganho de inserção clínica a sondagem foi acompanhado pelo ganho significativo de densidade óssea com a utilização da RTG. Eles afirmaram que a avaliação da regeneração periodontal, ou seja, formação de nova inserção de tecido conjuntivo e novo osso deve ser analisada separadamente (Christgau et al., 1998).

Com o mesmo objetivo Pietruska (2001), observou melhorias similares nos parâmetros clínicos e radiográficos por meio de medidas lineares de radiografias padronizadas (profundidade e largura do defeito) após duas técnicas diferentes de tratamento de defeitos ósseos (Bio-Oss+membrana de colágeno e Emdogain) (Pietruska, 2001).

Outra forma de avaliação interessante foi utilizada por Windisch et al. (2002), na qual se comparou os parâmetros clínicos e radiográficos com os achados histométricos após dois procedimentos regenerativos (RTG e PME) em humanos. As avaliações clínicas e radiográficas lineares (JEC-CO e JEC-FD) foram realizadas após 6 meses dos procedimentos cirúrgicos e antes da extração do dente, com tecido adjacente, para avaliação histológica. Dentro das limitações deste estudo, concluiu-se que o uso de RTG e PME possibilitou a formação de novo cemento e osso, na avaliação histométrica. A formação de novo osso foi menor no grupo PME, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre as terapias para os resultados clínicos, radiográficos e histométricos após 6 meses (Windisch et al., 2002).

Ao avaliar a literatura referente à utilização da PME, incluindo formas e tempos de avaliações dos seus resultados, observou-se que existem poucos ensaios clínicos randomizados, controlados, longitudinais que incluem os parâmetros radiográficos. No total, foram sete estudos que tiveram como objetivo avaliar o efeito da PME em defeitos infra-ósseos, comparando-se a um grupo controle (RET), e que incluíram a avaliação radiográfica.

Em relação aos tempos de avaliação nesses estudos, apenas 2 realizaram controle radiográfico até 36 meses pós-cirúrgicos (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997). Os outros estudos realizaram controles radiográficos aos 24 meses (Francetti et al., 2004), 12 meses (Okuda et al., 2000; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009) e 6 meses (Villalpando et al., 2007).

Em todos os estudos (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009) foram utilizados posicionadores radiográficos individualizados para tomadas padronizadas nos diferentes tempos de controles pós-cirúrgicos. A maioria das tomadas radiográficas foi feita com películas convencionais (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009). Destes estudos, dois (Zetterström et al., 1997; Grusovin; Esposito, 2009) realizaram as medidas nas próprias películas, os outros utilizaram alguma forma de digitalização das imagens para posterior avaliação em computador. Radiografias digitais foram realizadas nos estudos de Okuda et al. (2000) e Villalpando et al. (2007).

Todas as avaliações radiográficas foram realizadas utilizando-se medidas lineares baseadas em referências anatômicas com exceção do estudo de Okuda et al. (2000) no qual se avaliou densidade óssea. Heijl et al. (1997) considerou os seguintes pontos anatômicos: nível ósseo original, margem coronal do defeito infra-ósseo, fundo do defeito e ápice dentário. Os pontos de referências anatômicas utilizados por Zetterström et al. (1997) foram: distância do ápice radicular (AR) a JEC e AR ao término mais apical da lesão óssea. Rösing et al. (2005) consideraram a distância da JEC-CO e da JEC-FD. Nos controles de Villalpando et al. (2007) foram avaliadas as distâncias da base do defeito a junção esmalte-cimento (Ba-JEC) e da base do defeito à crista óssea (Ba-Co). Grusovin e Esposito (2009) registraram apenas medidas da distância da JEC ao FD. Francetti et al. (2004), além de mensurar a profundidade do defeito infra-ósseo, incluíram também avaliação do ângulo do defeito. Segundo os autores, a medida do ângulo do defeito é interessante, pois com a melhora das condições ósseas, há uma tendência de aumento desse ângulo (diminuição do componente vertical). Outro fator importante relacionado às mensurações dos ângulos dos defeitos é que suas medidas iniciais podem ser utilizadas como um indicador no prognóstico do tratamento regenerativo (Tsitoura et al., 2004). Há um maior potencial de preenchimento ósseo radiográfico

em defeitos ósseos com ângulos entre 0-45° comparados aos defeitos de 45°-90° (Steffensen; Weber, 1989).

Na revisão sistemática relacionada à utilização da PME para regeneração dos tecidos periodontais em defeitos infra-ósseos, dentre os parâmetros avaliados, foi incluído o nível ósseo do fundo do defeito a JEC em radiografias intra-orais obtidas pela técnica do paralelismo (Esposito et al., 2007). Nesta seleção, foram incluídos apenas quatro estudos (Heijl et al., 1997; Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005), dos quais dois não foram utilizados (Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004) por apresentar dados relativos a porcentagem da área e densidade óssea e não medidas lineares (Okuda et al., 2000) e por não ter utilizado um ponto de referência fixo na avaliação das mudanças ósseas durante o tempo (Francetti et al., 2004). Desta forma, baseados em apenas dois estudos (Heijl et al., 1997; Rösing et al., 2005), os autores concluíram que não foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre os grupos PME e controle em relação ao ganho ósseo observado radiograficamente (Esposito et al., 2007).

3 PROPOSIÇÃO

Verificar o efeito do tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes por meio do retalho de espessura total repostado associado, ou não, à proteína derivada da matriz do esmalte, através de medidas radiográficas lineares computadorizadas, após dois anos do tratamento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo e seleção de pacientes

Este ensaio clínico aleatório, duplo-cego, com delineamento de boca dividida obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) (Parecer CEP nº215/03/Protocolo 220/03 - Anexo A) e contou com o auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) cujo projeto foi o de nº 00/12285-0.

A seleção da amostra foi realizada na clínica de Pós-graduação da FOUSP e seguiu os critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos, seguindo os requisitos para participação dos sujeitos da pesquisa. Os critérios de inclusão foram:

1. Idade acima de 25 anos;
2. Periodontite crônica (Armitage, 1999);
3. Boa saúde geral;
4. Dois ou mais defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes em dentes unirradiculares com PCS $\geq$ 5mm, após reavaliação;
5. Índice de placa (IP) $\leq$ 20% (O'leary et al., 1972);
6. Gengiva inserida $\geq$ 2mm.

Os critérios de exclusão foram:

1. Antibioticoterapia seis meses antes do tratamento;
2. Tratamento endodôntico nos dentes com defeito(s) infra-ósseo(s);
3. Defeitos infra-ósseos com medidas trans-cirúrgicas de profundidade $\leq$ 4mm;
4. Mobilidade grau 3 (O'leary; Rudd, 1963).

Os pacientes foram informados sobre os detalhes da pesquisa e concordando com a mesma, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B). Os pacientes iniciaram a fase dos procedimentos básicos, sendo realizada reavaliação após 4 a 6 semanas e neste momento foram definidas as áreas

cirúrgicas. Os procedimentos cirúrgicos e a coleta dos dados radiográficos foram realizados na clínica de Pós-graduação da FOU SP (Chambrone, 2003, 2008; Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010). As tomadas radiográficas padronizadas foram executadas no início e 24 meses após o tratamento cirúrgico.

4.2 Fase Cirúrgica

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados por apenas um operador (M.C.C.) na ausência do examinador (M.S.R.Z.). O grupo teste foi o da associação do retalho de espessura total repostado (RET) com a PME (Emdogain®, Biora AB, Malmö, Sweden), enquanto o grupo controle recebeu apenas o retalho de espessura total repostado (RET). As incisões intra-sulculares foram realizadas preservando-se, ao máximo, os tecidos interproximais. No trans-cirúrgico, foram realizadas mensurações dos defeitos ósseos, sendo excluídos aqueles com profundidade $\leq 4\text{mm}$, assegurando-se que os defeitos incluídos fossem profundos. As margens do retalho foram coaptadas e cuidadosamente suturadas com fio de nylon 5-0 (Tech-Lon®, TechSynt/Lukens Ind. Com. Imp. E Exp. S/A, São Paulo, SP, Brasil). O estudo recebeu delineamento de boca dividida, pois os pacientes apresentaram 2 ou mais defeitos, sendo ao menos um defeito do grupo teste (PME) e outro do grupo controle (RET). Os defeitos foram distribuídos entre os dois grupos, de maneira aleatória, através de sorteio com moeda (Chambrone, 2003, 2008; Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010).

Os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com clorexidina 0,12% (Periogard®), por pelo menos um minuto, duas vezes ao dia, por quatro semanas. As suturas foram removidas após sete dias e os pacientes acompanhados semanalmente até a 8ª semana. Em seguida, entraram em regime de controle e manutenção a cada dois meses até completarem seis meses, e a cada três meses até completarem 24 meses (Chambrone, 2003, 2008; Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010).

