UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Breno Edson Sendão Alves

"L-PRF associado ao enxerto gengival livre no "creeping attachment": Estudo clínico randomizado."

ARAÇATUBA – SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Breno Edson Sendão Alves

"L-PRF associado ao enxerto gengival livre no "creeping attachment": Estudo clínico randomizado."

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, para a obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de Periodontia).

Orientador: Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida

ARAÇATUBA – SP
2018

Catalogação na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Alves, Breno Edson Sendão.
A474L L-PRF associado ao enxerto gengival livre no “creeping attachment”: estudo clínico randomizado / Breno Edson Sendão Alves. – Araçatuba, 2018
66 f. : il.; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Juliano Milanezi de Almeida

1. Fibrina rica em plaquetas 2.Tratamento periodontal
3. Cirurgia plástica periodontal I. T.

Black D6
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dados curriculares

Breno Edson Sendão Alves

Nascimento: 27.08.1992 Maringá/PR

Filiação: Débora Auxiliadora Sendão Alves

Valdemir Edson Alves

2011-2015: Curso de Graduação em Odontologia

Universidade Estadual Maringá - UEM

À Deus

Neste momento ofereço esta conquista à Deus, pois nos momentos mais difíceis, momentos pelos quais as pessoas ao redor não conseguiam ajudar, o Senhor me deu forças para continuar e forneceu anjos para me acompanhar durante essa jornada.

"Regozijai-vos sempre. Ora sem cessar. Em tudo dai graças, porque esta é a vontade de Deus ."

1 Tessalonicenses 5:16-18

Aos Meus Pais

À minha mãe ***Débora****, ao meu pai* ***Valdemir****.*

Ambos são exemplos de superação, amor e amizade para mim. Se não fosse pelo suporte, carinho e atenção que me forneceram em todos esses anos nada disso seria possível.

Todos os dias em direção à Maringá eu me sentia alegre pela possibilidade de estar com vocês e cada despedida era um pedaço de mim que ficava em casa.

Vocês são e sempre seram meus maiores exemplos.

Independente de qualquer conquista, a maior delas é poder ser seu filho.

Amo vocês.

Aos Meus Familiares

À meu irmão ***Igor****.*

Eu não tenho palavras para agredecer meu irmão, só nós dois conhecemos a relação que temos. Não trocamos carinho, conversamos pouco, mas isso não é falta de amor. Muito pelo contrário, nos respeitamos pelos meninos que fomos e pelos homens que estamos nos tornando.
Não existe amigo nesse mundo que chegue aos seus pés meu irmão, você sempre cuidou de mim do seu jeito e sempre será um ser humano exemplo para mim.
Só gostaria de pedir desculpas pela minha ausência.
Obrigado por caminhar ao meu lado!

Aos meus ***Avós****.*

Eles foram aqueles que realmente sofreram e que batalharam por uma filosofia de família.
Jamais me esquecerei das minhas raízes, daqueles que me pegaram no colo e ao mesmo tempo que me educavam, me deixavam viver e deixar meus pais loucos.
Hoje em dia, poucas pessoas possuem um pai e uma mãe, mas eu o maior orgulho de poder dizer que tive dois de cada, que me ensinaram o valor da Família e a aproveitar a vida.
Não existe um dia que passa sem que um pingo de lagrima saia de meu olho ao pensar em vocês, mas podem ficar tranquilos, nenhuma dessas vezes foi de tristeza e sim uma mistura de orgulho e saudade.

Ao meu orientador *Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida*, *mais do que um professor e orientador, o senhor sempre se propôs a ser um amigo. Gostaria de agradecer a oportunidade de entrar nessa instituição, a paciência em todos momentos difíceis e a disposição de sempre ajudar, não só a mim, mas como a todos seus orientados. Eu sei que o senhor se preocupa com nosso futuro e quer que estejamos bem, independente do lugar estivermos. Eu poderia estar agradecendo nesse momento por todos seus ensinamentos e ajuda, mas o senhor já sabe que somos todos gratos. Então eu prefiro agradecer a pessoa Juliano Milanezi de Almeida, que deixa seus momentos de alegria com seus entes queridos para nos ajudar a enfrentar nossas batalhas diárias. Eu tenho muito orgulho de ter sido seu orientado.*

À *Profª. Drª.Paula Lazilha Faleiros*, *agradeço pela disposição e carinho que você sempre demonstrou por todos os orientados do Prof. Juliano. Você é um exemplo de dedicação e vitória. Eu gostaria de poder ter compartilhado mais experiências e poder ter aprendido mais com você.*

À *Profª. Drª. Maria José Hitomi Nagata*, *Eu não tenho palavras para agradecer todo carinho e paciência que senhora teve comigo. Entre momentos sérios e de descontração eu pudi conhecer melhor a profissional Profa. Dra. Maria José, que faz o joelho dos alunos tremerem, e a pessoa Maria José, que sempre foi atenciosa, carinhosa e respeitosa com a pessoa ao seu lado. Eu admiro muito a história que a senhora construiu e constrói diariariamente. Muito obrigado por ter feito parte da minha caminhada.*

Ao *Prof. Dr. Edilson Ervolino* *agradeço por todos ensinamentos, pela paciência e carinho que o senhor tem com alunos. O senhor é um profissional extremamente dedicado com tudo que participa dentro da instituição, demonstrando uma relação de amor pela profissão que passou a ser exemplo para mim. Muito obrigado pela oportunidade e atenção!*

À Prof.ª Drª. Letícia Helena Theodoro, agradeço pelos ensinamentos transmitidos em suas aulas e conversas. A senhora é um exemplo em tudo que se propõe a fazer, sempre extremamente competente. Muito obrigado pela paciência nos momentos que conversamos e por mostrar os caminhos para a construção de um melhor desenvolvimento intelectual.

Ao Prof. Dr. Álvaro Francisco Bosco, foi uma honra poder conhece-lo. O senhor trata todos os alunos como filhos e se precisar pega na mão para ensinar. É um profissional excelente e um fantástico professor, mas nada disso se compara a pessoa que senhor é. Muito obrigado pela oportunidade de estar ao seu lado e passar seu conhecimento.

Ao Prof. Dr. Francisley Ávila Souza, sempre me recordarei da primeira aula que tive com o senhor, na qual o senhor disse: "Aluno é igual parafuso, tem que apertar". O senhor sempre teve muito carinho e esteve à disposição dos alunos do Prof. Juliano. Muito obrigado pela convivência e ensinamentos durante essa caminhada.

