

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Daniela Leal Zandim-Barcelos

**Efeito do condicionamento  
radicular na reparação  
periodontal de defeitos tipo  
deiscência. Estudo experimental  
em cães**

ARARAQUARA  
2009

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Daniela Leal Zandim-Barcelos

**Efeito do condicionamento  
radicular na reparação  
periodontal de defeitos tipo  
deiscência. Estudo experimental  
em cães**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Doutor em Periodontia.

**Orientador:** *Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio*

ARARAQUARA  
2009

Zandim-Barcelos, Daniela Leal

Efeito do condicionamento radicular na reparação periodontal de defeitos tipo deiscência. Estudo experimental em cães / Daniela Leal Zandim-Barcelos. – Araraquara: [s.n.], 2009.

182 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

1. Periodontia 2. Regeneração 3. Ácido cítrico 4. Tetraciclina  
5. Ácido edético I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

**DANIELA LEAL ZANDIM-BARCELOS**

**EFEITO DO CONDICIONAMENTO RADICULAR NA REPARAÇÃO  
PERIODONTAL DE DEFEITOS TIPO DEISCÊNCIA. ESTUDO.  
EXPERIMENTAL EM CÃES**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

2º Examinador: Prof. Dra. Letícia Helena Theodoro

3º Examinador: Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

4º Examinador: Prof. Dr. Luiz Carlos Spolidorio

5º Examinador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Araraquara, 25 de maio de 2009

# DADOS CURRICULARES

Daniela Leal Zandim-Barcelos

NASCIMENTO 06 de novembro de 1979 - Ipatinga – MG, Brasil

FILIAÇÃO Ricardo Zandim  
Fernanda Leal Zandim

1997/2001 ***Graduação em Odontologia***  
Faculdade de Odontologia da Universidade  
Federal de Minas Gerais - UFMG

2002/2003 ***Especialização em Periodontia***  
Faculdade de Odontologia de Araraquara da  
Universidade Estadual Paulista - UNESP

2003/2005 ***Curso de Pós-Graduação em Odontologia***  
Área de Periodontia, Nível Mestrado, Faculdade de  
Odontologia de Araraquara da Universidade  
Estadual Paulista - UNESP

2006/2009 ***Curso de Pós-Graduação em Odontologia***  
Área de Periodontia, Nível Doutorado, Faculdade  
de Odontologia de Araraquara da Universidade  
Estadual Paulista - UNESP

**“Se o sucesso não tivesse um custo, todo mundo seria um sucesso.**

**Se as conquistas não tivessem um custo, todos seríamos conquistadores.**

**Se a felicidade não exigisse dedicação, ela perderia o sentido.**

**Temos a tendência de pensar em grandes conquistas levando em conta apenas o resultado final. Mas geralmente isso é só uma gota.**

**A conquista mesmo está no fazer, no esforço, na dedicação, no custo exigido.**

**Ter uma vida de sucessos não significa acumular troféus e prêmios, mas sim estar disposto a comprometer-se com o custo que esse sucesso exige.”**

Autor Desconhecido

# *Dedicatória*

## **A Deus**

Que está presente constantemente na minha vida, guiando meus passos, olhando por mim e por toda a minha família.

*“Um dia eu tive um sonho,  
Sonhei que estava andando na praia com o Senhor  
E através do céu, passavam cenas da minha vida.  
Para cada cena desta vida,  
Percebi que eram deixados dois pares de pegadas na areia:  
Um era meu e o outro do Senhor.  
Quando a última cena da minha vida passou diante de nós,  
Olhei pra trás, para as pegadas na areia,  
E notei que isto aconteceu nos momentos mais difíceis e  
angustiantes do meu viver.  
Isto entristeceu-me deveras, e então perguntei ao Senhor:  
- Senhor, Tu dissestes que uma vez que resolvi te seguir,  
Tu andarias sempre comigo, em todo o caminho.  
Contudo notei que durante as maiores atribulações do meu viver,  
Havia apenas um par de pegadas na areia.  
Não compreendo porque nas horas que mais necessitava de Ti tu me  
deixastes sozinho.  
O Senhor me respondeu:  
- Meu querido filho, jamais eu te deixaria na hora do sofrimento.  
Quando vistes na areia apenas um par de pegadas, eram minhas.  
Foi exatamente aí que eu te carregava nos braços...”*

## **Ao meu marido, Paulo**

Ao meu grande amor agradeço por todo o carinho, pela confiança, pelas palavras de estímulo, pelos conselhos nos momentos de dificuldade e pela vibração a cada pequena etapa vencida. O seu apoio e incentivo foram fundamentais para mais esta conquista.

Obrigada por estar sempre ao meu lado e por entender a minha ausência em muitos momentos.

Te amo muito!

## **Aos meus pais, Ricardo e Fernanda**

Pelo apoio incondicional, pelo incentivo, amor e atenção que sempre me dedicaram. Agradeço acima de tudo pela confiança que sempre depositaram em mim, aprovando as minhas decisões, e pela força que sempre me deram ainda mais à distância.

Obrigada pai e mãe por serem referência de tudo na minha vida, por fazerem de tudo pela felicidade de suas filhas, muitas vezes abrindo mão dos próprios sonhos para verem os nossos realizados, e por estarem sempre prontos para nos estender as mãos ao menor sinal de necessidade.

Vocês me educaram mostrando a importância dos estudos na nossa vida e, mais uma vez, vocês são responsáveis por mais este objetivo alcançado. Ao final desta jornada, gostaria de dividir com vocês mais esta conquista!!!!

## **Às minhas irmãs, Renata e Patrícia**

Mesmo com a distância, vocês estiveram presentes em todas as minhas conquistas, torcendo muito e fazendo a minha vida mais feliz!!!



## *Agradecimentos especiais*

### **Ao meu amigo e orientador, José Eduardo Cezar Sampaio**

Pela grande confiança depositada em mim desde o momento em que aceitou ser meu orientador! Pelo apoio, carinho, disponibilidade e, acima de tudo, pela amizade. Você foi muito mais que um orientador, foi um grande amigo com quem sempre pude contar durante esses sete anos que estivemos juntos. Admiro-te muito não apenas como profissional, mas também como pessoa. Agradeço imensamente por todas as oportunidades, pelos conselhos e ensinamentos que foram fundamentais para o meu crescimento profissional. Espero ter correspondido às suas expectativas.

### **Aos amigos Vanessa, Fábio, Ana Emília e Fernando**

Pela amizade, carinho e pela ajuda fundamental para a realização deste trabalho. Sei que sempre vou poder contar com vocês. Nosso convívio foi muito especial!

## *Agradecimentos*

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP**, nas pessoas do Diretor, Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e de sua Vice-Diretora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andréia Affonso Barreto Montandon, pela oportunidade de crescimento profissional junto à UNESP.

Ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do coordenador **Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli**, pela qualidade do curso oferecido.

Aos Professores da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara: **Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, Ricardo Samih Georges Abi Rached, Elcio Marcantonio Junior, José Eduardo Cezar Sampaio, Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, Silvana Regina Perez Orrico e Joni Augusto Cirelli e Carlos Rossa Junior**, pelo ensino, incentivo, amizade e apoio desde o período que comecei minhas atividades no departamento como estagiária. Vocês contribuíram de maneira especial com a minha formação profissional.

A todos os **professores do Curso de Pós-Graduação em Odontologia** da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, pela atenção dedicada.

Ao **Prof. Dr. Luiz Carlos Spolidorio** pelo carinho com que me recebeu e pela importante colaboração na parte histológica deste trabalho.

Aos funcionários e amigos da Disciplina de Periodontia, especialmente: **Maria do Rosário, Maria José, Regina Lúcia, Ana Cláudia e Teresinha** pelo imenso carinho durante a nossa convivência e pela dedicação.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação: **Mara, Rosângela, José Alexandre e Flávia**, pela gentileza com que sempre me receberam, pela competência e paciência para resolverem todos os nossos problemas e dúvidas.

A **todos os funcionários da Biblioteca** pela atenção e excelente revisão bibliográfica.

Aos funcionários da secretaria do Departamento de Diagnostico e Cirurgia, **Suely, Telma e Antônio**, pela dedicação e solicitude.

À **Ana Cláudia C. G. Miranda**, pelo trabalho laboratorial na confecção das lâminas e principalmente pela amizade e carinho com que sempre me tratou.

Ao **Marcelo**, da Anatomia, pela ajuda na redução das peças e ao **Zé Antônio**, da Patologia, pela ajuda nas colorações e na obtenção das imagens.

Ao Dr. **Alessandro Galhardo**, veterinário, pela atenção dedicada, ajuda com os animais e pela amizade.

Ao **Fernando**, do Biotério, e ao **Wellington Leão Favero** pela ajuda na escovação dentária e demais cuidados com os cães.

À amiga **Beatriz Maria Valério Lopes** pela realização da estatística deste trabalho.

Aos meus amigos de turma de Doutorado: **Rafaela, Fábio, Rafael Sartori, Rafael Faeda, Gabriela, Roberto** pela amizade, pelas experiências compartilhadas e pelos bons momentos de convivência durante todo o curso.

Aos amigos **Vanessa, Beatriz, Ana Emília, Fernando, Andréa Abi-Rached, Joseane, Milton, Gabriela, Débora, Daniela Spirandelli, Roberta, Ana Lúcia, Yeon, Romeu, Rubens, Mariana, Leila, Sabrina, Morgana, Marina**, a amizade e o convívio com vocês tornaram a minha estadia em Araraquara mais feliz.

A todos os colegas da **Pós-Graduação em Periodontia e dos demais cursos** pela convivência, colaboração e pelos momentos de descontração.

Aos grandes amigos **Rafaela, Rafael Sartori, Rafael Faeda, Maurício, Fábio, Fernanda, Alliny**, pela amizade e por todos os momentos que passamos juntos, compartilhando alegrias e tristezas. Vocês são pessoas muito especiais!

Às minhas companheiras de república que se tornaram verdadeiras amigas, **Cliciane, Célia e Alliny**, pela atenção, apoio, conselhos e por todos os momentos que passamos juntas.

Às amigas **Alliny, Mariana e Roberta** por terem me recebido com muito carinho na “casinha” delas no período final do meu doutorado.

Aos **animais** que possibilitaram a realização deste trabalho.

À **CAPES** pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A toda minha **Família** e **Amigos** que, mesmo distantes, sempre torceram por mim.

**MUITO OBRIGADA!!!!!!**

*“Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, pois cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra.*

*Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, mas não vai sozinho, nem nos deixa sós.*

*Leva um pouco de nós mesmos e deixa um pouco de si mesmo.*

*Há os que levam muito, mas não há os que não levam nada.*

*Há os que deixam muito, mas não há os que não deixam nada.*

*Esta é a mais bela responsabilidade em nossa vida,*

*A prova suprema de que as pessoas não se aproximam por acaso”*

*Antoine de Saint - Exupéry*

# Sumário

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	14
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	16
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	18
<b>RESUMO</b> .....	20
<b>ABSTRACT</b> .....	23
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	26
<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	34
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	36
<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	69
Animais e Cuidados .....	70
Procedimentos Cirúrgicos .....	71
Análise histológica e histométrica .....	84
Análise Estatística .....	87
<b>RESULTADO</b> .....	90
<b>DISCUSSÃO</b> .....	108
<b>CONCLUSÃO</b> .....	119
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	122
<b>ANEXOS</b> .....	137
Anexo 1 .....	138
Anexo 2 .....	140
Anexo 3 .....	148
Anexo 4 .....	156

## ***LISTA DE FIGURAS***

**Figura 1** Cronograma da fase experimental deste estudo.

**Figura 2** Foto ilustrativa dos quatro sítios onde os parâmetros clínicos foram avaliados.

**Figura 3** Foto inicial previamente à RAR.

**Figura 4** Descolamento do retalho de espessura total.

**Figura 5** Criação cirúrgica dos defeitos ósseos.

**Figura 6** Fixação das matrizes metálicas.

**Figura 7** Sutura do retalho.

**Figura 8** Foto inicial após o acúmulo de placa bacteriana.

**Figura 9** Remoção das matrizes metálicas.

**Figura 10** Descolamento do retalho para visualização dos defeitos.

**Figura 11** Raspagem da superfície radicular exposta.

**Figura 12** Confeção das marcações radiculares.

**Figura 13** Mensuração do tamanho do defeito.

**Figura 14** Superfície radicular após condicionamento químico.

**Figura 15** Sutura do retalho.

**Figura 16** Fotomicrografias ilustrativas do grupo controle.

**Figura 17** Fotomicrografias ilustrativas do grupo EDTA.

**Figura 18** Fotomicrografias ilustrativas do grupo ácido cítrico.

**Figura 19** Fotomicrografias ilustrativas do grupo TTC.

**Figura 20** Fotomicrografias ilustrativas do grupo AC + TTC.

**Figura 21** Fotomicrografias ilustrativas do grupo TTC + AC.



## ***LISTA DE TABELAS***

**Tabela 1** Esquema de revezamento das substâncias a serem aplicadas de acordo com os grupos de tratamento em relação ao dente, por cão.

**Tabela 2** Distribuição dos dados referentes à Profundidade de Sondagem (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

**Tabela 3** Distribuição dos dados referentes ao Nível Clínico de Inserção (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

**Tabela 4** Distribuição dos dados referentes ao Nível Gengival (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

**Tabela 5** Análise descritiva do grupo controle em cada cão.

**Tabela 6** Análise descritiva do grupo EDTA em cada cão.

**Tabela 7** Análise descritiva do grupo ácido cítrico em cada cão.

**Tabela 8** Análise descritiva do grupo tetraciclina hidrocloreada em cada cão.

**Tabela 9** Análise descritiva do grupo ácido cítrico + tetraciclina hidrocloreada em cada cão.

**Tabela 10** Análise descritiva do grupo tetraciclina hidrocloreada + ácido cítrico em cada cão.

**Tabela 11** Parâmetros histométricos (média e desvio-padrão [mm] para cada tratamento cirúrgico.

**Tabela 12** Parâmetros histométricos em termos de porcentagem (média e desvio-padrão [mm] para cada tratamento cirúrgico.

## ***LISTA DE ABREVIATURAS***

**AC** Ácido cítrico

**ARO** Área óssea neoformada

**CI** Classe

**CE** Formação cementária

**DP** Doença periodontal

**EDTA** Ácido etilenodiaminotetracético

**EJL** Epitélio juncional longo

**EMD** Matriz dérmica de esmalte

**EP** Migração epitelial

**ETCS** Enxerto de tecido conjuntivo subepitelial

**HE** Hematoxilina e Eosina

**IC** Incisivo central

**IL-1 $\beta$**  Interleucina-1 beta

**JCE** Junção cimento-esmalte

**MEV** Microscópio eletrônico de varredura

**NG** Nível gengival

**NIC** Nível de inserção clínico

**NO** Neoformação óssea

**PS** Profundidade de sondagem

**PTFEe** Politetrafluoretileno expandido

**RAR** Raspagem e alisamento radicular

**RTG** Regeneração Tecidual Guiada

**SS** Sangramento à sondagem

**TTC** Tetraciclina

**TTC HCl** Tetraciclina hidrociorada

**TNF $\alpha$**  Fator de necrose tumoral alfa

*RESUMO*

---

Zandim-Barcelos DL. Efeito do condicionamento radicular na reparação periodontal de defeitos tipo deiscência. Estudo experimental em cães [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

## **RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar clinicamente e histologicamente o efeito do condicionamento químico da superfície radicular com ácido cítrico (AC), tetraciclina hidrocloreada (TTC HCl), e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) na reparação periodontal de defeitos ósseos tipo deiscência em cães. Defeitos tipo deiscência com 5 × 3 mm foram criados cirurgicamente na face vestibular das raízes mesiais dos primeiros molares, segundos e terceiros pré-molares superiores de sete cães. Assim, em cada animal foram criados seis defeitos que foram posteriormente submetidos ao acúmulo de placa por 45 dias. Após este período, foi realizado o exame clínico (baseline) dos dentes envolvidos no experimento e, em seguida, um retalho de espessura total foi rebatido. As superfícies radiculares foram raspadas e os defeitos receberam um dos seguintes tratamentos: I) irrigação com solução salina estéril (controle); II) ácido cítrico (25%, 3 min); III) EDTA (24%, 3 min); IV) tetraciclina hidrocloreada (50 mg/ml, 3 min); V) ácido cítrico (3 min) + tetraciclina hidrocloreada (3 min); VI) tetraciclina hidrocloreada (3 min) + ácido cítrico (3 min). Após três meses de cicatrização, foi realizado o exame clínico final e

os animais foram sacrificados para obtenção dos blocos contendo dente e tecidos periodontais adjacentes para análise histológica. Clinicamente, foi verificado que houve uma redução significativa da profundidade de sondagem e um significativo ganho de inserção clínica em todos os grupos após o tratamento dos defeitos ( $p < 0.05$ ), porém sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais ( $p > 0.05$ ). Em relação aos parâmetros histológicos avaliados, também não foi constatado uma diferença significativa entre os grupos ( $p > 0.05$ ). A migração epitelial assim como a formação de novo cemento e osso alveolar foram semelhantes em todos os grupos. Dentro dos limites do presente trabalho, pode-se concluir que o condicionamento químico da superfície radicular com ácido cítrico, tetraciclina ou EDTA associado à cirurgia a retalho e raspagem radicular não apresentou um benefício adicional na reparação de defeitos ósseos tipo deiscência em cães.

**Palavras-chave:** Periodontia; regeneração; ácido cítrico; tetraciclina; ácido edético

# *ABSTRACT*

---



Zandim-Barcelos DL. Effect of root surface conditioning on periodontal repair of dehiscence-type defects. Experimental study in dogs [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

## **ABSTRACT**

The purpose of this study was to clinically and histologically evaluate the effect of root surface conditioning with citric acid (CA), tetracycline hydrochloride (TTC HCl), and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the periodontal repair of dehiscence-type defects in dogs. Dehiscence defects measuring 5 × 3 mm were surgically created on the buccal aspect of mesial roots of the maxillary first molars and second and third pre-molars of seven mongrel dogs. For each animal, a total of six defects were created and exposed to plaque accumulation for 45 days. After this period, clinical evaluation (baseline) of all teeth was performed and a full thickness buccal flap raised. The root surfaces were scaled and the defects were randomly assigned to one of the following treatments: I) irrigation with sterile saline solution; II) citric acid (25%, 3 min); III) EDTA (24%, 3 min); IV) tetracycline hydrochloride (50 mg/ml, 3 min); V) citric acid (3 min) and tetracycline hydrochloride (3 min); VI) tetracycline hydrochloride (3 min) and citric acid (3 min). After 3 months of healing, the clinical parameters (final) were evaluated and the animals were sacrificed to obtain block sections of the teeth and surrounding tissues for histological analyses. Clinically, all treatments yielded significant

improvements in terms of probing depth decrease and attachment clinical level gain compared to baseline values ( $p < 0.05$ ), however without significant differences among the experimental groups ( $p > 0.05$ ). Epithelial apical migration as well as newly formed cementum and alveolar bone were similar in all treatment groups. No statistically significant differences were found among the groups in relation to the histological parameters evaluated ( $p > 0.05$ ). Within the limits of this study, it can be concluded that chemical root surface conditioning combined with flap surgery and root scaling did not have any additional improvement in periodontal repair of dehiscence-type defects in dogs.

**Keywords:** Periodontics; regeneration; citric acid; tetracycline; edetic acid

# *INTRODUÇÃO*

---

# INTRODUÇÃO

A doença periodontal causa alterações patológicas no periodonto, incluindo a perda de inserção de tecido conjuntivo ao elemento dental, a perda de osso alveolar de suporte e a migração do epitélio juncional ao longo da superfície radicular. A terapia periodontal é, portanto, direcionada para a paralisação da progressão desses eventos, com o objetivo de estabilizar o prognóstico a longo prazo do periodonto. Apesar de ser comprovadamente efetiva, esta terapia não restaura a anatomia normal do periodonto. Ao invés disso, o tratamento periodontal convencional resulta apenas em reparo periodontal em que os tecidos cicatrizados não reproduzem nem a arquitetura original nem a função dos tecidos periodontais perdidos em decorrência da doença periodontal (Caton, Zander<sup>23</sup>, 1979; Albair et al.<sup>2</sup>, 1982; Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993).

Estudos histológicos mostram que a cicatrização após a terapia periodontal convencional ocorre pela formação de um epitélio juncional longo e não pela nova inserção de tecido conjuntivo nas superfícies radiculares acometidas pela doença periodontal (Caton, Nyman<sup>21</sup>, 1980; Caton et al.<sup>22</sup>, 1980). Assim, a regeneração dos tecidos periodontais (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) é considerada como um grande desafio na terapia periodontal. O potencial regenerativo do periodonto pode ser modulado por diversos fatores. A

natureza das superfícies radiculares afetadas pela doença periodontal tem sido considerada como um dos fatores que interferem negativamente na regeneração previsível dos tecidos periodontais (Polson, Caton<sup>55</sup>, 1982, López<sup>45</sup> 1983, Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993). O condicionamento químico da superfície radicular assim como a regeneração tecidual guiada, os enxertos ósseos, os fatores de crescimento e a combinação dos mesmos são considerados como modalidades terapêuticas para a regeneração periodontal (Wikesjö, Selvig<sup>82</sup>, 1999).

A superfície radicular exposta à doença periodontal apresenta alterações que podem inibir a formação de nova inserção conjuntiva, mesmo na presença de células progenitoras dos tecidos periodontais (Polson, Caton<sup>55</sup>, 1982). A exposição às enzimas e aos metabólitos bacterianos pode induzir modificações físicas, estruturais, químicas na superfície radicular tornando-a um substrato impróprio para a adesão de células e desenvolvimento de fibras (Polson, Caton<sup>55</sup>, 1982; Polson, Proye<sup>56</sup>, 1982; Socransky, Haffajee<sup>70</sup>, 1997). Essas alterações incluem: alterações na composição e densidade mineral; reabsorção localizada, perda de matriz colágena e de proteínas não-colágenas, retenção e invasão de bactérias e adsorção de endotoxinas (Selvig<sup>66</sup>, 1969, Hatfield, Baumhammers<sup>37</sup>, 1971; Aleo et al.<sup>3</sup>, 1974; Adriaens et al.<sup>1</sup>, 1988; Socransky, Haffajee<sup>70</sup>, 1997).

Outra alteração importante ocorre após a instrumentação mecânica da superfície radicular. No tratamento periodontal, a raspagem

e o alisamento radicular (RAR) são procedimentos que visam à remoção de depósitos bacterianos e de cálculos dentários formados supra e subgengivalmente. Entretanto, a instrumentação da superfície radicular promove a formação de uma camada amorfa de debris orgânicos e inorgânicos denominada smear layer, que pode interferir no processo de cicatrização periodontal. Análises microscópicas demonstram que o smear layer pode apresentar cálculos residuais, remanescentes de cimento contaminado, bactérias e matriz bacteriana além de proteínas estruturais (Lasho et al.<sup>43</sup>, 1983; Chaves et al.<sup>25</sup>, 1993). Assim, o smear layer pode atuar como uma barreira física interposta entre os tecidos periodontais e a superfície radicular que inibe ou dificulta a formação de nova inserção além de atuar como um substrato para o crescimento bacteriano (Nalbadian, Cote<sup>51</sup>, 1982; Polson et al.<sup>58</sup>, 1984; Hanes et al.<sup>36</sup>, 1991). A remoção efetiva de smear layer poderia então aumentar o potencial para a regeneração periodontal.

Dessa forma, o condicionamento químico da superfície radicular foi proposto com a finalidade de descontaminar a superfície radicular pela remoção de smear layer, bactérias e suas toxinas, e expor as fibras colágenas da matriz orgânica do cimento ou dentina (Wirthlin, Hancock<sup>86</sup>, 1980; Daly<sup>30</sup>, 1982; Chaves et al.<sup>25</sup>, 1993; Blomlöf et al.<sup>15</sup>, 2000). Além disso, a desmineralização superficial da superfície radicular pode favorecer a formação e adesão do coágulo de fibrina (Wikesjö et al.<sup>83</sup>, 1992); retardar ou prevenir a migração apical do epitélio (Pitaru et

al.<sup>54</sup>, 1988) e possibilitar a liberação dos fatores de crescimento existente na matriz orgânica do cimento ou dentina, estimulando a divisão e proliferação das células do ligamento periodontal (Fardal, Lowenberg<sup>32</sup>, 1990; Blomlöf, Lindskog<sup>9</sup>, 1995; Zaman et al.<sup>87</sup>, 2000). O condicionamento químico das raízes acometidas pela doença periodontal seria, portanto, um importante passo inicial para o processo de cicatrização natural e formação de uma nova inserção.

Diversas substâncias têm sido empregadas para o condicionamento químico da superfície radicular. Dentre as mesmas destacam-se o ácido cítrico (AC), a tetraciclina hidrocloreada (TTC HCl) e o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).

O ácido cítrico foi um dos primeiros agentes químicos a ser utilizado. Trabalhos *in vitro* demonstram que o ácido cítrico promove remoção de smear layer, exposição e abertura de túbulos dentinários, exposição do colágeno, remoção de endotoxinas e outros produtos tóxicos, aumento da migração e inserção de fibroblastos (Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993; Rompen et al.<sup>63</sup>, 1999; Cavassim<sup>24</sup>, 2008). Além disso, evidências histológicas de estudos *in vivo* em animais, mostram que o condicionamento radicular com ácido cítrico aumenta a cementogênese e a nova inserção de tecido conjuntivo (Register, Burdick<sup>60</sup>, 1975; Selvig et al.<sup>67</sup>, 1981; Polson, Proye<sup>56,57</sup>, 1982,1983). Por outro lado, os resultados em humanos variam de uma marcante regeneração (Cole et al.<sup>27</sup>, 1981, Albair et al.<sup>2</sup>, 1982, Common, McFall<sup>29</sup>, 1983; López<sup>45</sup>, 1983;) até uma

ausência de resultado benéfico na formação da nova inserção conjuntiva quando comparado apenas com a raspagem e alisamento radicular (Stahl, Froum<sup>72</sup>, 1977; Steiner et al.<sup>73</sup>, 1981). A reabsorção radicular e anquilose são alterações geralmente observadas após a desmineralização com ácido cítrico na terapia cirúrgica reconstrutiva (Bogle et al.<sup>16</sup>, 1981; Petersson, Aukhil<sup>53</sup>, 1986; Claffey et al.<sup>26</sup>, 1988).

A TTC HCl apresenta um baixo valor de pH e promove uma desmineralização da superfície radicular comparável à observada com ácido cítrico (Wikesjö et al.<sup>85</sup>, 1986). A tetraciclina é um antibiótico que possui alta substantividade, ligando-se à dentina e sendo liberada lentamente o que mantém a sua atividade antimicrobiana (Baker et al.<sup>6</sup>, 1983; Wikesjö et al.<sup>85</sup>, 1986). Além de promover uma remoção efetiva de smear layer (Isik et al.<sup>40</sup>, 2000; Ishi et al.<sup>38</sup>, 2008), o condicionamento com TTC HCl promove um substrato favorável para adesão de fibronectina que, por sua vez, estimula a adesão e crescimento de fibroblastos na superfície dentinária (Terranova et al.<sup>76</sup>, 1986; Trombelli et al.<sup>77</sup>, 1995). Estudos também sugerem que a TTC HCl é capaz de inibir a produção de colagenase (Golub et al.<sup>34</sup>, 1984) e a secreção de TNF $\alpha$  in vitro (Shapira et al.<sup>69</sup>, 1996). Entretanto, trabalhos utilizando a TTC HCl no condicionamento radicular não demonstraram efeito adicional na formação de nova inserção conjuntiva (Nagata et al.<sup>50</sup>, 2005) ou melhora significativa dos parâmetros clínicos como profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção (Parashis, Mitsis<sup>52</sup>, 1993).



A utilização do EDTA foi proposta como uma alternativa para as substâncias de baixo pH. Diferentemente dos agentes anteriores, o EDTA exerce seu efeito desmineralizante quelando íons cálcio da hidroxiapatita em um pH neutro. O condicionamento em um pH neutro mantém a integridade das fibras colágenas e preserva a vitalidade dos tecidos adjacentes enquanto os agentes de baixo pH podem dissolver ou alterar a estrutura da dentina associada às fibras colágenas (Blömlöf, Lindskog<sup>9</sup>, 1995). O EDTA mostrou ser tão efetivo quanto os agentes de baixo pH na remoção de smear layer (Blömlöf, Lindskog<sup>9</sup>, 1995) e é considerado superior na exposição da superfície radicular associada ao colágeno (Blömlöf et al.<sup>14</sup>, 1997). No entanto, foi constatado que o condicionamento com ácido cítrico foi mais eficaz na adesão do coágulo sanguíneo, que constitui a fase inicial do processo de cicatrização, à superfície radicular do que o EDTA (Leite et al.<sup>44</sup>, 2009; Baker et al.<sup>7</sup>, 2000). Além disso, estudos clínicos não têm mostrado um benefício adicional da utilização do condicionamento com gel de EDTA como adjunto da terapia cirúrgica (Mayfield et al.<sup>49</sup>, 1998; Blömlöf et al.<sup>15</sup>, 2000; Sculean et al.<sup>65</sup>, 2006).

De maneira geral, existem controvérsias em relação ao benefício do condicionamento químico da superfície radicular como adjunto da terapia periodontal convencional. Alguns trabalhos demonstram maior inserção conjuntiva e formação de novo cemento nas superfícies radiculares desmineralizadas, enquanto outros trabalhos não

demonstram um benefício adicional da utilização do condicionamento químico em relação ao ganho de inserção clínico e redução da profundidade de sondagem. Possíveis explicações para esses achados inconsistentes incluem a variação no desenho experimental com diferentes formas de aplicação dos agentes químicos (tempo de uso da substância, técnica de aplicação, condições de armazenamento da substância, concentração utilizada), adaptação inadequada do retalho, estabilização da ferida cirúrgica, extensão da instrumentação mecânica e inadequada desmineralização da superfície radicular acometida pela doença periodontal (Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993, Klinge<sup>42</sup>, 1997).