4.3 Avaliação Radiográfica

Foram realizadas tomadas radiografias periapicais intra-orais analógicas padronizadas antes da cirurgia e após 24 meses. Para a padronização das imagens radiográficas foi utilizado um posicionador radiográfico para dentes anteriores (Modelo Han-Shin - Indusbello[®]). Na extremidade em que se coloca a película radiográfica foram adaptados três pinos para troquel de tal forma que ficassem paralelos entre si (Pasin, 2006).

Registros oclusais individualizados foram confeccionados em resina acrílica incolor quimicamente ativada (Jet®, Artigos Odontológicos Clássico LTDA, São Paulo, SP, Brasil). No momento da sua confecção, os dentes e o posicionador foram vaselinados. A resina foi manipulada de acordo com as especificações do fabricante e na fase plástica foi levada a boca juntamente com o posicionador, de maneira que o registro dos dentes e pinos de troquel ficasse impresso no bloco de resina e estabelecessem uma posição individualizada para cada região (Pasin, 2006).

Um anel de resina quimicamente ativada (Jet®, Artigos Odontológicos Clássico LTDA, São Paulo, SP, Brasil) foi confeccionado sobre o tubo do aparelho de raios-x. Este anel permitiu a colocação do conjunto posicionador-registro-filme de maneira justaposta ao tubo no momento das tomadas radiográficas, possibilitando que o conjunto retornasse sempre na mesma posição. A borda do tubo serviu como referência para o posicionamento do posicionador, sendo o anel de resina apenas o instrumento de manutenção do sistema (Pasin, 2006).

A seleção do tempo de exposição foi determinada de acordo com o dente que possuía o defeito, pois o aparelho utilizado (Modelo: ORALIX 65 – PHILIPIS / Tubo: 65kV / 7,5mA / Distância focal: 20 cm / Especificações: 220V, 4A, 50/60Hz) dispunha de um sistema semi-automático de seleção de dentes (Incisivos, Caninos, Pré-molares e Molares) com tempos de exposição já estabelecidos (Tabela 4.1) (Pasin, 2006).

Tabela 4.1 – Tempos de exposição pré-definidos no aparelho de raios-x

MANDÍBULA	Segundos	MAXILA	Segundos
Molares	0,51	Molares	0,88
Pré -molares	0,44	Pré -molares	0,59
Caninos	0,44	Caninos	0,44
Incisivos	0,44	Incisivos	0,51

As películas (Insight – Kodak®) com as imagens latentes do início e dos 24 meses foram armazenadas em estojos individualizados em local com ausência de qualquer tipo de luz e/ou umidade. Em cada película foram colocados o nome do paciente, a data de realização da tomada radiográfica e o estágio em que se encontrava o indivíduo no estudo (início ou 24 meses).

As películas foram reveladas, utilizando-se uma reveladora automática (A/T 2000 XR - Air Techniques) na qual os líquidos de processamento (revelador e fixador) foram trocados no mesmo dia (Figura 4.1).

Figura 4.1- Reveladora automática (A/T 2000 XR – Air Techniques)

Todas as películas foram digitalizadas pelo mesmo operador (M.S.R.Z.), cego para os grupos de tratamento, em um escaner de slides (SprintScan 35 Polaroid) com resolução de 500dpi/8bits. Todas as imagens foram gravadas no formato *bitmap* (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Escaner de slides (SprintScan 35 Polaroid)

Foi utilizado para a mensuração linear das imagens, o programa de computador Axiovision v 3.0 (Carl Zeiss) que, convencionalmente, é utilizado para histometria (Figura 4.3). Tal programa disponibiliza a criação de escalas de mensuração em diversas unidades de medida. No caso deste estudo, a criação da escala utilizada para mensuração das imagens foi baseada em uma tela radiográfica, cujos quadrados mediam 1mmX1mm cada (Figura 4.4). Esta aferição foi confirmada previamente em diversos pontos da tela com um paquímetro digital.

Figura 4.3- Programa de computador Axiovision v 3.0 (Carl Zeiss)

Figura 4.4- Tela radiográfica para criação de escala milimetrada

A tela foi escaneada nos mesmos padrões das radiografias e levada ao Axio-vision. A partir deste momento, foram traçadas duas linhas de referência por cima de um dos quadrados da tela, sendo que uma das linhas foi desenhada na vertical e outra na horizontal. Foi informado ao programa que as linhas mediam 1 mm cada uma. Desta maneira, uma nova escala de 1 x 1 mm foi criada e salva, permitindo a mensuração de distâncias em unidade de milímetros.

A mensuração linear foi padronizada a partir de referências anatômicas estabelecidas de acordo com os seguintes critérios:

1. Distância JEC-FD:

Inicialmente foram identificadas as referências anatômicas JEC e FD (Figura 4.5).

Figura 4.5 - Identificação das referências anatômicas JEC e FD

A seguir foi mensurada a distância linear entre a JEC e FD, sendo FD a posição mais coronal ao longo da superfície radicular, no qual o espaço do ligamento periodontal aparece normal (Björn et al., 1969; Eickholz; Hausmann, 1999) (Figura 4.6).

Figura 4.6 - Medida em milímetros da distância JEC-FD

2. Distância da JEC-CO:

Após a identificação das referências anatômicas JEC e CO (Figura 4.7), foi mensurada a distância linear entre JEC e CO (Figura 4.8).

Figura 4.7 – Identificação das referências anatômicas JEC e CO

Figura 4.8 - Medida em milímetros da distância JEC-CO

Se a JEC estivesse encoberta por um tratamento restaurador, considerou-se a margem da restauração como ponto fixo (Björn et al., 1969; Eickholz; Hausmann, 1999).

3. Ângulo do defeito ósseo:

Primeiramente foram identificadas as referências anatômicas JEC, FD e CO (Figura 4.9).

Figura 4.9 – Identificação das referências anatômicas JEC, CO, FD

Posteriormente foram definidas duas linhas que representavam à superfície radicular do dente envolvido (JEC-FD) e a superfície do defeito ósseo (CO-FD) para o cálculo do ângulo entre elas (Steffensen; Weber, 1989; Tsitoura et al., 2004) (Figura 4.10).

Figura 4.10 – Medida angular baseada nas duas linhas JEC-FD e CO-FD

A imagem inicial foi sempre mensurada antes da imagem de dois anos. Utilizaram-se ajustes como contraste ou brilho para auxílio na identificação das referências anatômicas, mas a mensuração foi feita na imagem original. Antes de qualquer marcação do ponto de referência inicial (JEC), a nova escala era aplicada sobre a imagem. No momento da marcação desta referência anatômica, as imagens sempre foram magnificadas em três vezes, significando que o recurso de *zoom* era ativado três vezes. A partir de cada ponto e com o recurso do *zoom* ativado foi traçada a linha de mensuração referente à medida desejada, ou seja, JEC-FD, JEC-CO e ângulo.

As medidas foram realizadas por um único examinador cego aos grupos de tratamento e calibrado para todos os parâmetros avaliados. A reprodutibilidade das medidas foi feita por meio de exames repetidos da mesma imagem, pelo mesmo examinador (M.S.R.Z.) e avaliada pelo coeficiente de correlação intra-classe (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Coeficiente de correlação intra-classe (ICC)

JEC-CO		JEC-FD		Ângulo	
ICC (95% CI)	p	ICC (95% CI)	p	ICC (95% CI)	p
0,997 (0,995-0,998)	< 0,0001	0,998 (0,996-0,999)	< 0,0001	0,996 (0,992-0,999)	< 0,0001

A distância da JEC-FD foi considerada o desfecho primário. A distância da JEC-CO e o ângulo do defeito foram desfechos secundários. Baseado num poder de 0,8 para detectar uma diferença significativa de 2,0mm no parâmetro JEC-FD ($\alpha=0,05$; DP = 2,0mm), seriam necessários 12 pacientes para realização desse ensaio clínico.

4.4 Análise Estatística

Como alguns pacientes apresentavam mais do que um defeito de cada grupo na cavidade bucal, foram calculadas as médias dos defeitos de grupos de tratamento (controle e teste) para cada indivíduo. Em seguida, foram calculados, para cada grupo, a média, a mediana e o desvio padrão das variáveis JEC-CO, JEC-FD e ângulo, utilizando-se o indivíduo como unidade estatística. Como o estudo tem delineamento boca dividida, cada sujeito da pesquisa foi o seu próprio controle.

Por se tratar de um delineamento de boca dividida, no qual os dois grupos experimentais estão relacionados, utilizou-se o teste t de Student para amostras pareadas para testar a igualdade das médias destas variáveis entre os grupos testes e controle.

Foi utilizado o teste t de Student para amostras pareadas para comparar as médias de cada grupo antes da cirurgia (baseline) e 2 anos após a cirurgia.

Os dados coletados foram registrados em um banco de dados elaborado em programa Excel (versão 7.0). A análise estatística foi realizada em programa SPSS para Windows (versão 5.2). Foi utilizado um nível de significância α de 5% em todos os testes estatísticos.