"O Mestre aponta o caminho; o discípulo segue sozinho até encontrar novamente o Mestre, mas desta vez, dentro de si mesmo." ***(Henrique José de Souza)***

Ao meu amigo *David Jonhatan Rodrigues Gusman*! *Eu não tenho nem palavras para te agracer. Você sempre esteve presente nos momentos bons e difíceis da pós-graduação. Acredito que você será um excelente profissional no futuro e espero poder estar por perto para compartilhar aplaudir suas vitórias. Dentre todos que conheci aqui, você se tornou um amigo que sempre posso contar. Muito obrigado pelos ensinamentos, paciência e brincadeiras.*

Ao meu grande amigo *João Martins de Mello Neto*, *um garoto que tenho muito orgulho em ter como amigo, talentoso, batalhador e brilhante. Eu sei que você irá conquistar tudo que sempre sonhou e terá a vida que conversamos ao voltar de Maringá para Araçatuba. Daqui a pouco eu e o David estaremos na Australia te visitando.*

À amiga *Nathália Januário de Araujo*, *obrigado por ser autentica, atenciosa e amorosa com seus amigos. No fim do primeiro dia que nos conhecemos você já me chamava de "migo". Você tem um coração de ouro e sempre estarei torcendo pelo seu sucesso. Muito obrigado.*

Ao amigo *Henrique Rinaldi Mateus*, *agradeço por todos os momentos de companheirismo, eu não tenho palavras para agradecer o quanto você ajuda, não só a mim, mas a todos os outros. Nós compartilhamos momentos engraçados juntos, seja no mestrado ou na especialização, e você já é um profissional exemplar no que faz. Obrigado por tudo e se precisar de alguma coisa estarei à disposição.*

À *Vivian Cristina Noronha Novaes*. *Posso dizer que você sempre será um exemplo de dedicação, tanto profissional quanto familiar. Você sempre se preocupa conosco e quer saber como estamos, sendo uma mãe dentro e fora de casa. Muito obrigado por todos os ensinamentos.*

Ao amigo *Fred Lucas Pinto de Oliveira*, *agradeço pela amizade, muitas conversas e companheirismo sempre. Você é um exemplo de perceverança, garra e dedicação, foi um enorme prazer poder trabalhar com você e principalmente ser seu amigo.*

Ao amigo *Luiz Guilherme Fiorin*, *agradeço pela amizade, você é um menino excepcional, com uma personalidade singular e cada dia que passa é uma surpresa nova com você. Te desejo todo sucesso e muita sorte.*

Aos Alunos de iniciação científica *(Clara e Giovanni)*, *Agradeço pelos momentos que precisei e vocês sempre estiveram disponíveis para ajudar. Sou muito grato por esse companheirismo e desejo tudo de melhor à vocês, sempre que precisarem estarei aqui.*

Aos queridos amigos da pós-graduação, *Daniela, Marta, Marina Módulo e Natalia Campos,* *agradeço pelo carinho, longas conversas e agradável convívio!*

À *todos os professores do mestrado*,

Vocês foram importantes e contribuíram muito em todo meu aprendizado e caminhada durante estes anos.

A *todos os colegas do mestrado*,

Agradeço pela oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas e pela amizade criada neste período.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, nas pessoas do Diretor **Prof. Wilson Roberto Poi**, e do senhor Vice-Diretor **Prof. João Eduardo Gomes Filho** por proporcionar a realização desta pesquisa e pelos anos de pós-graduação e crescimento profissional.

A coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do **Prof. Dr. André Luiz Fraga Briso**.

Aos Funcionários e ex-funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – **Renato, Marco e Paulo** obrigado pela ajuda e disposição.

A todos os funcionários e estimados amigos da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Cláudio Hideo Matsumoto, Ana Claudia Grieger Manzatti, Luzia Anderlini, Denise Haruyo Nakamura Maeda, Luís Cláudio Sedlacek, Ana Paula Rímoli de Oliveira e Maria Cláudia de Castro Benez,** pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Valéria de Queiroz M. Zagatto, Cristiane Regina Lui Matos, Lilian Sayuri Mada** pelo excelente trabalho, atenção dispensada, grande disposição em atender e ótimo relacionamento

.

Aos funcionários e professores do Departamento de Ciências Básicas, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, por sempre me acolherem tão bem.

Aos professores da Pós Graduação da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, pelos ensinamentos durante todo o decorrer do curso.

Aos pacientes, que nos depositando confiança, deram-nos a oportunidade de aprender.

Finalmente, agradeço à **Deus,** ser superior, por ter me concedido essa oportunidade e ter colocado todas essas pessoas maravilhosas em meu caminho.

OBRIGADO!

“Os eruditos são aqueles que leram coisas nos livros mas os pensadores, os gênios, os fachos de liz e promotores da espécie humana serão aqueles que lerem diretamente no livro do mundo”.

(Schopenhauer)

Alves, BES. **L-PRF associado ao enxerto gengival livre no “creeping attachment”: Estudo clínico randomizado.** 2018**.** 80 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

RESUMO

O propósito do presente estudo clínico será avaliar o efeito do tratamento de recessões gengivais classe II de Miller com enxerto gengival livre (EGL), associado a fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) no “creeping attachement” (CA). 12 pacientes que apresentavam recessões bilaterais classe II de Miller, localizadas em pré-molares inferiores, totalizando 24 sítios, foram divididos aleatoriamente nos Grupo EGL (n=12), é o grupo controle no qual o sitio recebeu o recobrimento radicular com enxerto gengival livre (EGL); e o Grupo EGL/L-PRF (n=12), EGL associado ao L-PRF, estabilização de membrana de L-PRF no leito receptor e sutura do EGL. Para obtenção do L-PRF, foi realizada a coleta de 20 ml de sangue de cada paciente, que foi imediatamente centrifugado a 2700 rpm, por 12 minutos. Realizou a medida do recobrimento radicular o presente no período inicial e após 30 dias de pós-operatório, e foi avaliado a quantidade de CA (90, 180 e 360 dias). Após 360 dias não foi possível observar uma diferença significativa de CA entre os grupos EGL (1.81 ± 0.40) e 1.00 ± 0.70 (EGL/L-PRF), entretanto ocorreu diferença na quantidade de mucosa queratinizada, gengiva inserida e altura da recessão. EGL e EGL/L-PRF proporcionaram aumento na mucosa queratinizada e migração tecidual em recessões classe II de Miller.

Palavras chaves: Terapia mucogengival, tratamento periodontal, cirurgia plástica periodontal.

Alves, BES. **L-PRF associated with free gingival graft in the "creeping attachment": Randomized clinical trial.** 2018**.** 80 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

ABSTRACT

The main objective of the present clinic study will be to evaluate through observation of the root covering, the "creeping attachment" (CA) on Miller class II gingival recession treated with free gingival graft combined with leucocyte and platelet rich-fibrin (PRF-L). 12 patients with bilateral Miller Class II gingival recession in lower premolars were recruited. Group FGG (n=12): control group, the site will receive the root coverage with free gingival graft, and Group FGG/L-PRF (n=12): will be performed an association between free gingival graft and L-PRF, the L- PRF membrane stabilized to the receptor region and suturing the EGL. To obtain this platelet concentrate, 20 ml of blood of each patient will be collected and immediately centrifuged at 2700rpm for 12 minutes. The following parameters will be measured: O`Leary plaque index, gingival index, height of gingival recession, recession width, amount of keratinized mucosa, probing depth (PD) and then, the clinical attachment level will be conducted. The measurements will be performed at 30, 90, 180 e 360 days after the surgical procedure. The CA will be measured at 90, 180 and 360 days. Data will be analyzed statistically ($p < 0.05$) in a specialized computer program (Bioestat 5.0). After 360 days, significant differences were not found between the two groups for CA, however there was a significant difference for keratinized gingiva, gingival height and clinical attachment level. EGL and EGL/L-PRF are equally successful in the creeping attachment gain in gingival recession of Miller class II.