Devido à dificuldade de se criar condições ideais em relação ao desenho experimental e de se obter a evidência histológica necessária em estudos com humanos, nos propusemos a avaliar em um mesmo modelo animal a reparação periodontal após o condicionamento radicular com diferentes agentes químicos que já tiveram seus parâmetros de aplicação como concentração, modo e tempo de aplicação avaliados em trabalhos *in vitro* anteriores.

*PROPOSIÇÃO*

---

# PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar clinicamente e histologicamente o efeito do condicionamento químico da superfície radicular com ácido cítrico, tetraciclina hidrocloreada, e EDTA na reparação periodontal de defeitos ósseos tipo deiscência criados cirurgicamente em cães.

# *REVISÃO DA LITERATURA*

---

# REVISÃO DA LITERATURA

A natureza da superfície radicular acometida pela doença periodontal é considerada como um dos fatores biológicos que pode inibir a regeneração previsível dos tecidos periodontais perdidos em decorrência desta doença infecciosa. Polson, Caton<sup>55</sup> (1982) verificaram a ocorrência de migração epitelial ao longo da superfície radicular até o nível da crista óssea alveolar após o reimplante de dentes acometidos pela doença periodontal em um periodonto saudável. Portanto, não foi observada formação de nova inserção de tecido conjuntivo nas raízes patologicamente expostas à doença periodontal. Ao reimplantar raízes não expostas à doença periodontal em um periodonto reduzido, foi constatado nova inserção conjuntiva no mesmo nível da inserção pré-existente e extensão apical do epitélio apenas ao nível da junção cimento-esmalte. Esses resultados mostraram que a natureza da superfície radicular é um fator que interfere na regeneração dos tecidos periodontais e não a presença de um periodonto reduzido.

Trabalhos in vivo e in vitro foram desenvolvidos com o objetivo de determinar alterações na superfície radicular que poderiam torná-la uma superfície apropriada e favorável ao desenvolvimento de nova inserção. Register, Burdick<sup>60,61</sup> (1975, 1976) obtiveram resultados

bastante promissores para a desmineralização ácida da superfície radicular. Esses autores verificaram que o condicionamento da superfície radicular com diferentes ácidos (ácido hidrocloreídrico, cítrico, fosfórico, tricloroacético e fórmico) era capaz de limpar a superfície da raiz e expor as fibras colágenas, estimulando a nova formação cementária e inserção de fibras colágenas sobre a superfície dental. Melhores resultados para cementogênese e formação de nova inserção conjuntiva foram obtidos após desmineralização com ácido cítrico (pH 1.0) por 2 a 3 minutos. Ririe et al.<sup>62</sup> (1980) também observaram um maior reparo tecidual nos animais em que foi realizado a desmineralização da superfície radicular com ácido cítrico e o mecanismo de ação provável foi a interdigitação entre as fibras colágenas da dentina e as fibrilas do tecido conjuntivo. Por outro lado, não foi verificada uma diferença em relação à formação cementária.

Polson, Proye<sup>56</sup> (1982) demonstraram que nova inserção conjuntiva pode ocorrer na superfície radicular contaminada submetida à desmineralização ácida. Esta nova inserção desenvolve-se como resultado da exposição das fibras da matriz colágena da dentina após a desmineralização com ácido cítrico. A exposição das fibras colágenas, por sua vez, facilita a adesão da rede de fibrina que inibe mecanicamente a proliferação apical do epitélio e possibilita o repovoamento da superfície radicular com células capazes de formar nova inserção conjuntiva (Polson, Proye<sup>56,57</sup>, 1982, 1983).

O efeito do condicionamento radicular na cicatrização periodontal também foi avaliado em ambientes desprovidos de células progenitoras dos tecidos periodontais. Hanes et al.<sup>36</sup> (1985) constataram após a implantação parcial da superfície radicular no dorso de ratos (parte da raiz permanecia exposta ao meio ambiente) que as superfícies condicionadas com ácido cítrico apresentavam maior número de células e fibras aderidas à superfície, além de nenhuma migração apical do tecido epitelial ser observada.

Resultados desfavoráveis ao condicionamento com ácido cítrico também foram obtidos. Petterson, Aukhil<sup>53</sup> (1986) verificaram pequena porcentagem da raiz recoberta por novo cemento e maior frequência de anquilose nos defeitos condicionados com ácido cítrico, indicando que esse agente pode retardar ou complicar a cicatrização de defeitos ósseos do tipo fenestração. Esses autores sugerem que a aplicação de ácido cítrico pode danificar as células do ligamento periodontal, afetando a sua capacidade de migração e inserção na superfície radicular. Um aspecto negativo deste trabalho é que não foi utilizado um modelo experimental que simulasse a doença periodontal.

Por outro lado, Magnusson et al.<sup>47</sup> (1985) observaram reabsorção radicular na maioria dos defeitos ósseos tratados com cirurgia a retalho com ou sem condicionamento da superfície radicular com ácido cítrico. Esses autores concluíram que o ácido cítrico não podia ser considerado como a causa das reabsorções radiculares. Resultados



similares foram obtidos por Wikesjö et al.<sup>84</sup> (1991) onde a desmineralização com ácido cítrico não aumentou a reabsorção radicular na cirurgia periodontal reconstrutiva. Neste trabalho, reabsorção radicular e anquilose ocorreram com elevada frequência tanto no grupo controle (soro fisiológico) como no grupo em que a raiz foi condicionada com ácido cítrico. Porém, o reparo de tecido conjuntivo e a formação óssea foram superiores no grupo em que o ácido cítrico foi utilizado.

Defeitos de furca também foram tratados com o condicionamento químico da superfície radicular. Defeitos de furca classe III naturais ou criados cirurgicamente pela remoção óssea de defeitos de furca classe II naturais em dentes de cães foram tratados com reposicionamento coronal do retalho e desmineralização com ácido cítrico (Bogle et al.<sup>16</sup>, 1981). Em ambos os defeitos (naturais e cirúrgicos), houve a formação de nova inserção conjuntiva. Porém, a porcentagem de sucesso foi superior nos defeitos induzidos. A anquilose foi um achado comum sendo mais freqüente nos defeitos naturais.

A TTC HCl foi outro agente utilizado na desmineralização radicular. Claffey et al.<sup>26</sup> (1987) verificaram uma regeneração coronal da inserção conjuntiva com extensão até a junção cimento-esmalte na maior parte dos espécimes condicionados com TTC HCl. A extensão média de regeneração do osso alveolar foi de 62% do comprimento da superfície radicular exposta (26-94%). Na maioria das superfícies, uma área limitada de reabsorção radicular foi verificada imediatamente abaixo da junção

cimento-esmalte, porém o reparo estava ocorrendo geralmente com deposição de cemento celular na área de reabsorção. Estes resultados devem, no entanto, ser interpretados com cuidado devido ao número limitado de espécimes avaliados (2 cães – total de 9 dentes avaliados) e pela ausência de grupo controle. Os resultados da aplicação de TTC HCL foram comparados com resultados prévios obtidos após o condicionamento com ácido cítrico. O ganho de nova inserção conjuntiva foi similar para os dois agentes químicos. Porém, os defeitos de reabsorção provocados pela TTC HCl apresentavam tamanho limitado em comparação com a reabsorção provocada pelo ácido cítrico.

Amostras de dentina não condicionadas e condicionadas com diferentes concentrações de TTC (200 e 100 mg/ml) foram implantadas no tecido transcutâneo do dorso de ratos (Frantz, Polson<sup>33</sup>, 1987). Após 10 dias da implantação, constatou-se um aumento significativo do número de células inseridas nas superfícies tratadas com TTC, sem diferença para as diferentes concentrações, em relação às superfícies não tratadas. Assim, a dentina desmineralizada com TTC mostrou ser um substrato mais favorável para adesão de células, porém esse aumento não resultou em inserção de novo tecido conjuntivo.

Nagata et al.<sup>50</sup> (2005) avaliaram histologicamente a cicatrização de defeitos ósseos tipo deiscência após a desmineralização radicular com TTC HCl (10 mg/ml). A formação de nova inserção, novo cemento e regeneração óssea foram similares nos dentes condicionados

e não condicionados com TTC HCl, sem diferença significativa entre os grupos. A desmineralização TTC HCl não resultou em efeito adicional na regeneração dos tecidos periodontais em defeitos ósseos tipo deiscência criados cirurgicamente em macacos. Neste trabalho não foi realizada contaminação da superfície radicular exposta após a criação dos defeitos.

A associação da desmineralização ácida da superfície radicular acometida pela doença periodontal com formação de nova inserção conjuntiva e novo cemento foi utilizada como justificativa para a realização de trabalhos clínicos em humanos.

Cole et al.<sup>28</sup> (1980) utilizaram dentes indicados para extração com o objetivo de avaliar a efetividade da desmineralização ácida em dentes humanos acometidos pela doença periodontal. Uma marcação foi realizada na superfície radicular na extensão apical do cálculo para demarcar o nível apical da raiz patologicamente exposta à doença periodontal. Após raspagem e condicionamento com ácido cítrico (pH 1.0) por 5 minutos, os retalhos foram reposicionados coronalmente e suturados. Análises histológicas mostraram inibição da migração apical do epitélio e deposição de cemento coronalmente à marcação realizada em todos os sítios. Regeneração óssea também foi observada em um nível coronal à marcação na maioria dos sítios. Esses resultados devem ser interpretados com cuidado devido à ausência de grupo controle. Em um estudo a parte, Steiner et al.<sup>73</sup> (1981) duplicaram o desenho experimental dos autores anteriores para avaliar o efeito do tratamento cirúrgico e da

raspagem radicular sem o condicionamento com ácido cítrico. Resultados histológicos revelaram migração epitelial ao nível ou apical à marcação radicular, sem evidências de nova inserção conjuntiva e formação de novo cemento.

O trabalho de Albair et al.<sup>2</sup> (1982) confirmou o potencial da desmineralização ácida na formação de nova inserção conjuntiva em superfícies radiculares acometidas pela doença periodontal. Dentes com envolvimento periodontal indicados para extração foram tratados cirurgicamente com raspagem radicular associada ou não ao condicionamento com ácido cítrico e reposicionamento coronal do retalho. Os espécimes controles não apresentaram evidência de nova inserção conjuntiva após 15 semanas da cirurgia. Em contraste, 6 dos 9 espécimes do grupo condicionado demonstraram nova inserção de tecido conjuntivo.

Dentes com bolsas residuais de 5 mm ou mais também foram tratadas com cirurgia a retalho associada ou não ao condicionamento com ácido cítrico (Cole et al.<sup>27</sup>, 1981). Após 6 meses do tratamento, houve melhora significativa dos parâmetros clínicos em ambos os grupos. O ganho de inserção médio nas superfícies tratadas com ácido cítrico foi ligeiramente superior às do grupo sem condicionamento (2.1 e 1.5 mm, respectivamente). O número de superfícies que apresentou ganho de inserção maior ou igual a 2 mm foi

de 60% no grupo com condicionamento e 43% no grupo sem condicionamento.

O efeito do condicionamento radicular com um gel contendo ácido cítrico e TTC após a raspagem radicular de dentes uniradiculares com profundidade de sondagem de 4 a 6 mm foi avaliado por Jeong et al.<sup>41</sup> (1999). Após 12 semanas, foi verificada uma redução significativa da profundidade de sondagem no grupo tratado com raspagem em associação ao gel de ácido cítrico e TTC em relação aos grupos tratados apenas com raspagem ou raspagem com gel de TTC. O ganho de inserção clínico foi significativamente maior no grupo tratado com raspagem e gel de ácido cítrico em relação ao grupo tratado com raspagem e gel de TTC. Houve redução significativa de espiroquetas em todos os grupos e redução significativa de bactérias móveis no grupo tratado com raspagem e gel de ácido cítrico. A mistura de TTC com ácido cítrico foi efetiva na melhora dos parâmetros clínicos e na mudança da flora subgengival.

López<sup>45</sup> (1983) utilizou uma técnica de implantação na região da submucosa para avaliar o potencial de nova inserção em raízes acometidas pela doença periodontal que foram desmineralizadas com ácido cítrico. Dentes extraídos com doença periodontal severa foram raspados e seccionados para obtenção de amostras da superfície radicular. Essas amostras foram implantadas na submucosa dos próprios pacientes. Após 2 semanas, verificou-se inserção de novo tecido

conjuntivo tanto na dentina como no cimento antigo. Após 6 semanas, áreas de reabsorção na dentina com extensão variável foram observadas e apenas após 18 semanas foi observada formação de novo cimento inclusive nas áreas de reabsorção da dentina. Não houve formação de novo cimento sobre o cimento antigo. Neste estudo houve formação de nova inserção conjuntiva e de novo cimento em áreas desprovidas de células progenitoras dos tecidos periodontais. A limitação deste trabalho está na ausência de amostras não condicionadas com ácido cítrico para comparação dos resultados.

Dentes humanos indicados para extração por doença periodontal também foram utilizados no trabalho de Common, McFall<sup>29</sup> (1983). Os dentes indicados para extração foram tratados cirurgicamente com raspagem radicular e retalho total deslocado lateralmente associado ou não ao condicionamento da superfície radicular com ácido cítrico. Nas primeiras semanas de pós-operatório foi constatado clinicamente que o retalho estava bem adaptado na superfície radicular desmineralizada enquanto no sem condicionamento o retalho apresentava mobilidade. Histologicamente foi observado formação de epitélio juncional longo sem cementogênese nos dentes não desmineralizados, enquanto nos dentes condicionados com ácido cítrico houve inserção de tecido conjuntivo no novo cimento formado coronalmente à marcação apical.

Caffesse et al.<sup>18</sup> (2000) avaliaram o efeito da desmineralização radicular com ácido cítrico no recobrimento radicular

juntamente com a utilização do enxerto de tecido conjuntivo subepitelial. Foi verificada redução significativa na altura e largura da recessão, e aumento significativo da largura de tecido queratinizado nos grupos tratados com e sem o condicionamento radicular. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros clínicos avaliados.

A desmineralização ácida da superfície radicular também foi avaliada juntamente com a utilização de fibronectina que é considerada quimiotática para fibroblastos e células do ligamento periodontal. Caffesse et al.<sup>17,20</sup> (1987, 1988) avaliaram o efeito do condicionamento radicular com ácido cítrico seguido da aplicação de fibronectina na terapia periodontal cirúrgica tanto em animais como em humanos. No modelo animal, foi verificada maior proliferação celular e cicatrização mais rápida nas superfícies tratadas com ácido cítrico e fibronectina. No trabalho clínico em humanos foi constatado maior redução da profundidade e maior ganho clínico de inserção nos dentes tratados em que a combinação de ácido cítrico e fibronectina foi utilizada, confirmando o efeito benéfico dessa associação. Em ambos os trabalhos citados anteriormente não houve comparação da associação dos agentes com um grupo em que apenas o condicionamento com ácido cítrico foi realizado. No trabalho de Claffey et al.<sup>26</sup> (1988), defeitos de furca foram tratados apenas com o condicionamento radicular com ácido cítrico ou tetraciclina, ou com a associação desses agentes com a fibronectina. A

desmineralização com ácido cítrico resultou freqüentemente em completo reparo de tecido conjuntivo nos defeitos de furca. A TTC HCl apresentou potencial similar de reparo de tecido conjuntivo em relação ao ácido cítrico e ambos apresentaram incidências correspondentes de anquilose e reabsorção radicular. A aplicação de fibronectina, entretanto, não aumentou o reparo de tecido conjuntivo e não alterou a freqüência de reabsorção radicular. Também foi verificado em dentes humanos indicados para extração uma maior inserção de tecido conjuntivo nos dentes tratados apenas com TTC HCl em comparação com os dentes que não foram condicionados ou condicionados com TTC HCl e fibronectina (Alger et al.<sup>4</sup>, 1990). Assim, a adição de fibronectina não aumentou a inserção de tecido conjuntivo nos dentes tratados com TTC HCl. A aplicação de fibronectina parece inibir o efeito desse agente químico na formação de nova inserção.

Outra aplicação do condicionamento químico da superfície radicular foi na técnica da Regeneração Tecidual Guiada (RTG). Muitos trabalhos in vivo em animais e humanos avaliaram o efeito do condicionamento radicular juntamente com a utilização de membranas. No trabalho de Wang et al.<sup>80,81</sup> (1993), seis modalidades de tratamento foram utilizadas em defeitos do tipo fenestração criados cirurgicamente em cães: condicionamento com ácido cítrico, TTC ou água estéril (controle) associados ou não à utilização de membranas não reabsorvíveis. Na análise autorradiográfica, foi constatado que o



condicionamento radicular com ácido cítrico e TTC inibiram a proliferação celular no período inicial de cicatrização (1 a 3 dias). Após 21 dias, nem o condicionamento com ácido cítrico ou TTC mostrou vantagens em relação ao grupo controle. Na análise histológica, foi observada uma cicatrização atrasada nos dentes em que a membrana foi utilizada. A presença de novo cemento foi verificada com 21 dias após o tratamento, sendo a mesma superior nos grupos condicionados com ácido cítrico. A regeneração óssea foi maior no grupo condicionado com a TTC, porém a diferença foi pequena em relação demais grupos. Dyer et al.<sup>31</sup> (1993) constataram que o condicionamento com ácido cítrico ou TTC HCl não melhorou os resultados da RTG obtidos apenas com a utilização de membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFEe). Maior inserção de tecido conjuntivo e formação óssea foram significativamente maiores apenas com a utilização da membrana sem condicionamento. Por outro lado, Selvig et al.<sup>67</sup> (1996) verificaram que o ácido cítrico não retardou a formação de nova inserção conjuntiva quando utilizado em associação com a membrana PTFEe.

Em humanos, defeitos de furca classe II foram tratados com membrana PTFEe associada ou não ao condicionamento com TTC HCl. Após 6 meses do tratamento, foi observado melhora dos parâmetros clínicos em ambos os grupos sem diferença significativa entre os mesmos (Parashis, Mitsis<sup>52</sup>, 1993). Trombelli et al.<sup>78</sup> (1995) tiveram melhores resultados no tratamento de recessões gengivais nos dentes em que foi

feita a aplicação de fibronectina na superfície condicionada com TTC em relação aos dentes em que foi utilizado apenas membrana PTFEe.

O EDTA foi considerado como uma alternativa para os agentes ácidos utilizados no condicionamento químico da superfície radicular. O condicionamento com um agente neutro como o EDTA demonstrou efeitos benéficos no tratamento de deiscências ósseas criadas em cães em relação ao grupo tratado com ácido cítrico ou sem tratamento. Menor recessão gengival, menor extensão de epitélio juncional longo assim como maior inserção histológica total foram observados no grupo em que o EDTA foi utilizado (Blomlöf et al.<sup>12</sup>, 1996). Por outro lado, não foi observado um efeito benéfico adicional da utilização do EDTA no tratamento cirúrgico de defeitos intra-ósseos em humanos. Não foram verificadas diferenças significativas entre o grupo condicionado com EDTA e o grupo não condicionado em relação à redução da profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção (Mayfield et al.<sup>49</sup>, 1998).

No trabalho de Blomlöf et al.<sup>15</sup> (2000), dentes com profundidade de sondagem maior ou igual a 6 mm foram tratados com a aplicação de EDTA, ácido cítrico ou apenas irrigação com solução salina. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao ganho de inserção clínico e redução da profundidade de sondagem após 3 e 6 meses de avaliação.

Sculean et al.<sup>65</sup> (2006) avaliaram o efeito do condicionamento com EDTA no tratamento de defeitos intra-ósseos em associação com a utilização de matriz dérmica de esmalte. Após 1 ano de avaliação, houve melhora significativa em todos os parâmetros clínicos tanto no grupo em que o condicionamento foi realizado como no grupo em que apenas a matriz dérmica foi utilizada, porém sem diferença significativa entre os mesmos. O condicionamento com EDTA, portanto, não apresentou benefício adicional quando utilizado com a matriz dérmica de esmalte.

No trabalho de Bittencourt et al.<sup>8</sup> (2007), o condicionamento da superfície radicular com EDTA apresentou um efeito negativo no recobrimento radicular de recessões classe I de Miller pela técnica da reposição coronária do retalho semilunar. A porcentagem de recobrimento radicular foi significativamente maior no grupo sem condicionamento (90.1%) em comparação com o grupo com condicionamento (70.2%). O percentual de defeitos com recobrimento total foi de 66.7% no grupo sem condicionamento e 40% o grupo com condicionamento.

Trabalhos in vitro utilizando cultura de células também foram realizados com o intuito de verificar o efeito da desmineralização da superfície radicular em diferentes células.

Shapira et al.<sup>69</sup> (1996) realizaram a incubação de monócitos humanos com extratos de cimento sadio e doente (DP) previamente condicionados ou não com TTC HCl em diferentes concentrações. Foi

verificado que extratos de cimento sadio não tiveram efeito na secreção de monócitos e que 0.5 mg/ml de cimento doente aumentaram em 10 vezes a secreção TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (dose-dependente). O condicionamento do dente com TTC HCl (50 mg/ml) antes de sua extração bloqueou a secreção de TNF $\alpha$ , demonstrando que a TTC HCl é um potente inibidor da secreção de TNF $\alpha$ .

No trabalho de Vanheusden et al.<sup>79</sup> (1999), amostras de dentina sem condicionamento ou condicionadas com ácido cítrico e minociclina hidrocloreada foram incubadas com queratinócitos obtidos do tecido gengival humano. O condicionamento ácido aumentou de forma significativa a inserção de queratinócitos na superfície da dentina, sem diferença entre os dois agentes químicos. Amostras de dentina condicionadas com ácido cítrico e minociclina hidrocloreada também foram incubadas com células do ligamento periodontal de humanos (Rompen et al.<sup>63</sup>,1999). Verificou-se que os fibroblastos aderidos às superfícies condicionadas mostraram um significativo aumento no percentual de proliferação e do nível total de proteínas e síntese de colágeno em relação à dentina não condicionada. Assim, o condicionamento com ácido cítrico ou minociclina HCl durante a cirurgia periodontal poderia promover inserção, proliferação e atividade biosintética de fibroblastos, pré-requisitos para a regeneração periodontal.

Baker et al.<sup>7</sup> (2000) avaliaram o efeito do condicionamento de amostras de dentina com ácido cítrico na adesão do coágulo

sanguíneo. Foi verificado que as superfícies tratadas com ácido cítrico apresentavam espessa rede de fibrina diretamente inserida na superfície da dentina envolvida por elementos celulares (eritrócitos). Entretanto, as superfícies não condicionadas exibiram aparência amorfa com esparsas proteínas e poucos eritrócitos aderidos, ou seja, a presença de smear layer dificultou a formação e a estabilização da rede de fibrina. Utilizando um modelo experimental similar, Leite et al.<sup>44</sup>, (2009) verificaram menor adesão do coágulo sanguíneo nas superfícies radiculares condicionadas com gel de EDTA 24%. O condicionamento químico da superfície radicular que não favorece a adesão e manutenção do coágulo de fibrina neste tipo de modelo experimental pode apresentar menor significância clínica nos procedimentos regenerativos em relação àqueles que mantêm este coágulo aderido à superfície radicular.

Autores (Ano publicação)	Metodologia	Resultados	Observações
Register, Burdick <sup>60</sup> (1975)	<p>In vivo – cães e gatos</p> <p>Defeitos fenestração – 5 mm diâmetro e 5 mm abaixo crista alveolar</p> <p>Desmineralização ácida: ac. hidrocloreídrico, láctico, fosfórico, tricloroacético, fórmico</p> <p>Diferentes tempos e concentrações dos agentes</p> <p>Controle: s/ desmineralização</p> <p>Análise histológica após 3 e 6 meses</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- com 3 e 6 meses retalho separava-se da raiz apenas no controle</li> <li>- nas raízes adequadamente desmineralizadas houve formação de nova inserção com cementogênese e reparo ósseo</li> <li>- contato leve tec. periodontais com agentes ácidos retardou mas não inibiu formação óssea em comparação c/ controle e não afetou a reinserção tec. conjuntivo com cementogênese nas raízes adequadamente desmineralizadas</li> <li>- ótima técnica desmineralização: ác. cítrico, pH 1.0 por 2 a 3 min</li> <li>- ausência de reabsorção nas raízes adequadamente desmineralizadas, mas evidente no grupo controle e nas superfícies hiperdesmineralizadas</li> </ul>	
Register, Burdick <sup>61</sup> (1976)	<p>In vivo – 15 cães</p> <p>Diferentes defeitos: 1) remoção do osso, cimento e ligamento periodontal para expor dentina radicular vestibular; 2) defeitos ósseos horizontais; 3) defeitos intra-ósseos de 1 parede; 4) defeitos bifurcação</p> <p>Tratamento: retalho total c/ ou s/ desmineralização AC (pH 1.0, 2 min)</p> <p>Avaliação histológica após 1, 2, 3, 4 e 6 semanas; 3 e 6 meses e 1 ano</p>	<p>Raízes desmineralizadas c/ AC:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- produção de cimento com ancoragem dentro dos túbulos expostos pela desmineralização</li> <li>- reinserção c/ cementogênese da gengiva inflamada nas raízes expostas aos defeitos cirúrgicos cronicamente infectados por 3 meses</li> <li>- sucesso no reparo de defeitos interproximais de 1 parede e defeitos vestibulares de uma superfície por reinserção</li> <li>- relativa falha no reparo de bifurcações e defeitos ósseos horizontais pela reinserção retalho</li> </ul>	<p>Desmineralização ácida pode ser útil no reparo de defeitos ósseos na terapia periodontal</p>

		<p>- 1 ano: completo reparo de osso alveolar na maioria dos defeitos vestibulares com presença de ligamento periodontal entre osso e cimento</p>	
Ririe et al. <sup>62</sup> (1980)	<p>In vivo – 7 cães Defeitos deiscências – 8mm a partir JCE Tratamento: retalho + RAR ou Retalho + RAR + AC (pH 1.0, 3 min) Avaliação histológica após 7, 14, 21, 42 dias Avaliação da interface entre o dente e os tecidos cicatrizados em MEV</p>	<p>- a profundidade da desmineralização provocada pelo AC foi de 3 a 5 µm - superfície desmineralizada apresentava textura irregular caracterizada pela exposição de fibras colágenas - aumento do percentual de cicatrização por tecido conjuntivo assim como rápido reestabelecimento da inserção de tec. conjuntivo pela extensiva interdigitação das fibras colágenas novas e antigas na interface dente-gengiva</p>	<p>A reinserção de tec. conjuntivo não é dependente da deposição de cimento na superfície radicular.</p>
Cole et al. <sup>28</sup> (1980)	<p>In vivo – humanos 6 pacientes – 9 dentes indicados p/ extração (DP) – 10 superfícies a serem tratadas Tratamento: retalho + RAR + AC (5 min) Avaliação histológica após 4 meses</p>	<p>- formação de nova inserção conjuntiva e de novo cimento - término do ep. junctional posicionado 1.2 a 2.6 mm coronal à marcação de referência apical - ausência de anquilose e reabsorção</p>	<p>Existe uma possibilidade biológica de regeneração dos tec. periodontais em superf. radiculares acometidas pela DP. Este estudo não define se o condicionamento c/ AC é um pré-requisito ou não para a nova inserção. Não foi relatado pH do AC.</p>
Cole et al. <sup>27</sup> (1981)	<p>In vivo - humanos 12 pacientes c/ DP – bolsa residual ≥ 5 mm Tratamento: retalho Widman modif. ou retalho Widman modif. + AC (3-5 min)</p>	<p>- melhora nos parâmetros clínicos em ambos os grupos - ganho de inserção médio nas superfícies tratadas c/ AC foi de 2.1 mm comparado e 1.5 no grupo sem condicionamento - 60% das superfícies tratadas c/ AC tiveram</p>	<p>O condicionamento c/ AC promoveu apenas pequena melhora no ganho clínico de inserção. Não foi relatado pH do AC.</p>

	Avaliação clínica após 6 meses	ganho de inserção $\geq$ 2mm comparado c/ 43% no grupo controle	
Steiner et al. <sup>73</sup> (1981)	In vivo – humanos 6 pacientes – 7 dentes indicados p/ extração (DP) PS $\geq$ 6 mm e presença cálculo subgingival Tratamento: retalho + RAR Avaliação histológica após 4 meses	- término do ep. juncional apical (0.6 a 2.4 mm) à marcação radicular apical - ausência de nova inserção conjuntiva e novo cimento - ausência de anquilose e reabsorção	Nova inserção de tec. conjuntivo pode ocorrer após cirurgia reconstrutiva c/ AC em defeitos naturais de furca CI III em cães adultos.  Não foi relatado pH e tempo de aplicação AC
Bogle et al. <sup>16</sup> (1981)	In vivo – 8 cães Beagle c/ DP 26 PM inf. c/ defeitos natural de furca CI III e 13 defeitos CI II que foram transformados cirurgicamente em CI III Tratamento: retalho posicionado coronalmente + AC Avaliação histológica após 6 semanas	- nova inserção de tec. conjuntivo nos defeitos naturais e criados cirurgicamente - porcentagem maior sucesso nos defeitos induzidos - anquilose foi achado comum sendo mais freqüente no grupo de defeitos naturais	
Albair et al. <sup>2</sup> (1982)	In vivo – humanos 8 pacientes – 18 dentes c/ PS $\geq$ 6 mm e perda óssea $\geq$ 40% do comprimento raiz Tratamento: retalho + RAR (controle) ou retalho + RAR + AC (pH 1.0, 5 min) Avaliação histológica e MEV após 6 e 15 semanas	- tec. mole separava-se da raiz nos dentes não condicionados no momento da extração - Controle: formação E.JL e ausência de nova inserção conjuntiva em todos os dentes - Teste: 6 dos 9 dentes apresentaram nova inserção. Tec. conjuntivo estava justaposto sobre cimento antigo e novo cimento, mas não diretamente sobre dentina. Fibras perpendiculares às raízes	
Polson, Caton <sup>55</sup> (1982)	In vivo – 2 macacos Indução DP em um IC sup (perda de 60% inserção e defeito intra-ósseo)	- raiz acometida pela DP e reimplantada no periodonto normal: formação E.JL até nível osso alveolar	A natureza da superfície radicular dos dentes acometidos pela DP e não a presença de um periodonto