5 RESULTADOS

Foram examinados 100 pacientes, dos quais 48 foram selecionados segundo os critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos. Após os procedimentos básicos, 27 pacientes foram selecionados para o tratamento cirúrgico. Deste grupo, oito pacientes deixaram o estudo por razões particulares ou por problemas de saúde. Entre os 19 pacientes restantes, 8 foram excluídos durante a cirurgia, por não apresentarem um par ou mais de defeitos infra-ósseos. Então, 11 pacientes foram incluídos e acompanhados até 12 meses. Outro paciente deixou o experimento, após completar 18 meses de estudo, por motivo de saúde. Ao final dos 24 meses, pudemos avaliar 10 pacientes.

Dentre os 10 pacientes, dois eram do sexo masculino e oito do sexo feminino, sendo que três declararam ser fumantes. A idade variou entre 28 a 50 anos ($38,8 \pm 5,7$). Este estudo contou com 43 defeitos sendo que 18 fizeram parte do grupo RET e 25 do grupo PME.

A evolução pós-operatória ocorreu dentro dos padrões de normalidade, não havendo quaisquer complicações ou efeitos adversos durante o período do estudo.

A tabela 5.1 contém os dados referentes ao parâmetro JEC-CO para os grupos experimentais.

Tabela 5.1 – Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação à JEC-CO

		TESTE (PME)	CONTROLE (RET)	P Teste t pareado
INÍCIO	N Média DP[†]	10 5,13 2,59	10 5,10 2,31	0,35
24 MESES	N Média DP[†]	10 6,14 2,47	10 5,24 2,73	0,37
	P Teste t pareado	0,049*	0,622	

[†] DP = desvio padrão, * diferença significativa a 5%

Não houve diferença entre os grupos no início do estudo. Houve um aumento significativo na distância JEC-CO após dois anos no grupo teste ($p=0,049$). Não foi observada diferença entre os grupos após dois anos.

Ao avaliar o parâmetro JEC-FD (Tabela 5.2), foi observado que no início do estudo, a distância média JEC-FD foi de 10,11 no grupo teste e 8,67 no grupo controle. Embora a média tenha sido maior no grupo teste, não foi detectada diferença significativa entre os grupos ($p=0,93$). Após dois anos, foi observada redução significativa desta variável no grupo controle ($p=0,005$). Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($p=0,87$).

Tabela 5.2 – Média, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação à JEC-FD

		TESTE (PME)	CONTROLE (RET)	P Teste t pareado
INÍCIO	N Média DP[†]	10 10,11 2,63	10 8,67 2,43	0,93
24 MESES	N Média DP[†]	10 10,15 2,78	10 7,97 2,29	0,87
	P Teste t pareado	0,86	0,005*	

[†] DP = desvio padrão; * diferença significativa a 5%

Os valores do parâmetro ângulo do defeito foram descritos na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Média, mediana, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação ao ângulo

		TESTE (PME)	CONTROLE (RET)	P Teste t pareado
INÍCIO	N	10	10	0,99
	Média	29,64	29,64	
	Mediana	25,99	32,71	
	DP[†]	9,65	12,39	
24 MESES	N	10	10	0,35
	Média	30,33	35,35	
	Mediana	27,05	34,30	
	DP[†]	11,21	16,53	
	P Teste t pareado	0,82	0,24	

[†] DP = desvio padrão

Não houve diferença entre os grupos com relação ao ângulo no início e no final do estudo. Houve um aumento no ângulo no grupo controle e um aumento pequeno no grupo teste. Estas mudanças não foram significativas.

6 DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi comparar o efeito do tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes por meio do retalho de espessura total repostado associado, ou não, à proteína derivada da matriz do esmalte, através de medidas radiográficas lineares computadorizadas em radiografias padronizadas.

Nossos resultados demonstraram que, do ponto de vista radiográfico, o tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes com a PME não apresentou resultados superiores ao RET, após dois anos. Ao contrário, foi possível notar que para os parâmetros avaliados (JEC-CO, JEC-FD e ângulo), o grupo RET demonstrou melhores resultados, após o período de avaliação.

Houve perda óssea média significativa da CO no grupo teste, sendo esta 1,01mm (Início = 5,13mm; 2 anos= 6,14mm; $p=0,049^*$), enquanto que no grupo RET este valor foi de 0,14mm (Início = 5,10mm; 2 anos =5,24mm; $p=0,622$), embora não tenha existido diferença estatística entre os grupos ($p=0,37$). Por outro lado, foi observada mínima alteração do nível ósseo no grupo PME em relação ao parâmetro JEC-FD, sendo que a variação de 0,04mm (Início = 10,11mm; 2 anos= 10,15mm; $p=0,86$) não foi estatisticamente significativa. No grupo RET houve um ganho ósseo médio na ordem de 0,7mm (Início = 8,67mm; 2 anos = 7,97mm; $p=0,005^*$), sem diferença estatística entre os grupos (0,87). Nesta amostra, a PME não foi capaz de incorporar efeitos positivos às mensurações radiográficas comparada ao RET após dois anos.

Utilizando a mesma amostra e metodologia deste estudo, no trabalho conduzido por Pasin (2006), realizou-se a análise radiográfica aos 12 meses. Os resultados das avaliações aos 12 e 24 meses foram semelhantes. O autor também verificou perda da CO para PME e maior preenchimento do FD em RET, sem diferença entre os grupos.

Os parâmetros clínicos (PCS, NCIR, IP e IG) da mesma amostra foram avaliados aos 6, 12, 18 e 24 meses (Chambrone, 2003, 2008; Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010). Houve uma redução na média da PCS de 4mm para o grupo PME e 3,5mm para o grupo RET aos 12 meses. Para o NCIR, o ganho médio foi 3,5mm em ambos os grupos. Os IP e IG demonstraram uma redução significativa nos dois grupos. Ambos os tratamentos

resultaram numa significativa melhora na PCS, NCIR, IP e IG, no entanto, não houve superioridade entre os grupos. Os autores concluíram que a associação do RET a PME não levou a melhores resultados dos parâmetros clínicos aos 12 meses (Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007). Com base nestes dados, foi possível afirmar que ambos os métodos de mensuração (NCIR e medidas radiográficas lineares) demonstraram equivalência entre os tratamentos utilizados.

Na avaliação clínica de 24 meses (Chambrone, 2008; Chambrone et al., 2010), foi observada redução na média da PCS de 4,21mm (PME) e 3,28mm (RET) com redução estatisticamente superior do grupo PME comparado a RET. Para o NCIR, o ganho médio foi de 5,69mm (PME) e de 5,24mm (RET), sem diferenças entre os dois grupos. Os IP e IG demonstraram uma redução significativa nos dois grupos ao longo do experimento. O grupo PME apresentou benefícios adicionais somente para o parâmetro PCS quando comparado ao RET. Neste período de avaliação, os autores concluíram que o uso da PME não é compensatório, visto que os resultados não diferiram do ponto de vista clínico. Os dados clínicos de 24 meses estão de acordo com a avaliação radiográfica, a qual demonstrou que os defeitos infra-ósseos tratados com PME não obtiveram melhores parâmetros radiográficos quando comparados ao grupo RET.

De forma geral, os dados clínicos (Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010; Chambrone, 2003, 2008) mostraram que em relação ao parâmetro PCS, a redução ocorreu nos dois grupos PME e RET e em todos os períodos de avaliação (6, 12, 18 e 24 meses). No entanto, houve maior redução da PCS no grupo PME após 24 meses. Estudos clínicos anteriores também mostraram reduções da PCS superiores para o grupo PME comparado ao controle (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004). Essa superioridade, em relação à PCS, não foi detectada nos estudos de Rösing et al. (2005), Villalpando et al. (2007) e Grusovin e Esposito (2009).

Em relação ao NCIR, os resultados nos grupos PME e RET nos mostraram ganhos significativos para ambos os grupos, comparando-se o início a cada tempo estudado. O grupo PME obteve um ganho adicional do NCIR de 1,2mm entre 6 e 12 meses, 1,03mm entre 12 e 18 meses e de 1,2mm entre 18 e 24 meses, totalizando um ganho adicional do NCIR de 3,43mm ao longo do tempo. Para o grupo RET, foi observado um ganho adicional do NCIR de 1,21mm, 0,52mm e 1,07mm, nos respectivos intervalos de tempos citados acima, totalizando um ganho adicional de

2,8mm (Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010; Chambrone, 2003, 2008). Do ponto de vista clínico, em ambos os grupos houve uma melhora do NCIR aos 6 meses e ainda continuou melhorando até o final do experimento (24 meses). Em outros estudos, os valores médios de ganho no NCI reportados demonstraram que a PME tem efeito adicional no ganho de inserção, comparados ao grupo controle (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004). Outros ensaios (Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009), de forma semelhante aos resultados clínicos referentes à NCI nessa amostra (Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010; Chambrone, 2003, 2008), não puderam observar superioridade do grupo PME sobre RET.