Keywords: Mucogingival therapy, Periodontal treatment, Periodontal plastic surgery

Lista de Tabela

Manuscrito para publicação

Tabela 1	Parâmetros clínicos iniciais.	46
Tabela 2	Resultados clínicos para HR e MQ	47
Tabela 3	Resultados clínicos do CA.	48
Tabela 4	Resultados clínicos para GI	48
Tabela 5	Avaliação da morbidade do paciente.	49

Lista de Figuras

Manuscrito para publicação

Figura 1	Fluxograma	50
Figura 2	Procedimento cirúrgico. (a) imagem inicial de uma recessão localizada no primeiro pré-molar inferior direito. (b) estabilização da membrana de L-PRF. (c) estabilização do enxerto gengival livre sobre a membrana. (d) Acompanhamento do pós-operatório de 30 dias.	51

Lista de Abreviaturas e Siglas

EGL – Enxerto gengival livre.

L-PRF – Fibrina rica em leucócitos e plaquetas.

EGL/L-PRF – Enxerto gengival livre associado ao L-PRF

JCE – Junção cemento esmalte

PS – Profundidade de sondagem.

NIC – Nível de inserção clínica.

SS – Sangramento a sondagem

GI – Gengiva inserida

IG – Índice gengival

CA – Creeping attachment.

HR – Altura da recessão

MQ – Mucosa queratinizada.

RI – Recobrimento imediato

MMP – Metaloproteinases

IL-1β – Interleucina 1β

IL-6 – Interleucina 6

IL-4 – Interleucina 4

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

Lista de Anexos

Anexo

A Certificado da Comissão de Ética de Estudo em Humanos (CEP) 52

Anexo

B Normas de publicação segundo o Periódico “Journal of Clinical Periodontology”. 56

Sumário

Manuscrito para publicação	22
Página Título	23
Resumo	24
Introdução	25
Materiais e Métodos	28
Resultados	35
Discussão	37
Conclusão	40
Agradecimentos	41
Referências	42
Anexos	52

Manuscrito para Publicação [1]

[1] Normatização Segundo a Revista *Journal of Clinical Periodontology*.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

Título

L-PRF associado ao enxerto gengival livre no "creeping attachment": Estudo clínico randomizado

Autores

Breno Edson Sendão Alves[1], Juliano Milanezi de Almeida[1*].

[1] Department of Surgery and Integrated Clinic – Division of Periodontics, School of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, São Paulo, Brazil.

Running title: Fibrina rica em plaquetas e leucócitos e enxerto gingival livre.

***Corresponding author:**
Juliano Milanezi de Almeida
Address: Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP:
Rua Jose Bonifácio 1193, Centro.
CEP: 16050-300 Araçatuba, SP, Brasil.
Tel/Fax 55- 1836363239
E-mail: jumilanezi@hotmail.com

Abstract

Aim: The main objective of the present clinic study will be to evaluate through observation of the root covering, the “creeping attachment” (CA) on Miller class II gingival recession treated with free gingival graft combined with leucocyte and platelet rich-fibrin (PRF-L). Material and Methods: 12 patients with bilateral Miller Class II gingival recession in lower premolars were recruited. Group FGG (n=12): control group, the site will receive the root coverage with free gingival graft, and Group FGG/L-PRF (n=12): will be performed an association between free gingival graft and L-PRF, the L- PRF membrane stabilized to the receptor region and suturing the EGL. To obtain this platelet concentrate, 20 ml of blood of each patient will be collected and immediately centrifuged at 2700rpm for 12 minutes. The following parameters will be measured: O`Leary plaque index, gingival index, height of gingival recession, recession width, amount of keratinized gingiva, probing depth (PD) and then, the clinical attachment level will be conducted. The measurements will be performed at 30, 90, 180 e 360 days after the surgical procedure. The CA will be measured at 90, 180 and 360 days. Data will be analyzed statistically ($p < 0.05$) in a specialized computer program (Bioestat 5.0). Results: After 360 days, significant differences were not found between the two groups for CA, however there was a significant difference for keratinized gingiva, gingival height and clinical attachment level. Conclusion: EGL and EGL/L-PRF are equally successful in the creepingattachment gain in gingival recession of Miller class II.

Keywords: Mucogingival therapy, Periodontal treatment, Periodontal plastic surgery

1. Introdução

A recessão radicular é caracterizada pela migração da margem gengival no sentido apical expondo a superfície radicular do dente. Sua ocorrência é multifatorial destacando-se por um processo patológico, traumático causado pela escovação ou pela presença de um biótipo gengival fino (Miller PD., 1985). Em consequência, a exposição da raiz pode gerar hipersensibilidade, lesões cariosas, lesões cervicais não cariosas e desconforto estético ao paciente, o que pode ser agravado quando o sítio em questão não possui uma faixa de mucosa queratinizada adequada (< 2mm), promovendo maior sensibilidade durante a escovação (Lang & Löe, 1972, Chambrone & Tatakis 2016). Dessa forma, o tratamento desses sítios visa a reabilitação estética e funcional, de maneira a promover condições de manutenção da higienização para o paciente, prevenindo a ocorrência de lesões cariosas e lesões cervicais não cariosas (Buti et al., 2013; Chambrone & Tatakis 2015).

Dentre as técnicas utilizadas para recobrimento radicular, o enxerto gengival livre (EGL), apresentado por Björn em 1963, foi uma das primeiras técnicas empregadas para o tratamento das recessões gengivais progressivas e inflamatórias e, continua sendo a primeira opção de escolha como a técnica para tratamento de recessão gengival entre os dentistas (Zaher et al., 2005, Camargo et al., 2001). Em 1968, Sullivan & Atkins propuseram o recobrimento imediato da raiz exposta por meio do EGL. O enxerto de epitélio-conjuntivo, obtido do palato com espessura de 1 mm, deve ser suturado no nível da JCE, permitindo assim, um recobrimento imediato sobre a raiz avascular por meio de “bridging” e, mais tarde, o recobrimento por meio de “creeping attachment” (CA). Entretanto, a literatura é escassa quanto a métodos para aumentar o

recobrimento de recessões através de um melhor CA, dentre os poucos estudos realizados, em uma tese de doutorado avaliaram diferentes técnicas de posicionamento do enxerto para averiguar qual forneceria os melhores resultados de CA, e obtiveram que o posicionamento do enxerto no limite coronário do leito receptor, sem recobrir a porção exposta da raiz CA clinicamente relevante (Gasparini, 2007). Atualmente, com a presença dos derivados plaquetários surgiu uma nova alternativa para melhorar o recobrimento radicular pelo CA.

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) é um hemoderivado de segunda geração constituído por leucócitos, plaquetas e uma rede densa tridimensional de fibrinas. Dessa forma, gera um sistema que acumula citocinas inflamatórias (IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-4), fatores de crescimento endotelial, fatores de crescimento derivado de plaquetas, fatores de crescimento epidérmico, fatores de crescimento derivado de fibroblastos e fatores de crescimento insulínicos e tumoral (Choukroun et al., 2001; Dohan et al., 2006). Essa composição tridimensional da rede de fibrinas cria um ambiente de degradação lenta e liberação gradativa de fatores de crescimento. Desta maneira, o L-PRF pode acelerar o processo cicatricial e contribuir para proliferação e migração celular (Ehrenfest et al., 2009).