	<p>IC superiores foram extraídos: Dente sadio foi reimplantado no periodonto reduzido e o dente acometido pela DP foi reimplantado no periodonto normal</p> <p>Análise histológica após 40 dias</p>	<p>- raiz dente sadio reimplantado no periodonto reduzido: re inserção do tecido conjuntivo na altura original</p>	<p>reduzido está associada à inibição da formação de nova inserção conjuntiva.</p>
<p>Polson, Proye<sup>56</sup> (1982)</p>	<p>In vivo – 4 macacos (12 dentes)</p> <p>Extração dos dentes, raspagem da parte coronal das raízes para remoção da inserção e cimento, condicionamento c/ AC (pH 1.0, 3 min) e reimplante dos dentes</p> <p>Avaliação histológica após 1, 3, 7 e 21 dias</p>	<p>- 1 a 3 dias: presença de zona de fibrina contendo cel. inflamatórias e eritrócitos interposta entre raiz e fibras periodontais remanescentes. A rede de fibrina estava aderida na superf. radicular e o limite apical do ep. localizado na extensão coronal da rede de fibrina</p> <p>- 7 dias: tec. granulação e novas fibras perpendiculares à raiz</p> <p>- 21 dias: nova inserção de tec. conjuntivo.</p> <p>Presença de reabsorção radicular na parte intra-alveolar da raiz. Ep. não migrou apicalmente mantendo sua extensão apical na JCE</p>	<p>O condicionamento com AC de superfícies radiculares desprovidas de inserção e cimento resulta na formação de nova inserção conjuntiva. Este resultado parece ser dependente do estabelecimento precoce da rede de fibrina na superfície radicular.</p>
<p>Proye, Polson<sup>59</sup> (1982)</p>	<p>In vivo – 4 macacos (12 dentes)</p> <p>Extração dos dentes, raspagem da parte coronal das raízes para remoção da inserção e cimento, e reimplante dentes</p> <p>Avaliação histológica após 1, 3, 7 e 21 dias</p>	<p>- 1 dia após reimplante: zona de fibrina contendo eritrócitos e céls. inflamatórias interposta entre a raiz e as fibras periodontais remanescentes inseridas no osso alveolar</p> <p>- migração ep. ao longo da raiz desprovida de inserção até a crista alveolar aos 3 dias, e dentro do espaço do ligamento aos 7 dias</p> <p>- 21 dias: ep. ao nível apical da instrumentação radicular</p> <p>- não foi observada nova inserção conjuntiva</p>	<p>Ausência de fibras na superfície radicular resulta na migração apical de epitélio que impede a formação de nova inserção conjuntiva.</p>

<p>Polson, Proye<sup>57</sup> (1983)</p>	<p>In vivo – 4 macacos (24 dentes) Dentes extraídos e reimplantados após tratamento: remoção da inserção e cimento da parte coronal da raiz c/ ou s/ AC (pH 1.0, 3 min) Análise histológica: 1, 3, 7 ou 21 dias após tratamento</p>	<p>- migração rápida do ep. ao longo da superfície desprovida de inserção e não tratada c/ AC - superfície tratada c/ AC não houve migração apical ep. - 1 a 3 dias: céls. inflamatórias estavam presas a uma rede fibrina que parecia estar inserida na raiz - 7 a 21 dias: região foi repovoada pro céls. tec. conjuntivo e fibras colágenas substituíram a rede de fibrina</p>	<p>Inserção de fibras colágenas na superfície radicular é precedida pela ligação da rede de fibrina que ocorre nos períodos iniciais de cicatrização da ferida.</p>
<p>Common, McFall<sup>29</sup> (1983)</p>	<p>In vivo – humanos 5 pacientes – 4 incisivos inf. indicados extração Tratamento: Retalho total deslocado lateralmente c/ ou s/ AC (pH 1.0, 2 min) Análise histológica: 1, 2, 4, 12 e 20 semanas após cirurgia</p>	<p>- aplicação do AC não retardou cicatrização dos tec. moles - 1 a 4 semanas: retalho estava bem adaptado na superfície radicular tratada enquanto no grupo controle o retalho estava móvel - 12 e 20 semanas: retalho bem adaptado grupo tratado c/ AC e controle, porém o retalho no grupo controle era facilmente deslocado c/ jato de ar - dentes do grupo controle apresentaram EJL sem cementogênese, enquanto grupo tratado c/ AC apresentou inserção de tec. conjuntivo no novo cimento formado coronalmente à marcação apical</p>	<p>Desmineralização c/ AC pode aumentar ou acelerar a inserção de tecido conjuntivo nos retalhos posicionados lateralmente.</p>
<p>López<sup>45</sup> (1983)</p>	<p>In vivo – humanos 8 pacientes c/ pelo menos 1 dente indicado p/ extração por DP Cirurgia retalho, extração do dente e implante de uma pequena amostra da</p>	<p>- após 2 semanas: inserção de novo tec. conjuntivo tanto na dentina como no cimento antigo - após 6 semanas: áreas de reabsorção na dentina c/ extensão variável</p>	<p>Superfície radicular contaminada que foi raspada e condicionada c/ AC é favorável à formação de nova inserção conjuntiva até mesmo em áreas que não</p>

	<p>raiz (exposta à bolsa periodontal) condicionada c/ AC (pH 1.0, 3 min) na mucosa (apicalmente JCE)</p> <p>18 implantes foram realizados</p> <p>Análise histológica após 2 a 24 semanas</p>	<p>- após 18 semanas: formação de novo cimento na superfície da dentina em todos os espécimes</p> <p>- não houve formação de novo cimento sobre o cimento antigo</p>	<p>apresentam céls. ligamento periodontal.</p> <p>Os resultados sugerem que a condição da superf. radicular está mais associada à inibição da formação de nova inserção do que a ausência de céls. progenitoras.</p>
Hanes et al. <sup>36</sup> (1985)	<p>In vivo – 13 ratos</p> <p>Amostras de dente sadio desprovidas de inserção e cimento</p> <p>Implante das amostras condicionadas ou não com AC (pH 1.0, 3 min) no dorso dos ratos. Parte da amostra ficava exposta ao meio externo</p> <p>Avaliação histológica após 1, 3, 5 e 10 dias</p>	<p>- maior número de céls. e fibras aderidas nas superfícies radiculares condicionadas c/ AC</p> <p>- inibição da migração apical do ep. nas raízes desmineralizadas</p> <p>- ausência de inserção de fibras nas amostras não condicionadas</p> <p>- inserção de fibras tec. conjuntivo nas raízes condicionadas</p>	<p>A desmineralização ácida favorece a adesão de céls. e fibras na superfície da dentina inibindo a migração epitelial.</p>
Magnusson et al. <sup>47</sup> (1985)	<p>In vivo – 6 macacos (4 dentes por animal)</p> <p>Defeitos ósseos supra-alveolar (5 mm da JCE)</p> <p>Tratamento: retalho coronal (submersão do dente) c/ ou s/ AC (irrigação por 3 min)</p> <p>Análise histológica após 6 meses tratamento</p>	<p>- 4 dentes perdidos excessiva mobilidade (1 tratado c/ AC e 3 não tratados)</p> <p>- reabsorção radicular na maioria das superfícies tratadas de ambos os grupos, sem diferença entre grupos</p>	<p>AC não pôde ser associado às reabsorções radiculares, pois o grupo controle também apresentou.</p>
Pettersson, Aukhil <sup>53</sup> (1986)	<p>In vivo – 6 cães Beagle (4 dentes por animal)</p> <p>Defeitos fenestração</p>	<p>- porcentagem da superfície radicular recoberta por novo cimento c/ inserção de fibras foi significativamente menor no grupo tratado c/</p>	<p>O condicionamento c/ AC parece retardar ou complicar cicatrização na presença de população de céls.</p>

	<p>Tratamento: RAR + AC (pH 1.0, 3 min) + membrana Millipore ou RAR + H<sub>2</sub>O destilada + membrana Millipore</p> <p>Análise histológica 3 meses após tratamento</p>	<p>AC comparado ao controle</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- na houve diferenças na regeneração apical e coronal de nova inserção</li> <li>- reabsorção radicular em ambos os grupos, porém percentagem significativamente maior no grupo tratado c/ AC</li> <li>- anquiose mais freqüente grupo experimental</li> <li>- não houve diferenças na regeneração óssea</li> </ul>	<p>seletivas.</p>
<p>Frantz, Polson<sup>33</sup> (1987)</p>	<p>In vivo – 12 ratos</p> <p>Amostras dentina sadia</p> <p>Implantação transcútânea no dorso do animal (ausência células progenitoras do periodonto) c/ parte da amostra exposta ao meio</p> <p>Tratamento: TTC (200mg/ml, pH 1.7, 5 min), TTC (100mg/ml, pH 1.9, 5 min) ou sem tratamento (controle)</p> <p>Avaliação histologia após 1 e 10 dias da implantação</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- extrusão das amostras implantadas em todos os grupos, sem diferença significativa em relação ao comprimento da superfície do implante em contato c/ tec. conjuntivo entre os grupos</li> <li>- aumento significativo do número de céls. inseridas nas superfícies tratadas c/ TTC (sem diferença para as diferentes concentrações) em relação ao controle</li> </ul>	<p>Dentina desmineralizada c/ TTC mostrou ser um substrato mais favorável para adesão de céls., porém esse aumento não resultou em inserção de tec. conjuntivo.</p>
<p>Claffey et al.<sup>26</sup> (1987)</p>	<p>In vivo – 2 cães (6 dentes por animal)</p> <p>Defeitos horizontais circunferenciais (6 mm da JCE)</p> <p>Tratamento: TTC HCl (1%, pH 2.6)</p> <p>Avaliação histológica após 6 meses</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- inserção de tec. conjuntivo até a JCE na maioria dos espécimes</li> <li>- reabsorção superficial foi prevalente na região cervical abaixo JCE</li> <li>- presença área anquiose abaixo reabsorção cervical em muitos espécimes</li> <li>- extensão de regeneração óssea alveolar de 62% (26-94%) da extensão defeito</li> <li>- ganho de inserção c/ TC HCL foi similar ao do AC (comparado c/ estudo anterior)</li> </ul>	<p>Os defeitos de reabsorção provocados pela TTC HCl apresentavam tamanho limitado em comparação c/ a reabsorção provocada pelo AC (22 de 120 superfícies radiculares tiveram que ser excluídas da análise morfométrica)</p>

Caffesse et al. <sup>17</sup> (1987)	<p>In vivo – 3 macacos</p> <p>30 segmentos contendo 2 dentes</p> <p>Tratamento: retalho Widman modificado ou retalho + AC (pH 1.0, 3 min) + fibronectina (400 µg/ml, 1 ml)</p> <p>Avaliação histológica e autoradiográfica: 3, 7, 15, 21 e 28 dias após cirurgia</p>	<p>- superfícies tratadas c/ fibronectina mostraram aumento significativo proliferação celular nas primeiras 2 semanas, afetando principalmente tec. supra-crestal</p> <p>- cicatrização mais rápida após uso AC + fibronectina</p> <p>- 28 dias: recobrimento epitelial na área do sulco, organização e adaptação do tec. conjuntivo e fibras perpendiculares à raiz no grupo teste; já no controle, incompleto recobrimento epitelial, pobre adaptação tec. conjuntivo, organização e maturação atrasada dos tecidos acima crista óssea</p>	AC seguido da aplicação de fibronectina aumentou a proliferação celular.
Caffesse et al. <sup>20</sup> (1988)	<p>In vivo – humanos</p> <p>29 pacientes – 1 ou mais sítios c/ PS ≥ 5 mm por quadrante</p> <p>Tratamento: retalho Widman modificado ou retalho + AC (pH 1.0, 3 min) + fibronectina (1 mg/ml, 1 ml)</p> <p>Avaliação clínica após 1 ano do tratamento</p>	<p>- ambos os tratamentos reduziram PS e aumentaram ganho clínico de inserção, porém os resultados alcançados c/ utilização de AC + fibronectina foram significativamente melhores</p> <p>- redução PS foi de 1.66 no controle e 1.88 no teste; ganho clínico de inserção foi de 0.33 p/ controle e 0.61 para teste</p> <p>- controle: 22.7% ganho ≥ 2mm de inserção, 12.2% perda ≥ 2mm e 65.1% sítios mantiveram inserção</p> <p>- teste: 27% ganho ≥ 2mm de inserção, 9.4% perda ≥ 2mm e 63.6% sítios mantiveram inserção</p>	Resultados confirmaram efeito benéfico da utilização de AC + fibronectina
Claffey et al. <sup>26</sup> (1988)	<p>In vivo – 14 cães Beagle (6 dentes por cão)</p> <p>Defeitos furca horizontal (4.5 a 5.5 da</p>	<p><u>Grupo I:</u></p> <p>- defeitos de furca epitelizados foram mais observados em TTC HCl + fibronectina (92%),</p>	O condicionamento c/ AC resultou frequentemente em completo reparo de tec. conjuntivo nos

	<p>JCE)</p> <p><u>Grupo 1</u> (8 cães) - Tratamento: AC (3 min), AC + fibronectina (6 mg/ml, 1 min), TC HCl (100 mg/ml, 5 min), TTC HCl + fibronectina</p> <p><u>Grupo 2</u> (6 cães) - Tratamento: AC (3 min), TTC HCl (50 mg/ml, 5 min), TTC HCl + fibronectina (2 mg/ml)</p> <p>Avaliação histológica após 3 meses</p>	<p>seguido por TTC HCl (75%) e AC (64%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- reparo de tec. conjuntivo significativamente maior em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> <li>- regeneração óssea significativamente maior em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> <li>- reabsorção óssea e anquilose significativamente maior em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> </ul> <p><u>Grupo 2</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- completo reparo de tec. conjuntivo após tratamento c/ AC, epitelização parcial em 42% defeitos tratados c/ TC HCl e 67% defeitos tratados c/ TTC HCl + fibronectina</li> <li>- reparo significativamente maior de tec. conjuntivo em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> <li>- regeneração óssea significativamente maior em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> <li>- reabsorção óssea e anquilose significativamente maior em AC comparado c/ TTC HCl + fibronectina</li> </ul>	<p>defeitos de furca</p> <p>AC e TTC HCl apresentaram potencial similar de reparo de tec. conjuntivo e apresentaram incidências correspondentes de anquilose e reabsorção.</p> <p>A aplicação de fibronectina não aumentou o reparo de tec. conjuntivo e não alterou a frequência de reabsorção.</p>
<p>Alger et al.<sup>4</sup> (1990)</p>	<p>In vivo – humanos</p> <p>5 pacientes, 22 dentes p/ extração</p> <p>Tratamento: retalho; retalho + TTC (100 mg/ml, pH 2.0, 3 min); retalho + TTC + fibronectina (10 mg/ml)</p> <p>Análise histológica - exodontia após 90 dias de cicatrização</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- no grupo controle houve cicatrização c/ formação EJJ</li> <li>- reinsertão nos grupos tratados c/ TTC limitada à marcação apical</li> <li>- maior reinsertão de tecido conjuntivo após tratamento apenas c/ TTC</li> </ul>	<p>A adição de fibronectina não aumentou a inserção de tec. conjuntivo nos dentes tratados c/ TTC e parece inibir a formação de nova inserção conjuntiva após o condicionamento c/ TTC.</p>

<p>Wikesjö et al.<sup>83</sup> (1991)</p>	<p>In vivo – 6 cães Beagle (6 dentes por cão)          Defeitos supra-alveolares (5 a 6 mm da JCE)          Tratamento: fluoreto estanhoso (1%, 5 min), AC (3 min) ou soro estéril          Avaliação histológica após 4 meses</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tratamento c/ fluoreto resultou em significativo maior EJL, menor reparo de tec. conjuntivo na superfície radicular e menor regeneração óssea compara aos demais grupos</li> <li>- reparo de tec. conjuntivo maior c/ AC</li> <li>- proporção defeito recoberta por EJL em AC foi de 17% e no controle foi de 45%</li> <li>- regeneração óssea maior c/ AC</li> <li>- formação de cimento limitada em todos os grupos</li> <li>- reabsorção radicular em todos os dentes tratados c/ AC ou soro</li> <li>- não houve diferença na frequência de reabsorção radicular entre AC e controle</li> <li>- anquiose em 50% dos dentes tratados c/ AC ou soro</li> </ul>	<p>O condicionamento c/ AC na cirurgia periodontal reconstrutiva não aumentou a reabsorção radicular</p>
<p>Wang et al.<sup>80</sup> (1993)</p>	<p>In vivo – 4 cães          Defeitos fenestração          Tratamento (3 min): AC (pH 1.0); AC + membrana (não reabsorvível); TTC (50 mg/ml); TTC + membrana; H<sub>2</sub>O estéril; H<sub>2</sub>O estéril + membrana          Análise autoradiográfica: 1, 3, 7 ou 21 dias após tratamento</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tratamento com AC e TTC inibiram a proliferação celular no período inicial de 1 a 3 dias</li> <li>- aos 7 e 21 dias, a diferença entre AC e TC foi mínima</li> <li>- nem o condicionamento c/ AC ou TC mostrou vantagens em relação ao grupo controle</li> <li>- a colocação da membrana aumentou o número de células aos 21 dias</li> </ul>	
<p>Dyer et al.<sup>31</sup> (1993)</p>	<p>In vivo- 8 cães Beagle c/ DP          Tratamento RTG: ePTFE ; ePTFE + AC (pH 1.0, 3 min) ou ePTFE + TTC HCl (100 mg/ml, 5 min, pH 1.7)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- inserção de novo tec. conjuntiva e formação óssea significativamente maior apenas c/ PTFEe sem condicionamento (medidas vestibulo-lingual)</li> </ul>	<p>Condicionamento c/ AC ou TTC HCl não melhoraram resultados da RTG apenas com PTFEe.</p>

	Análise histológica após 4 meses	- na área de furca não houve diferença entre os grupos - AC e TTC HCl resultados similares	
Wang et al. <sup>81</sup> (1993)	In vivo – 4 cães Defeitos fenestração Tratamento (3 min): AC (pH 1.0); AC + membrana (não reabsorvível); TC (50 mg/ml); TC + membrana; H <sub>2</sub> O estéril; H <sub>2</sub> O estéril + membrana Análise histológica: 1, 3, 7 ou 21 dias após tratamento	- proliferação e migração de fibroblastos c/ formação de matriz extracelular foi evidente após 24h, sendo provenientes das bordas apical e coronal do defeito - presença de novo cimento com 21 dias sendo a mesma maior nos grupos tratados c/ AC - maior formação óssea no grupo TTC, porém a diferença foi pequena em relação aos demais grupos - aos 7 dias grupos c/ membrana apresentavam cicatrização atrasada - aos 21 dias não houve diferenças na cicatrização entre os grupos	
Parashis, Mitsis <sup>52</sup> (1993)	In vivo – humanos 6 pacientes, 2 furcas CI II por paciente c/ perda de inserção horizontal $\geq$ 5 mm Tratamento: PTFEe ou PTFEe + TTC HCl (100 mg/ml, 5 min) Avaliação clínica 6 meses após cirurgia	- melhora dos parâmetros clínicos em ambos os grupos - não houve diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros avaliados	
Trombelli et al. <sup>78</sup> (1995)	In vivo – humanos 8 pacientes c/ duas recessões similares Tratamento: TTC (100 mg/ml, 4 min) + PTFEe + fibronectina ou PTFEe	- significativo ganho inserção e redução da recessão em ambos os grupos - média de recobrimento foi 67% teste e 60% controle	Melhora dos resultados c/ aplicação de fibronectina na superfície condicionada c/ TTC.



	Análise clínica após 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- significativa redução PS e aumento tecido queratinizado apenas teste</li> <li>- redução PS e ganho de inserção significativamente maior grupo teste em relação controle</li> </ul>	<p>AC não retardou formação de nova inserção conjuntiva.</p> <p>Não foi relatado pH da solução aquosa de AC.</p>
Selvig et al. <sup>67</sup> (1996)	In vivo – 6 cães Beagle Defeitos fenestração Tratamento: AC (3 min) ou solução salina + membrana PTFEe Análise histológica	<ul style="list-style-type: none"> <li>- significativa redução PS e aumento tecido queratinizado apenas teste</li> <li>- redução PS e ganho de inserção significativamente maior grupo teste em relação controle</li> </ul> <p>Após 14 dias cicatrização:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- maior densidade de fibras colágenas e maior resolução do coágulo residual no grupo AC</li> <li>- diferença não significativa para densidade de fibroblastos</li> <li>- tec. granulação bem aderido à dentina e cimento apenas no teste</li> </ul>	<p>AC não retardou formação de nova inserção conjuntiva.</p> <p>Não foi relatado pH da solução aquosa de AC.</p>
Shapira et al. <sup>69</sup> (1996)	In vitro – células (monócitos) Incubação de monócitos humanos com extratos de cimento sadio e doente (DP) previamente tratados ou não com TTC HCl (5 ml - 10 a 50 mg/ml, 5 min), soro e HCl (pH 3.0)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- extratos de cimento sadio não tiveram efeito na secreção de monócitos</li> <li>- 0.5 mg/ml de cimento doente aumentaram em 10x a secreção TNF<math>\alpha</math>/IL-1<math>\beta</math> (dose-dependente)</li> <li>- 1.5 ng/mg de endotoxina em extratos cimento doente e ausência cimento sadio</li> <li>- Tratamento dente c/ TTC HCl (50 mg/ml) antes da extração bloqueou secreção TNF<math>\alpha</math></li> <li>- Tratamento dente c/ TTC HCl (10 mg/ml), soro e HCl reduziram em 80% secreção citocinas</li> <li>- adição direta de TTC na cultura bloqueou secreção TNF<math>\alpha</math> (dose-dependente)</li> </ul>	<p>TTC demonstrou ser potente inibidor da secreção de TNF<math>\alpha</math>.</p>
Blomlöf et al. <sup>12</sup> (1996)	In vivo – 4 macacos (32 dentes) Defeitos deiscências Tratamento: retalho associado a gel	<ul style="list-style-type: none"> <li>- EDTA x controle: 10 a 15% mais de inserção histológica total; 20% menos de EJL e 20% mais de tec. conjuntivo nas raízes</li> </ul>	<p>O condicionamento c/ EDTA parece favorecer a cicatrização evitando a necrose superficial dos</p>

		24% EDTA (8 min); AC (pH 1.0, 3 min) ou s/ condicionamento Avaliação após 8 semanas	condicionados c/ EDTA - AC x controle: 10% mais de tec. conjuntivo e 15% menos de EJL raízes condicionados c/ AC - EDTA x AC: 10 a 15% mais de inserção histológica total; 20% menos de EJJ	tec. periodontais.
Mayfield et al. <sup>49</sup> (1998)	In vivo – humanos (36 pacientes) defeitos intra-ósseos $\geq$ 4 mm de profundidade Rx; PS $\geq$ 5 mm e SS Tratamento: retalho ou retalho + gel EDTA 24% (3 min) Avaliação clínica após 6 meses	- não houve diferença significativa entre os grupos - Controle: redução PS $2.6 \pm 1.5$ ; ganho clínico de inserção $0.4 \pm 1.2$ ; ganho ósseo $0.4 \pm 1.2$ - Teste: redução PS $2.9 \pm 1.3$ ; ganho clínico de inserção $1.8 \pm 1.5$ ; ganho ósseo $1.0 \pm 1.3$		
Vanheusden et al. <sup>79</sup> (1999)	In vitro – células (queratinócitos gengiva humanos) Amostras dentina condicionadas (3 min): 3% AC ou 0.01, 0.1 e 2.5% minociclina HCL	- o condicionamento ácido da dentina aumentou de forma significativa a inserção de queratinócitos, sem diferença entre os 2 agentes em qualquer concentração	O aumento inserção de queratinócitos pode acelerar a cicatrização periodontal pela re-formação do ep. juncional.	
Rompen et al. <sup>63</sup> (1999)	In vitro – células ligamento periodontal humano Amostras dentina Tratamento: AC (3%, pH 1.85, 3 min); minociclina HCl (2.5%, pH 3.8, 3 min); H <sub>2</sub> O deionizada	- após 2 h, verificou-se presença de fibroblastos em todas as superfícies - após 24 h, AC promoveu intenso espalhamento das células enquanto minociclina induziu a formação de uma densa rede de processos celulares - os fibroblastos HPDL aderidos às superfícies condicionadas mostraram um significativo aumento no percentual de proliferação e do nível total de proteínas e síntese de colágeno em relação à dentina não condicionada	O condicionamento c/ AC ou minociclina HCl durante a cirurgia periodontal poderia promover inserção, proliferação e atividade biosintética de HDPL, pré-requisitos para regeneração periodontal.	

Jeong et al. <sup>41</sup> (1999)	<p>In vivo – humanos 64 dentes uniradiculares c/ PS 4 a 6 mm Tratamento: RAR; gel TTC (5%, pH 3.0); RAR + gel TTC; RAR + gel TTC c/ AC (33%) (pH 1.1) Avaliação clínica: 2, 4, 8, 12 semanas</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- os parâmetros clínicos melhoraram significativamente comparados c/ baseline</li> <li>- Redução significativa da PS após 12 semanas no grupo RAR + gel TTC c/ AC em comparação com os demais grupos</li> <li>- ganho inserção significativamente maior RAR + gel TTC c/ AC em relação TTC</li> <li>- redução significativa de espiroquetas em todos os grupos</li> <li>- redução significativa bactérias móveis em RAR + gel TTC c/ AC</li> </ul>	<p>Mistura de TTC c/ AC foi efetiva na melhora dos parâmetros clínicos e na mudança microbiota subgingival.</p>
Baker et al. <sup>7</sup> (2000)	<p>In vitro – coágulo sanguíneo Amostra de dentina (dentes não acometidos por DP) Tratamento: PBS ou AC Avaliação em MEV</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- superfícies tratadas com AC apresentaram espessa rede de fibrina diretamente inserida na superfície da dentina envolvida por elementos celulares (eritrócitos)</li> <li>- superfícies não condicionadas exibiram aparência amorfa c/ esparsas proteínas e poucos eritrócitos aderidos</li> </ul>	<p>Este modelo de estudo pode distinguir efetivamente superfícies dentinárias com maior potencial de adsorção e adesão de elementos sanguíneos. Procedimentos regenerativos envolvendo condicionamento radicular que não é bem sucedido na manutenção do coágulo de fibrina neste modelo experimental podem apresentar menor significância clínica em relação àqueles que mantêm este coágulo.</p>
Caffesse et al. <sup>18</sup> (2000)	<p>In vivo – humanos 36 pacientes c/ 1 recessão gengival Tratamento: enxerto de tec. conjuntivo subepitelial (ETCS) ou ETCS + AC Avaliação clínica após 6 meses</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- redução significativa na altura e largura da recessão em ambos os grupos</li> <li>- aumento significativo da largura de tec. queratinizado em ambos os grupos</li> <li>- não houve mudança significativa na PS em</li> </ul>	<p>A desmineralização c/ AC não afetou os resultados clínicos da cirurgia de enxerto de tec. conjuntivo subepitelial.</p>

			ambos os grupos - ausência de diferença entre os grupos em relação aos parâmetros avaliados	
Blomlöf et al. <sup>15</sup> (2000)	In vivo – humanos 68 pacientes c/ DP – 92 sítios c/ PS ≥ 6 mm ou defeito intra-ósseo ≥ 2 mm Rx Tratamentos: EDTA (24%, pH 7.2, 2 min); AC (pH 1.0, 20 s) ou solução salina Avaliação clínica c/ 3 e 6 meses		- ausência de diferença significativa entre os grupos em relação ao ganho de inserção e PS em ambos os períodos de avaliação	
Leite et al. <sup>44</sup> (2005)	In vitro – coágulo sanguíneo Amostras dentina (dentes c/ DP) Tratamento: gel EDTA 24% manipulado (3 min), gel EDTA 24% Biora (3 min) ou água destilada Aplicação de 1 gota de sangue humano sobre as amostras Análise em MEV		- superfícies dentinárias apenas raspadas apresentaram melhores resultados, com moderada quantidade de células sanguíneas entremeadas em uma fina rede de fibrina. - no grupo de EDTA manipulado a rede de fibrina foi pouco visível com escassas células - - piores resultados observados com o EDTA Biora, caracterizados pela ausência de elementos sanguíneos - Estatisticamente houve diferença apenas entre os grupos controle e EDTA Biora	O uso do gel de EDTA no condicionamento radicular pode inibir a formação e adesão do coágulo sanguíneo na superfície radicular. RAR são capazes de proporcionar uma superfície onde a adsorção e adesão de elementos sanguíneos é estável.
Nagata et al. <sup>50</sup> (2005)	In vivo – animais (6 macacos) Defeitos deiscência (3 mm x 2 mm) Tratamento: RAR + TTC HCL (10 mg/ml, 4 min) ou RAR + soro (controle) Avaliação histológica após 6 meses		- não houve diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros avaliados Teste: regeneração óssea - $1.5 \pm 0.3$ mm novo cimento - $2.2 \pm 0.3$ mm EIJL - $0.9 \pm 0.2$ mm Controle: regeneração óssea - $1.5 \pm 0.6$ mm	O condicionamento radicular com TTC HCL não resultou em efeito adicional na formação de novo inserção conjuntiva em comparação com o grupo sem condicionamento.