Nesta amostra, avaliando-se os parâmetros clínicos, podemos afirmar que o uso da PME foi capaz de auxiliar na redução da PCS ao longo do tempo. Houve ganho de inserção clínica nos dois grupos de tratamento, apesar disto a PME não teve resultado superior adicional como o esperado. No entanto, o ganho clínico observado nos dois grupos não refletiu diretamente nos ganhos ósseos radiográficos observados aos 12 meses (Pasin, 2006) e 24 meses. Nesta amostra, a PME parece não ter favorecido a formação óssea visualizada radiograficamente.

Outros estudos (Christgau et al., 1996; Eickholz; Hausmann, 1998) avaliaram a regeneração periodontal, utilizando diferentes materiais e correlacionaram parâmetros clínicos e radiográficos. Os autores também não encontraram correlação entre os parâmetros clínicos e a mensuração radiográfica linear ou valores densitométricos.

Ao avaliar a literatura, pudemos observar em estudos *in vitro* que a PME está associada à formação de cemento acelular e estimulação de células do ligamento periodontal, favorecendo a regeneração periodontal (Hoang et al., 2000; Gestrelus et al., 1997b). Em relação à formação de tecido ósseo, o efeito da PME parece ser variável dependendo do tipo de célula óssea utilizada e/ou condições de cultura (Hama et al., 2008). No estudo de Hama et al. (2008), os autores observaram um efeito inibitório da PME em células ósseas, permitindo uma formação predominante de outros tecidos periodontais, nos estágios iniciais da regeneração. Quando a PME é aplicada no defeito ósseo, é possível que a diferenciação de outras células como as do ligamento periodontal e cementoblastos sejam predominantemente induzidos. Se a diferenciação óssea for induzida inicialmente, a nova formação de ligamento

periodontal e cimento seria impedida, com possível anquilose. Para formar os tecidos associados ao dente primeiramente, a PME parece inibir a diferenciação osteoblástica nos estágios iniciais da regeneração (Hama et al., 2008).

Outro estudo *in vivo* (Plachokova et al., 2008) demonstrou que o Emdogain não possui propriedades osteoindutoras, e não foi capaz de promover estímulo adicional para formação óssea. Os autores afirmaram que o uso da PME, com o objetivo de formar novo osso, em situações clínicas, deve ser questionado. Além disso, o sistema de liberação da PME pode não ser apropriado para formação óssea, já que foi originalmente desenvolvido para precipitação das proteínas da matriz do esmalte em superfícies radiculares instrumentadas e condicionadas (Gestrelius et al., 1997a).

No estudo de Windisch et al. (2002), os autores puderam observar uma menor formação óssea no grupo que utilizou PME comparado ao grupo de RTG, mas com melhora dos parâmetros clínicos avaliados nos dois grupos. A formação de nova inserção conjuntiva não está necessariamente relacionada à formação de novo osso alveolar (Lindhe et al., 1984; Sculean et al., 2000). Mesmo na ausência de tecido ósseo, a presença de células do ligamento periodontal é suficiente para união fibrosa entre a superfície radicular e os tecidos adjacentes (Lindhe et al., 1984). Esses achados são também importantes do ponto de vista clínico, já que indicam que a ausência de preenchimento ósseo radiográfico não necessariamente implica em insucesso da terapia (Windisch et al., 2002).

Baseado nestas observações, a PME pode ter efeitos diferentes nos tecidos periodontais. Nesta amostra, os resultados clínicos podem ter sido favoráveis com formação de inserção de fibras do ligamento periodontal ao novo cimento acelular sem, contudo ter ocorrido preenchimento ósseo do defeito. Desta forma, justificam-se os resultados radiográficos obtidos, sem efeito adicional positivo da utilização da PME.

Os resultados no presente estudo estão em desacordo com alguns trabalhos, que utilizaram as mensurações radiográficas lineares para comparação dos tratamentos de defeitos infra-ósseos com e sem a PME, encontrando melhores efeitos nos grupos testes (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Francetti et al., 2004). No entanto, mostraram certa semelhança com outros trabalhos que não puderam observar resultados superiores para os grupos que utilizaram a PME (Rösing et al., 2005; Villapando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009).

Heijl et al. (1997) observaram ganho ósseo radiográfico médio aos 16 e 36 meses respectivamente de 2,2mm (teste) e -0,2mm (controle) e 2,6mm (teste) e 0,0mm (controle). Resultados semelhantes foram encontrados por Zetterström et al. (1997) após 36 meses, com ganho ósseo radiográfico médio de 2,4mm (teste) e 0,0mm (controle). Francetti et al. (2004) também detectaram superioridade do grupo PME com ganho ósseo médio de 3,44mm (teste) e 1,84mm (controle) após 24 meses. Contrariamente aos estudos anteriormente citados e de forma mais semelhante aos nossos resultados, Rösing et al. (2005), aos 12 meses, observaram média de preenchimento ósseo radiográfico de 1,55mm (teste) e 1,39mm (controle) sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Assim como Villalpando et al. (2007) aos 6 meses, observaram preenchimento ósseo radiográfico médio de 1,25mm (teste) e 0,5mm (controle), sem diferença estatística entre os grupos. Já Grusovin e Esposito (2009) observaram ganho ósseo radiográfico de 2,5mm nos dois grupos, após 12 meses.

Apesar de termos observado valores médios de ganho ósseo menores que os observados na literatura, é importante notar que dos 43 sítios analisados, 60,46% obtiveram ganho ósseo (JEC-FD), sendo que 46,15% dos sítios (ganho médio= 1,3mm) eram do grupo teste e 53,85% (ganho médio= 1,04mm) do grupo controle. Houve perda óssea em 37,2% dos sítios, sendo que destes, 75% (perda média= 1,06mm) eram do grupo teste e 25% (perda média= 0,49mm) do grupo controle.

As mensurações médias dos ângulos no início deste estudo foram iguais (29,64°) para o grupo controle e teste. De acordo com Steffensen e Weber (1989), defeitos ósseos com ângulos entre 0-45° possuem maior potencial de preenchimento ósseo radiográfico comparados aos defeitos de 45°-90°. Foi detectado um aumento nas médias dos ângulos no grupo controle (5,71°; p=0,24) e no grupo teste (0,69°; p=0,82), porém as mudanças não foram significativas. Dentre os trabalhos com metodologia semelhante a nossa, apenas Francetti et al. (2004) incluiu a avaliação dos ângulos dos defeitos infra-ósseos. Aos 24 meses, os autores puderam observar um aumento radiográfico estatisticamente significativo desses ângulos no grupo teste de 31,7° para 51,7°, mas sem diferença no grupo controle (32,5° para 41,3°). Segundo os autores, a medida do ângulo do defeito permite mais uma forma de avaliação do componente ósseo, pois há um aumento do ângulo do defeito com o preenchimento ósseo do mesmo.

A variabilidade dos resultados obtidos nos diferentes estudos sobre terapias

regenerativas, incluindo o uso da PME, pode estar relacionada com o local de realização do estudo, o tipo de doença tratada, o número de paredes dos defeitos infra-ósseos tratados, a inclusão de pacientes fumantes, a resposta do paciente frente ao tratamento, a persistência de patógenos específicos, as diferenças na habilidade técnica e na experiência dos clínicos (Tonetti et al., 2002), a utilização de placebo, de antibioticoterapia, de diferentes técnicas cirúrgicas e de diferentes agentes para o condicionamento radicular (Esposito et al., 2007).

Uma característica positiva do nosso estudo é o desenho de boca dividida utilizado também nos estudos de Heijl et al. (1997), Okuda et al. (2000) e Rösing et al. (2005). Os ensaios de boca dividida foram aceitos para a avaliação da eficácia de produtos com potencial regenerador (Council on Scientific Affairs of the American Dental Association, 1998). Considerando-se que a reparação periodontal é dependente da resposta do hospedeiro, ambos os grupos teste e controle, estando no mesmo indivíduo, serão igualmente afetados por eventuais fatores locais e sistêmicos, eliminando vieses na avaliação. Este tipo de estudo facilita a comparação entre tratamentos por estarem sob condições de reparação semelhantes, eliminando-se as variabilidades específicas entre os pacientes (Page et al., 1995).

Em relação à nossa amostra, notou-se que dentre os sete trabalhos encontrados na literatura (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007; Grusovin; Esposito, 2009) 3 deles (Okuda et al., 2000; Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007) utilizaram número de pacientes semelhante ao presente estudo, sendo de 16 (36 defeitos), 16 (32 defeitos) e 15 pacientes (19 defeitos), respectivamente. Os outros quatro estudos utilizaram amostras maiores, sendo de 24 pacientes (24 defeitos) no estudo de Francetti et al. (2004), 30 pacientes (Grusovin; Esposito, 2009) e de 33 (34 defeitos) e 140 (247 defeitos) para os trabalhos de Heijl et al. (1997) e Zetterström et al., 1997), respectivamente.