A utilização do L-PRF em cirurgias plásticas periodontais para o recobrimento radicular, tem sido proposta em virtude de suas propriedades regenerativas e cicatriciais (Aroca et al., 2009; Padma et al., 2013; Jankovic et al., 2012; Eren & Atilla, 2013). Apesar dos diferentes estudos e diferentes técnicas abordadas, a maioria não demonstrou resultados superiores com diferenças estatísticas quanto ao recobrimento radicular. Por outro lado, a utilização do L-PRF demonstrou resultados positivos quando os parâmetros de profundidade de sondagem, cicatrização tecidual e concentração de

interleucina-1β (IL- β) e metaloproteinase (MMP) no fluido crevicular em um período de até 6 meses (Eren & Atilla, 2013; Jankovic et al., 2012; Eren et al., 2015ª).

Keceli et al. (2015) avaliaram se o PRF associado ao enxerto de tecido conjuntivo gengival (ECG) + reposicionamento coronário do retalho (RCR) traria algum benefício para o completo recobrimento radicular de recessões classe I e II de Miller. Os autores concluíram que apesar da técnica ser efetiva, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos propostos. No entanto, a espessura gengival nos pacientes que utilizaram o PRF foi maior quando comparado com o grupo controle, indicando assim, uma maior proliferação tecidual nessa região.

Dessa forma, dada as características do L-PRF, este estudo se propõe a avaliar o efeito do tratamento de recessões gengivais classe II de Miller com enxerto gengival livre associado ao L-PRF avaliando o “creeping attachment” do enxerto, por meio de avaliação clínica de recobrimento radicular.

2. Materiais e Métodos

Todos os pacientes tratados neste estudo foram atendidos na clínica de Pós-Graduação em Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista - UNESP

2.1 Design experimental

Esse estudo foi desenvolvido como um estudo clínico cego randomizado prospectivo e com grupos de boca dividida. O estudo comparou dois diferentes procedimentos para o tratamento de recessões gengivais classe II de Miller: A técnica de EGL versus o EGL + L-PRF avaliando os resultados clínicos de ambas as técnicas.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (56805016.4.0000.5420). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com princípios delimitados pela Declaração de Helsinki.

2.2 Participantes

2.2.1. Participantes do estudo

Durante o período de março de 2016 a março de 2017, 12 pacientes consecutivos foram avaliados na clínica de pós-graduação em Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista – UNESP (Araçatuba, Brasil) considerando os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

- Todos pacientes apresentaram boa saúde sistêmica sem qualquer contraindicação à cirurgia periodontal;

- Não fumantes;

- Idade entre 18 e 40 anos;

- Cada paciente apresentou, bilateralmente, um ou dois pré-molares inferiores vitais, recessões classe II de Miller não cariosa de ambos os lados, com faixa de tecido queratinizado menor ou igual a 1mm, com nível ósseo interproximal normal e sem perda de altura de papila.

- O procedimento cirúrgico proposto, seus riscos e benefícios, bem como outras possibilidades de tratamento, foram explicados para todos pacientes, os quais assinaram um termo de consentimento antes do início do tratamento;

- Ausência de discrasia sanguínea;

- Menos de 20% de índice de placa (Aimano & Bay, 1975) e de sangramento à sondagem (Muhlemann & Son, 1971) após 4 semanas da terapia inicial, com profundidade de sondagem menor do que 3mm e ausência de sangramento à sondagem e doença periodontal;

Critérios de exclusão:

- Hábito tabagista;

- Apresentar contra-indicação para realização de cirurgia periodontal;

- Uso de medicação que puder interferir com o reparo e a cicatrização gengival;

- Pacientes com história de alcoolismo;

- Usuários de drogas ilícitas;

- Cardiopatas;

- Pacientes que estão sob intervenção ortodôntica;

- Diabéticos descompensados;

- Pacientes irradiados;

- Pacientes com discrasias sanguíneas;

- Pacientes submetidos a tratamento com esteróides por longo período.

2.2.2 Cálculo da amostra e randomização

O cálculo amostral foi realizado para detectar 0,5mm como diferença estatisticamente significante entre o grupo teste e controle para o creeping attachement após 1 ano, utilizando um power de 80%, α =0,05 e desvio padrão de 0,5mm, baseado em estudos prévios (Gasparini, 2007). Um número de 12 recessões por grupo experimental foi requerido.

Através de um programa computacional (Minitab Inc., State College, PA, USA) os sítios com recessão foram randomizados aleatoriamente para o grupo EGL ou para o grupo EGL+L-PRF.:

- Grupo EGL (n=12): Preparo do leito receptor, mantendo as papilas e sutura do enxerto gengival Livre (EGL) no nível da junção cemento-esmalte (JCE);

- Grupo EGL/L-PRF (n=12): Preparo do leito receptor, mantendo as papilas, estabilização da membrana de L-PRF no leito receptor e sutura do EGL no nível da JCE.

Para esconder a distribuição, foram utilizados envelopes opacos que especificavam a técnica e o sítio que foram abertos imediatamente antes do procedimento cirúrgico.

2.2.3 – Operador e investigadores

Todas as cirurgias foram realizadas por um periodontista experiente (J.M.A.) com extensa experiência clínica em cirurgia plástica periodontal. As medidas clínicas do pré-operatório e pós-operatório foram realizadas por um examinador cego e calibrado para as técnicas cirúrgicas (B.E.S.A). O examinador realizou a medida de duas vezes cada medida clínica proposta com intervalo de 24 horas em 10 pacientes (Fernandes-Dias et al., 2015). As medidas foram estatisticamente analisadas para verificar o grau de

concordância com nível de significância de 5% e adicionalmente o coeficiente de correlação de Pearson foi calculado em ambas as medidas ($p \geq 0,05$).

2.2.4 – Coleta dos dados

As medidas clinicas foram realizadas no período inicial e a 30, 90, 180 e 360 dias após a cirurgia. Aos 30 dias pós-operatórios, foi registrada a quantidade de recobrimento que ocorreu imediatamente à cirurgia (RI). O RI foi calculado como a diferença entre a recessão presente no período inicial e a presente aos 30 dias pós-operatórios. Aos 90, 180 e 360 dias, foi realizada a avaliação da quantidade de creeping attachment (CA). Este foi calculado como a diferença entre a recessão presente aos 30 dias e a presente nos demais períodos avaliados. Aos 360 dias foram obtidos os valores de gengiva inserida (GI) e o nível de inserção clínica (NIC). A quantidade de gengiva inserida foi calculada como a diferença entre a gengiva inserida e a profundidade de sondagem obtida aos 360 dias.

2.2.5. Medidas clínicas

As medidas clínicas foram realizadas com a sonda periodontal UNC (Hu-Friedy®), sendo as medidas arredondadas para o 0,5 mm mais próximo. A posição da sonda periodontal foi padronizada por meio de uma placa de resina acrílica adaptada sobre a coroa do dente tratado. Na superfície vestibular da placa foi esculpido um sulco de encaixe para a sonda periodontal direcionado ao centro da recessão gengival. As medidas clínicas registradas previamente à cirurgia incluirão:

- Índice de placa
- Profundidade de sondagem (PS)
- Nível de inserção clínica (NIC).
- Altura da recessão gengival (HR)

- Largura da recessão gengival (LR)

- Quantidade de mucosa queratinizada (MQ)

- Gengiva inserida (GI)

2.2.6. Questionário do Paciente

Após 7 e 14 dias do pós-operatório, foi aplicado um questionário para avaliação subjetiva da dor do paciente nesses períodos. Os parâmetros foram analisados quantitativamente utilizando a escala de analise visual (VAS) de 0 a 10 (Azaripour et al. 2016).