Sculean et al. <sup>65</sup> (2006)	In vivo – humanos 24 pacientes c/ DP – 1 defeito intra-ósseo c/ PS $\geq$ 6 mm e componente intra-ósseo $\geq$ 3mm Rx Tratamento: RAR + EDTA (24%, pH 6.7, 2 min) + EMD ou RAR + EMD Avaliação clínica após 1 ano	<p>novο cimento - <math>2.3 \pm 0.3</math> mm EJL – <math>1.0 \pm 0.3</math> mm</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- não houve diferença significativa nos parâmetros clínicos avaliados no baseline entre os dois grupos</li> <li>- após 1 ano, houve melhora significativa em todos os parâmetros clínicos em ambos os grupos porém sem diferença significativa entre os mesmos</li> </ul>	O condicionamento com EDTA não apresentou benefício adicional quando utilizado com EMD.
Bittencourt et al. <sup>8</sup> (2007)	In vivo – 15 pacientes c/ recessões CI I de Miller bilaterais Tratamento: retalho semilunar posicionado coronalmente associado ou não ao condicionamento c/ gel EDTA 24% (pH 8.5, 2 min) Avaliação clínica após 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- em ambos os tratamentos houve redução nos parâmetros altura e largura da recessão e ganho clínico de inserção</li> <li>- redução da largura e altura da recessão foi significativamente maior no controle em comparação grupo c/ EDTA</li> <li>- grupo controle: 90.1% de recobrimento radicular e 66.7% com recobrimento total da recessão</li> <li>- grupo c/ EDTA: 70.2% de recobrimento radicular e 40% com recobrimento total da recessão</li> <li>- aumento significativo da mucosa queratinizada apenas no controle</li> </ul>	O condicionamento da superf. radicular com EDTA interferiu negativamente no recobrimento de recessões gengivais pela técnica do retalho semilunar reposicionado coronalmente.

# *MATERIAL E MÉTODO*

---

# MATERIAL E MÉTODO

## ▪ Animais e Cuidados

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, sob o protocolo n° 22/2005 (Anexo 1).

Sete cães de raça indefinida, com aproximadamente 20 Kg, foram utilizados para a realização deste trabalho. Os animais apresentavam boas condições de saúde geral e receberam higiene corporal e dieta à base de ração animal além de doses de antiparasitários, complexos vitamínicos e vacinas de acordo com a orientação do médico veterinário responsável pelo canil. Durante todo o experimento, os animais foram mantidos separados em baias individuais do canil da Faculdade de Odontologia de Araraquara localizado no Campus de Araraquara - UNESP.

Previamente aos procedimentos cirúrgicos, os animais permaneciam em jejum por 12 horas, sendo então pesados e sedados com uma injeção intramuscular de cloridrato de levomepromazina\* como indutor pré-anestésico na proporção de 0,2 ml/Kg. Em seguida, eram submetidos à anestesia geral por injeção endovenosa de tiobarbiturato de

---

\* Neozine® Aventis Pharma Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil

sódio\* na concentração de 25 mg/ml e na proporção de 0,5 ml/Kg, divididas em dose inicial e doses de manutenção. Durante todo o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos com hidratação endovenosa com solução fisiológica a 0,9%, o que possibilitava a manutenção anestésica, hidratação e medicação endovenosa quando necessária. Após cada intervenção cirúrgica, os animais foram medicados com uma ampola de 10 ml de protetor hepático\*\* aplicado por via endovenosa e uma ampola de 2 ml de analgésico\*\*\* por via intramuscular. Este último medicamento foi reaplicado após 12 horas.

## ▪ Procedimentos Cirúrgicos

A parte experimental deste trabalho consistiu de quatro etapas distintas, descritas a seguir:

1. Procedimentos iniciais / Criação e cronificação dos defeitos ósseos
2. Condicionamento químico da superfície radicular
3. Período de cicatrização periodontal
4. Obtenção das biópsias

---

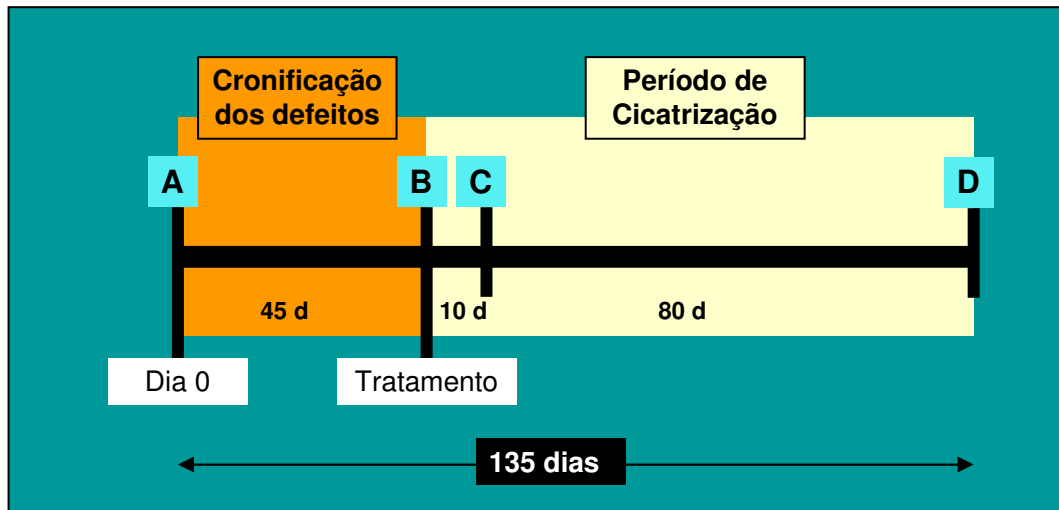
\* Thiopental Sódico®, Abbott Laboratórios do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil

\*\* Frutoplex LN, Marjan Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brasil

\*\*\* Magnopyrol, Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil



A seqüência cronológica do experimento está apresentada na Figura 1.



**FIGURA 1** – Cronograma da fase experimental deste estudo. (A) Exame clínico inicial, criação cirúrgica dos defeitos e colocação das matrizes metálicas; (B) Exame clínico (baseline), remoção das matrizes metálicas, RAR e condicionamento químico das superfícies radiculares; (C) Remoção das suturas; (D) Exame clínico final e eutanásia dos animais.

## 1 Procedimentos iniciais / Criação e cronificação dos defeitos

Inicialmente foi realizado o exame clínico dos dentes que seriam utilizados no estudo: segundos pré-molares (P2), terceiros pré-molares (P3) e primeiros molares (M1) superiores direito e esquerdo. Os seguintes parâmetros foram avaliados: 1) Presença de placa visível; 2) Presença de sangramento gengival marginal; 3) Sangramento à sondagem (SS); Profundidade de sondagem (PS), distância da margem

gengival até o fundo da bolsa/sulco gengival; 5) Nível gengival (NG), distância da junção cimento-esmalte até a margem gengival; 6) Nível de inserção clínico (NIC), soma dos valores obtidos para a PS e NG em cada sítio. Estas avaliações foram sempre realizadas por um examinador, calibrado e os dados registrados em fichas apropriadas (Anexo 2).

Os parâmetros clínicos foram obtidos em quatro sítios por dente (Figura 2), correspondentes à méso-vestibular, um ponto intermediário entre a méso-vestibular e vestibular (denominado defeito), vestibular e disto-vestibular com a utilização de uma sonda milimetrada tipo Willians\*.



**FIGURA 2** – Foto ilustrativa dos quatro sítios onde os parâmetros clínicos foram avaliados. A área tracejada corresponde à posição em que o defeito seria confeccionado posteriormente.

---

\* Hu-Friedy, Chicago, IL, USA

Após o exame inicial (Figura 3), foi feita a raspagem e profilaxia dental com taça de borracha e pasta profilática nos dentes superiores e inferiores. A anestesia local foi realizada por meio da técnica infiltrativa com Lidocaína\* a 2%, com o intuito de conseguir vasoconstrição e favorecer a hemostasia durante o ato cirúrgico.

Com o auxílio de um bisturi de Bard Parker e lâmina 15\*\*, foram realizadas incisões intra-sulculares na face vestibular das arcadas superiores direita e esquerda, estendendo-se da distal do 1º pré-molar até a distal do 1º molar. Em seguida, foi realizado o descolamento do retalho de espessura total para exposição da tábua óssea vestibular (Figura 4). Com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada, foram demarcados os pontos para a criação dos defeitos ósseos nas raízes mesiais dos dentes P2, P3 e M1 com as seguintes dimensões: 3 mm no sentido méso-distal e 5 mm no sentido ápico-oclusal a partir da junção cimento-esmalte. Os pontos foram unidos por meio de osteotomia realizada com o auxílio de um microcinzel para osso tipo Ochsenbein\*\*\*, formando o defeito ósseo do tipo deiscência (Figura 5).

Uma matriz metálica tipo Tofflemire\*\*\*\* com as dimensões aproximadas do defeito criado foi fixada na coroa dental, por meio de adesivo e resina composta\*\*\*\*\*, para possibilitar a cronificação dos defeitos e contaminação das superfícies radiculares expostas (Figura 6). Em

---

\* Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Itirapina, SP, Brasil

\*\* Soli, Lamedid, Barueri, SP, Brasil

\*\*\* Trinity, São Paulo, SP, Brasil

\*\*\*\* Fita matriz metálica 5mm, Microdont, São Paulo, SP, Brasil

\*\*\*\*\* Kit Z100, 3M do Brasil Ltda, Sumaré, SP, Brasil

seguida, os bordos dos retalhos foram coaptados e suturados com pontos tipo colchoeiro horizontal, com fio de nylon 4.0\*, de tal forma a buscar o fechamento completo do retalho por primeira intenção (Figura 7). Os defeitos foram cronificados por um período de 45 dias.



**FIGURA 3** – Foto inicial previamente à RAR.



**FIGURA 4** – Descolamento do retalho de espessura total.

---

\* Ethicon Inc, Johnson & Johnson Company, São Bernardo do Campo, SP, Brasil



**FIGURA 5** – Criação cirúrgica dos defeitos ósseos.



**FIGURA 6** – Fixação das matrizes metálicas.



**FIGURA 7** – Sutura do retalho.

## 2 Condicionamento químico da superfície radicular

Após o período de cronificação dos defeitos (Figura 8), foi realizado o tratamento cirúrgico dos defeitos com o condicionamento químico da superfície radicular. Inicialmente, as matrizes metálicas foram removidas e, em seguida, os parâmetros clínicos foram avaliados (baseline) (Figura 9). Na sequência, um retalho de espessura total foi deslocado para possibilitar a visualização dos defeitos confeccionados nas raízes dos dentes P2, P3 e M1 (Figura 10).



**FIGURA 8** – Foto inicial após o acúmulo de placa bacteriana.



**FIGURA 9** – Remoção das matrizes metálicas.



**FIGURA 10** – Descolamento do retalho para visualização dos defeitos.

Todas as superfícies radiculares expostas foram submetidas à raspagem e aplainamento radicular utilizando-se curetas Gracey 7-8\* (Figura 11) e com uma fresa esférica Carbide nº ½\*\*, em baixa velocidade, sob irrigação, realizou-se uma marcação radicular na área mais apical do defeito e outra na junção cimento-esmalte (Figura 12), visando obter parâmetros para auxiliar na análise histométrica. Após a realização das marcações, o tamanho dos defeitos foi novamente mensurado (Figura 13).

Em seguida, as superfícies radiculares foram tratadas (Figura 14) de acordo com os seguintes grupos experimentais:

**Grupo controle**      irrigação com 10 ml de soro fisiológico (controle)

---

\* Hu-Friedy, Chicago, IL, USA

\*\* KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil

- Grupo AC** aplicação tópica, com bolinha de algodão estéril, de solução saturada de ácido cítrico a 25%\* (pH 1.3) por 3 minutos (Sterrett et al.<sup>74,75</sup>, 1993; 1995)
- Grupo EDTA** aplicação com pincel de EDTA 24%\*\* gel (pH 7.0) por 3 minutos (Blomlöf et al.<sup>14</sup>, 1997; Sousa et al.<sup>71</sup>, 2004; Leite et al.<sup>44</sup>, 2009)
- Grupo TTC** aplicação por meio de fricção vigorosa, com bolinha de algodão estéril, de solução saturada de tetraciclina hidrociorada\*\*\* na concentração de 50 mg/ml por 3 minutos (Ishi et al.<sup>38</sup>, 2008; Isik et al.<sup>40</sup>, 2000)
- Grupo AC + TTC** aplicação tópica de solução saturada de ácido cítrico a 25% (pH 1.3) com bolinha de algodão estéril por 3 minutos, seguido pela aplicação vigorosa de solução saturada de tetraciclina hidrociorada na concentração de 50 mg/ml com bolinha de algodão estéril por 3 minutos;
- Grupo TTC + AC** aplicação vigorosa de solução saturada de tetraciclina hidrociorada na concentração de 50 mg/ml com bolinha de algodão estéril por 3 minutos, seguido pela aplicação tópica de solução

---

\* Farmácia Santa Paula, Araraquara, SP, Brasil

\*\* Pref Gel, Biora, Malmö, Sweden

\*\*\* Farmácia Santa Paula, Araraquara, SP, Brasil



saturada de ácido cítrico a 25% (pH 1.3) com bolinha de algodão estéril por 3 minutos.

Nos grupos em que o condicionamento radicular foi realizado, os agentes químicos foram renovados a cada 30 segundos e, após a aplicação dos mesmos, foi feita irrigação com 10 ml de soro fisiológico. Na seqüência, os bordos dos retalhos foram coaptados e suturados com os pontos tipo colchoeiro horizontal com fio de nylon 4.0\*, de tal forma a buscar o fechamento do retalho por primeira intenção (Figura 15). Nos dentes que apresentavam recessão gengival previamente ao tratamento dos defeitos, foi feito reposicionamento coronal do retalho.

Na Tabela 1 pode ser observado o planejamento do revezamento dos tratamentos a serem realizados em função dos diferentes grupos experimentais. Em seis cães foi realizado o rodízio dos grupos para que um mesmo dente pudesse receber todos os tratamentos propostos. Em um cão a distribuição dos grupos foi aleatória.

---

\* Ethicon Inc, Johnson & Johnson Company, São Bernardo do Campo, SP, Brasil

**Tabela 1** – Esquema de revezamento das substâncias a serem aplicadas de acordo com os grupos de tratamento em relação ao dente, por cão.

Dente	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6	Cão 7
P2 dir	controle	AC	EDTA	TTC	AC + TTC	TTC + AC	AC + TTC
P3 dir	AC	EDTA	TTC	AC + TTC	TTC + AC	controle	AC
M1 dir	EDTA	TTC	AC + TTC	TTC + AC	controle	AC	controle
P2 esq	TTC	AC + TTC	TTC + AC	controle	AC	EDTA	TTC + AC
P3 esq	AC + TTC	TTC + AC	controle	AC	EDTA	TTC	ECTA
M1 esq	TTC + AC	controle	AC	EDTA	TTC	AC + TTC	TTC



**FIGURA 11** – Raspagem da superfície radicular exposta.



**FIGURA 12** – Confecção das marcações radiculares.



**FIGURA 13** – Mensuração do tamanho do defeito.



**FIGURA 14** – Superfície radicular após condicionamento químico.



**FIGURA 15** – Sutura do retalho.

### **3 Período de cicatrização periodontal**

Após o tratamento dos defeitos ósseos, os animais foram submetidos a um controle químico de placa bacteriana por meio da aplicação tópica de um gel de digluconato de clorexidina\* a 0,2% com um pincel macio nos primeiros 15 dias após a cirurgia e subsequentemente com uma escova dental macia. Este procedimento foi realizado cinco dias por semana até o final do período experimental. Dez dias após o tratamento dos defeitos, os animais foram sedados com cloridrato de dihidrotiazina\*\* aplicado por via intramuscular, numa proporção de 1,5 ml/10 Kg, para remoção das suturas. A dieta dos animais durante este período consistiu de ração umedecida em água para evitar trauma aos tecidos gengivais, que poderia interferir na cicatrização.

---

\* Farmácia Escola, UNESP, Araraquara, SP, Brasil

\*\* Rompum®, Bayer, São Paulo, SP, Brasil

#### **4 Obtenção das biópsias**

Após 90 dias do condicionamento químico da superfície radicular, período suficiente para a maturação dos tecidos, foi realizado o exame clínico final e o aprofundamento do plano anestésico com auxílio do anestésico Tiopental com o intuito de promover a eutanásia indolor dos animais. As maxilas dos animais foram então dissecadas, removidas e armazenadas em recipientes contendo formol neutro a 10% por 48 horas para fixação.

##### **▪ Análise histológica e histométrica**

Após a fixação, as maxilas foram reduzidas em seis blocos contendo o dente e os tecidos periodontais adjacentes. Os blocos foram armazenados individualmente em cassetes plásticos identificados e mantidos por mais sete dias em formal neutro a 10%. A seguir, os cassetes foram lavados em água corrente por 24 horas e colocados em solução Morse (partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%) para descalcificação. O período de descalcificação foi de aproximadamente quatro meses, sendo a solução trocada três vezes por semana. Na seqüência, os cassetes foram lavados em água corrente por 24 horas, colocados em solução de sulfato de sódio a 5% durante sete dias com duas trocas neste período e novamente lavadas em água

corrente por 24 horas. O processamento dos espécimes, desde a desidratação até o banho em parafina, foi realizado em uma processadora automática\*. Essa fase consistiu de desidratação das peças usando álcool 70% durante 1 hora, álcool 90% por 1 hora e álcool absoluto por 20 horas. Após o processo de desidratação, os cassetes permaneceram em solução de álcool-xilol a 50% durante 30 minutos, passando para o processo de diafanização feita em xilol durante 5 horas. Finalmente, foram colocados em solução de parafina a 60% por 18 horas, com uma troca da solução no meio deste período. Logo após, os cassetes foram colocados em uma inclusora semi-automática\*\*, na qual foi feita a inclusão dos blocos em parafina com o auxílio de formas de aço e do próprio cassete onde estavam armazenados possibilitando assim a sua identificação.

Após a inclusão, foram obtidos cortes semi-seriados de 5 µm de espessura no sentido vestibulo-lingual com a utilização de um micrótomo automático\*\*\*. Foram selecionadas cinco lâminas de cada dente para coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricômico de Masson, correspondentes ao primeiro e ao último corte em que as marcações foram visíveis, a um corte mediano e dois cortes intermediários selecionados de forma a apresentarem uma equidistância entre cada corte.

A análise descritiva histológica foi realizada juntamente com um patologista experiente e cego para os grupos experimentais. Nesta

---

\* Jung Histokinette 2000, Instruments Gmbh, Heidelberg, Germany

\*\* Jung Hisoembedder Leica, Instruments Gmbh, Heidelberg, Germany

\*\*\* Jung Supercut 2965 Leica, Instruments Gmbh, Heidelberg, Germany

análise, foram avaliados: a morfologia dos tecidos, formação ou reabsorção óssea e cementária, presença de processo inflamatório, reabsorção radicular e anquilose.

Na análise histométrica, foi analisada a cicatrização dos tecidos periodontais por meio das seguintes medidas:

1. **Extensão radicular total do defeito** – extensão da superfície radicular compreendida entre o limite superior da marcação radicular coronária e o limite inferior da marcação radicular apical;
2. **Nível Gengival (NG)** - distância do limite superior da marcação coronária até a porção mais coronal da crista epitelial;
3. **Migração epitelial (EP)** - extensão radicular linear do defeito recoberto por tecido epitelial a partir do limite superior da marcação radicular coronal;
4. **Formação cementária (CE)** - extensão radicular linear do defeito recoberta por novo cimento a partir do limite inferior da marcação radicular apical;
5. **Neoformação óssea (NO)** - extensão linear do defeito preenchida por osso neoformado a partir do limite inferior da marcação radicular apical;
6. **Área óssea neoformada (ARO)** – área de tecido ósseo formado a partir do limite inferior da marcação radicular apical.

As imagens foram obtidas por meio de um microscópio óptico\*, com objetiva de aumento de 5.0x, acoplado a uma câmara fotográfica digital\*\* conectada a um microcomputador que capturava as imagens.

As medidas histométricas foram realizadas nas três lâminas correspondentes à parte central de cada defeito. As lâminas correspondentes ao início e o fim das marcações não foram utilizados. Assim, três medidas foram obtidas para cada parâmetro avaliado histometricamente. O programa utilizado para as medidas histométricas foi o ImageTool 3.0\*\*\*. As medidas lineares EP, CE e NO também foram transformadas em percentuais da extensão radicular linear total do defeito.

## ▪ **Análise Estatística**

A análise estatística das variáveis clínicas (PS, NIC e NG) em estudo foi realizada em duas partes:

- Verificação de diferença estatisticamente significativa entre os momentos de avaliação clínica (baseline e final) dentro de cada grupo experimental.

---

\* DIASTAR, Leica Reichert e Jung Products, Germany

\*\* DFC-300-FX, Leica Microsystems, Germany

\*\*\* UTHSCSA ImageTool, University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas



- Verificação de diferença estatisticamente significativa entre os diferentes tipos de tratamentos no baseline e no final do estudo.

A análise estatística das variáveis histométricas (EP, CE, NO, NG, ARO, tamanho do defeito, % EP, % CE e % NO) foi realizada por meio da verificação de diferença estatisticamente significativa entre os tipos de tratamentos ao final do estudo.

Para se tomar a decisão de quais métodos estatísticos seriam apropriados à análise dos dados obtidos, foi verificado, aplicando-se o Teste de Aderência de Lilliefors, se os dados se ajustavam à distribuição normal de probabilidades.

Os dados das variáveis que satisfizeram essa condição foram submetidos a testes estatísticos paramétricos e os demais foram analisados utilizando-se testes estatísticos não-paramétricos análogos a esses paramétricos.

Nos dados clínicos com distribuição normal, a comparação entre os diferentes tratamentos nos diferentes períodos de avaliação (baseline e final) foi realizada por meio do teste ANOVA uma variável que é apropriado para esse tipo de delineamento de pesquisa, em que as medidas são realizadas em amostras constituídas pelos mesmos elementos, em diferentes momentos de observação. Para a comparação entre os períodos de avaliação dentro de cada grupo, foi utilizado o teste t de Student.

Os dados das variáveis clínicas que não apresentaram distribuição normal foram analisados aplicando-se os testes de Friedman e Wilcoxon.

Nas medidas histométricas com distribuição normal, a comparação entre os diferentes grupos experimentais foi realizada utilizando-se o teste ANOVA um critério. Nas medidas com distribuição não-normal, a comparação foi feita com o teste de Friedman

Caso fossem encontrados resultados estatisticamente significantes em qualquer um desses testes (ANOVA um critério ou teste de Friedman), os dados seriam submetidos a testes de Comparações Múltiplas (Teste de Tukey-Kramer – teste paramétrico ou Teste de Dunn – teste não-paramétrico,) que fazem a comparação das amostras duas a duas, para verificar quais delas diferem entre si.

Para todos os testes, foi considerado um nível de significância de 5%, portanto, foram considerados estatisticamente significantes todos os resultados que apresentaram valor de  $p < 0,05$ .

Os dados experimentais foram submetidos à análise estatística, utilizando-se software\* adequado e específico para os diferentes testes, nas diferentes análises estatísticas realizadas.

---

\* BioEstat 4.0, BioEstat Software, Belém, PA, Brasil

*RESULTADO*

---

# RESULTADO

## ▪ **Análise Clínica**

Os valores obtidos para os parâmetros clínicos PS, NG e NCI em cada cão estão apresentados no Anexo 2. Esses parâmetros foram avaliados separadamente por sítio (4 sítios/dente). Nos sítios mesial, vestibular e distal, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em ambos os períodos de avaliação ( $p > 0.05$ ). Também não foram encontradas diferenças significativas dentro do mesmo grupo na comparação destes parâmetros nos diferentes períodos de avaliação (baseline e final) ( $p > 0.05$ ). No sítio denominado defeito também não houve uma diferença significativa entre os grupos em ambos os períodos de avaliação ( $p > 0.05$ ). Porém, foi observada uma melhora estatisticamente significante da PS e do NCI em todos os grupos na comparação dos dados obtidos no baseline e ao final do experimento ( $p < 0.05$ ), ou seja, em todos os grupos houve uma redução significativa da PS e um significativo ganho clínico de inserção (Tabelas 2 e 3). Para o NG não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes períodos de avaliação (Tabela 4).

**Tabela 2** – Distribuição dos dados referentes à Profundidade de Sondagem no sítio defeito (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

PS (Defeito)	Baseline	Final	p* (diferença entre períodos)
EDTA	5.00 $\pm$ 1.29	2.07 $\pm$ 0.73	<b>0.006</b>
AC	5.29 $\pm$ 1.80	2.07 $\pm$ 1.02	<b>0.000</b>
TTC	5.71 $\pm$ 1.60	1.64 $\pm$ 0.75	<b>0.002</b>
AC + TTC	5.93 $\pm$ 1.17	2.00 $\pm$ 1.00	<b>0.000</b>
TTC + AC	4.86 $\pm$ 1.57	2.07 $\pm$ 0.73	<b>0.000</b>
controle	4.79 $\pm$ 1.29	1.86 $\pm$ 1.11	<b>0.003</b>
<b>p** (diferença entre grupos)</b>	<b>0.665</b>	<b>0.9325</b>	

\* Teste t Student pareado; \*\* Teste Anova um critério

**Tabela 3** – Distribuição dos dados referentes ao Nível Clínico de Inserção no sítio defeito (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

NCI (Defeito)	Baseline	Final	p* (diferença entre períodos)
EDTA	5.00 $\pm$ 1.29	2.71 $\pm$ 1.41	<b>0.011</b>
AC	5.29 $\pm$ 1.70	2.57 $\pm$ 1.59	<b>0.019</b>
TTC	5.71 $\pm$ 1.60	2.14 $\pm$ 0.75	<b>0.029</b>
AC + TTC	5.93 $\pm$ 2.09	2.71 $\pm$ 1.11	<b>0.000</b>
TTC + AC	4.71 $\pm$ 1.50	2.50 $\pm$ 1.19	<b>0.003</b>
controle	4.79 $\pm$ 1.73	2.36 $\pm$ 1.38	<b>0.002</b>
<b>p** (diferença entre grupos)</b>	<b>0.685</b>	<b>0.953</b>	

\* Teste t Student pareado; \*\* Teste Anova um critério

**Tabela 4** – Distribuição dos dados referentes ao Nível Gengival no sítio defeito (em mm; média  $\pm$  DP) para os diferentes grupos nos períodos avaliados.

<b>NG (Defeito)</b>	<b>Baseline</b>	<b>Final</b>	<b>p*</b> <b>(diferença entre períodos)</b>
EDTA	0.00 $\pm$ 0.58	0.64 $\pm$ 1.18	<b>0.225</b>
AC	0.00 $\pm$ 0.58	0.50 $\pm$ 1.04	<b>0.225</b>
TTC	0.00 $\pm$ 0.00	0.50 $\pm$ 0.65	<b>0.345</b>
AC + TTC	0.00 $\pm$ 1.00	0.71 $\pm$ 0.76	<b>0.109</b>
TTC + AC	-0.14 $\pm$ 0.90	0.43 $\pm$ 0.79	<b>0.177</b>
controle	0.00 $\pm$ 0.00	0.50 $\pm$ 1.00	<b>0.109</b>
<b>p**</b> <b>(diferença entre grupos)</b>	<b>0.999</b>	<b>0.961</b>	

\* Teste de Wilcoxon; \*\* Teste de Friedman

#### ▪ **Análise Histológica e Histométrica**

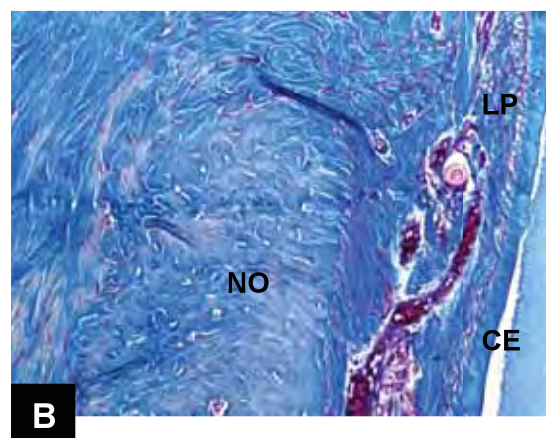
A análise histológica descritiva está apresentada nas Tabelas 5 a 10. De maneira geral, a reparação dos defeitos ocorreu de forma semelhante em todos os grupos. Uma foto representativa de cada grupo experimental foi selecionada para ilustrar a reparação periodontal dos defeitos (Figuras 16 a 21).

**GRUPO CONTROLE**

**Tabela 5** – Análise descritiva do grupo controle em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
2	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
3	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
4	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
5	ausente	presente	presente	ausente	ausente	ausente
6	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
7	ausente	presente	presente	presente	presente	presente



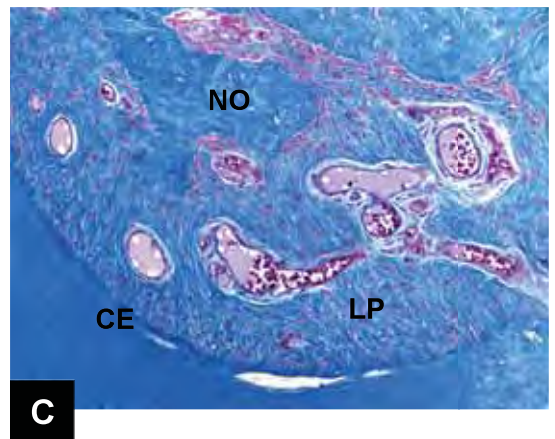
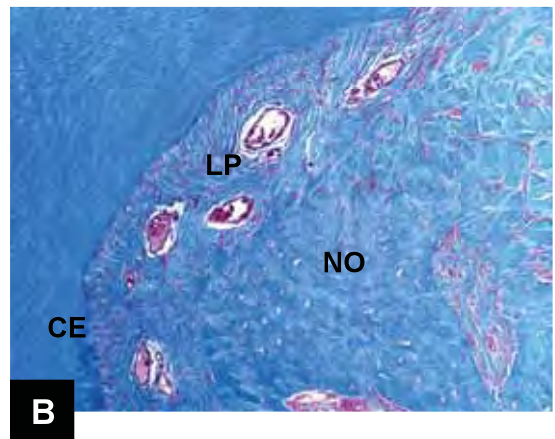


**FIGURA 16** – Imagens ilustrativas do grupo controle. **A** Visão geral do defeito com as marcações de referência (aumento original 5x, HE); **B** Visão em maior aumento da parte superior do osso neoformado (aumento original 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento da marcação radicular apical (aumento original 20x, Tricômio de Masson).