Nestes tipos de ensaios clínicos, há realmente uma dificuldade na captação de pacientes que preencham todos os requisitos de inclusão no estudo e que também se mantenham assíduos durante as avaliações a longo prazo. Desta forma, o tamanho da amostra irá influenciar nos resultados obtidos. Villalpando et al. (2007) sugeriu que estudos com amostras maiores são necessários para demonstrar diferenças estatísticas entre duas modalidades cirúrgicas.

Reddy e Jeffcoat (1999) afirmaram que para comparação de diferentes terapias regenerativas são necessárias técnicas de diagnóstico com alta reprodutibilidade e exatidão e também uma amostra de tamanho adequado. Segundo os autores, a literatura está repleta de estudos que concluíram que não há diferença estatisticamente significativa entre dois métodos regenerativos testados. Isso não necessariamente quer dizer equivalência entre os métodos. A falta de significância estatística pode ser resultado de grande variação na resposta a variável em teste ou ao inadequado tamanho da amostra. Os investigadores devem empregar métodos de alto nível de precisão especialmente para comparação de técnicas em estudos com número limitado de pacientes (Reddy; Jeffcoat, 1999).

A grande variabilidade entre os resultados dos estudos regenerativos pode ser decorrente das características necessárias dos defeitos infra-ósseos para que sejam incluídos nas amostras. Alguns estudos incluíram defeitos infra-ósseos de 1 e 2 paredes (Heijl et al., 1997; Villalpando et al., 2007) e 1, 2 e 3 paredes (Francetti et al., 2004; Grusovin; Esposito, 2009). Determinados autores consideraram a PCS, incluindo áreas com PCS $\geq 6\text{mm}$ (Heijl et al., 1997; Zetterström et al. 1997; Francetti et al., 2004; Okuda et al., 2000; Rösing et al., 2005) e com PCS $\geq 5\text{mm}$ (Villalpando et al., 2007). As mensurações das dimensões dos defeitos infra-ósseos avaliados radiograficamente foram consideradas pré-requisitos em algumas avaliações. A profundidade do defeito infra-ósseo inicialmente deveria ser $\geq 4\text{mm}$ e largura $\geq 2\text{mm}$ nos estudos de Heijl et al. (1997), Villalpando et al. (2007) e Grusovin e Esposito (2009); profundidade $\geq 3\text{mm}$ e largura $\leq 2\text{mm}$ no estudo de Rösing et al. (2005) e apenas profundidade do defeito $\geq 4\text{mm}$, sem mencionar a largura, nos ensaios de Zetterström et al. (1997), Francetti et al. (2004) e Okuda et al. (2000). Neste estudo, foram coletadas, no momento do procedimento cirúrgico, medidas referentes à distância da JCE-CO, CO-FD (profundidade do defeito) e SR-CO (largura do defeito) (Chambrone, 2003), sendo que nos critérios de exclusão, nos preocupamos em delinear as características dos defeitos infra-ósseos, sendo excluídos aqueles com medidas trans-cirúrgicas de profundidade $\leq 4\text{mm}$.

Sabe-se que características do defeito podem influenciar no prognóstico da regeneração periodontal, as diferenças de largura e profundidade dos defeitos no início do experimento podem ter relevância clínica na obtenção dos resultados. De fato, é bem aceito que defeitos profundos e estreitos tendem a ter maior regeneração (Tonetti et al., 1993; Pontoriero et al., 1999; Parodi et al., 2000; Tsitoura

et al., 2004; Grusovin; Esposito, 2009). Assim como, quanto mais amplo e menor o número de paredes ósseas remanescentes, menor o prognóstico após terapias regenerativas (Brägger, 2005). Segundo Grusovin e Esposito (2009), a presença de defeitos mais amplos no grupo teste pode ter contribuído para semelhança dos resultados obtidos nos dois grupos, já que o potencial regenerador destes tipos de defeitos é menor.

A inclusão de pacientes fumantes (3 fumantes/10 pacientes) no presente estudo pode ter contribuído para resultados inferiores nesta amostra, uma vez que o ganho de altura óssea em indivíduos fumantes mostra-se menor em comparação a indivíduos não-fumantes, quando submetidos a procedimentos regenerativos (Tonetti et al., 1995; Cortellini et al., 1996; Trombelli et al., 1997). No entanto, em relação à comparação entre o grupo PME e RET, por se tratar de um ensaio clínico de boca dividida, nos indivíduos fumantes, o efeito negativo do hábito ocorreu em ambos os grupos.

A análise da literatura mostrou que diversos trabalhos utilizaram pacientes fumantes em suas amostras e não necessariamente realizaram a comparação dos resultados radiográficos entre eles (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Parashis; Tsiklakis, 2000; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009), sendo que apenas Okuda et al. (2000) e Villalpando et al. (2007) trabalharam exclusivamente com pacientes não-fumantes.

Heijl et al. (1997) ressaltaram que nenhum esforço foi feito para excluir qualquer paciente com hábito de fumar e salientou que esses pacientes são os que usualmente procuram o consultório do periodontista. Francetti et al. (2004) também incluíram indivíduos fumantes na amostra, embora tenham ressaltado que o fumo é certamente um fator negativo no processo de regeneração. Contudo, a inclusão de fumantes visou testar a eficácia da PME na presença de um dos hábitos mais comuns na população, mesmo sabendo-se que, em fumantes, o efeito do tratamento é reduzido. Os autores observaram que os fumantes (5 fumantes/12 pacientes) não mostraram alterações na resposta ao tratamento com PME, entretanto são necessários estudos mais específicos sobre essa inter-relação (Francetti et al., 2004).

No ensaio clínico tipo boca dividida de Rösing et al. (2005) dos 16 pacientes selecionados, 10 eram fumantes. Na tentativa de se avaliar os resultados em fumantes e não-fumantes, observou-se uma tendência a resultados mais favoráveis

em não-fumantes, estando de acordo com outros estudos que avaliaram os efeitos do fumo na regeneração periodontal.

Grusovin e Esposito (2009), na tentativa de justificar os resultados estatisticamente semelhantes entre os grupos teste e controle, observaram que o grupo que recebeu a PME possuía maior número de fumantes.

Outro aspecto que poderia justificar os resultados não significantes entre os grupos teste e controle neste ensaio é a técnica cirúrgica. Nos estudos de Francetti et al. (2004), Rösing et al. (2005) e Grusovin e Esposito (2009) foi utilizada a técnica cirúrgica de preservação papilar, o primeiro mostrando resultados satisfatórios e os outros, sem diferenças entre as terapias. Heijl et al. (1997) utilizaram o retalho de Widman modificado (RWM) mostrando resultados superiores da PME sobre o controle, assim como Zetterström et al. (1997) e Okuda et al. (2000) que realizaram cirurgia a retalho. Segundo Francetti et al. (2004), técnicas com preservação de papilas objetivam preservar ao máximo o potencial regenerativo dos tecidos periodontais. Neste trabalho, foi utilizada a incisão no topo da margem gengival, na tentativa de preservar a maior quantidade possível de tecidos.

Um fator que pode ser limitante da técnica cirúrgica, utilizando as PMEs, ocorre devido a sua natureza viscosa, que muitas vezes não é capaz de suportar o retalho e, conseqüentemente, manter espaço sob ele durante o processo de cura (Mellonig, 1999; Kuru et al., 2006). Jepsen et al. (2008) discutiram essa limitação afirmando que a consistência semi-fluida das PMEs torna-se crítica quando consideramos defeitos ósseos mais largos e com uma ou duas paredes.

Outra diferença encontrada na literatura diz respeito à utilização de condicionamento ácido nos grupos de estudos. Neste trabalho, utilizou-se EDTA 24% para o tratamento químico radicular apenas no grupo PME, de acordo com a instrução do fabricante do Emdogain®, com a finalidade de se avaliar os resultados do RET sem nenhum fator de variação adicional. Assim como em nosso estudo, Francetti et al. (2004), Froum et al. (2001), Pietruska (2001), Pontoriero et al. (1999), Tonetti et al. (2002), Velasquez-Plata et al. (2002) e Windish et al. (2002) só utilizaram o tratamento químico radicular no grupo PME. Entretanto, estudos como o de Heijl et al. (1997), Zetterström et al. (1997), Okuda et al. (2000), Todd Scheyer et al. (2002), Zucchelli et al. (2002), Rösing et al. (2005), Villalpando et al. (2007) e Grusovin e Esposito (2009) realizaram tratamento químico radicular em todos os grupos experimentais, independente do tipo de tratamento aplicado. Alguns desses

trabalhos utilizaram outras substâncias para o tratamento químico radicular, como por exemplo, o ácido fosfórico 37% (Heijl et al., 1997; Okuda et al., 2000; Zetterström et al., 1997) ou o ácido cítrico $\text{ph}=1$ (Froum et al., 2001).