2.3. Preparo do L-PRF

Previamente à coleta, os tubos de coleta seco (Tampa Vermelha - BD Vacutainer®, São Paulo, SP, Brasil) foram identificados com o nome do paciente. O braço foi garroteado e a veia com maior calibre foi identificada para venopunção. Logo em seguida, foi realizada a assepsia com álcool 70%. A agulha do escalp com bisel voltado para cima, com angulação de 45^0 foi introduzido na veia. Apoiando-se no adaptador de agulhas, o tubo de coleta foi introduzido e 20 ml de sangue foi coletado de cada paciente. Após completa coleta, a agulha foi removida e curativo local foi realizado. O sangue coletado foi imediatamente levado à centrifuga o qual foi centrifugado a 400 G por um período de 12 minutos. Após término da centrifugação, foi aguardado 30 minutos e após este período o concentrado foi coletado e acondicionado na caixa de preparo do L-PRF. Estando a malha de fibrina preparada e padronizada, esta foi levada ao sítio cirúrgico (Eren et al., 2016; Simonpieri et al., 2011; Del Corso, Toffler & Ehrenfest, 2010).

2.4. Procedimento cirúrgico

A anti-sepsia extrabucal foi realizada com polivinilpirolidona-iodado (PVPI) e a intrabucal com gluconato de clorexidina a 0,12% por um minuto. A anestesia foi realizada por infiltração local de cloridrato de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000. Para o preparo do leito receptor e remoção do enxerto palatino foi utilizada uma lâmina 15C montada em cabo de bisturi Bader-Parker. O preparo do leito receptor foi realizado por uma primeira incisão horizontal na altura da margem gengival preservando a papila interdental. A área exposta da raiz foi raspada e aplainada para remover o cemento necrótico e também diminuir a convexidade radicular. Nos casos em que houvesse um degrau na altura da JCE, este seria regularizado por meio de aplainamento com ponta diamantada de granulação extrafina em alta rotação. Uma moldagem antes do procedimento cirúrgico e uma duplicata em placa de acetato com 2mm de espessura foi realizada para confecção de um mapa com tamanho de 7mm x 15mm (LxC) a fim de remover um enxerto gengival livre com 1,5 a 2mm de espessura.

32

No grupo EGL, o enxerto foi posicionado no nível da JCE sobre o leito receptor. Já no Grupo EGL/L-PRF, o enxerto foi posicionado sobre a membrana de L-PRF a qual estava localizada na JCE. Os enxertos foram estabilizados sobre o leito receptor por meio de suturas de posicionamento e compressão (Fig. 1). Estas foram realizadas com fio de sutura vycril 5.0 (Saint Stevens, Woluwe, Belgium). Após coleta dos dados a ferida cirúrgica foi protegida com cimento cirúrgico (Coe-Pak™ periodontal dressing, GC America).

O enxerto gengival sempre envolveu, na área tratada, os dois pré-molares inferiores com ausência de gengiva inserida, sendo que pelo menos um deles deveria apresentar recessão gengival classe II de Miller, objeto de avaliação.

2.4.1. Protocolo pós-cirúrgico

No pós-operatório, foi prescrito o uso de dipirona sódica 500mg a cada 4 horas por 3 dias e bochechos com gluconato de clorexidina a 0,12%, a cada 12 horas, por 4 semanas a partir do segundo dia de pós operatório. Ingestão de dieta pastosa será recomendada durante um período de 14 dias, assim como evitar exercícios físicos, trabalhos pesados e ambientes muito quentes. Aos 7 dias, as suturas foram removidas e o cimento cirúrgico recolocado por mais 7 dias. Após a remoção definitiva do cimento cirúrgico, os pacientes foram instruídos a utilizar uma escova macia e de cabeça pequena para higienizar suavemente a área em reparo. O uso do fio dental foi indicado somente após 4 semanas pós-operatórias. Nas visitas pós-operatórias, foi reforçada a importância do controle adequado de placa bacteriana.

33

33

2.4. Análise estatística

A hipótese de não haver diferenças entre os dados clínicas entre os diferentes tratamentos e períodos, será testada utilizando o software Bioestat 5.0. A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram testados e os mesmos submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo pós teste de Dun. Para todos os testes, o nível de 5% de significância foi adotado.

3. Resultados

3.1. Características dos pacientes

Um total de 50 pacientes foram avaliados para elegibilidade, e 12 pacientes (8 femininos, 4 masculinos) preencheram os critérios de inclusão. A média de idade foi 28 ± 6,22 (18 – 37 anos). Um total de 24 sítios com recessões foram utilizados no estudo clínico (fluxograma CONSORT, Fig.1).

3.2. Características do período inicial

Um total de 24 (EGL: 12, EGL+L-PRF: 12) recessões gengivais foram submetidas a cirurgia mucogengival. As características da avaliação clínica inicial estão presentes na Tabela 1. A média da HR no período inicial foi 2.45± 0.68 mm no grupo EGL e 2.54 ± 0.82 mm no grupo EGL+L-PRF.

3.3. Avaliação clínica

Os resultados clínicos obtidos para altura da recessão, quantidade de mucosa queratinizada, CA e GI estão localizados nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

A medida de HR foi de 0.45 ± 0.68 mm no grupo EGL e 1.45 ± 1.42mm no grupo EGL+L-PRF após 360 dias. Ambos os grupos apresentaram ganho de mucosa queratinizada após 180 dias e manteve-se até a avaliação de 360 dias, contudo o grupo EGL (5.63±0.67) apresentou um ganho significativamente maior do que o grupo EGL+L-PRF (3.00±0.89) no período final. Com relação ao CA, ambos os grupos apresentaram um aumento no CA, sem diferença significativa entre eles.

3.4. Avaliação subjetiva do paciente

Os resultados dos questionários dos pacientes estão presentes na tabela 5. Ambos os grupos reportaram alguma dor no período pós-operatório. Em uma escala que ia de 0 a 10, a dor perceptível após 7 dias foi 3.66±2.16 para o grupo EGL e 5.00±2.75 para o grupo EGL+L-PRF, enquanto após 15 dias foi de 0.83±1.16 para o grupo EGL e 1.00±0.89 para o grupo EGL+L-PRF, sem diferença significante entre os grupos em ambos os períodos.

4. Discussão

No presente estudo, ambas as técnicas EGL e EGL+L-PRF obtiveram resultados favoráveis para redução da altura da recessão e ocorrência do “creepingattachment” após a cirurgia. Os grupos não apresentaram diferenças significantes para a quantidade de CA e a HR. No entanto, ocorreu uma diferença significante para a quantidade de mucosa queratinizada para o grupo EGL. Para o melhor de nosso conhecimento, esse foi o primeiro estudo clínico controlado e randomizado que comparou o EGL e EGL+L-PRF para o tratamento de recessões classe II em pré-molares na região da mandibular. Na literatura recente, o L-PRF tem sido mais utilizado como substituto ou associado ao enxerto de tecido conjuntivo para tratamento de recessões gengivais (Keceli et. al. 2015; Eren & Atilla, 2014, Kuka et. al. 2018). Estes autores reportaram que a utilização do L-PRF não gera um aumento na taxa de recobrimento radicular quando comparado ao grupo controle, entretanto sua utilização proporcionou um aumento de espessura tecidual na área operada, e esse resultado poderia refletir em uma maior quantidade de recobrimento radicular completo.