**GRUPO ETILENODIAMINOTETRACÉTICO**  
**(GRUPO EDTA)**

**Tabela 6** – Análise descritiva do grupo EDTA em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	presente	ausente	ausente
2	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
3	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
4	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
5	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
6	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
7	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente



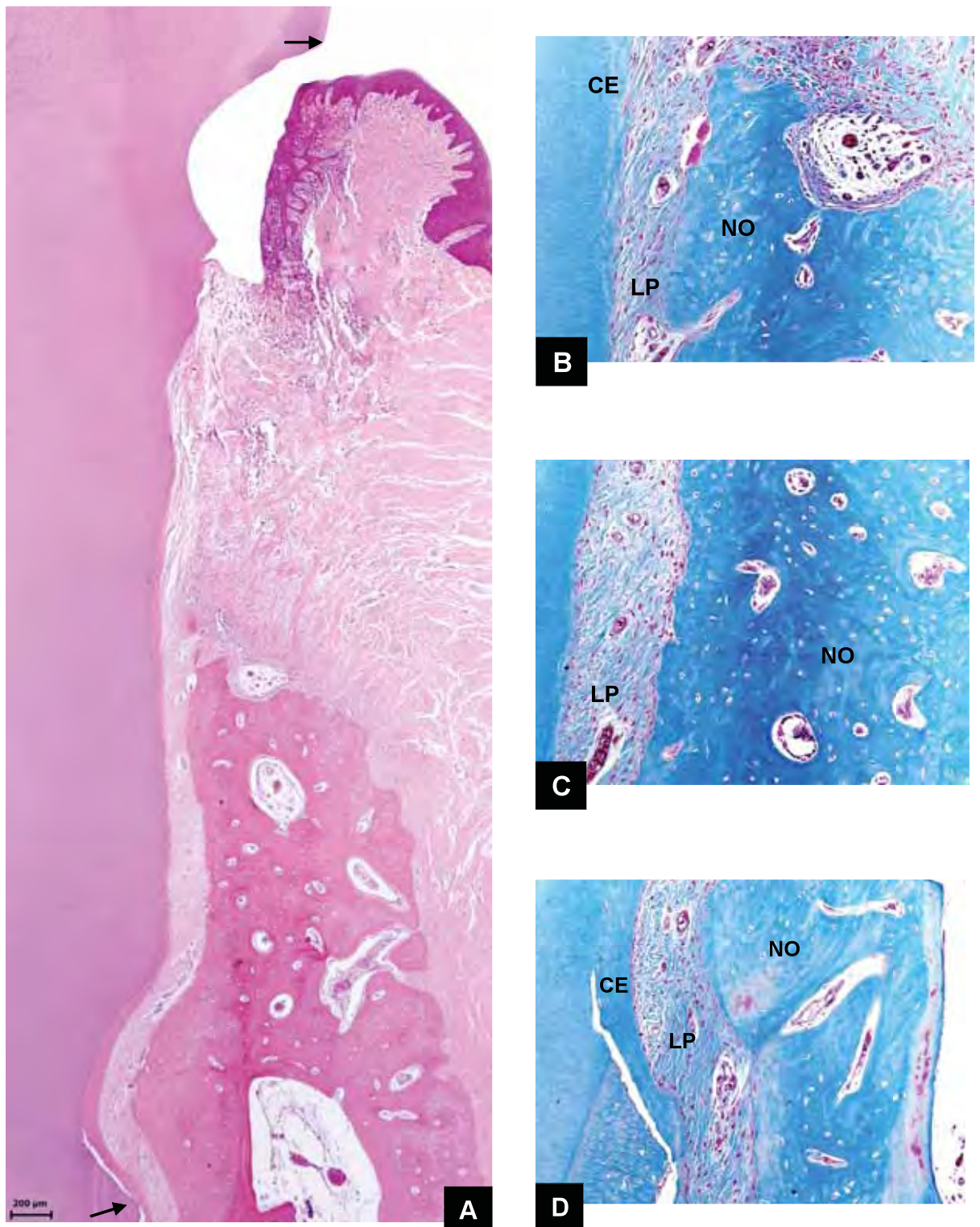
**FIGURA 17** – Imagens ilustrativas do grupo EDTA. **A** Visão geral do defeito com as marcações de referência (aumento original de 5x, HE); **B** Visão em maior aumento do limite superior da marcação radicular apical (aumento original 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento do limite inferior da marcação radicular apical (aumento original 20x, Tricômio de Masson).

**GRUPO ÁCIDO CÍTRICO**  
**(GRUPO AC)**

**Tabela 7** – Análise descritiva do grupo ácido cítrico em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
2	ausente	presente	presente	presente +PI	ausente	ausente
3	ausente	presente	presente	presente	presente	presente
4	presente	presente	presente	presente +PI	presente	presente
5	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
6	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
7	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente

PI – Processo inflamatório



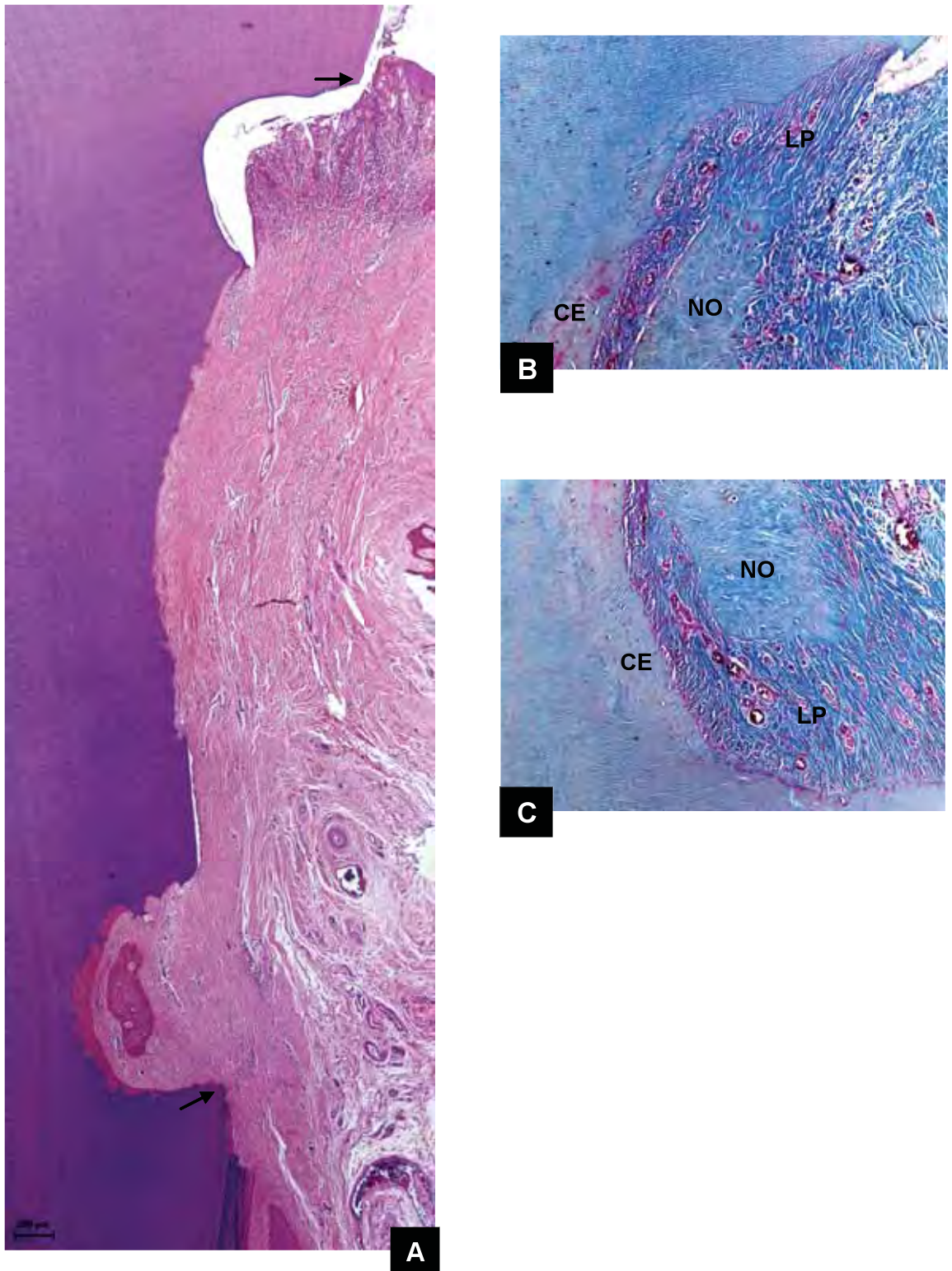
**FIGURA 18** – Imagens ilustrativas do grupo ácido cítrico. **A** Visão geral do defeito com as marcações de referência (aumento original de 5x, HE); **B** Visão em maior aumento do terço coronário do osso neoformado (aumento original de 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento do terço médio do osso neoformado (aumento original de 20x, Tricômio de Masson); **D** Visão em maior aumento do limite inferior da marcação radicular apical (aumento original de 20x, Tricômio de Masson).

**GRUPO TETRACICLINA HIDROCLORADA**  
**(GRUPO TTC)**



**Tabela 8** – Análise descritiva do grupo tetraciclina hidroclorada em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
2	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
3	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
4	ausente	presente	presente	ausente	ausente	ausente
5	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
6	ausente	presente	presente	ausente	ausente	ausente
7	ausente	presente	presente	ausente	ausente	ausente

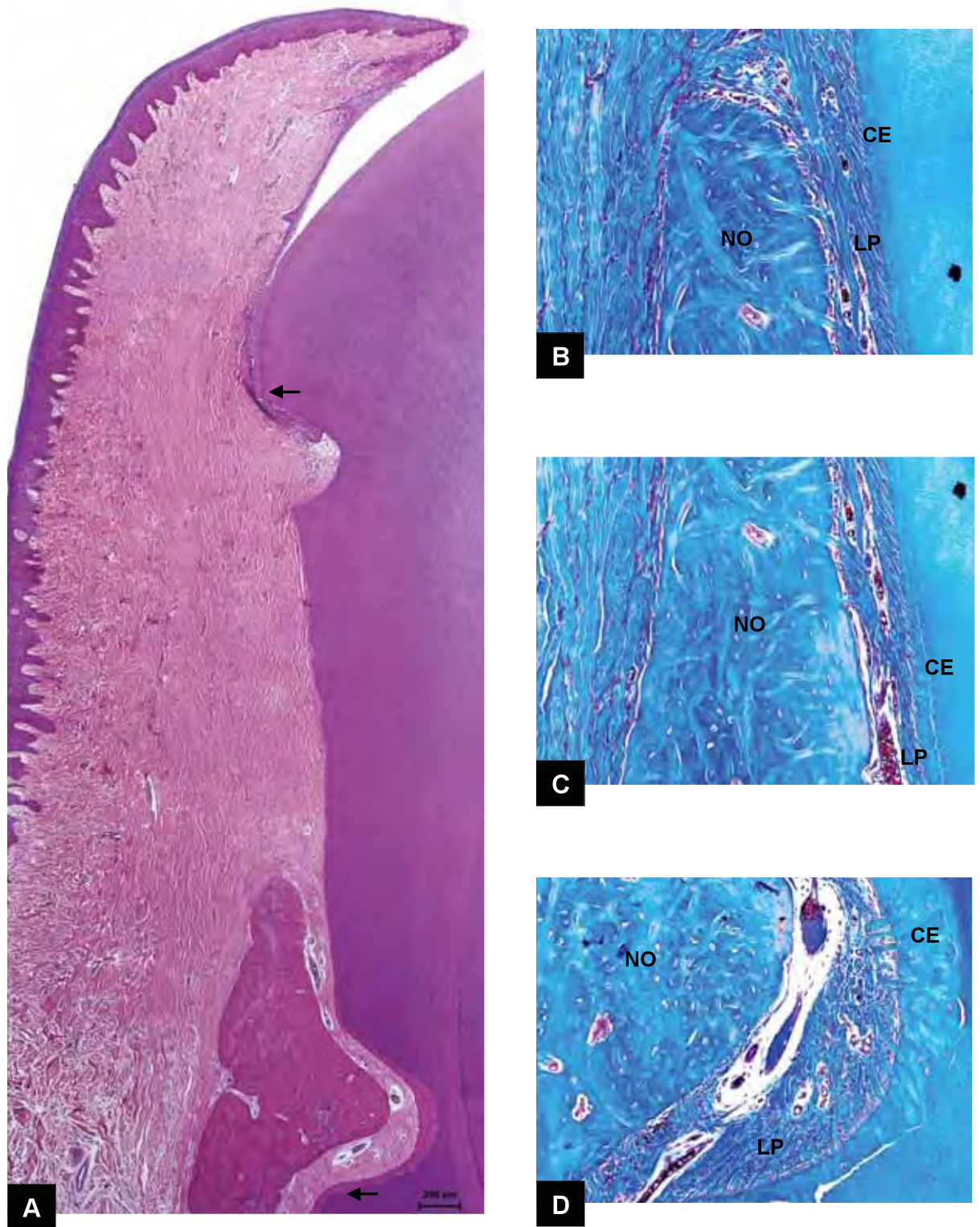


**FIGURA 19** – Imagens ilustrativas do grupo TTC. **A** Visão geral do defeito com as marcações radiculares (aumento original 5x, HE); **B** Visão em maior aumento do limite superior da marcação radicular (aumento original 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento do limite inferior da marcação radicular (aumento original 20x, Tricômio de Masson).

**GRUPO ÁCIDO CÍTRICO + TETRACICLINA HIDROCLORADA**  
**(GRUPO AC + TTC)**

**Tabela 9** – Análise descritiva do grupo ácido cítrico + tetraciclina hidroclorada em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
2	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
3	ausente	presente	presente	presente	ausente	ausente
4	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
5	ausente	presente	presente	presente	ausente	ausente
6	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
7	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente

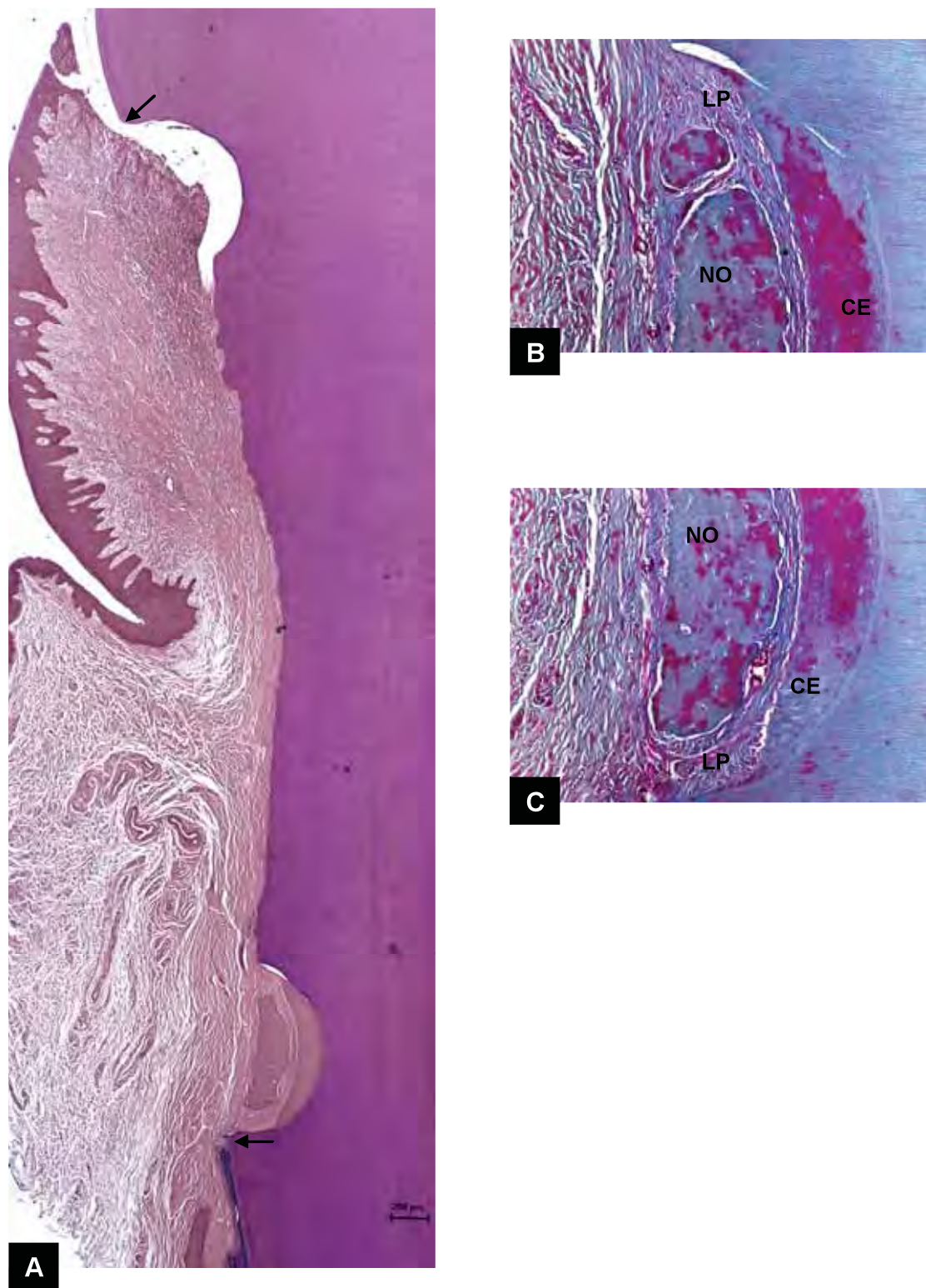


**FIGURA 20** – Imagens ilustrativas do grupo AC + TTC. **A** Visão geral do defeito com as marcações de referência (aumento original de 5x, HE); **B** Visão em maior aumento do terço coronário do osso neoformado (aumento original de 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento do terço médio do osso (aumento original de 20x, Tricômio de Masson); **D** Visão em maior aumento do limite inferior da marcação apical (aumento original 20x, Tricômio de Masson).

**GRUPO TETRACICLINA HIDROCLORADA + ÁCIDO CÍTRICO**  
**(GRUPO TTC + AC)**

**Tabela 10** – Análise descritiva do grupo tetraciclina hidrociorada + ácido cítrico em cada cão.

<b>Cão</b>	<b>Cemento Acelular</b>	<b>Cemento Celular</b>	<b>Cemento-blastos</b>	<b>Fibrose</b>	<b>Ligamento Periodontal</b>	<b>Osso Neoformado</b>
1	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
2	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
3	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
4	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
5	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
6	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente
7	ausente	presente	presente	presente	ausente	ausente



**FIGURA 21** – Imagens ilustrativas do grupo TTC + AC. **A** Visão geral do defeito com as marcações radiculares (aumento original 5x, HE); **B** Visão em maior aumento do limite superior da marcação radicular (aumento original 20x, Tricômio de Masson); **C** Visão em maior aumento do limite inferior da marcação radicular (aumento original 20x, Tricômio de Masson).

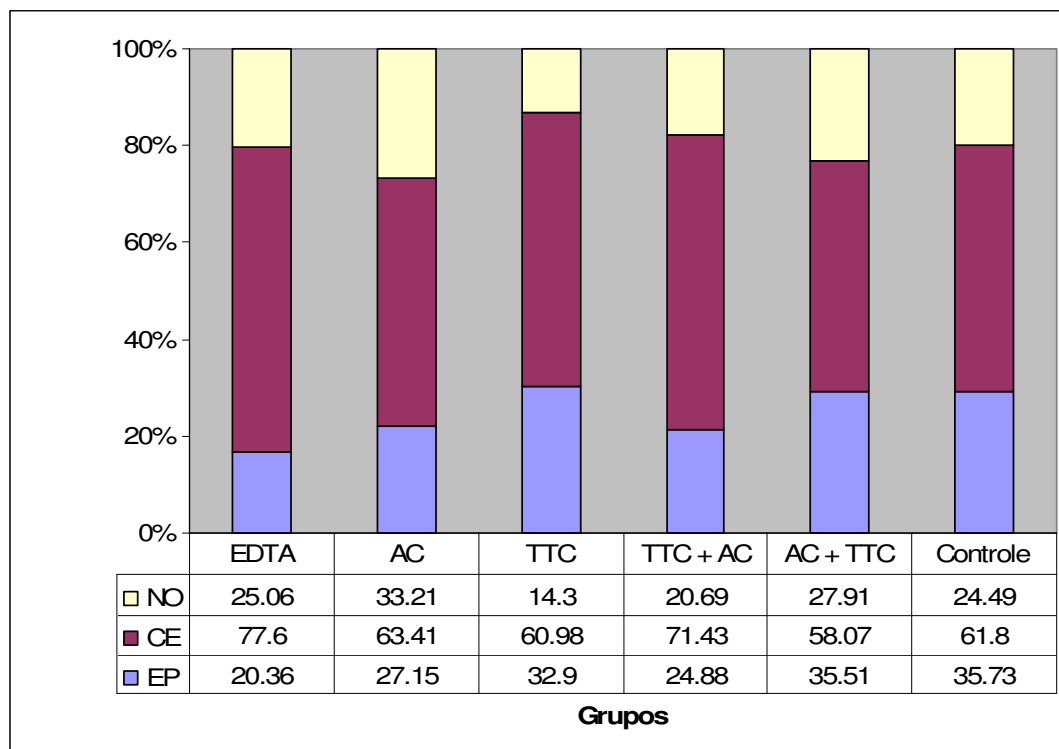


As medidas histométricas lineares (EP, CE, NO, Tamanho do defeito) e de área (ARO) de cada grupo estão descritas no Anexo 3. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais para nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0.05$ ) (Tabela 11). As medidas lineares EP, CE e NO foram convertidas em porcentagem de recobrimento do defeito (Gráfico 1). Também não foram encontradas diferenças significativas entre as porcentagens de migração epitelial, de cimento neoformado e de osso neoformado entre os grupos experimentais ( $p > 0.05$ ) (Tabela 12).

**Tabela 11** – Parâmetros histométricos avaliados (média e desvio-padrão [mm] ou [mm<sup>2</sup>] para os diferentes grupos de tratamento.

	EDTA (n = 7)	AC (n = 7)	TC (n = 7)	TC + AC (n = 7)	AC + TC (n = 7)	Controle (n = 7)	p
<b>EP*</b>	0.98 ± 0.58	1.27 ± 1.02	1.75 ± 1.94	1.31 ± 0.86	1.80 ± 1.27	1.52 ± 0.95	<b>0.78</b>
<b>CE*</b>	3.72 ± 0.83	3.01 ± 1.73	2.87 ± 1.36	3.65 ± 1.09	2.77 ± 1.18	2.89 ± 1.41	<b>0.59</b>
<b>NG*</b>	0.75 ± 0.69	1.05 ± 0.80	0.82 ± 0.63	0.73 ± 0.72	0.92 ± 0.64	0.85 ± 0.42	<b>0.94</b>
<b>DEF*</b>	4.79 ± 0.62	4.74 ± 0.61	4.96 ± 0.74	5.18 ± 0.61	4.93 ± 1.02	4.53 ± 0.55	<b>0.65</b>
<b>NO*</b>	1.16 ± 0.96	1.53 ± 1.29	0.70 ± 0.94	1.07 ± 1.28	1.51 ± 1.32	1.10 ± 0.90	<b>0.75</b>
<b>ARO**</b>	0.34 ± 0.36	0.52 ± 0.62	0.23 ± 0.38	0.18 ± 0.21	0.59 ± 0.54	0.28 ± 0.31	<b>0.61</b>

\*Teste Anova um critério \*\* Teste Friedman



**GRÁFICO 1** – Parâmetros histométricos (EP, CE, NO) expressos em porcentagem do tamanho total do defeito.

**Tabela 12** – Parâmetros histométricos (EP, CE, NO) em termos de porcentagem do tamanho do defeito (média e desvio-padrão [mm]) para os diferentes grupos de tratamento.

	EDTA (n = 7)	AC (n = 7)	TC (n = 7)	TC + AC (n = 7)	AC + TC (n = 7)	Controle (n = 7)	p
%EP*	20.36 ± 13.28	27.15 ± 20.51	32.90 ± 33.72	24.88 ± 16.59	35.51 ± 28.30	35.73 ± 24.75	<b>0.74</b>
	77.60 ± 14.39	63.41 ± 32.69	60.98 ± 32.30	71.43 ± 21.48	58.07 ± 28.83	61.80 ± 26.06	
%CE*	25.06 ± 19.99	33.21 ± 26.53	14.3 ± 19.97	20.69 ± 23.73	27.91 ± 22.88	24.49 ± 20.54	<b>0.72</b>
	77.60 ± 14.39	63.41 ± 32.69	60.98 ± 32.30	71.43 ± 21.48	58.07 ± 28.83	61.80 ± 26.06	

\*Teste Anova um critério

# *DISCUSSÃO*

---

# DISCUSSÃO

A regeneração dos tecidos periodontais não é um evento biológico previsível após a terapia periodontal cirúrgica. A natureza das superfícies radiculares acometidas pela doença periodontal tem sido considerada como um fator que interfere negativamente na regeneração periodontal. Assim, o condicionamento químico da superfície radicular tem sido proposto com o intuito de promover a descontaminação e a desmineralização das superfícies radiculares, tornando-a um substrato favorável para a regeneração periodontal (Wirthlin, Hancock<sup>86</sup>, 1980; Daly<sup>30</sup>, 1982; Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993; Chaves et al.<sup>25</sup>, 1993; Blomlöf et al.<sup>15</sup>, 2000).

O objetivo do presente trabalho foi comparar a reparação periodontal de defeitos ósseos tipo deiscência após o condicionamento da superfície radicular com três agentes químicos distintos. Foram utilizados dois agentes ácidos, o ácido cítrico e a tetraciclina, e o EDTA como um agente neutro. Os defeitos foram criados cirurgicamente, porém os mesmos foram cronificados pela utilização de um artefato que possibilitava o acúmulo de placa bacteriana nas superfícies radiculares expostas. A cronificação dos defeitos neste modelo experimental foi realizada com o intuito de obter a contaminação da superfície radicular exposta, o que não ocorre nos defeitos agudos.

Trabalhos *in vitro* demonstram que parâmetros como concentração, tempo e modo de aplicação dos agentes químicos interferem no grau de desmineralização da superfície radicular (Sterrett et al.<sup>74,75</sup>, 1993,1995; Cavassim<sup>24</sup>, 2008; Ishi et al.<sup>38</sup>, 2008; Isik et al.<sup>40</sup>, 2000, Souza<sup>71</sup>, 2004). Assim, a falta de padronização destes parâmetros poderia explicar em parte os diferentes resultados obtidos na literatura após o condicionamento químico das superfícies radiculares (Lowenguth, Blieden<sup>46</sup>, 1993). Neste trabalho foram utilizados parâmetros diferentes para cada um dos agentes químicos. A concentração, o tempo e o modo de aplicação dos agentes químicos foram definidos com base nos resultados obtidos em trabalhos *in vitro* prévios (Sterrett et al.<sup>74,75</sup>, 1993; 1995; Blomlöf et al.<sup>14</sup>, 1997; Sousa et al.<sup>71</sup>, 2004; Leite et al.<sup>44</sup>, 2009; Ishi et al.<sup>38</sup>, 2008; Isik et al.<sup>40</sup>, 2000). Apesar da utilização de parâmetros específicos para cada agente químico, não foram obtidas diferenças significativas entre os grupos que receberam condicionamento químico e o grupo controle na reparação periodontal dos defeitos ósseos tipo deiscência em relação aos parâmetros clínicos e histológicos avaliados.

Em relação aos resultados clínicos obtidos neste estudo, houve uma melhora significativa dos parâmetros profundidade de sondagem e nível clínico de inserção em todos os grupos nos sítios em que os defeitos foram criados. Entretanto, não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais (Tabelas 2 e 3). Em um trabalho clínico em humanos, Cole et al.<sup>27</sup> (1981) verificaram

que o condicionamento com ácido cítrico juntamente com o retalho de Widman modificado não promoveu um benefício adicional significativo na redução da profundidade de sondagem e no ganho clínico de inserção nos dentes que apresentavam bolsas residuais maiores ou iguais a 5 mm. O ganho de inserção médio nas superfícies tratadas com ácido cítrico foi de 2.1 mm comparado a 1.5 mm no grupo sem condicionamento. No presente trabalho, o ganho clínico de inserção no grupo condicionado com ácido cítrico foi de 2.72 mm e de 2.43 mm no grupo controle (Tabela 3). Nos demais grupos que receberam condicionamento químico, o ganho clínico de inserção foi de 2.29 mm para o EDTA; 3.57 mm para a TTC; 3.22 mm para AC + TTC e 2.21 mm para TTC + AC (Tabela 3).