O tratamento químico radicular, após o debridamento mecânico, tem como objetivo remover *smear layer* resultante após a raspagem e alisamento radicular, além de modificar quimicamente a superfície radicular, com a finalidade de favorecer a regeneração periodontal. Entretanto, na revisão sistemática de Mariotti (2003), eles falharam em mostrar se o tratamento químico radicular, independente do material aplicado, favorece ou não a regeneração periodontal. Assim como Sculean et al. (2006) não demonstrou diferença estatística entre os resultados dos tratamentos de defeitos infra-ósseos com PME+ EDTA+RET comparado ao uso da PME+RET sem o EDTA.

A maioria dos trabalhos analisados (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997; Okuda et al., 2000; Parashis; Tsiklakis, 2000; Windisch et al., 2002; Francetti et al., 2004; Rösing et al., 2005; Villalpando et al., 2007) utilizou algum tipo de antibioticoterapia pós-cirúrgica. Todavia, no presente estudo não se utilizou antibioticoterapia com o objetivo de isolar os efeitos da PME, o que está de acordo com a metodologia utilizada por Tonetti et al. (2002). Além disso, Sculean et al. (2001b) não observaram resultados estatisticamente superiores com utilização de antibióticos no tratamento com a PME, em relação à diminuição na PCS e ganho do NCI. Embora a ausência da utilização da antibioticoterapia pudesse ter favorecido a influência bacteriana nos períodos iniciais da reparação tecidual, todos os indivíduos foram submetidos à cirurgia com um $\text{IP} \leq 20\%$. Além disso, utilizou-se gluconato de clorexidina (0,12% duas vezes ao dia) durante as primeiras quatro semanas e todos os pacientes foram monitorados semanalmente durante as primeiras oito semanas, excluindo-se a hipótese inicial.

Os cuidados com o controle do biofilme bacteriano e com a estabilização na área cirúrgica são críticos, principalmente nas duas primeiras semanas pós-cirúrgicas, já que a PME permanece ativa *in situ* neste período (Gestrelius et al., 1997a). A PME dispara o processo de regeneração periodontal no pós-cirúrgico precoce, depois deste período, ela vai progressivamente sendo eliminada do sítio cirúrgico (Gestrelius et al., 1997a; Gestrelius et al., 1997b). Outro detalhe importante constatado por Sculean et al. (2001a) é que o veículo do Emdogain®, o alginato propileno glicol, possui efeito antimicrobiano sobre os patógenos periodontais,

auxiliando no controle da infecção local. Como no estudo de Grusovin e Esposito (2009), foi aplicado apenas o veículo do Emdogain no grupo controle, os autores relataram que os resultados positivos observados neste grupo podem ter sido decorrentes dessas propriedades antimicrobianas.

Diante desses inúmeros fatores, é importante ressaltar que a comparação de resultados que avaliam a formação óssea radiográfica deve ser feita com cautela, uma vez que não existe uma uniformidade entre os métodos e períodos de avaliação (Villalpando et al., 2007). Nos ensaios clínicos com metodologia semelhante ao presente estudo observou-se períodos de avaliação de seis meses (Villalpando et al., 2007), 12 meses (Okuda et al., 2000; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009), 24 meses (Francetti et al., 2004) e 36 meses (Heijl et al., 1997; Zetterström et al., 1997).

Segundo as diretrizes clínicas para produtos utilizados na regeneração de tecidos periodontais (Council on Scientific Affairs of the American Dental Association, 1998), a duração mínima do estudo deve ser 12 meses para permitir que ocorra a maturação do tecido e estime-se a estabilidade do tecido regenerado. Baseado nessas observações, esta amostra foi submetida a avaliações radiográficas aos 12 meses (Pasin, 2006) e aos 24 meses. Nas avaliações de Heijl et al. (1997) e Zetterström et al. (1997) foi possível detectar um aumento do ganho ósseo radiográfico nos grupos testes aos 8 meses, sendo que esta diferença na formação óssea quase dobrou após 36 meses. Segundo Heijl et al. (1997), o potencial do ganho ósseo contínuo durante os períodos de avaliação, depende também da formação de um aparato de inserção com capacidade funcional adequada. Considerando-se o tempo de avaliação, são necessários aos menos 12 meses de acompanhamento radiográfico para que os estudos possuam validade para comparação dos resultados (Machtei, 1997).

Neste estudo, foram utilizadas radiografias padronizadas convencionais que foram posteriormente digitalizadas para as mensurações. Os sistemas de aquisição direta de imagens digitais não oferecem níveis de resolução de imagem maiores do que o filme convencional (Reddy, 1992). Segundo Brägger (2005), a imagem digital *per se* não é superior às radiografias convencionais na habilidade de detectar estruturas periodontais em detalhes. No entanto, a possibilidade de processamento das imagens aliados a padronização das radiografias resulta em maior sensibilidade na detecção e quantificação de pequenas mudanças nos tecidos (Jeffcoat et al.,

1995; Toback et al., 1999; Brägger, 2005).

Outro fator de relevância deste estudo foi o cuidado com a padronização das tomadas radiográficas. Segundo Carpio et al. (1994), um grau significativo de padronização pode ser alcançado utilizando um posicionador com um pino inserido ao bloco de mordida. No posicionador utilizado neste estudo, foram acoplados a plataforma de oclusão, três pinos metálicos paralelos entre si, para que o conjunto posicionador-registro oclusal estivesse estável e também para que se pudesse conferir a correta padronização das imagens radiográficas.

Toback et al. (1999) ressaltaram que a dificuldade na padronização das imagens radiográficas deve-se principalmente a pequenas movimentações dos dentes devido à própria terapia e também ao tempo de avaliação (12 meses). Essas mudanças no posicionamento dos dentes devem-se também ao processo normal de crescimento e desenvolvimento dos tecidos (Webber et al., 1982). Como avaliamos aos 24 meses, algumas distorções radiográficas podem ter ocorrido devido a esses fatores.

Deve-se observar também na aquisição de séries radiográficas, a relação entre o feixe de raio-x e as estruturas de interesse. A interface colimador-posicionador e posicionador-estruturas de interesse deve permanecer estável (Benn, 1990). Para alcançar esta relação, em nosso estudo foi utilizado um anel de resina para que o conjunto tubo do aparelho de raio-x /posicionador radiográfico retornasse sempre na mesma posição para a tomada radiográfica. Esta estabilização e padronização da projeção do raio-x é outro fator de difícil controle. Variações na execução da técnica radiográfica e nas projeções geométricas das imagens radiográficas podem introduzir erros aos resultados (Vannier, 1996; Eickholz et al., 1998).

Outro fator importante nos resultados obtidos é a eliminação da variabilidade nas leituras das radiografias, através da calibração do examinador, exame realizado em nosso estudo. O ideal é que essas mensurações sejam realizadas por um único examinador, cego aos grupos de tratamentos e calibrado para todos os parâmetros avaliados, aumentando a confiabilidade dos dados. No entanto, poucos estudos descreveram em sua metodologia as características dos examinadores. Dos estudos com metodologia semelhante ao nosso, quatro (Heijl et al. 1997; Okuda et al., 2000; Rösing et al., 2005; Grusovin; Esposito, 2009) relataram único examinador cego e calibrado e um (Zetterström et al., 1997) que utilizou diferentes examinadores, porém

cegos e treinados.

O uso de diferentes examinadores parece não influenciar na validade de mensurações realizadas em computadores. No entanto, os examinadores devem estar calibrados e bem treinados para não haver influência em um grau significativo nos resultados das avaliações computadorizadas (Eickholz et al., 1998).

Vários estudos, com diferentes metodologias, observaram que as medidas radiográficas apresentam uma tendência em subestimar a perda óssea real avaliada em crânios secos ou em cirurgias de reentrada (Albandar, 1989; Tonetti et al., 1993; Eickholz et al., 1998, Eickholz; Hausmann, 1999; Toback et al., 1999; Hausmann, 2000).

Eickholz et al. (1998) comparou mensurações radiográficas da perda óssea interproximal utilizando uma lupa com tela calibrada de 0,1mm e um sistema de análise computadorizado a medidas trans-cirúrgicas. Ambas as avaliações radiográficas subestimaram a perda óssea interproximal comparadas às mensurações trans-cirúrgicas, contudo a análise computadorizada foi mais válida, pois obteve valores mais próximos dos obtidos nas medidas cirúrgicas. Um dos fatores que explicam os melhores resultados para a avaliação computadorizada é a possibilidade de ampliações maiores (18X) comparadas à lupa (10x), mantendo-se uma alta resolução das imagens. Os autores relataram que as diferenças na angulação vertical e particularmente horizontal entre o feixe central do raio-x e a área de interesse do filme, aumenta o risco de subestimação da perda óssea interproximal no exame radiográfico.

Por subestimar a perda óssea interproximal radiográfica, o uso de medidas lineares pode ser um problema potencial na avaliação de pequenas mudanças em defeitos angulares interproximais (Albandar, 1989). No entanto, em termos de importância clínica, as medidas lineares da altura óssea, ao longo da superfície radicular, têm maior significância comparadas aos resultados obtidos de avaliações de densidade óssea (Reddy, 1992).