No referido estudo ocorreu uma taxa de recobrimento das recessões a partir do CA similar ao encontrado em estudos anteriores onde a média de CA era de 0,89 no período de um ano (Bell et al, 1978). Um dos fatores que pode ter propiciado o CA foi a baixa média de idade dos pacientes. O estudo realizado por Vergara & Caffesse demonstra que pacientes entre 20 e 30 anos tem maior porcentagem de recobrimento radicular. Foi observado que todos os pacientes estavam a baixo dos 40 anos de idade, o que poderia justificar a alta taxa de recobrimento radicular. Contudo, pode-se observar que a taxa de recobrimento radicular em pacientes com recessões maiores ou iguais a 3mm foram

menores do que os demais, esses resultados vão de acordo ao presente na literatura evidenciando que recobrimento total do nosso estudo está mais vinculado as características anatômicas da recessão (Matter, 1980, Bell et al, 1978).

A fibrina rica em plaquetas e leucócitos tem sido utilizada como um material de associação graças a seus efeitos, tais como, estimulação da atividade dos fibroblastos, e aumento da angiogênese durante a cicatrização de tecidos moles (Aroca et al. 2009, Gupta et al. 2015). Além do mais, o L-PRF contém uma variedade de citocinas que potencializam o processo de cicatrização tecidual e a incorporação dessas citocinas com a rede de fibrina permite uma liberação gradativa conforme ocorre a desintegração da rede de fibrina (Kumar & Shubhashini, 2013). Entretanto, a não utilização de um protocolo adequado pode gerar diferenças quanto a arquitetura da fibrina e o conteúdo celular do L-PRF. Em uma recente revisão sistemática, os protocolos com 3000 rpm/10min ou 2700 rpm/12min foram os que obtiveram os resultados mais aceitáveis para protocolo de centrifugação (Castro et al. 2016) e o protocolo utilizado nesse estudo foi o de 2700 rpm/12min (Dohan et al. 2006).

Estudos prévios compararam a vascularização após 6 meses, em sítios tratados com o concentrado de plaquetas apresentaram e observaram um número menor de vasos sanguíneos, e essa quantidade foi estatisticamente significante quando comparado ao ECG. Dessa maneira, os autores concluíram que as recessões tratadas com L-PRF possuem uma maturação tecidual mais rápida (Eren et al., 2015[b]). O mesmo grupo de pesquisadores, em outro estudo, avaliaram a concentração de interleucina-1β (IL- β) e metaloproteinase (MMP) no fluido crevicular, e observaram que o L-PRF foi capaz de inibir a elevação IL- β e MMP nos primeiros 10 dias pós-operatório, sugerindo que a utilização do L-PRF, quando comparados aos sítios de ECG, pode auxiliar na defesa e reparo. Entretanto, ao observamos quantidade de mucosa queratinizada do grupo L-

PRF+EGL, pode-se sugerir um comprometimento no processo de reparo desses sítios tratados por essa técnica.

Diversos fatores, incluindo altura da recessão, localização, largura e número de dentes envolvidos podem estar relacionados com tratamento desses defeitos (Sanz & Simion, 2014). No presente estudo, pode-se notar piores resultados do grupo EGL+ L-PRF nos pacientes que apresentavam as maiores alturas de recessão. Nós supomos que, por se tratarem de áreas com maior dificuldade de estabilização do enxerto, recessões mais largas, maior quantidade de superfície de raiz desnuda em contato com o enxerto, o que diminui o suporte sanguíneo de reduz as chances de sucesso. Somado a este fato, os enxertos do grupo L-PRF+EGL posicionados em recessões mais profundas (≥3mm) tiveram uma perda de tecidual maior do que o grupo EGL. Assim, a utilização do L-PRF pode ter dificultado na estabilidade do enxerto, e por se tratarem sítios onde o L-PRF+EGL estariam posicionados sobre uma área com menor aporte sanguíneo, o processo de revascularização do enxerto poderia estar sendo prejudicado nessas regiões.

No presente estudo, observou-se que a utilização do L-PRF associado ao EGL não proporcionou resultados mais favoráveis do que quando comparado ao EGL isoladamente. Esse resultado, pode ter ocorrido por um princípio da cirurgia plástica mucogengival para esse tipo de procedimento, no qual é de fundamental importância que não haja formação de coágulo antes da estabilização do EGL, pois o mesmo pode interferir na microvascularização do enxerto e prejudicar o processo de cicatrização. Dessa forma, apesar do L-PRF possuir fatores de crescimento e citocinas que auxiliam no processo de reparo, a sua estrutura física é de uma rede de fibrinas, que se assemelha a estrutura de um coágulo e ao posicionar o L-PRF no sítio e estabilizar o EGL por cima, as características estruturais do L-PRF podem ter interferido negativamente para a revascularização do enxerto. Assim, seria interessante mais estudos que propusessem essa

associação, porém com uma alteração na técnica, posicionando o enxerto no sítio receptor e o L-PRF sobre o enxerto para avaliar os possíveis benefícios de tal associação.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo clínico randomizado, a utilização do EGL + L-PRF não favoreceu a ocorrência do CA. Outros estudos clínicos randomizados e controlados com diferentes metodologias devem ser propostos para avaliar os efeitos do L-PRF no processo de reparo de cirurgias mucogengivais.

Agradecimentos

À Disciplina de Periodontia e ao Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade de São Paulo – UNESP, Araçatuba, São Paulo, Brasil. À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade de São Paulo-UNESP, Araçatuba, São Paulo.

Referências Bibliográficas

Aroca, S., Keglevich, T., Barbieri, B., Gera, I., e Etienne, D. (2009) Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *J. Periodontol.*, **80** (2), 244–252.

Azaripour, A., Kissinger, M., Farina, V.S.L., Van Noorden, C.J.F., Gerhold-Ay, A., Willershausen, B., Cortellini, P. (2016) Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique. A randomized, double blind, mono-center clinical trial. *J. Clin. Periodonto.*, **43** (12), 1142-1150.

Buti, J., Baccini, M., Nieri, M., La Marca, M., e Pini-Prato, G.P. (2013) Bayesian network meta-analysis of root coverage procedures: ranking efficacy and identification of best treatment. *J. Clin. Periodontol.*, **40** (4), 372–386.

Castro, A.B., Meschi, N., Temmerman, A., Pinto, N., Lambrechts, P., Teughels, W., e Quirynen, M. (2017) Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.*, **44** (1), 67–82.

Camargo, P. M.; Melnick, P. R.; Kenney, E. B. The use of free gingival grafts for aesthetic purposes. *Periodontol 2000*, **27**, p. 72-96.

Chambrone, L., e Tatakis, D.N. (2015) Periodontal soft tissue root coverage procedures: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. *J. Periodontol.*, **86** (2 Suppl), S8-51.

Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.-O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., e Dohan, D.M. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft

maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **101** (3), 299–303.