Em uma revisão sistemática (Mariotti<sup>48</sup>, 2003), foi verificado que quatro de oitos trabalhos histológicos avaliados em humanos demonstravam regeneração após o condicionamento com ácido cítrico e apenas em um trabalho clínico, de um total de dezoito avaliados, houve ganho clínico de inserção. Nenhuma regeneração foi verificada nos trabalhos em que o EDTA foi utilizado para o condicionamento químico e, de cinco trabalhos em que a tetraciclina foi utilizada, um estudo histológico e um estudo clínico demonstraram ganho de inserção. Nesta mesma revisão, uma meta-análise foi realizada com vinte e oito trabalhos clínicos e nenhum efeito significativo do condicionamento químico da superfície radicular foi observado para os parâmetros redução da profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção. Esses resultados

estão de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, ou seja, o condicionamento com ácido cítrico, tetraciclina hicroclorada ou EDTA não demonstrou um efeito significativo nos parâmetros clínicos periodontais em relação ao grupo controle.

Em uma meta-análise sobre regeneração tecidual guiada para recobrimento radicular (Al-Hamdan et al.<sup>5</sup>, 2003), o condicionamento radicular foi utilizado em 16 trabalhos em comparação com 31 trabalhos que não utilizavam este procedimento. Não foi verificada diferença significativa entre os sítios tratados com RTG associado ou não ao condicionamento químico da superfície radicular em relação aos parâmetros clínicos avaliados, com excessão do percentual de sítios com recobrimento radicular completo. As superfícies radiculares condicionadas apresentaram um maior percentual de recobrimento radicular completo (51.7%) em relação às superfícies que não foram condicionadas (32.1%). Cafesse et al.<sup>18</sup> (2000) observaram que a desmineralização das raízes com ácido cítrico não afetou os resultados clínicos da cirurgia de enxerto de tecido conjuntivo subepitelial. Por outro lado, Bitencourt et al.<sup>8</sup> (2007) constataram que o condicionamento da superfície radicular com EDTA interferiu negativamente no recobrimento de recessões gengivais pela técnica do retalho semilunar reposicionado coronalmente. Apesar do recobrimento radicular não ter sido o objetivo do presente estudo, os resultados obtidos mostram que a posição da margem gengival não foi estatisticamente diferente nos grupos que receberam o condicionamento

radicular (0.73 a 1.05) em comparação com o grupo controle (0.85) (Tabela 11).

Na análise histológica deste estudo, foi verificado que na maioria dos defeitos houve formação de cimento celular e formação de osso alveolar acima da marcação radicular apical, porém sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais (Tabelas 11 e 12). A porcentagem média do defeito recoberta com cimento (60.98 a 77.6%) foi superior à de epitélio (20.36 a 35.75%), ou seja, houve maior formação de novo cimento e menor migração apical do epitélio nos defeitos de todos os grupos experimentais (Gráfico 1). Nos grupos AC e AC + TTC foi verificado um valor superior para a altura de osso neoformado assim como para a área óssea neoformada em relação aos demais grupos, porém essa diferença encontrada não foi estatisticamente significativa em relação aos demais grupos (Tabela 11).

Trabalhos *in vivo* e *in situ* em modelos animais demonstraram resultados promissores em relação à formação de nova inserção conjuntiva e de novo cimento após o condicionamento das superfícies radiculares com ácido cítrico (Register, Burdick<sup>60,61</sup>, 1975, 1976; Ririe et al.<sup>62</sup>, 1980; Polson, Proye<sup>56</sup>, 1982; Hanes et al.<sup>36</sup>, 1985). Segundo Polson, Proye<sup>56,57</sup> (1982, 1983), a exposição das fibras da matriz colágena da dentina após a desmineralização com ácido cítrico favorece a adesão da rede de fibrina que inibe mecanicamente a proliferação apical do epitélio e possibilita o repovoamento da superfície radicular com



células capazes de formar nova inserção conjuntiva. No entanto, no presente trabalho não houve diferença significativa entre o grupo condicionado com ácido cítrico e o grupo controle em relação à migração apical do epitélio, formação de novo cemento e de novo osso alveolar (Tabela 11). Por outro lado, Petterson, Aukhil<sup>53</sup> (1986) verificaram pequena porcentagem da superfície radicular recoberta por novo cemento e maior frequência de anquilose nos defeitos condicionados com ácido cítrico, indicando que esse agente poderia retardar ou complicar a cicatrização de defeitos ósseos do tipo fenestração.

Claffey et al.<sup>26</sup> (1987) verificaram que os resultados obtidos após a aplicação de TTC HCl eram similares aos obtidos após o condicionamento com ácido cítrico. O condicionamento com TTC HCl promoveu uma regeneração coronal da inserção conjuntiva com extensão até a junção cimento-esmalte na maior parte dos espécimes e a extensão média de regeneração do osso alveolar foi de 62% do comprimento da superfície radicular exposta. Entretanto, neste trabalho foi utilizado um número limitado de espécimes (2 cães) e não foi incluído um grupo controle para comparação dos resultados. Em nosso modelo experimental, o grupo TTC demonstrou o menor percentual de osso neoformado (14%) em relação ao tamanho do defeito (Gráfico 1). Esse percentual de osso neoformado foi superior quando o ácido cítrico foi aplicado previamente (27.91%) ou posteriormente à TTC HCL (20.69%), porém sem diferença significativa entre os mesmos (Tabela 12). No

trabalho de Nagata et al.<sup>50</sup> (2005), a formação de nova inserção, novo cemento e regeneração óssea foram similares nos dentes condicionados e não condicionados com TTC HCl (10 mg/ml), sem diferença significativa entre os grupos. Assim, a desmineralização com TTC HCl também não resultou em efeito adicional na regeneração periodontal de defeitos ósseos tipo deiscência criados cirurgicamente em macacos.

O condicionamento radicular com a aplicação de ácido cítrico e TTC HCl foi realizado na tentativa de se obter um efeito aditivo ou sinérgico destes dois agentes químicos. Jeong et al.<sup>41</sup> (1994) observaram em um estudo piloto que o gel contendo uma mistura de ácido cítrico e TTC HCl apresentava um potencial de desmineralização maior que o gel contendo apenas TTC HCl. Esses autores também verificaram maior redução da profundidade de sondagem e maior ganho clínico de inserção nos grupos tratados com RAR e o gel contendo uma mistura de ácido cítrico e TTC HCl em comparação com RAR e o gel apenas de TTC HCl. No presente estudo, não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos condicionados apenas com ácido cítrico ou TTC HCl e os grupos condicionados com ambos os agentes químicos em relação aos parâmetros clínicos e histológicos avaliados. Uma desvantagem para a utilização clínica desta associação seria o maior tempo necessário para o condicionamento radicular com ambos os agentes químicos (6 min).

O condicionamento com agentes de pH neutro como o EDTA parece produzir uma superfície mais biocompatível em avaliações a curto prazo quando comparado com agentes com baixo valor de pH, uma vez que esses últimos provocam uma necrose imediata dos tecidos e podem dissolver ou alterar a estrutura da dentina associada às fibras colágenas (Blömlöf, Lindskog<sup>9</sup>, 1995). Blömlöf et al.<sup>11</sup> (1995) verificaram que o condicionamento radicular com agentes de baixo valor de pH prejudicava a cicatrização periodontal em comparação com os agentes de pH neutro. Entretanto, em nosso estudo não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nos parâmetros clínicos e histológicos entre os grupos condicionados com agentes químicos de baixo valor de pH e pH neutro após o período de 3 meses de reparação. A utilização de agentes químicos de baixo valor de pH, como a tetraciclina hidrocloreada e o ácido cítrico, não interferiram negativamente na reparação periodontal dos defeitos quando comparados com um agente de pH neutro como o EDTA.

A reabsorção radicular ativa não foi encontrada nas superfícies radiculares tratadas deste estudo. Pequenas áreas de reabsorção encontradas nas raízes apresentavam-se recobertas por novo cemento celular. O período de cicatrização de 3 meses pode ter favorecido a deposição de novo cemento. Wikesjö et al.<sup>84</sup> (1991) verificaram que o condicionamento das raízes com ácido cítrico não aumentava a reabsorção radicular na cirurgia periodontal reconstrutiva.

Magnusson et al.<sup>47</sup> (1985) observaram reabsorção radicular na maioria dos defeitos ósseos tratados com cirurgia a retalho independente das superfícies radiculares terem sido condicionadas ou não com ácido cítrico.

De maneira geral, a literatura mostra que os resultados obtidos após o condicionamento químico da superfície radicular são bastante controversos e conflitantes, variando de uma marcante regeneração até uma ausência de regeneração ou efeito clínico benéfico. Essa grande variabilidade nos resultados pode estar associada a diversos fatores que podem interferir negativamente no resultado final dos experimentos como: local e modo de preparo dos agentes químicos; tempo de condicionamento da superfície radicular; modo de aplicação destas substâncias, concentração e pH utilizados; grau de hipermineralização do dente. Assim, a regeneração periodontal não deve ser considerada como um resultado previsível após o condicionamento radicular. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que o condicionamento da superfície radicular com diferentes agentes químicos não promove um benefício adicional na reparação de defeitos ósseos tipo deiscência criados cirurgicamente em cães. Neste modelo experimental, apenas a raspagem radicular foi suficiente para possibilitar a formação de novo cemento celular em raízes previamente contaminadas pelo acúmulo de placa bacteriana. No entanto, deve-se ter cuidado ao extrapolar estes resultados para a prática clínica. O modelo de contaminação utilizado em nosso trabalho não reproduz exatamente a natureza das raízes

patologicamente acometidas pela doença periodontal em humanos. O tempo de contaminação e o grau de mineralização radicular são fatores importantes a serem considerados e que variam de paciente para paciente e até mesmo no mesmo paciente.

*CONCLUSÃO*

---

# CONCLUSÃO

Tendo em vista a metodologia empregada e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- o tratamento cirúrgico dos defeitos tipo deiscência com ou sem o condicionamento químico da superfície radicular promoveu uma redução significativa da profundidade de sondagem e um significativo ganho clínico de inserção;
- houve maior formação de novo cemento e menor migração epitelial tanto nos grupos tratados com ou sem o condicionamento químico radicular após o período de 3 meses de cicatrização, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais;
- na maioria dos defeitos tratados cirurgicamente com ou sem condicionamento químico da superfície radicular houve formação de novo osso alveolar. O grupo condicionado com a tetraciclina hidrocloreata apresentou a menor altura de osso neoformado enquanto o grupo condicionado com ácido cítrico apresentou a maior altura de osso neoformado em relação aos demais grupos, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais.

- o condicionamento da superfície radicular com ácido cítrico, tetraciclina hidrociorada ou EDTA não apresentou um benefício adicional na reparação de defeitos tipo deiscência criados cirurgicamente em cães quando associado à cirurgia a retalho e RAR.



# *REFERÊNCIAS*

---

## REFERÊNCIAS\*

1. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1988; 59: 222-30.
2. Albair WB, Cobb CM, Killoy WJ. Connective tissue attachment to periodontally diseased roots after citric acid demineralization. *J Periodontol.* 1982; 53: 515-26.
3. Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA, Varboncoeur AP. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol.* 1974; 45: 672-5.
4. Alger FA, Solt CW, Vuddhakanok S, Miles K. The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline-hydrochloride and fibronectin. *J Periodontol.* 1990; 61: 447-55.
5. Al-Hamdan K, Eber R, Sarment D, Kowalski C, Wang HL. Guided tissue regeneration-based root coverage: meta-analysis. *J Periodontol.* 2003; 74: 1520-33.

---

\* De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

6. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol.* 1983; 54: 580-5.
7. Baker PJ, Rotch HA, Trombelli L, Wikesjö UM. An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. *J Periodontol.* 2000; 71: 1139-43.
8. Bittencourt S, Ribeiro Edel P, Sallum EA, Sallum AW, Nociti FH Jr, Casati MZ. Root surface biomodification with EDTA for the treatment of gingival recession with a semilunar coronally repositioned flap. *J Periodontol.* 2007; 78: 1695-701.
9. Blomlöf J, Lindskog S. Periodontal tissue-vitality after different etching modalities. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 464-8.
10. Blomlöf J, Lindskog S. Root surface texture and early cell and tissue colonization after different etching modalities. *Eur J Oral Sci.* 1995; 103: 17-24.
11. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S. Long-time etching at low pH jeopardizes periodontal healing. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 459-63.
12. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S. Root surface etching at neutral pH promotes periodontal healing. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 50-5.

13. Blomlöf JP, Blomlöf LB, Lindskog SF. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation. *J Periodontol.* 1996; 67: 841-5.
14. Blomlöf JP, Blomlöf LB, Lindskog SF. Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an ethylenediaminetetraacetic acid gel preparation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997; 17: 242-9.
15. Blomlöf L, Jonsson B, Blomlöf J, Lindskog S. A clinical study of root surface conditioning with an EDTA gel. II. Surgical periodontal treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20: 566-73.
16. Bogle G, Adams D, Crigger M, Klinge B, Egelberg J. New attachment after surgical treatment and acid conditioning of roots in naturally occurring periodontal disease in dogs. *J Periodontal Res.* 1981; 16: 130-3.
17. Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE, Lopatin DE. Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application. *J Periodontol.* 1987; 58: 661-6.
18. Caffesse RG, De LaRosa M, Garza M, Munne-Travers A, Mondragon JC, Weltman R. Citric acid demineralization and subepithelial connective tissue grafts. *J Periodontol.* 2000; 71: 568-72.

19. Caffesse RG, Nasjleti CE, Anderson GB, Lopatin DE, Smith BA, Morrison EC. Periodontal healing following guided tissue regeneration with citric acid and fibronectin application. *J Periodontol.* 1991; 62: 21-9.
20. Caffesse RG, Kerry GJ, Chaves ES, McLean TN, Morrison EC, Lopatin DE, Caffesse ER, Stults DL. Clinical evaluation of the use of citric acid and autologous fibronectin in periodontal surgery. *J Periodontol.* 1988; 59: 565-9.
21. Caton J, Nyman S. Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. *J Clin Periodontol.* 1980; 7: 212-23.
22. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol.* 1980; 7: 224-31.
23. Caton JG, Zander HA. The attachment between tooth and gingival tissues after periodic root planing and soft tissue curettage. *J Periodontol.* 1979; 50: 462-6.
24. Cavassim R. Avaliação *in vitro* de diferentes concentrações, tempos e modos de aplicação do ácido cítrico na biomodificação radicular. Análise por meio de microscopia eletrônica de varredura [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

25. Chaves E, Cox CF, Morrison E, Caffesse R. The effect of citric acid application on periodontally involved root surfaces. II. An in vitro scanning electron microscopic study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1993;13:188-96.
26. Claffey N, Bogle G, Bjorvatn K, Selvig KA, Egelberg J. Topical application of tetracycline in regenerative periodontal surgery in beagles. *Acta Odontol Scand.* 1987; 45: 141-6.
27. Cole R, Nilvéus R, Ainamo J, Bogle G, Crigger M, Egelberg J. Pilot clinical studies on the effect of topical citric acid application on healing after replaced periodontal flap surgery. *J Periodontal Res.* 1981; 16: 117-22.
28. Cole RT, Crigger M, Bogle G, Egelberg J, Selvig KA. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. *J Periodontal Res.* 1980; 15: 1-9.
29. Common J, McFall WT Jr. The effects of citric acid on attachment of laterally positioned flaps. *J Periodontol.* 1983; 54: 9-18.
30. Daly CG. Anti-bacterial effect of citric acid treatment of periodontally diseased root surfaces in vitro. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 386-92.
31. Dyer BL, Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC. Guided tissue regeneration with dentin biomodification. *J Periodontol.* 1993; 64: 1052-60.

32. Fardal O, Lowenberg BF. A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces in vitro. *J Periodontol.* 1990; 61: 529-35.
33. Frantz B, Polson A. Tissue interactions with dentin specimens after demineralization using tetracycline. *J Periodontol.* 1988; 59: 714-21.
34. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino A, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1984; 19: 651-5.
35. Hanes P, Polson A, Frederick T. Citric acid treatment of periodontitis-affected cementum. A scanning electron microscopic study. *J Clin Periodontol.* 1991; 18: 567-75.
36. Hanes PJ, Polson AM, Ladenheim S. Cell and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. *J Periodontol.* 1985; 56: 752-65.
37. Hatfield CG, Baumhammers A. Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch Oral Biol.* 1971; 16: 465-8.
38. Ishi EP, Dantas AA, Batista LH, Onofre MA, Sampaio JE. Smear layer removal and collagen fiber exposure using tetracycline hydrochloride conditioning. *J Contemp Dent Pract.* 2008; 9: 25-33.

39. Isidor F, Karring T, Nyman S, Lindhe J. New attachment formation on citric acid treated roots. *J Periodontal Res.* 1985; 20: 421-30.
40. Isik AG, Tarim B, Hafez AA, Yalçın FS, Onan U, Cox CF. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of demineralized dentin root surface using different tetracycline HCl concentrations and application times. *J Periodontol.* 2000; 71: 219-25.
41. Jeong SN, Han SB, Lee SW, Magnusson I. Effects of tetracycline-containing gel and a mixture of tetracycline and citric acid-containing gel on non-surgical periodontal therapy. *J Periodontol.* 1994; 65: 840-7.
42. Klinge B. Root surface conditioning. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J. *Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Chemicals in periodontics: Quintessence; 1997. p. 276 - 83.*
43. Lasho DJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. *J Periodontol.* 1983; 54: 210-20.
44. Leite FRM, Sampaio JEC, Zandim DL, Dantas AAR, Leite ERM, Leite AA. Root surface conditioning with acid and chelating agents influence clot stabilization. *Quintessence Int.* In press 2009.



45. López NJ. Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. *J Periodontol.* 1984; 55: 381-90.
46. Lowenguth RA, Blieden TM. Periodontal regeneration: root surface demineralization. *Periodontol 2000.* 1993; 1: 54-68.
47. Magnusson I, Claffey N, Bogle G, Garrett S, Egelberg J.. Root resorption following periodontal flap procedures in monkeys. *J Periodontal Res.* 1985; 20: 79-85.
48. Mariotti A. Efficacy of chemical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8: 205-26.
49. Mayfield L, Söderholm G, Norderyd O, Attström R. Root conditioning using EDTA gel as an adjunct to surgical therapy for the treatment of intraosseous periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: 707-14.
50. Nagata MJ, Bosco AF, Leite CM, Melo LG, Sundefeld ML. Healing of dehiscence defects following root surface demineralization with tetracycline: a histologic study in monkeys. *J Periodontol.* 2005; 76: 908-14.
51. Nalbandian J, Cote N. Direct histological comparison of periodontal wound healing in the beagle dog with and without citric acid conditioning. *J Periodontal Res.* 1982; 17: 552-62.

52. Parashis AO, Mitsis FJ. Clinical evaluation of the effect of tetracycline root preparation on guided tissue regeneration in the treatment of Class II furcation defects. *J Periodontol.* 1993; 64: 133-6.
53. Pettersson EC, Aukhil I. Citric acid conditioning of roots affects guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 543-52.
54. Pitaru S, Hekmati M, Soldinger M, Savion N. Growth and migration of gingival epithelial cells on mineralized and partially demineralized root surfaces in an in vitro system. *J Periodontol.* 1988; 59: 531-4.
55. Polson AM, Caton J. Factors influencing periodontal repair and regeneration. *J Periodontol.* 1982; 53: 617-25.
56. Polson AM, Proye MP. Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 441-54.
57. Polson AM, Proye MP. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. *J Periodontol.* 1983; 54: 141-7.
58. Polson AM, Frederick GT, Ladenheim S, Hanes PJ. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *J Periodontol.* 1984; 55: 443-6.
59. Proye MP, Polson AM. Effect of root surface alterations on periodontal healing. I. Surgical denudation. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 428-40.

60. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. I. Optimum range. *J Periodontol.* 1975; 46: 646-55.
61. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. II. Defect repair. *J Periodontol.* 1976; 47: 497-505.
62. Ririe CM, Crigger M, Selvig KA. Healing of periodontal connective tissues following surgical wounding and application of citric acid in dogs. *J Periodontal Res.* 1980; 15: 314-27.
63. Rompen EH, Goffinet GH, Nuscens B. Human periodontal ligament fibroblast behavior on chemically conditioned dentine: an in vitro study. *J Periodontol.* 1999; 70: 1144-52.
64. Sammons PR, Wang HL, Chiego DJ Jr, Castelli WA, Smith BA. Effect of root conditioning on periodontal wound healing with and without guided tissue regeneration: a pilot study. II. Autoradiographic evaluation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994; 14: 62-9.
65. Sculean A, Berakdar M, Willershausen B, Arweiler NB, Becker J, Schwarz F. Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. *J Periodontol.* 2006; 77: 1167-72.
66. Selvig KA. Biological changes at the tooth saliva interface in periodontal disease. *J Dent Res* 1969; 48: 846 – 55.

67. Selvig KA, Bogle GC, Sigurdsson TJ, Wikesjö UM. Does root surface conditioning with citric acid delay healing? *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 119-27.
68. Selvig KA, Ririe CM, Nilvéus R, Egelberg J. Fine structure of new connective tissue attachment following acid treatment of experimental furcation pockets in dogs. *J Periodontal Res.* 1981; 16: 123-9.
69. Shapira L, Houry Y, Barak V, Halabi A, Soskolne WA, Stabholz A. Human monocyte response to cementum extracts from periodontally diseased teeth: effect of conditioning with tetracycline. *J Periodontol.* 1996; 67: 682-7.
70. Socransky SS, Haffajee AD. The nature of periodontal diseases. *Ann Periodontol.* 1997; 2: 3-10.
71. Souza CP. Estudo in vitro da eficácia do gel de EDTA 24% na remoção de smear layer e exposição de fibras colágenas da superfície radicular [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2004.
72. Stahl SS, Froum SJ. Human clinical and histologic repair responses following the use of citric acid in periodontal therapy. *J Periodontol.* 1977; 48: 261-6.

73. Steiner SS, Crigger M, Egelberg J. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. II. Histologic observations of cases following replaced flap surgery. *J Periodontal Res.* 1981; 16: 109-16.
74. Sterrett JD, Bankey T, Murphy HJ. Dentin demineralization. The effects of citric acid concentration and application time. *J Clin Periodontol.* 1993; 20: 366-70.
75. Sterrett JD, Dhillon M, Murphy HJ. Citric acid demineralization of cementum and dentin: the effect of application pressure. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 434-41.
76. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, DiFlorio RM, Lyall RM, Wikesjö UM, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 330-7.
77. Trombelli L, Scabbia A, Zangari F, Griselli A, Wikesjö UM, Calura G. Effect of tetracycline HCl on periodontally-affected human root surfaces. *J Periodontol.* 1995; 66: 685-91.
78. Trombelli L, Schincaglia GP, Zangari F, Griselli A, Scabbia A, Calura G. Effects of tetracycline HCl conditioning and fibrin-fibronectin system application in the treatment of buccal gingival recession with guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1995; 66: 313-20.

79. Vanheusden AJ, Goffinet G, Zahedi S, Nusgens B, Lapière CM, Rompen EH. In vitro stimulation of human gingival epithelial cell attachment to dentin by surface conditioning. *J Periodontol.* 1999; 70: 594-603.
80. Wang HL, Hamilton RL, Castelli WA, Chiego DJ, Smith BA. Effect of root conditioning on periodontal wound healing with and without guided tissue regeneration: a pilot study. 1. Histologic evaluation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1993; 13: 551-61.
81. Wang HL, Doctor MR, Castelli WA, Chiego DJ, Smith BA. Effect of root conditioning on periodontal microvascular wound healing with and without guided tissue membrane: a pilot study. *Periodontal Clin Investig.* 1993; 15: 19-27.
82. Wikesjö UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000.* 1999; 19: 21-39.
83. Wikesjö UM, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J Periodontol.* 1992; 63: 158-65.
84. Wikesjö UM, Claffey N, Nilvéus R, Egelberg J. Periodontal repair in dogs: effect of root surface treatment with stannous fluoride or citric acid on root resorption. *J Periodontol.* 1991; 62: 180-4.

85. Wikesjö UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, DiFlorio RM, Terranova VP. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 322-9.
86. Wirthlin MR, Hancock EB. Biologic preparation of diseased root surfaces. *J Periodontol.* 1980; 51: 291-7.
87. Zaman KU, Sugaya T, Hongo O, Kato H. A study of attached and oriented human periodontal ligament cells to periodontally diseased cementum and dentin after demineralizing with neutral and low pH etching solution. *J Periodontol.* 2000; 71: 1094-9.

*ANEXOS*

---



## **ANEXO 1:**

Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEEAA) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

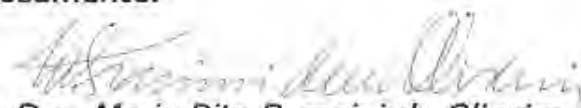
*Proc. CEEA nr. 22/2005*

Araraquara, 20 de setembro de 2006

Senhores Pesquisadores:

O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA desta Faculdade reunido em *20/09/2006*, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado *"Influência da biomodificação radicular na reparação tecidual periodontal em cães"* (Proc. CEEA nr. 22/2005) **AUTORIZA** a realização da pesquisa, ficando a aprovação vinculada à apresentação do **RELATÓRIO FINAL** em **FEVEREIRO/2008**.

Atenciosamente.



*Prof. Dra. Maria Rita Brancini de Oliveira*  
Coordenadora do CEEA

Ao  
*Prof. Dr. JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO*  
DD. Pesquisador Responsável  
*CD. DANIELA LEAL ZANDIM*  
*CD. FÁBIO RENATO MANZOLLI LEITE*  
DD. Pesquisadores Colaboradores  
Nesta

## **ANEXO 2:**

Parâmetros clínicos avaliados nos cães.

CÃO: 1

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
Inicial	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SS (+/-)																		
NG																		
PS	1	1	1	1	1	1	1	0,5	1	2	1	1	2	1	1	2	1	2
NI	1	1	1	1	1	1	0	0,5	1	2	1	2	2	1	1	2	1	2
Biomodific.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SS (+/-)																		
NG																		
PS	3	1	2	4	2	5	7	1	1	3,5	5	1,5	2	2	5	2	2	3
NI	3	1	2	4	1	5	7	1	1	3,5	5	1,5	2	2	5	2	2	3
Final																		
SS (+/-)																		
NG																		
PS	2	1,5	1	2	1	1,5	2,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5	1	2,5
NI	2	1,5	1	4	1	1,5	2,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1,5	1	2,5

CÃO: 2

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1
0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
+						+	+	+							+	+	+
						+	+	+							+	+	+
			+	+	+												

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
Inicial																		
SS (+/-)	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NG				-1														
PS	2	2	2	2	1	1	3	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2
NI	2	2	2	2	0	1	3	1	2	1	1	1	2	1	2	2	1	2
Biomodific.																		
SS (+/-)	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NG																		
PS	2	2	1,5	3	1	1	4	1	5	2	5	2	1	2	4	3	2	5
NI	2	2	1,5	3	1	1	3	1	4	2	5	2	1	2	2	3	2	5
Final																		
SS (+/-)				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NG																		
PS	2	2	1	2	1	2	3	1	1	2	3	1	1	3	1	1,5	2	1
NI	2	2	1	2	1,5	4,5	5	1	2	2	5	2	1	5	2	1,5	2	1

-2  
-2  
1,5  
7  
1,5  
5  
+  
0,5  
2  
1  
1,5  
2  
1  
1,5  
2  
1  
2,5  
2  
2

CÃO: 3

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
	+	+	+	+				+			+			+			
+		+	+	+	+			+			+			+			+
+					+			+			+			+			+

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
<b>Inicial</b>																		
SS (+/-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NG																		
PS	3	3	2	1	3	2	1	2	3	3	2	3	2	2,5	1	2	2,5	3
NI	3	3	2	1	3	2	1	2	3	3	2	2	2	2,5	0	3	2	2
<b>Biomodific.</b>																		
SS (+/-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NG	1	2				1,5												
PS	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3
NI	2	3	4	2	2	2,5	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3
<b>Final</b>																		
SS (+/-)																		
NG																		
PS	2	2	1,5	1	2	1	1,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1,5	2	2	2
NI	2	2	1,5	1	2	1	1,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1,5	2	2	2

CÃO: 4

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+						+											
+						+	+					+					

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d						P3d						P2d						P2e						P3e						M1e																											
	D	V	M	Def	D	M	D	V	M	Def	D	V	M	D	V	M	Def	D	V	M	D	V	M	Def	D	V	M	D	V	M	Def	D	V	M	D	V	M	Def	D	V	M																	
<b>Inicial</b>																																																										
SS (+/-)																																																										
NG																																																										
PS	2	2	2		1	1	1	1	1		1	1	2	1	1		1	1	1		1	1	1	2	1	1		1	1	1	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2
NI	2	2	2		1	1	1	1	1		1	1	2	1	1		1	1	1		1	1	1	2	1	1		1	1	1	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2
<b>Biomodific.</b>	+																																																									
SS (+/-)																																																										
NG																																																										
PS	2	2	2	6	1	2	2	3	7	7	2	2	2	1	5	5	2	2	1,5	7	2	2	1	2	1,5	7	7	2	2	1	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2							
NI	2	2	2	6	0	2	2	3	8	8	2	2	2	1	5	5	2	2	1,5	7	2	2	1	2	1,5	7	7	2	2	1	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2														
<b>Final</b>																																																										
SS (+/-)																																																										
NG																																																										
PS	2	2	2	1	2	2	2	1,5	2	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1,5	2	2	2	1	2	1,5	2	2	2	2	1,5	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2														
NI	2	2	2	1	1	2	2	1,5	2	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1,5	2	2	2	1	2	1,5	2	2	2	2	1,5	2	2	2		2	2	2	2	2	2		2	2	2														

CÃO: 5

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
		+	+	+	+	+	+	+				+	+	+			+
		+	+	+	+	+	+	+				+	+	+			+

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d						P3d						P2d						P2e						P3e						M1e					
	D	V	M	Def	D	V	D	V	M	Def	D	V	D	V	M	Def	D	V	D	V	M	Def	D	V	D	V	M	Def	D	V	D	V	M	Def	D	V
<b>Inicial</b>																																				
SS (+/-)			+			+																														
NG						1																														
PS	3	3	2			2	3	2	2			3	2	2	2			3	2	2	2			2	2	2	2			2	2	3	3			3
NI	3	3	2			3	3	2	2			3	2	2	2			3	2	2	2			2	2	2	2			2	2	3	3			3
<b>Biomodific.</b>																																				
SS (+/-)			+			+																														
NG																																				
PS	2	2,5	2	5,5	1	1,5	4	2	4	5	1,5	4	3	4	3	5	1,5	4,5	2	2	4	2	2	2	2	2	4	2	4	2	4	2	7	7	7	
NI	2	2,5	2	5,5	1	1,5	4	2	4	5	1,5	4	3	4	3	5	1,5	4,5	2	2	4	2	2	2	2	2	4	2	4	2	4	2	7	7	7	
<b>Final</b>																																				
SS (+/-)																																				
NG																																				
PS	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2	4	2	4	2	2,5	3	3	3	3	
NI	2	3	2	3	2	4	2	2	2	4	5	5	4	5	2	4	4,5	2	3,5	2	2,5	4,5	2	2	2	2	4,5	2	4,5	2	2,5	3	3	3	3	



CÃO: 6

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
<b>Inicial</b>																		
SS (+/-)	+			+			+			+			+			+		
NG				-1	-1	-1	-1	-2	-1									
PS	3	2	3	2	2	1	2	3	2				2	1	1	1	1	1
NI	3	2	3	1	1	0	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	2
<b>Biomodific.</b>																		
SS (+/-)				+		+	+	+	+	+			+			+		
NG			1		1			2						2			2	
PS	2	2	2	2	3	2	2	1,5	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3
NI	2	2	3	2	4	2	2	1,5	3	2	2	2	2	4	2	2	5	2
<b>Final</b>																		
SS (+/-)																		
NG	1																	
PS	2	3	2	2	1,5	2	2	3	2	2	4	1	3	3	2	2	3	2
NI	2	4	2	2	1,5	2	2	3	2	2	4	1	3	3	2	2	3	2

CÃO: 7

Índice de placa																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Inicial  
Biomodificação  
Final

Índice gengival																	
M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
	+	+			+			+			+						+
+	+		+	+													

Inicial  
Biomodificação  
Final

Sítio	M1d			P3d			P2d			P2e			P3e			M1e		
	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M
Inicial	+	+		+		+	+		+	+	+	+	+			+		
SS (+/-)																		
NG																		
PS	2	2	3	2	1	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	1	2
NI	2	2	3	1	1	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2
Biomodific.																		
SS (+/-)	+	+					+	+	+							+	+	+
NG																		
PS	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	3
NI	2	1	1	2	1	2	3	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	3
Final																		
SS (+/-)																		
NG																		
PS	2	2	2	2	1	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
NI	2	2	2	2	1	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2

### **ANEXO 3:**

Valores obtidos na análise histométrica das medidas lineares e de área em cada cão.