Nesta amostra, pudemos observar diferenças entre os resultados clínicos (Chambrone, 2003; 2008; Chambrone et al., 2006; Chambrone et al., 2007; Chambrone et al., 2010) e radiográficos (Pasin, 2006). Os resultados clínicos (ganho de inserção clínica e diminuição da PCS) foram favoráveis para os dois grupos de forma similar e ao longo dos tempos de avaliação, já os resultados radiográficos não demonstraram ganhos significantes para ambos os grupos PME e RET durante o

tempo.

Dentre os trabalhos encontrados na literatura que utilizaram a mensuração radiográfica como forma de avaliação do resultado da PME, além do NCI, apenas Heijl et al. (1997) e Rösing et al. (2005) utilizaram metodologias válidas, segundo Esposito et al. (2007). Vale ressaltar que tais metodologias foram semelhantes à empregada no presente estudo.

Baseado nos fatores citados anteriormente e na evidente heterogeneidade dos estudos é plausível inferir que não há, no momento, significância clínica que justifique a utilização da PME na clínica diária. Tal posicionamento está de acordo com Esposito et al. (2007) que realizou uma revisão sistemática sobre o uso de PME na regeneração dos tecidos periodontais em defeitos infra-ósseos. Estes mesmos autores, através da meta-análise de 10 ensaios clínicos controlados e randomizados, demonstraram uma redução média da PCS de 0,8mm (95% IC: 0,5 a 1,0mm) e um ganho médio no NCI de 1,2mm (95% IC: 0,7 a 1,7mm). Os resultados são positivos, entretanto não há evidência de que com esse tipo de tratamento, dentes com comprometimento periodontal mais avançado possam ser salvos, ou que a quantidade de regeneração do tecido seja clinicamente significativa.

Deve-se considerar ainda que nestes estudos, os tratamentos foram realizados por clínicos experientes, com exclusão de alguns fatores negativos e com acompanhamento rigoroso dos pacientes no período pós-operatório. Esses cuidados, muitas vezes, não são estendidos para a prática clínica. Mesmo considerando-se essas condições restritivas, nos estudos selecionados por Esposito et al. (2007), foram observados resultados com alta variabilidade e com pouca significância clínica.

As evidências da eficácia da PME no tratamento de defeitos infra-ósseos são conflitantes, sendo que mais ensaios clínicos randomizados controlados são necessários para investigar se o uso da PME é efetivo ou não e se há vantagens clínicas relevantes para os pacientes no tratamento de defeitos infra-ósseos.

7 CONCLUSÃO

Considerando-se as limitações deste estudo, pode-se concluir que:

Nesta amostra, a análise por meio de medidas radiográficas lineares computadorizadas não foi capaz de demonstrar superioridade do tratamento de defeitos infra-ósseos de 2 e 3 paredes com a aplicação da PME em comparação ao RET após 24 meses.

REFERÊNCIAS¹

Albandar JM. Validity and reliability of alveolar bone level measurements made on dry skulls. J Clin Periodontol. 1989;16:575-9.

Albandar JM, Rise J, Gjermo P, et al. Radiographic quantification of alveolar bone level changes. A 2-year longitudinal study in man. J Clin Periodontol. 1986;13:195-200.

American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms. 3ed. Chicago: American Academy of Periodontology; 1992.

Armitage GC. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Ann Periodontol. 1999;4(1):1-6.

Bartold PM, McCulloch CAG, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: A new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. Periodontol 2000. 2000;24:253-69.

Benn DK. Limitations of the digital image subtraction technique in assessing alveolar bone crest changes due to misalignment errors during image capture. Dentomaxillofac Radiol. 1990;19:97-104.

Björn H, Halling A, Thyberg H. Radiographic assessment of marginal bone loss. Odontol Revy. 1969;20:165-79.

Brägger U. Radiographic parameters: biological significance and clinical use. Periodontol 2000. 2005;39:73-90.

Carpio LC, Hausmann E, Dunford RG, et al. Evaluation of a simple modified radiographic alignment system for routine use. J Periodontol. 1994;65:62-7.

Chambrone D. Estudo clínico randomizado, duplo cego, do efeito do tratamento de defeitos infra-ósseos com a proteína da matriz do esmalte. Resultados após dois anos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2008.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Chambrone D. Tratamento de defeitos infra-ósseos de duas ou três paredes com retalho de espessura total repostado associado ou não à proteína da matriz do esmalte. Estudo clínico em humanos [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2003.

Chambrone D, Pasin I, Chambrone L, Panutti C, Conde MC, Lima LAPA. Treatment of intrabony defects with and without enamel matrix proteins: 24-month follow-up randomized pilot study. *Quintessence Int.* 2010;41:125-34.

Chambrone D, Pasin IM, Conde MC, Panutti C, Carneiro S, Lima LAPA. Effect of enamel matrix proteins on the treatment of intrabony defects. A split-mouth randomized controlled trial study. *Braz Oral Res.* 2007;21(3):241-6.

Chambrone D, Pasin IM, Conde MC, Panutti C, Lima LAPA. Estudo clínico controlado do tratamento de defeitos infra-ósseos de duas ou três paredes com retalho de espessura total repostado, associado ou não à proteína da matriz do esmalte, em humanos. *RPG Rev Pós Grad.* 2006;13(1):63-8.

Christgau, M, Bader N, Schmalz G, et al. GTR therapy of intrabony defects using 2 different bioresorbable membranes: 12-month results. *J Clin Periodontol.* 1998;25:499-509.

Christgau M, Wenzel A, Hiller KA, Schmalz G. Quantitative digital subtraction radiography for assessment of bone density changes following periodontal guided tissue regeneration. *Dentomaxillofac Radiol.* 1996;25(1):25-33.

Cortellini P, PiniPrato GP, Tonetti MS. Long-term stability of clinical attachment following guided tissue regeneration and conventional therapy. *J Clin Periodontol.* 1996;23:106-11.

Council on Scientific Affairs of The American Dental Association. Acceptance program guidelines. Products designed to regenerate periodontal tissues. *J Periodontol.* 1998;69:1081-4.

Eickholz P, Hausmann E. Evidence for healing of class II and III furcations 24 months after guided tissue regeneration therapy: digital subtraction and clinical measurements. *J Periodontol.* 1999;70:1490-500.

Eickholz P, Hausmann E. Evidence for healing of class II and III furcations after GTR therapy: digital subtraction and clinical measurements. *J Periodontol.* 1997;68:636-44.

Eickholz P, Hausmann E. Evidence for healing of interproximal intrabony defects after conventional and regenerative therapy: digital radiography and clinical measurements. *J Periodont Res*. 1998;33:156-65.

Eickholz P, Kim TS, Benn DK, Staehle HJ. Validity of radiographic measurement of interproximal bone loss. *Oral Surg Oral Med Oral Patol Oral Radiol Endod*. 1998;85:99-106.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Oct 19(4): CD003875. Review. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 (4): CD 003875.

Francetti L, Del Fabbro M, Basso M, Testori R, Weinstein R. Enamel matrix proteins in the treatment of intra-bony defects. A prospective 24-month clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2004;31(1):52-9.

Froum SJ, Weinberg MA, Rosenberg E, Tarnow D. A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: A 12-month re-entry study. *J Periodontol*. 2001;72(1):25-34.

Garret S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol*. 1996;1:621-30.

Gestrelus S, Andersson C, Johansson AC, et al. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol*. 1997a;24(9):678-84.

Gestrelus S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol*. 1997b;24(9) part II:685-92.

Giannobile WV, Somerman M. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003;1:193-204.

Grusovin MG, Esposito M. The efficacy of enamel matrix derivative (Emdogain) for the treatment of deep intrabony periodontal defects: a placebo-controlled randomized clinical trial. *Eur J Oral Implantol*. 2009;2:43-54.

Hama H, Azuma H, Seto H, Kido J, Nagata T. Inhibitory effect of enamel matrix derivative on osteoblastic differentiation of rat calvaria cells in culture. *J Periodontol Res.* 2008;43:179-85.

Hammarström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol.* 1997;24:658-68.

Hausmann E. Radiographic and digital imaging in periodontal practice. *J Periodontol.* 2000;71:497-503.

Heijl L, Heden G, Svärdström G, Östgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 1997;24(9) part II:705-14.

Hoang AM, Oates TW, Cochran DL. In vitro wound healing responses to enamel matrix derivative. *J Periodontol.* 2000;71:1270-7.

Jeffcoat MK, Wang IC, Reddy MS. Radiographic diagnosis in periodontics. *Periodontol 2000.* 1995;7:54-68.

Jepsen S, Topoli H, Rengers H, et al. Clinical outcomes after treatment of intra-bony defects with an EMD/synthetic bone graft or EMD alone: a multicentre randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2008;35:420-8.