Del Corso M, Toffler M, Ehrenfest D.M.D. Use of Autologous Leukocyte and Platelet- Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An overview of Choukroun's PRF. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry*. **1** (9), 27-35.

Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., e Gogly, B. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **101** (3), e37-44.

Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., e Gogly, B. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **101** (3), e51-55.

Dohan Ehrenfest, D.M., de Peppo, G.M., Doglioli, P., e Sammartino, G. (2009) Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, **27** (1), 63–69.

Eren, G., Tervahartiala, T., Sorsa, T., e Atilla, G. (2016) Cytokine (interleukin-1beta) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *J. Periodont. Res.*, **51** (4), 481–488.

Eren, G., e Atilla, G. (2014) Platelet-rich fibrin in the treatment of localized gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*, **18** (8), 1941–1948.

Eren, G., Gürkan, A., Atmaca, H., Dönmez, A., e Atilla, G. (2016) Effect of centrifugation time on growth factor and MMP release of an experimental platelet-rich fibrin-type product. *Platelets*, **27** (5), 427–432.

Eren, G., Kantarcı, A., Sculean, A., e Atilla, G. (2016) Vascularization after treatment of gingival recession defects with platelet-rich fibrin or connective tissue graft. *Clin Oral Investig*, **20** (8), 2045–2053.

Gupta, S., Banthia, R., Singh, P., Banthia, P., Raje, S., e Aggarwal, N. (2015) Clinical evaluation and comparison of the efficacy of coronally advanced flap alone and in combination with platelet rich fibrin membrane in the treatment of Miller Class I and II gingival recessions. *Contemp Clin Dent*, **6** (2), 153–160.

Jankovic, S., Aleksic, Z., Klokkevold, P., Lekovic, V., Dimitrijevic, B., Kenney, E.B., e Camargo, P. (2012) Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **32** (2), e41-50.

Keceli, H.G., Kamak, G., Erdemir, E.O., Evginer, M.S., e Dolgun, A. (2015) The Adjunctive Effect of Platelet-Rich Fibrin to Connective Tissue Graft in the Treatment of Buccal Recession Defects: Results of a Randomized, Parallel-Group Controlled Trial. *J. Periodontol.*, **86** (11), 1221–1230.

Kuka, S., Ipci, S.D., Cakar, G., e Yılmaz, S. (2018) Clinical evaluation of coronally advanced flap with or without platelet-rich fibrin for the treatment of multiple gingival recessions. *Clin Oral Investig*, **22** (3), 1551–1558.

Kumar, R.V., e Shubhashini, N. (2013) Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell Tissue Bank*, **14** (3), 453–463.

Lang, N.P., e Löe, H. (1972) The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health. *J. Periodontol.*, **43** (10), 623–627.

Matter, J. (1980) Creeping attachment of free gingival grafts. A five-year follow-up study. *J. Periodontol.*, **51** (12), 681–685.

Miller, P.D. (1985) A classification of marginal tissue recession. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **5** (2), 8–13.

Padma, R., Shilpa, A., Kumar, P.A., Nagasri, M., Kumar, C., e Sreedhar, A. (2013) A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *J Indian Soc Periodontol*, **17** (5), 631–636.

Sanz, M., Simion, M., e Working Group 3 of the European Workshop on Periodontology (2014) Surgical techniques on periodontal plastic surgery and soft tissue regeneration: consensus report of Group 3 of the 10th European Workshop on Periodontology. *J. Clin. Periodontol.*, **41 Suppl 15**, S92-97.

Simonpieri, A., Choukroun, J., Del Corso, M., Sammartino, G., e Dohan Ehrenfest, D.M. (2011) Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent*, **20** (1), 2–12.

Sullivan, H.C., e Atkins, J.H. (1968) Free autogenous gingival grafts. 3. Utilization of grafts in the treatment of gingival recession. *Periodontics*, **6** (4), 152–160.

Vergara, J.A., e Caffesse, R.G. (2004) Localized gingival recessions treated with the original envelope technique: a report of 50 consecutive patients. *J. Periodontol.*, **75** (10), 1397–1403.

Zaher, C.-A., Hachem, J., Puhan, M.A., e Mombelli, A. (2005) Interest in periodontology and preferences for treatment of localized gingival recessions. *J. Clin. Periodontol.*, **32** (4), 375–382.

Tabela 1 – Parâmetros clínicos iniciais.

Avaliação clínica inicial			
	EGL	EGL+L-PRF	Valor de p
PS	1.91±0.66	1.66±0.49	0.612
NIC	4.18±0.87	4.18±1.07	0.859
HR	2.45±0.68	2.54±0.82	0.877
LR	2.54±0.52	2.27±0.46	0.203
MQ	1.00±0.68	1.09±0.73	0.738
GI	0.54±0.52	0.45±0.68	0.586

Tabela 2 – Resultados clínicos para HR e MQ

Resultados clínicos			
	EGL	EGL+L-PRF	Valor de p
Inicial			
HR	2.45±0.68	2.54±0.82	0.877
MQ	1.00±0.68	1.09±0.73	0.738
90 dias			
HR	1.09±0.70*	1.90±1.04	0.064
MQ	5.54±0.68*†	2.90±0.83*	<0.05
180 dias			
HR	0.63±0.80*	1.63±1.36	0.078
MQ	5.54±0.80*†	2.90±0,94*	<0.05
360 dias			
HR	0.45±0.68*	1.45±1.42*	0.085
MQ	5.63±0.67*†	3.00±0.89*	<0.05

*Diferença estatisticamente intergrupo com o período inicial. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).
† Diferença estatisticamente significante intragrupo no mesmo período. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).

Tabela 3 – Resultados clínicos do CA.

Creeping attachment			
	EGL	EGL+L-PRF	Valor de p
90 dias	0.36±0.50	0.27±0.46	0.108
180 dias	0.72±0.46*	0.45±0.52	0.792
360 dias	0.81±0.40*	0.54±0.52	0.448

*Diferença estatisticamente intergrupo com o período de 90 dias. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).

Tabela 4 – Resultados clínicos para GI

Gengiva inserida			
	EGL	**EGL+L-PRF**	**Valor de p**
Inicial	0.45±0.52	0.36±0.50	0.708
360 dias	3.63±0.67*	1.45±1.03	< 0.05

*Diferença estatisticamente intergrupo com o período inicial. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).

Tabela 5 – Avaliação da morbidade do paciente.

Avaliação da morbidade pós-operatória dos pacientes			
	EGL	EGL+L-PRF	Valor de p
7 dias após a cirurgia			
VAS	3.66±2.16	5.00±2.75	0.211
15 dias após a cirurgia			
VAS	0.83±1.16	1.00±0.89	0.624

*Diferença estatisticamente intergrupo com o período inicial. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).
† Diferença estatisticamente significante intragrupo no mesmo período. Kruskal Wallis, seguido de Dunn ($p \leq 0,05$).