## Medidas histométricas - CÃO 1

	<b>EDTA</b>	<b>AC</b>	<b>TC</b>	<b>TC + AC</b>	<b>AC + TC</b>	<b>Controle</b>
EP	1217.93	1295.64	487.45	1437.87	1475.25	2433.67
	1047.53	938.74	825.76	1349.09	1346.55	2005.95
	1320.80	1172.28	708.91	1324.76	1061.39	1867.33
Média (µm)	1195.42	1135.55	674.04	1370.57	1294.40	2102.32
Média (mm)	1.20	1.14	0.67	1.37	1.29	2.10
CE	3532.68	3269.31	3801.99	4219.81	2419.81	1736.64
	3594.07	3702.99	3228.55	4322.78	3019.81	1811.88
	4091.12	3655.92	2869.32	4622.65	2764.36	1192.10
Média (µm)	3739.29	3542.74	3299.95	4388.41	2734.66	1580.21
Média (mm)	3.74	3.54	3.30	4.39	2.73	1.58
NG	(+) 924.75	0.00	(+) 1936.64	(+) 269.31	(+) 467.33	(+) 499.01
	(+) 376.24	(+) 118.81	(+) 1716.83	350.50	(+) 659.41	(+) 396.05
	(+) 1276.07	0.00	(+) 1623.76	(+) 499.01	(+) 392.08	(+) 357.26
Média (µm)	859.02	39.60	1759.08	372.94	506.27	417.44
Média (mm)	0.86	0.04	1.76	0.37	0.51	0.42
Tamanho defeito	5675.36	4564.95	6226.08	5926.99	4362.39	4170.31
	5017.84	4760.54	5771.14	5671.87	5025.77	4213.88
	6687.99	4828.20	5201.99	6446.42	4217.83	3416.69
Média (µm)	5793.73	4717.90	5733.07	6015.09	4535.33	3933.63
Média (mm)	5.79	4.72	5.73	6.02	4.54	3.93
Altura óssea	0.00	2251.50	1110.89	0.00	1278.05	1479.21
	0.00	2403.96	740.84	0.00	1924.75	1126.73
	0.00	2538.62	437.28	0.00	1366.34	712.87
Média (µm)	0.00	2398.03	763.00	0.00	1523.05	1106.27
Média (mm)	0.00	2.40	0.76	0.00	1.52	1.11
Área óssea	0.00	1907052.14	388335.25	0.00	809871.24	497901.20
	0.00	1880086.00	284142.34	0.00	1310898.63	388366.62
	0.00	1671118.00	151848.16	0.00	714511.77	168732.81
Média (µm <sup>2</sup> )	0.00	1819418.71	274775.25	0.00	945093.88	351666.88
Média (mm <sup>2</sup> )	0.00	1.82	0.27	0.00	0.95	0.35
% CE	62.25	71.62	61.07	71.20	55.47	41.64
	71.63	77.79	55.94	76.21	60.09	43.00
	61.17	75.72	55.16	71.71	65.54	34.89
Média	65.01	75.04	57.39	73.04	60.37	39.84
% EP	21.46	28.38	7.83	24.26	33.82	58.36
	20.88	19.72	14.31	23.79	26.79	47.60
	19.75	24.28	13.63	20.55	25.16	54.65
Média	20.69	24.13	11.92	22.87	28.59	53.54
% osso	0.00	49.32	17.84	0.00	29.30	35.47
	0.00	50.50	12.84	0.00	38.30	26.74
	0.00	52.58	8.41	0.00	32.39	20.86
Média	0.00	50.80	13.03	0.00	33.33	27.69

## Medidas histométricas - CÃO 2

	EDTA	AC	TC	TC + AC	AC + TC	Controle
EP	1108.91	2502.97	1147.36	1563.20	2050.33	1625.75
	1019.81	2524.76	1183.02	1237.62	2209.91	1653.50
	1007.92	2666.17	1083.17	1517.30	2219.81	1374.26
Média (µm)	1045.55	2564.63	1137.85	1439.37	2160.02	1551.17
Média (mm)	1.05	2.56	1.14	1.44	2.16	1.55
CE	4180.25	548.52	2238.77	3609.91	2566.37	2768.32
	4307.77	524.75	2887.17	4146.54	2716.85	2859.41
	4217.84	368.32	3190.13	3798.85	2801.99	3227.73
Média (µm)	4235.29	480.53	2772.02	3851.77	2695.07	2951.82
Média (mm)	4.24	0.48	2.77	3.85	2.70	2.95
NG	31.68	(+) 2176.84	(+) 633.66	(+) 120.79	(+) 934.65	(+) 299.01
	39.60	(+) 2372.28	(+) 380.2	45.54	(+) 933.49	(+) 505.89
	186.14	(+) 2386.14	(+) 374.26	(+) 13.63	(+) 938.62	(+) 509.73
Média (µm)	85.81	2311.75	462.71	59.99	935.59	438.21
Média (mm)	0.09	2.31	0.46	0.06	0.94	0.44
Tamanho defeito	5289.16	5228.33	4019.79	5293.90	5551.35	4693.08
	5327.58	5421.79	4450.39	5384.16	5860.25	5018.80
	5225.76	5420.63	4647.56	5329.78	5960.42	5111.72
Média (µm)	5280.83	5356.92	4372.58	5335.95	5790.67	4941.20
Média (mm)	5.28	5.36	4.37	5.34	5.79	4.94
Altura óssea	683.42	0.00	675.25	655.45	1269.38	762.38
	837.62	0.00	994.06	697.03	1427.73	702.97
	722.78	0.00	1243.57	669.31	1423.76	1030.52
Média (µm)	747.94	0.00	970.96	673.93	1373.62	831.96
Média (mm)	0.75	0.00	0.97	0.67	1.37	0.83
Área óssea	108122.95	0.00	114514.49	64487.92	165152.77	124191.99
	144739.04	0.00	293948.24	90869.70	428821.56	100778.56
	93555.72	0.00	258496.74	70969.65	522596.87	124858.59
Média (µm <sup>2</sup> )	115472.57	0.00	222319.82	75442.42	372190.40	116609.71
Média (mm <sup>2</sup> )	0.12	0.00	0.22	0.08	0.37	0.12
% CE	79.03	10.49	55.69	68.19	46.23	58.99
	80.86	9.68	64.87	77.01	46.36	56.97
	80.71	6.79	68.64	71.28	47.01	63.14
Média	80.20	8.99	63.07	72.16	46.53	59.70
% EP	20.97	47.87	28.54	29.53	36.93	34.64
	19.14	46.57	26.58	22.99	37.71	32.95
	19.29	49.19	23.31	28.47	37.24	26.88
Média	19.80	47.88	26.14	26.99	37.30	31.49
% osso	12.92	0.00	16.80	12.38	22.87	16.24
	15.72	0.00	22.34	12.95	24.36	14.01
	13.83	0.00	26.76	12.56	23.89	20.16
Média	14.16	0.00	21.96	12.63	23.71	16.80

### Medidas histométricas - CÃO 3

	EDTA	AC	TC	TC + AC	AC + TC	Controle
EP	0.00	0.00	3146.54	0.00	0.00	508.95
	0.00	0.00	3146.54	265.35	0.00	710.89
	106.93	0.00	3146.54	231.68	0.00	71.29
Média (µm)	35.64	0.00	3146.54	165.68	0.00	430.38
Média (mm)	0.04	0.00	3.15	0.17	0.00	0.43
CE	5255.47	4966.79	655.69	3906.94	3162.40	485.15
	4922.78	4629.71	564.36	3994.54	3162.40	3836.52
	4653.48	5537.55	668.46	4019.81	3168.37	4829.73
Média (µm)	4943.91	5044.68	629.50	3973.76	3164.39	3050.47
Média (mm)	4.94	5.04	0.63	3.97	3.16	3.05
NG	934.65	810.37	330.69	895.05	768.38	926.74
	836.46	926.74	582.73	962.38	776.24	702.97
	758.61	784.20	469.31	970.30	760.40	979.06
Média (µm)	843.24	840.44	460.91	942.58	768.34	869.59
Média (mm)	0.84	0.84	0.46	0.94	0.77	0.87
Tamanho defeito	5255.47	4966.79	3802.23	3906.94	3162.40	994.10
	4922.78	4629.71	2910.90	4259.89	3162.40	4547.41
	4760.41	5537.55	3222.92	4251.49	3168.37	4901.02
Média (µm)	4979.55	5044.68	3312.02	4139.44	3164.39	3480.84
Média (mm)	4.98	5.04	3.31	4.14	3.16	3.48
Altura óssea	2861.40	3542.88	4451.50	295.05	0.00	3815.86
	2849.78	3950.50	3942.58	364.36	0.00	2469.31
	2857.43	4209.91	3940.60	353.30	0.00	3330.70
Média (µm)	2856.20	3901.10	4111.56	337.57	0.00	3205.29
Média (mm)	2.86	3.90	4.11	0.34	0.00	3.21
Área óssea	1136337.93	796166.67	1452613.43	52406.73	0.00	976659.14
	750108.35	488435.45	763463.93	77420.02	0.00	861097.69
	684855.80	229013.30	945415.09	78000.35	0.00	970549.93
Média (µm <sup>2</sup> )	857100.69	504538.47	1053830.82	69275.70	0.00	936102.25
Média (mm <sup>2</sup> )	0.86	0.50	1.05	0.07	0.00	0.94
% CE	100.00	100.00	17.24	100.00	100.00	48.80
	100.00	100.00	19.39	93.77	100.00	84.37
	97.75	100.00	20.74	94.55	100.00	98.55
Média	99.25	100.00	19.12	96.11	100.00	77.24
% EP	0.00	0.00	82.76	0.00	0.00	51.20
	0.00	0.00	80.61	6.23	0.00	15.63
	2.25	0.00	79.26	5.45	0.00	1.45
Média	0.75	0.00	80.88	3.89	0.00	22.76
% osso	54.45	71.33	117.08	7.55	0.00	383.85
	57.89	85.33	135.44	8.55	0.00	54.30
	60.02	76.02	122.27	8.31	0.00	67.96
Média	57.45	77.56	124.93	8.14	0.00	168.70

## Medidas histométricas - CÃO 4

	EDTA	AC	TC	TC + AC	AC + TC	Controle
EP	1633.69	2258.26	29.70	2742.64	1930.70	897.03
	1051.49	2608.76	23.76	2850.33	1869.31	863.39
	538.61	2798.03	15.94	2434.49	2495.05	893.09
Média (µm)	1074.60	2555.02	23.13	2675.82	2098.35	884.50
Média (mm)	1.07	2.56	0.02	2.68	2.10	0.88
CE	3180.21	2297.87	4801.99	2501.58	2916.85	3844.04
	3811.89	2101.00	4287.14	2800.02	3235.69	3889.94
	4433.67	2136.64	3388.12	2958.42	2728.72	3748.55
Média (µm)	3808.59	2178.50	4159.08	2753.34	2960.42	3827.51
Média (mm)	3.81	2.18	4.16	2.75	2.96	3.83
NG	678.05	580.67	1340.60	25.74	984.16	1418.33
	648.35	750.82	1289.12	198.02	829.70	1366.34
	538.61	806.27	1261.58	30.02	803.96	1403.97
Média (µm)	621.67	712.59	1297.10	84.59	872.61	1396.21
Média (mm)	0.62	0.71	1.30	0.08	0.87	1.40
Tamanho defeito	4813.90	4556.13	4831.69	5269.96	5831.71	4741.07
	4863.38	4709.76	4310.90	5848.37	5934.70	4753.33
	4433.67	4934.67	3404.06	5422.93	6027.73	4641.64
Média (µm)	4703.65	4733.52	4182.22	5513.75	5931.38	4712.01
Média (mm)	4.70	4.73	4.18	5.51	5.93	4.71
Altura óssea	855.86	724.75	0.00	598.02	2253.47	778.22
	928.72	899.01	0.00	1091.10	2283.18	1944.62
	1072.12	776.24	0.00	857.43	1851.49	2031.69
Média (µm)	952.23	800.00	0.00	848.85	2129.38	1584.84
Média (mm)	0.95	0.80	0.00	0.85	2.13	1.58
Área óssea	102782.29	34239.85	0.00	69189.43	430060.65	106699.56
	86081.93	92967.55	0.00	109401.26	475397.48	173618.62
	84125.25	33087.02	0.00	97821.98	403878.86	225021.52
Média (µm <sup>2</sup> )	90996.49	53431.47	0.00	92137.56	436445.66	168446.57
Média (mm <sup>2</sup> )	0.09	0.05	0.00	0.09	0.44	0.17
% CE	66.06	50.43	99.39	47.47	50.02	81.08
	78.38	44.61	99.45	47.88	54.52	81.84
	100.00	43.30	99.53	54.55	45.27	80.76
Média	81.48	46.11	99.46	49.97	49.94	81.22
% EP	0.08	0.05	0.10	0.05	0.05	0.08
	33.94	49.57	0.61	52.04	33.11	18.92
	21.62	55.39	0.55	48.74	31.50	18.16
Média	0.02	56.70	0.47	44.89	41.39	19.24
	18.53	53.89	0.54	48.56	35.33	18.78
% osso	17.78	15.91	0.00	11.35	38.64	16.41
	19.10	19.09	0.00	18.66	38.47	40.91
	24.18	15.73	0.00	15.81	30.72	43.77
Média	20.35	16.91	0.00	15.27	35.94	33.70

## Medidas histométricas - CÃO 5

	<b>EDTA</b>	<b>AC</b>	<b>TC</b>	<b>TC + AC</b>	<b>AC + TC</b>	<b>Controle</b>
EP	1816.04	1679.25	5178.23	1871.29	2073.28	2960.40
	1772.53	1394.89	5261.39	2152.48	1654.35	3120.80
	1724.84	1459.87	5720.80	2152.48	1415.85	3554.46
Média (µm)	1771.14	1511.34	5386.81	2058.75	1714.49	3211.89
Média (mm)	1.77	1.51	5.39	2.06	1.71	3.21
CE	2556.44	1661.87	134.65	1831.69	3867.33	1384.16
	2769.14	1843.57	277.23	1679.21	4134.67	544.55
	2778.24	1829.71	123.59	1514.86	4030.58	562.52
Média (µm)	2701.27	1778.38	178.49	1675.25	4010.86	830.41
Média (mm)	2.70	1.78	0.18	1.68	4.01	0.83
NG	0.00	(+) 882.01	291.72	(+) 857.43	31.68	873.74
	24.55	(+) 954.46	229.70	(+) 908.91	(+) 275.25	598.84
	31.68	(+) 960.4	55.45	(+) 932.67	(+) 250	(+) 239.6
Média (µm)	18.74	932.29	192.29	899.67	185.64	570.73
Média (mm)	0.02	0.93	0.19	0.90	0.19	0.57
Tamanho defeito	4372.48	4223.13	5312.88	4560.41	5940.61	4344.56
	4541.67	4192.92	5538.62	4740.60	6064.27	3665.35
	4503.08	4249.98	5844.39	4600.01	5696.43	4356.58
Média (µm)	4472.41	4222.01	5565.30	4633.67	5900.44	4122.16
Média (mm)	4.47	4.22	5.57	4.63	5.90	4.12
Altura óssea	401.98	1233.67	0.00	1277.24	3752.48	1221.78
	502.97	1291.09	0.00	1316.83	3980.20	279.21
	558.42	1221.78	0.00	1245.55	3784.16	370.30
Média (µm)	487.79	1248.85	0.00	1279.87	3838.95	623.76
Média (mm)	0.49	1.25	0.00	1.28	3.84	0.62
Área óssea	33271.31	423920.08	0.00	536360.25	1723234.50	548613.98
	105891.79	695909.63	0.00	501057.76	1667733.95	79937.42
	134391.01	591386.34	0.00	630096.35	1078480.74	98759.14
Média (µm <sup>2</sup> )	91184.70	570405.35	0.00	555838.12	1489816.40	242436.85
Média (mm <sup>2</sup> )	0.09	0.57	0.00	0.56	1.49	0.24
% CE	58.47	39.35	2.53	40.17	65.10	31.86
	60.97	43.97	5.01	35.42	68.18	14.86
	61.70	43.05	2.11	32.93	70.76	12.91
Média	60.38	42.12	3.22	36.17	68.01	19.88
% EP	41.53	39.76	97.47	41.03	34.90	68.14
	39.03	33.27	94.99	45.41	27.28	85.14
	38.30	34.35	97.89	46.79	24.86	81.59
Média	39.62	35.79	96.78	44.41	29.01	78.29
% osso	9.19	29.21	0.00	28.01	63.17	28.12
	11.07	30.79	0.00	27.78	65.63	7.62
	12.40	28.75	0.00	27.08	66.43	8.50
Média	10.89	29.58	0.00	27.62	65.08	14.75



## Medidas histométricas - CÃO 6

	<b>EDTA</b>	<b>AC</b>	<b>TC</b>	<b>TC + AC</b>	<b>AC + TC</b>	<b>Controle</b>
EP	552.48	190.92	3374.44	1057.43	4037.89	1299.01
	435.65	231.68	3641.59	863.37	4253.56	2813.87
	237.63	170.31	3465.35	694.03	4258.37	1206.76
Média (µm)	408.59	197.64	3493.79	871.61	4183.27	1773.21
Média (mm)	0.41	0.20	3.49	0.87	4.18	1.77
CE	3623.82	5251.51	2303.85	4619.81	356.44	1901.00
	4055.47	5209.91	2241.59	4475.27	257.46	1248.00
	4306.94	5213.87	2350.82	4499.01	283.17	3798.84
Média (µm)	3995.41	5225.10	2298.75	4531.36	299.02	2315.95
Média (mm)	4.00	5.23	2.30	4.53	0.30	2.32
NG	2005.95	1943.40	156.44	1974.27	2079.21	1440.44
	2154.46	2009.91	80.03	2170.30	2188.12	1256.69
	2205.94	1902.98	225.74	2347.38	2478.05	1592.08
Média (µm)	2122.12	1952.10	154.07	2163.98	2248.46	1429.74
Média (mm)	2.12	1.95	0.15	2.16	2.25	1.43
Tamanho defeito	4176.30	5442.43	5834.73	5677.24	4394.33	3200.01
	4491.12	5441.59	5963.21	5338.64	4511.02	4061.87
	4544.57	5384.18	5816.17	5193.04	4541.54	5005.60
Média (µm)	4404.00	5422.73	5871.37	5402.97	4482.30	4089.16
Média (mm)	4.40	5.42	5.87	5.40	4.48	4.09
Altura óssea	1636.47	739.55	520.80	3906.94	0.00	0.00
	1749.34	734.65	610.72	3815.85	0.00	0.00
	2475.25	572.28	558.42	3788.32	0.00	1357.26
Média (µm)	1953.69	682.16	563.31	3837.04	0.00	452.42
Média (mm)	1.95	0.68	0.56	3.84	0.00	0.45
Área óssea	688298.60	192087.43	73240.02	260774.95	0.00	0.00
	782207.23	186025.27	45717.18	386574.63	0.00	0.00
	995500.47	120310.01	46038.72	569874.69	0.00	360279.12
Média (µm <sup>2</sup> )	822002.10	166140.90	54998.64	405741.42	0.00	120093.04
Média (mm <sup>2</sup> )	0.82	0.17	0.05	0.41	0.00	0.12
% CE	86.77	96.49	39.49	81.37	8.11	59.41
	90.30	95.74	37.59	83.83	5.71	30.72
	94.77	96.84	40.42	86.64	6.24	75.89
	90.61	96.36	39.16	83.95	6.68	55.34
% EP	13.23	3.51	57.83	18.63	91.89	40.59
	9.70	4.26	61.07	16.17	94.29	69.28
	5.23	3.16	59.58	13.36	93.76	24.11
	9.39	3.64	59.49	16.05	93.32	44.66
% osso	39.18	13.59	8.93	68.82	0.00	0.00
	38.95	13.50	10.24	71.48	0.00	0.00
	54.47	10.63	9.60	72.95	0.00	27.11
	44.20	12.57	9.59	71.08	0.00	9.04

## Medidas histométricas - CÃO 7

	<b>EDTA</b>	<b>AC</b>	<b>TC</b>	<b>TC + AC</b>	<b>AC + TC</b>	<b>Controle</b>
EP	1749.34	974.27	1174.26	493.07	1475.26	564.36
	1067.34	893.97	1051.52	563.20	1244.03	825.75
	1146.54	893.24	611.88	712.87	837.63	798.02
Média (µm)	1321.07	920.49	945.89	589.71	1185.64	729.38
Média (mm)	1.32	0.92	0.95	0.59	1.19	0.73
CE	2223.77	2689.11	3320.84	4956.45	3477.71	4930.70
	2815.85	2790.22	3013.87	4718.82	3485.41	4736.65
	2724.76	2924.76	3506.94	4201.99	3586.67	4564.37
Média (µm)	2588.13	2801.36	3280.55	4625.75	3516.60	4743.91
Média (mm)	2.59	2.80	3.28	4.63	3.52	4.74
NG	572.28	586.14	1207.92	516.83	862.21	583.00
	827.72	542.77	1322.78	689.11	1029.87	685.30
	768.32	610.10	1447.53	665.35	891.56	1259.41
Média (µm)	722.77	579.67	1326.08	623.76	927.88	842.57
Média (mm)	0.72	0.58	1.33	0.62	0.93	0.84
Tamanho defeito	3973.11	3663.38	4495.10	5449.52	4952.97	5495.06
	3883.19	3684.19	4065.39	5282.02	4729.44	5562.40
	3871.30	3818.00	4118.82	4914.86	4424.30	5362.39
Média (µm)	3909.20	3721.86	4226.44	5215.47	4702.24	5473.28
Média (mm)	3.91	3.72	4.23	5.22	4.70	5.47
Altura óssea	1142.58	1693.07	0.00	586.14	1938.62	162.38
	1578.22	1605.94	0.00	502.97	1553.30	217.82
	609.90	1728.72	0.00	491.09	1772.28	342.57
Média (µm)	1110.23	1675.91	0.00	526.73	1754.73	240.92
Média (mm)	1.11	1.68	0.00	0.53	1.75	0.24
Área óssea	414273.94	445694.45	0.00	97735.71	789665.33	8575.65
	477863.91	524404.54	0.00	86850.48	754488.32	24923.10
	389362.60	566706.36	0.00	101911.78	1092608.79	37757.16
Média (µm <sup>2</sup> )	427166.82	512268.45	0.00	95499.32	878920.81	23751.97
Média (mm <sup>2</sup> )	0.43	0.51	0.00	0.10	0.88	0.02
% CE	55.97	73.41	73.88	90.95	70.21	89.73
	72.51	75.73	74.13	89.34	73.70	85.15
	70.38	76.60	85.14	85.50	81.07	85.12
Média	66.29	75.25	77.72	88.60	74.99	86.67
% EP	44.03	26.59	26.12	9.05	29.79	10.27
	27.49	24.27	25.87	10.66	26.30	14.85
	29.62	23.40	14.86	14.50	18.93	14.88
Média	33.71	24.75	22.28	11.40	25.01	13.33
% osso	28.76	46.22	0.00	10.76	39.14	2.96
	40.64	43.59	0.00	9.52	32.84	3.92
	15.75	45.28	0.00	9.99	40.06	6.39
Média	28.38	45.03	0.00	10.09	37.35	4.42

**ANEXO 4:**

Artigo enviado para publicação no periódico Journal of Periodontology.

## **TITLE PAGE**

**Repair of dehiscence defects following different root conditioning: a clinical, histological and histometric study in dogs.**

**Daniela L. Zandim**, PhD Student\*,

**Fábio R. M. Leite**, PhD Student\*,

**Vanessa C. da Silva**, Professor of Surgery<sup>†</sup>,

**Beatriz M. V. Lopes**, PhD\*,

**Luiz C. Spolidorio**, Professor of Pathology\*\*,

**José E. C. Sampaio**, Professor of Periodontology\*.

\* Department of Periodontology; \*\* Department of Physiology and Pathology, UNESP-São Paulo State University, School of Dentistry at Araraquara, São Paulo, Brazil

<sup>†</sup> Department of Periodontology and Surgery, UFMA-Maranhão Federal University, School of Dentistry at São Luís, Maranhão, Brazil

**This study is attributed to the UNESP - São Paulo State University, Department of Periodontology, School of Dentistry at Araraquara, SP, Brazil.**

### **Corresponding author:**

José Eduardo Cezar Sampaio

UNESP - São Paulo State University, School of Dentistry at Araraquara, Department of Periodontology

Rua Humaitá, 1680. Araraquara, SP, Brazil. CEP 14.801-930.

Phone: +55 (16) 3301-6374 / Fax: +55 (16) 3301-6369 (*may be published*)

e-mail:jsampaio@foar.unesp.br (*may be published*)

**Word count: 3475**

**Number of figures: 05**

**Number of tables: 01**

**Running title:** Root surface conditioning on periodontal repair in dogs

**One-Sentence Summary:** Root surface conditioning with citric acid, tetracycline or EDTA did not have any additional improvement in periodontal repair of dehiscence defects surgically created in dogs.

## **ABSTRACT**

**Background.** In the present study, we have attempted to determine the effect of different root conditioning on periodontal repair of dehiscence-type defects in dogs.

**Methods.** Buccal osseous dehiscences were surgically created on the mesial roots of the maxillary first molars, second and third premolars of seven mongrel dogs. The defects were exposed to dental plaque accumulation for 45 days. After this period, clinical evaluation (baseline) was performed and the defects were randomly assigned to one of the following treatments: I) irrigation with sterile saline solution (control group); II) citric acid; III) EDTA; IV) tetracycline hydrochloride; V) citric acid and tetracycline hydrochloride; VI) tetracycline hydrochloride and citric acid at equieffective concentrations used in previous studies. After 3 months of healing, the clinical parameters were evaluated and the animals were sacrificed. The block sections of the teeth and surrounding tissues were processed for histological analysis.

**Results.** All treatments yielded significant improvements in terms of PD (probing depth) decrease and CAL (clinical attachment level) gain compared to baseline values, however without significant differences between the experimental groups ( $p > 0.05$ ). The defects treated with or without chemical root conditioning showed similar periodontal healing ( $p > 0.05$ ). No statistically significant differences were found between the groups in relation to epithelial apical migration as well as newly formed cementum and alveolar bone ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion.** Within the limits of this study, it could be concluded that chemical root surface conditioning did not have any additional improvement in periodontal repair of dehiscence-type defects.