Kalpidis CDR, Ruben MP. Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative: a literature review. *J Periodontol.* 2002;73(11):1360-76.

Kuru B, Yilmaz S, Argun K, et al. Enamel matrix derivative alone or in combination with a bioactive glass in wide intrabony defects. *Clin Oral Invest.* 2006;10:227-34.

Lindhe J, Nyman S, Karring T. Connective tissue reattachment as related to presence or absence of alveolar bone. *J Clin Periodontol.* 1984;11:33-40.

Machtei EE. Outcome variables for the study of periodontal regeneration. *Ann Periodontol.* 1997;2(1):215-22.

Mariotti A. Efficacy of chemical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):205-26.

Mellonig JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodont Restor Dent*. 1999;19(1):8-19.

Okuda K, Momose M, Miyazaki A, et al. Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *J Periodontol*. 2000;71(12):1821-8.

O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol*. 1972;43:38.

O'Leary TJ, Rudd KD. An instrument for measuring horizontal mobility. *Periodontics*. 1963;1:249.

Page RC, Armitage GC, DeRouen TA, et al. Design and conduct of clinical trials of products designed for the prevention, diagnosis, and therapy of periodontitis. Chicago: The American Academy of Periodontology; 1995; 1-54.

Parashis A, Tsiklakis K. Clinical and radiographic findings following application of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. A series of case reports. *J Clin Periodontol*. 2000;27:705-13.

Parodi MD, Liuzzo G, Patrucco P, et al. Use of Emdogain in the treatment of deep intrabony defects: 12-month clinical results. Histologic and radiographic evaluation. *Int J Periodont Res Dent*. 2000;20:585-95.

Pasin IM. Análise por subtração radiográfica digital linear do tratamento de defeitos infra-ósseos humanos de 2 ou 3 paredes por meio de retalho de espessura total reposto associado ou não à proteína derivada da matriz do esmalte [dissertação]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2006.

Pietruska MD. A comparative study on the of Bio-Oss® and enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of periodontal bone defects. *Eur J Oral Sci*. 2001;109(3):178-81.

Plachokova AS, Dolder J, Jansen JA. The bone-regenerative properties of Emdogain adsorbed onto poly (D,L-lactic-coglycolic acid)/calcium phosphate composites in an ectopic and an orthotopic rat model. *J Periodontol Res*. 2008;43:55-63.

Pontoriero R, Wennström J, Lindhe J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol*. 1999;26:833-40.

Reddy MS, Jeffcoat MK. Methods of assessing periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 1999;19:87-103.

Reddy MS. Radiographic methods in the evaluation of periodontal therapy. *J Periodontol*. 1992;63:1078-84.

Reddy MS. The use of periodontal probes and radiographs in the clinical trials of diagnostic tests. *Ann Periodontol*. 1997;2:113-22.

Rösing CK, Aass AM, Mavropoulos A, Gjermo P. Clinical and radiographic effects of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony periodontal defects: a 12-month longitudinal placebo-controlled clinical trial in adult periodontitis patients. *J Periodontol*. 2005;76(1):129-33.

Sculean A, Auschill TM, Donos N, et al. Effect of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol*. 2001a;28:1074-8.

Sculean A, Berakdar M, Willershausen B, et al. Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. *J Periodontol*. 2006;77(7):1167-72.

Sculean A, Blaes A, Arweiler N, Reich E, Donos N, Brex M. The effect of post surgical antibiotics on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins. *J Periodontol*. 2001b;72(2):190-5.

Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Donos N. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative (Emdogain). *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20:375-81.

Sculean A, Windisch P, Chiantella GC, Donos N, Brex M, Reich E. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol*. 2001c;28(5):397-403.

Steffensen B, Weber HP. Relationship between radiographic periodontal defect angle and healing after treatment. *J Periodontol*. 1989;60:248-53.

Toback GA, Brunsvold MA, Nummikoski PV, et al. The accuracy of radiographic methods in assessing the outcome of periodontal regenerative therapy. *J Periodontol.* 1999;70:1479-89.

Todd Scheyer E, Velasquez-Plata D, Brunsvold MA, Lasho DJ, Mellonig JT. A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2002;73(4):423-32.

Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, et al. Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol.* 2002;29(4):317-25.

Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Effect of cigarette smoking on long-term clinical results of intra-bony defects treated with regenerative therapy. A preliminary retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1995;22:229-34.

Tonetti MS, Piniprato G, Williams RC, et al. Periodontal regeneration of human intrabony defects. III. Diagnostic strategies to bone gain. *J Periodontol.* 1993;64:269-77.

Trombelli L, Kim CK, Zimmerman GJ, Wikesjö UME. Retrospective analysis of factors related to clinical outcome of guided tissue regeneration procedures in intra-bony defects. *J Clin Periodontol.* 1997;24:366-71.

Tsitoura E, Tucker R, Suvan J, et al. Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol.* 2004;31:643-7.

Vannier MW. Subtraction radiography. *J Periodontol.* 1996;67(9):949-50.

Velasquez-Plata D, Todd Scheyer E, 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.

Villalpando KT, Nociti Jr FH, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ, Toledo S. Utilização de proteínas derivadas da matriz do esmalte no tratamento de defeitos intra-ósseos. Estudo clínico controlado. *Rev Perionews.* 2007;1(1):25-32.

Webber RL, Ruttimann UE, Gröndahl H. X-ray image subtraction as a basis for assessment of periodontal changes. *J Periodontol Res.* 1982;17:509-11.

Windisch P, Sculean A, Klein F, et al. Comparison of clinical, radiographic, and histometric measurements following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins in human periodontal defects. *J Periodontol.* 2002;73:409-17.

Zetterström O, Andersson C, Eriksson L, et al. Clinical safety of enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 1997;24(9):697-704.

Zucchelli G, Bernardi F, Montebugnoli L, De Sanctis M. Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium- reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of intrabony defects: A comparative controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2002;73(1):3-12.

ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

PARECER nº 215/03
Protocolo 220/03

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa ***"Avaliação radiográfica por subtração digital de radiografias de defeitos infra-ósseos humanos de 2 ou 3 paredes tratados com proteína na matriz do esmalte"***, de responsabilidade do Prof. Dr. Luiz Antonio Pugliesi Alves de Lima

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de dezembro de 2003.

Prof^ª Dr^a **ROSA HELENA MIRANDA GRANDE**
Coordenadora do CEP-FOUSP

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Este termo se destina a esclarecer ao participante sobre a pesquisa "Estudo clínico comparativo, em humanos, da reparação de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes utilizando uma membrana absorvível ou proteína da matriz do esmalte", a ser desenvolvida pela C.D. Daniela Chambrone.

No tratamento da doença periodontal (doença que afeta gengiva e osso de suporte dos dentes), existem várias técnicas para reconstrução dos tecidos afetados. Algumas destas técnicas utilizam um tipo de membrana ou um material contendo proteína para melhorar a cicatrização (ou reparação) dos tecidos. Este estudo tem o objetivo de comparar 3 diferentes técnicas de tratamento, através de acompanhamento clínico e radiográfico.

Os pacientes que concordarem em participar da pesquisa responderão a um questionário de saúde e passarão por exames clínicos, radiográficos, controle de placa bacteriana, orientação de higiene bucal e procedimentos de raspagem e alisamento radicular de todos os dentes com o periodonto comprometido. Após esta primeira parte do tratamento, novos dados clínicos e radiográficos serão coletados observando-se as áreas com necessidade cirúrgica. Esses dados serão comparados com os resultados coletados após 6 meses do tratamento cirúrgico. Serão feitas fotografias das áreas a serem tratadas pela cirurgia.

Após o tratamento cirúrgico haverá acompanhamento semanal nas primeiras 06 semanas e mensal até 6 meses. Em seguida a este período os pacientes entrarão num programa de controle e manutenção na Clínica de Pós-Graduação em Periodontia da Universidade de São Paulo.

No decorrer do tratamento, em alguns casos, é possível que ocorra algum desconforto, como dor, e presença de pus na região em tratamento. Frente a isto ou a qualquer outro imprevisto durante o tratamento, o paciente receberá todo amparo necessário, entrando em contato com Daniela Chambrone – fone: 8187904 (Clínica de Periodontia – USP) ou no 69653590.

A identificação do paciente será preservada de forma que seu nome não aparecerá nas publicações subsequentes à pesquisa, nem será citado em cursos, palestras ou aulas expositivas. O paciente não receberá e não efetuará nenhum pagamento pela sua participação na pesquisa.

Fica claro que o paciente terá o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento de forma a imperar o seu livre arbítrio, sem prejuízo de qualquer benefício que esteja recebendo.

NOME: _____ DATA NASC.: _____
R.G.: _____ DATA DE EXPEDIÇÃO: _____
ENDEREÇO: _____
CEP: _____ FONE: _____

Declaro estar de pleno acordo com os termos acima e optar pela participação voluntária da pesquisa supracitada.

Assinatura: _____