### **Key Words**

Periodontal regeneration; bone regeneration, cementum, osseous defects

## INTRODUCTION

The ultimate goal of periodontal therapy includes not only the arrest of progressive periodontal disease but also the predictable regeneration of the periodontium at the site of previous periodontal breakdown; including new cementum, new periodontal ligament and new alveolar bone formation. The most frequent mode of wound healing following surgical therapy is the development of a long junctional epithelium and connective tissue adhesion.<sup>1,2</sup> Periodontal ligament fibers must be attached in cementum that has formed on a previously diseased or denuded root surface in order to occur periodontal regeneration.<sup>2</sup>

The nature of periodontally exposed root surface has been identified as one factor that could inhibit predictable periodontal regeneration.<sup>3-5</sup> Several pathological changes occur in the root surface of periodontally diseased surface including denudation of fiber attachment, contamination of the root surface and alterations in mineral density,<sup>6-9</sup> which may have a significant biological influence on the potential of periodontal regeneration. The conventional treatment of pathologically-altered root surfaces is based on the mechanical removal of plaque and calculus. However, the smear layer formed during mechanical root instrumentation consists of remnants of dental calculus, bacterial plaque and contaminated root cementum.<sup>10,11</sup> The presence of this layer of organic and mineralized debris interposed between the root surface and adjacent connective tissue may act as a physical barrier to the development of a connective tissue attachment to the root surface.<sup>12-14</sup> Therefore, chemical root surface conditioning was introduced in order to restore the biocompatibility of the root surface to promote periodontal regeneration. Citric acid, tetracycline and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) are the most widely used substances for this goal.

Topical application of citric acid causes a superficial demineralization of the root surface, which eliminates bacterial endotoxins and removes the smear layer exposing collagen matrix from root surfaces.<sup>11,15,16</sup> This latter effect has been shown to improve fibrin

linkage and consequently to inhibit epithelial downgrowth, to stimulate fibroblast attachment and migration, and to facilitate new cementum formation.<sup>17-20</sup> The use of tetracyclines on root surfaces also results in an exposure of matrix proteins with a binding of the antibiotic to the root surface allowing a slow release under active form.<sup>21,22</sup> Furthermore, these molecules can inhibit tissue collagenase production<sup>23</sup> and bone resorption.<sup>24,25</sup> Findings from experimental studies indicate that EDTA operating at neutral pH appeared to effectively remove the smear layer and to selectively remove mineral from dentin or cementum surface exposing collagenous matrix.<sup>26,27</sup> In contrast, etching at low pH appeared to remove not only the mineral component but also the collagenous matrix, and exert an immediate necrotizing effect on vital periodontal tissue in contrast to EDTA.<sup>26</sup>

Controversy exists concerning the benefits of root surface conditioning as an adjunct to periodontal therapy. Previous studies indicate that root surface conditioning can enhance adhesion of the fibrin clot,<sup>28,29</sup> fibroblast migration and collagen fiber attachment,<sup>19,30</sup> stimulate cementum and bone formation and result in improved connective tissue attachment.<sup>17,18,20,31</sup> However, other reports suggest that root conditioning has no appreciable effect on the course of healing neither in animal nor in human situations.<sup>32-36</sup> Negative effects of etching procedures on wound healing and cementum formation have also been reported.<sup>37</sup> It has been suggested that this inconsistency findings may be due to variables such as variations in experimental design, including varying application of root surface conditioner, inconsistent flap adaptation, inadequate demineralization of periodontitis-affected root surfaces and the effect of demineralizing agent on the organic matrix of the cementum and dentin.<sup>5,38</sup> Since it is difficult to create optimal requirements regarding experimental design and necessary histological evidence in human studies, this study was proposed to evaluate in the same animal model the periodontal repair after root conditioning with different chemical agents that had optimal parameters such as concentration, time and



mode of application defined in previous studies. So, the purpose of the present study was to clinically and histologically evaluate the effect of root surface conditioning with citric acid (CA), tetracycline hydrochloride (TTC HCl), and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on periodontal repair of dehiscence type defects in dogs.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals**

Seven adult mongrel dogs in good systemic health were included in the experiment (average weight of 20 kg). The research protocol of this study was approved by the Experimental Research Ethics Committee of the School of Dentistry at Araraquara – UNESP. The anesthetic procedures used throughout this study included a previous sedation of the animals with intramuscular injection of levopremazin chloritrate<sup>‡</sup> (0.2 ml/Kg) followed by induction of general anesthesia with intravenous injection of sodium thiobarbiturate<sup>§</sup> (25 mg/ml, 0.5 ml/kg). In addition, 2% lidocaine containing noradrenaline (1:100,000) was infiltrated into the mucosa to control bleeding and to ensure profound anesthesia.

### **Creation and Cronification of Dehiscence Defects**

After raising buccal mucoperiosteal flaps, dehiscence defects measuring 3 mm in width and 5 mm in height were surgically created with hand instruments on the mesial roots of the maxillary first molars (M1), second (P2) and third (P3) pre-molars. In each defect, a strip of Tofflemire matrix band<sup>k</sup> with approximately the defect size was prepared and fixed to the tooth crown using adhesive system and resin. The flaps were replaced to the original position and sutured. Sutures were removed after one week. Throughout the period of 45 days prior to the surgical treatment procedure, the dogs did not receive any special oral hygiene and were

fed only with water-softened food in order to increase dental plaque accumulation, leading to the development of a chronic inflammatory reaction as well as radicular contamination.

### **Treatment of Defects**

After 45 days, the band matrices were removed and clinical measurements were performed (baseline). The following clinical data were obtained from the M1, P2 and P3 teeth: presence of visible plaque (PI), presence of marginal gingival bleeding (GB), probing depth (PD), bleeding on probing (BP), marginal gingival level (MGL) and clinical attachment level (CAL). The clinical data were measured by a calibrated examiner in four sites per tooth: mesial site, intermediate site between the mesial and vestibular site (defined as defect site), vestibular site and distal site. Subsequently, the animals received supragingival scaling and prophylaxis with a rubber cup.

Full thickness flaps were raised, the defects debrided, and the roots scaled with periodontal cures. Reference notches were placed at the alveolar bone level (apical notch) and at the cemento-enamel junction (coronal notch). The teeth and the reflected flaps were isolated with gauze and the root surfaces treated by irrigation with 10 ml of sterile saline solution (Control group) or one of the following conditioning procedures: II) citric acid (CA group); III) EDTA (EDTA group), IV) tetracycline hydrochloride (TTC group), V) citric acid + tetracycline hydrochloride (CA + TTC group) or VI) tetracycline hydrochloride + citric acid (TTC + CA group). The six treatments were rotated between dogs and maxillary M1, P2 and P3 teeth. Therefore, each animal received all treatments as well as each tooth received all treatments. One tooth per animal received the same treatment two times because of the number of animals included in the study (n = 7).

Citric acid conditioning was carried out by the apposition of sterilized cotton pellets soaked with a saturated aqueous solution<sup>¶</sup> (25%, pH 1.3) to the root surface during 3 minutes.

EDTA conditioning was performed by a 3-minute continuous application of 24% EDTA gel<sup>#</sup> (pH 7.0) using sterilized soft brush. Tetracycline conditioning was performed burnishing sterilized cotton pellets soaked with aqueous solution of tetracycline hydrochloride<sup>\*\*</sup> (50 mg/ml) during 3 minutes. An effort was made to avoid the contact of the substances with surrounding periodontium by suctioning and the chemical agents were renewed every 30 seconds. Following etching procedures, the root surfaces were rinsed with 10 ml of sterile saline solution. After root conditioning, the flaps were sutured tightly at the same position or coronally positioned if gingival recession was present before the defects treatment. Chemical plaque control regimen was instituted with topical application of 0.2% chlorhexidine digluconate 5 times per week until the end of the study. The sutures were removed one week later.

After a healing period of 3 months, the clinical parameters were evaluated (final) and the dogs were sedated and sacrificed with overdose of sodium thiobarbiturate. The maxillary M1, P2 and P3 were removed in blocks.

### **Histologic and Histometric Analysis**

The maxilla samples were fixed in 10% neutral buffered formalin for 1 week and decalcified in Morse solution (1:1 of formic acid 50% and sodium citrate 20%) for approximately 4 months. Semi-serial paraffin sections of 5 µm thickness were obtained from buccal-lingual aspects and five sections were selected for each tooth: the two most external sections showing the reference notches on mesial and distal sections of treated root surface and three other sections that were equally spaced between the external sections. Haematoxylin and eosin (HE) and Masson trichrome staining were used.

Type and quality of the tissues formed were evaluated as well as the presence of inflammatory process and fibrous tissue, ankylosis, and root resorption. Histometric analysis was performed with image analysis software<sup>††</sup> to obtain the following measurements:

Defect extension (DE): from the coronal notch to the apical notch.

Gingival margin (GM): from the gingival margin to the coronal notch.

Epithelial migration (EP): from the coronal notch to the apical extension of the junctional epithelium when the gingival margin was coronal to the coronal notch. If gingival recession was present, the epithelium was measured from the gingival margin to the apical border of the junctional epithelium.

New formed cementum (CE): from the apical notch to the most coronal part of the new cementum.

Newly formed bone (B): from the apical notch to the most coronal part of the bone.

New bone area (BA): area of new bone coronal to the apical notch.

The mean for each histometric parameter in each dog was obtained after measuring three sections per site corresponding to the central portion of the defect and the mean for the parameter in each treatment group was calculated using the values of the seven dogs. The histometric linear parameters EP, CE and B were also expressed as a percentage of the linear defect extension (DE).

### **Statistical Analysis**

The ANOVA one way and paired Student *t* tests were used to detect respectively inter and intragroup differences in PD and CAL. Since MGL clinical parameter did not present normal distribution, non-parametric tests were used: Friedman and Wilcoxon. Descriptive statistics for the histological parameters were expressed as mean  $\pm$  SD. The ANOVA one way test was used to detect differences between the groups regarding the linear measurements DE, GM,

EP, CE and B. The non-parametric Friedman test was used to detect differences between the groups regarding the area measurement BO. The ANOVA one way test was also used to compare the parameters EP, CE, B in terms of percentage of the defect between the groups. In case of statistically significance, the Tukey-Kramer (parametric variables) or Dunn (non-parametric variables) tests would be used for multiple comparisons. A significance level of 0.05 was used in all statistical comparisons.

## **RESULTS**

### **Clinical analysis**

The healing response was favorable in all groups. No suppuration, abscess formation or other clinical complication was observed. No significant differences were found within and between the groups in regard to the clinical parameters MGL, PD, CAL in the mesial, vestibular and distal sites ( $p > 0.05$ ). In the defect size, all treatments groups yielded significant improvements in terms of PD decrease and CAL gain compared to baseline values ( $p < 0.05$ ), however without significant differences between the experimental groups ( $p > 0.05$ ) (Fig. 1). No significant difference was found for the MGL within and between the groups in the defect site (Fig. 1).

### **Histologic and histometric analysis**

The defects treated with or without chemical root conditioning showed similar periodontal healing (Figs. 2 and 3). The formation of new cementum was observed in all specimens and cementoblasts was observed along the surface of the newly formed cementum (Figs. 4 and 5). A continuous layer of new cementum was deposited coronally to the apical radicular notches up to the epithelial tissue (Figs. 2 and 3). The apical migration of the epithelium was limited to the coronal third of the defect in all treatment groups. The dentin surface underneath the

newly formed cementum presented irregularities or surface resorption. A fibrous connective tissue with collagenous fibers in a regular disposition was presented in all treatment groups and an inflammatory infiltrate was found in two teeth of the CA group. Newly formed bone was observed coronally to the apical notches in the majority of the specimens, but generally limited to the apical third of the defect. Periodontal ligament (PLD) was present between the newly formed cementum and the newly formed bone (Figs. 4 and 5) in all groups. No area of active resorption and dentoalveolar ankylosis was present.

The descriptive statistics as well as the statistical analysis of linear and area measurements are summarized in Table 1. No statistically significant differences were detected among groups in regard to the linear (DE, GM, EP, CE and B) and area (BA) measurements ( $p > 0.05$ ). The parameters EP, CE and B were expressed as percentage of the defect size; however, no significant differences were observed among the groups ( $p > 0.05$ ).

## **DISCUSSION**

The present study was designed to evaluate the effect of root surface conditioning with three different chemical agents on periodontal repair of dehiscence-type defects in the same animal model. The establishment of a new attachment of connective tissue to the periodontitis-affected root surface following periodontal surgery has not been considerable a predictable biological event. Various approaches to therapy have been proposed in an attempt to achieve regeneration of the lost supporting tissues. Root conditioning has been used to create a more biocompatible surface for periodontal healing. This conditioning is intended to decontaminate and demineralize the root surface, removing the smear layer and exposing some components of the extracellular matrix of dentin and cementum, such as type I collagen, proteoglycans, fibronectin and growth factors<sup>5,10,22,39</sup>

For the purpose of the study, 42 chronic dehiscence defects were treated by root conditioning in combination with flap surgery. The optimum concentration, mode and time of application for each chemical agent were defined based on the results of previous in vitro investigations.<sup>27,40-42</sup> Despite the use of specific parameters for each agent, no statistical significant improvement in periodontal healing following root surface conditioning was detected in this study when compared to the control group that did not receive etching procedures.

Clinically, a significant PD decrease and CAL gain compared to baseline values were observed in the defect sites of all treatment groups; however, without significant differences between the experimental groups (Fig. 1). The root surface conditioning with citric acid in combination with the modified Widman flap did not yield significant improvements in terms of PD decrease and CAL gain on the treatment of teeth presenting residual pockets with depth greater than 5 mm.<sup>43</sup> The mean CAL gain on the surfaces treated with citric acid was 2.1 mm in comparison with 1.5 mm on the surfaces not conditioned.<sup>43</sup> In the present study, the CAL gain was 2.72 mm in the CA group and 2.43 mm in the control group (Fig. 1). On the other groups that received root conditioning, the CAL gain ranged from 2.21 to 3.57 mm. The TTC group showed the highest improvement in CAL gain (Fig. 1). However, this difference did not reach a level of statistical significance. In a meta-analysis including 28 clinical studies<sup>44</sup>, it was concluded that the root surface conditioning with citric acid, tetracycline or EDTA provides no benefit or clinical significance to regeneration in patients with chronic periodontitis. This data is in accordance with our results.

Some histological evidence indicated that new connective tissue attachment did not occur to the denuded root and epithelium migrated apically along the root surface.<sup>17</sup> On the other hand, the demineralization of the denuded root surface with citric acid inhibits the apical migration of the epithelium and results in new connective tissue attachment.<sup>17,18,20</sup> In

contrast to these findings, the apical migration of epithelium as well as the newly formed cementum and bone were similar in the defects treated with or without root surface conditioning in this study (Table 1).

The results of the histometric analysis demonstrated that the formation of newly cementum was greater than the apical migration of the epithelium in all treatments, without significant differences among the experimental groups (Table 1). The mean percentage of the defect covered with epithelium ranges from 20.36 to 35.75% while the mean percentage of newly formed cementum ranges from 60.98 to 77.6%. Regarding the new bone formation, the majority of the specimens presented newly formed bone coronally to the apical radicular notch (Figs 2 and 3). The magnitude of the values indicated that the linear and area measurements of new bone were superior in the groups CA and CA + TTC; however no statistically significant differences were observed among the groups regarding the newly formed bone (Table 1).

In the study of Claffey et al.<sup>45</sup>, the connective tissue attachment gain after the application of TTC HCl was similar to that obtained with citric acid. The root surface conditioning with TTC HCl showed connective tissue attachment extending to the cemento-enamel junction in most of the specimens and the mean extent of alveolar bone regeneration was 62% of the length of the root planed surfaces. However, only two animals were used in the study and no control group was included in the analysis. On the other hand, the group treated with TTC HCl showed the lower percentage of newly formed bone (14%) in the present study (Table 2). This percentage increased when the TTC HCl conditioning was preceded or followed by the application of citric acid (27.91 and 20.96%, respectively), but this difference was not statistically different (Table 2). Nagata et al.<sup>33</sup> observed that the amount of new attachment as well as bone and cementum formation was similar in the groups conditioned or not with TTC HCl. So, the demineralization with TTC HCl did not produce



any additional effect on the periodontal regeneration of dehiscence defects surgically created in monkeys.

Root conditioning with a neutral pH agent such as the EDTA appeared to produce in a short-term perspective a more biocompatible surface compared to conditioning at low pH. Etching at low pH induces an immediate necrosis while etching at neutral pH preserves the integrity of exposed collagen fibers and the vitality of the adjacent tissues.<sup>26,46</sup> According to Sammons et al.,<sup>47</sup> root conditioning with citric acid and tetracycline may temporarily inhibit the migration and proliferation of periodontal ligament fibroblasts and delay early wound healing. However, in our study, no statistically significant differences between the groups conditioned with low or neutral pH agents concerning clinical and histological parameters were observed after 3 months of healing (Tables 1 and 2). The application of chemical agents with low pH value as CA and TTC HCl did not jeopardize the periodontal repair in comparison to the EDTA and control groups. In contrast to our findings, Blömlöf et al.<sup>48</sup> demonstrated a significantly improved healing with respect to histological attachment and less gingival recession and probing depth in the EDTA etched group in comparison to both the control and citric acid etched groups.

In general, the results obtained after root surface conditioning are controversy, ranging from marked regeneration to no difference when compared with root planing. So, periodontal regeneration should not be considered as a predictable result after root surface conditioning. The formation of new connective tissue attachment, as opposed to a long junctional epithelium, to a denuded root surface following regenerative surgery is contingent on the unimpeded resolution of a series of interactions between the root surface, plasma and tissue factors, and the connective tissue of both the mucogingival flap and periodontal ligament. In the present investigation, chemical root surface conditioning did not result in clinical or histological benefit on periodontal healing in comparison to the control group that

did not receive any chemical conditioning. However, caution should be taken to extrapolate the results of the present study. This animal model did not adequately simulate the nature of the periodontitis-affected root surfaces in humans. In addition, the period of contamination and the mineral density of the tooth are important factors to be considered. Although root conditioning did not show any advantage compared to control group on periodontal healing, the exposure of collagenous matrix of dentin or cementum could be useful for retention of biologically active substances such as growth factors in regenerative procedures.

Within the limits of the present study, it could be concluded that root surface conditioning with citric acid, tetracycline and EDTA did not provide any additional benefit on periodontal repair of dehiscence defects.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors would like to thank CAPES - Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Brasilia, DF, Brazil) for the financial support provided and Mrs. Ana Cláudia G. C. Miranda, lab technician (Department of Periodontology, School of Dentistry at Araraquara, São Paulo State University – UNESP), for the technical support in the histological procedures.

## **CONFLICTS OF INTEREST**

All authors have no conflict of interest.

## FOOTNOTES

‡ Neozine®, Aventis Pharma Ltd., SP, Brazil

§ Tiopental®, Abbott Laboratories, SP, Brazil

<sup>k</sup> Microdont, São Paulo, SP, Brazil

<sup>¶</sup> Ácido Cítrico, Pharma Nostra, Campinas, SP, Brazil

# Pref Gel, Biora, Malmö, Sweden

\*\* Tetraciclina, Valde Química Distribuidora, São Paulo, SP, Brazil

†† UTHSCSA ImageTool, University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas

## REFERENCES

1. Caton J, Nyman S. Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. *J Clin Periodontol* 1980;7:212-223.
2. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1980;7:224-231.
3. Polson AM, Caton J. Factors influencing periodontal repair and regeneration. *J Periodontol* 1982;53:617-625.
4. López NJ. Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. *J Periodontol* 1984;55:381-390.
5. Lowenguth RA, Blieden TM. Periodontal regeneration: root surface demineralization. *Periodontol 2000* 1993;1:54-68.
6. Selvig KA. Biological changes at the tooth saliva interface in periodontal disease. Does root surface conditioning with citric acid delay healing? *J Dent Res* 1969;48:846-855.
7. Hatfield CG, Baumhammers A. Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch Oral Biol* 1971;16:465-468.
8. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1988;59:222-230
9. Socransky SS, Haffajee AD. The nature of periodontal diseases. *Ann Periodontol* 1997;2:3-10.

10. Lasho DJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. *J Periodontol* 1983;54:210-220.
11. Chaves E, Cox CF, Morrison E, Caffesse R. The effect of citric acid application on periodontally involved root surfaces. II. An in vitro scanning electron microscopic study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1993;13:188-196
12. Nalbandian J, Cote N. Direct histological comparison of periodontal wound healing in the beagle dog with and without citric acid conditioning. *J Periodontal Res* 1982;17:552-562.
13. Polson AM, Frederick GT, Ladenheim S, Hanes PJ. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *J Periodontol* 1984;55:443-446.
14. Hanes P, Polson A, Frederick T. Citric acid treatment of periodontitis-affected cementum. A scanning electron microscopic study. *J Clin Periodontol* 1991;18:567-575.
15. Daly CG. Anti-bacterial effect of citric acid treatment of periodontally diseased root surfaces in vitro. *J Clin Periodontol* 1982;9:386-392.
16. Wirthlin MR, Hancock EB. Biologic preparation of diseased root surfaces. *J Periodontol* 1980;51:291-297.
17. Polson AM, Proye MP. Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol* 1982;9:441-454.
18. Polson AM, Proye MP. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. *J Periodontol* 1983;54: 141-147.
19. Zaman KU, Sugaya T, Hongo O, Kato H. A study of attached and oriented human periodontal ligament cells to periodontally diseased cementum and dentin after

- demineralizing with neutral and low pH etching solution. *J Periodontol* 2000;71:1094-1099.
20. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. I. Optimum range. *J Periodontol* 1975;46:646-655.
  21. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983;54:580-585.
  22. Wikesjö UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, DiFlorio RM, Terranova VP. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res* 1986;21:322-329.
  23. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino A, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res* 1984;19:651-655.
  24. Ramamurthy NS, Xu JW, Bird J, et al. Inhibition of alveolar bone loss by matrix metalloproteinase inhibitors in experimental periodontal disease. *J Periodontal Res* 2002; 37:1-7.
  25. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol 2000* 2000;24:226-238.
  26. Blomlöf J, Lindskog S. Periodontal tissue-vitality after different etching modalities. *J Clin Periodontol* 1995;22:464-468.
  27. Blomlöf JP, Blomlöf LB, Lindskog SF. Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an ethylenediaminetetraacetic acid gel preparation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:242-249.
  28. Wikesjö UM, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J Periodontol* 1992;63:158-165.

29. Baker PJ, Rotch HA, Trombelli L, Wikesjö UM. An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. *J Periodontol* 2000;71:1139-1143.
30. Fardal O, Lowenberg BF. A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1990;61:529-535.
31. Selvig KA, Ririe CM, Nilvéus R, Egelberg J. Fine structure of new connective tissue attachment following acid treatment of experimental furcation pockets in dogs. *J Periodontal Res* 1981;16:123-129.
32. Parashis AO, Mitsis FJ. Clinical evaluation of the effect of tetracycline root preparation on guided tissue regeneration in the treatment of Class II furcation defects. *J Periodontol* 1993;64:133-136.
33. Nagata MJ, Bosco AF, Leite CM, Melo LG, Sundefeld ML. Healing of dehiscence defects following root surface demineralization with tetracycline: a histologic study in monkeys. *J Periodontol* 2005;76:908-914.
34. Stahl SS, Froum SJ. Human clinical and histologic repair responses following the use of citric acid in periodontal therapy. *J Periodontol* 1977;48:261-266.
35. Steiner SS, Crigger M, Egelberg J. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. II. Histologic observations of cases following replaced flap surgery. *J Periodontal Res* 1981;16:109-116.
36. Blomlöf L, Jonsson B, Blomlöf J, Lindskog S. A clinical study of root surface conditioning with an EDTA gel. II. Surgical periodontal treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:566-573.



37. Pettersson EC, Aukhil I. Citric acid conditioning of roots affects guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodontal Res* 1986;21:543-552.
38. Klinge B. Root surface conditioning. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Chemicals in periodontics: Quintessence; 1997:276-283.
39. Trombelli L, Schincaglia GP, Zangari F, Griselli A, Scabbia A, Calura G. Effects of tetracycline HCl conditioning and fibrin-fibronectin system application in the treatment of buccal gingival recession with guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1995;66:313-320
40. Ishi EP, Dantas AA, Batista LH, Onofre MA, Sampaio JE. Smear layer removal and collagen fiber exposure using tetracycline hydrochloride conditioning. *J Contemp Dent Pract* 2008;9:25-33
41. Isik AG, Tarim B, Hafez AA, Yalçın FS, Onan U, Cox CF. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of demineralized dentin root surface using different tetracycline HCl concentrations and application times. *J Periodontol* 2000;71:219-225.
42. Sterrett JD, Bankey T, Murphy HJ. Dentin demineralization. The effects of citric acid concentration and application time. *J Clin Periodontol* 1993;20:366-70.
43. Cole R, Nilvéus R, Ainamo J, Bogle G, Crigger M, Egelberg J. Pilot clinical studies on the effect of topical citric acid application on healing after replaced periodontal flap surgery. *J Periodontal Res* 1981;16:117-122.
44. Mariotti A. Efficacy of chemical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:205-226.

45. Claffey N, Bogle G, Bjorvatn K, Selvig KA, Egelberg J. Topical application of tetracycline in regenerative periodontal surgery in beagles. *Acta Odontol Scand* 1987;45:141-146.
46. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S. Long-time etching at low pH jeopardizes periodontal healing. *J Clin Periodontol* 1995;22:459-463.
47. Sammons PR, Wang HL, Chiego DJ Jr, Castelli WA, Smith BA. Effect of root conditioning on periodontal wound healing with and without guided tissue regeneration: a pilot study. II. Autoradiographic evaluation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994;14:62-69.
48. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S. Root surface etching at neutral pH promotes periodontal healing. *J Clin Periodontol* 1996;23:50-55.

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1.** Clinical measurement for each group at baseline and 3 months after treatment. (A) Probing depth (PD), (B) Clinical attachment level (CAL) and (C) Marginal gingival level (MGL). \*  $p < 0.05$  – significant difference between the baseline and 3-months post treatment (Student paired t-test). No significant differences were found among groups at each period of clinical evaluation ( $p > 0.05$ ; ANOVA one-way test).

**Figure 2.** Panoramic view of the defects with the radicular notches (arrows). New bone and new cementum are observed extending coronally from the apical notch after 3 months of treatment. (A) Control group; (B) CA group; (C) EDTA group (HE, bar = 200 $\mu$ m, original magnification  $\times 5$ ).

**Figure 3.** Panoramic view of the defects with the radicular notches (arrows). New bone and new cementum are observed extending coronally from the apical notch after 3 months of treatment. (A) TTC group; (B) CA + TTC group; (C) TTC + CA group (HE; bar = 200 $\mu$ m; original magnification  $\times 5$ ).

**Figure 4.** Higher magnification of the radicular notch area in Figure 2 showing new cementum (CE), periodontal ligament (PLD) and alveolar bone (B) formation. Dentin (De). (a) Control group; (b) CA group; (c) EDTA group (Masson trichrome; bar = 200 $\mu$ m; original magnification  $\times 20$ ).

**Figure 5.** Higher magnification of the radicular notch area in Figure 3 showing new cementum (CE), periodontal ligament (PLD) and alveolar bone (B) formation. Dentin (De).

(a) TTC group; (b) CA + TTC group; (c) TTC + CA group (Masson trichrome; bar = 200µm; original magnification ×20).

## TABLE LEGENDS

**Table 1.** Histometric parameters (mean ± SD) for each treatment.

**Table 1.** Histometric parameters (mean  $\pm$  SD) for each group.

Histometric Parameter	Group						<i>p</i> value
	Control (n = 7)	CA (n = 7)	EDTA (n = 7)	TTC (n = 7)	AC + TTC (n = 7)	TTC + AC (n = 7)	
<b>DE<sup>†</sup></b>	4.53 $\pm$ 0.55	4.74 $\pm$ 0.61	4.79 $\pm$ 0.62	4.96 $\pm$ 0.74	4.93 $\pm$ 1.02	5.18 $\pm$ 0.61	<b>0.65</b>
<b>GM<sup>†</sup></b>	0.85 $\pm$ 0.42	1.05 $\pm$ 0.80	0.75 $\pm$ 0.69	0.82 $\pm$ 0.63	0.92 $\pm$ 0.64	0.73 $\pm$ 0.72	<b>0.94</b>
<b>EP<sup>†</sup></b>	1.52 $\pm$ 0.95	1.27 $\pm$ 1.02	0.98 $\pm$ 0.58	1.75 $\pm$ 1.94	1.80 $\pm$ 1.27	1.31 $\pm$ 0.86	<b>0.78</b>
<b>CE<sup>†</sup></b>	2.89 $\pm$ 1.41	3.01 $\pm$ 1.73	3.72 $\pm$ 0.83	2.87 $\pm$ 1.36	2.77 $\pm$ 1.18	3.65 $\pm$ 1.09	<b>0.59</b>
<b>B<sup>†</sup></b>	1.10 $\pm$ 0.90	1.53 $\pm$ 1.29	1.16 $\pm$ 0.96	0.70 $\pm$ 0.94	1.51 $\pm$ 1.32	1.07 $\pm$ 1.28	<b>0.75</b>
<b>BA<sup>#</sup></b>	0.34 $\pm$ 0.36	0.52 $\pm$ 0.62	0.23 $\pm$ 0.38	0.18 $\pm$ 0.21	0.59 $\pm$ 0.54	0.28 $\pm$ 0.31	<b>0.61</b>
<b>%EP<sup>†</sup></b>	35.73 $\pm$ 24.75	27.15 $\pm$ 20.51	20.36 $\pm$ 13.28	32.9 $\pm$ 33.72	35.51 $\pm$ 28.30	24.88 $\pm$ 16.59	<b>0.74</b>
<b>%CE<sup>†</sup></b>	61.80 $\pm$ 26.06	63.4 $\pm$ 32.69	77.60 $\pm$ 14.39	60.98 $\pm$ 32.30	58.07 $\pm$ 28.83	71.43 $\pm$ 21.48	<b>0.79</b>
<b>%B<sup>†</sup></b>	24.49 $\pm$ 20.54	27.15 $\pm$ 20.51	25.06 $\pm$ 19.99	14.3 $\pm$ 19.97	27.91 $\pm$ 22.88	20.69 $\pm$ 23.73	<b>0.72</b>

\* p value refers to statistical significance differences among groups (p<0.05).

<sup>†</sup>ANOVA one-way test; <sup>#</sup> Friedman test.

Autorizo a reprodução deste trabalho.  
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 25 de maio de 2009.

DANIELA LEAL ZANDIM-BARCELOS