Figura 1. Fluxograma CONSORT 2010

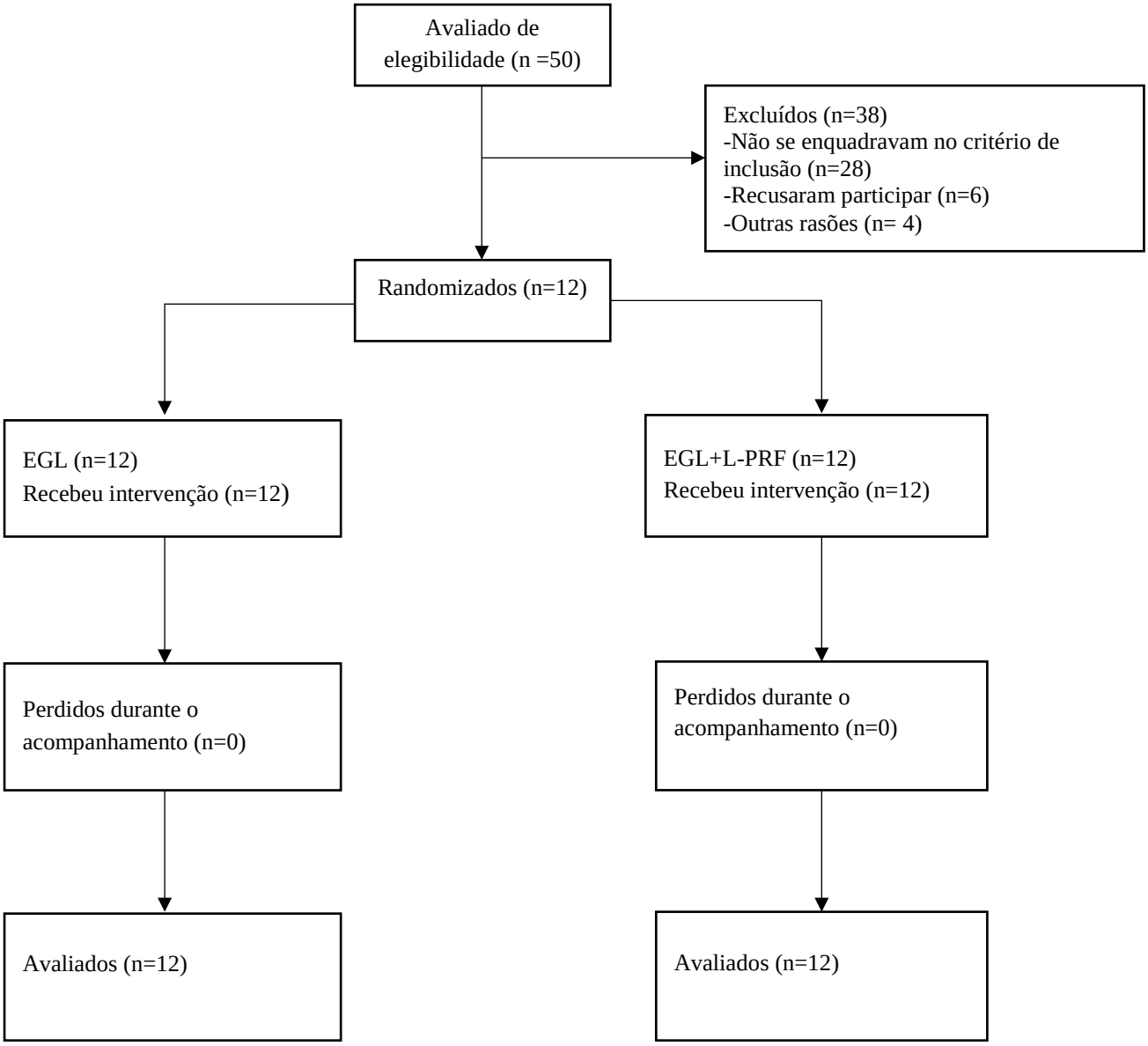
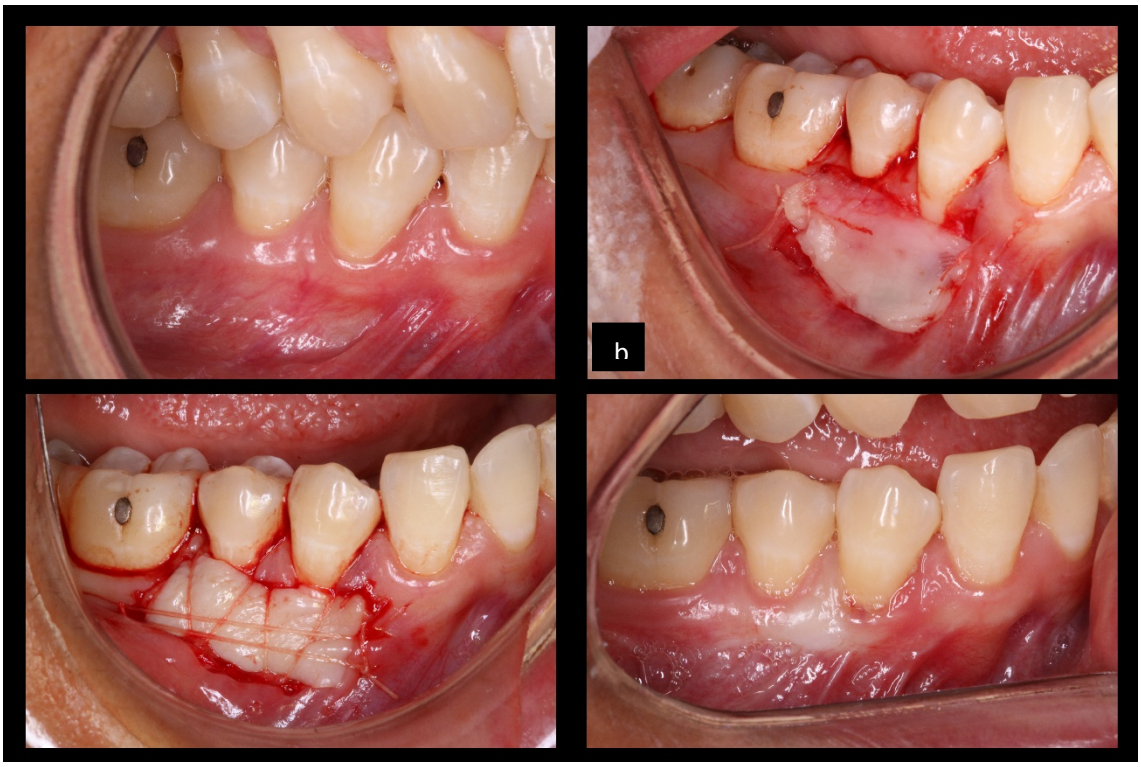


Figura 2. Procedimento cirúrgico. (a) imagem inicial de uma recessão localizada no primeiro pré-molar inferior direito. (b) estabilização da membrana de L-PRF. (c) estabilização do enxerto gengival livre sobre a membrana. (d) Acompanhamento do pós-operatório de 30 dias.



Anexo A – Certificado da Comissão de Ética em Pesquisa em Humanos (CEP)

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: L-PRF associado ao enxerto gengival livre no creeping attachment: Estudo clínico randomizado.

Pesquisador: Juliano Milanezi de Almeida

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 56805016.4.0000.5420

Instituição Proponente: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.662.128

Apresentação do Projeto:

Todos os pacientes tratados neste estudo serão triados e atendidos na clínica de Pós-Graduação do departamento Periodontia da Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista - UNESP. Critérios de inclusão:-Todos pacientes deverão apresentar boa saúde
sistêmica sem qualquer contra-indicação à cirurgia periodontal; -Ter idade entre 18 e 40 anos; -Cada paciente deverá apresentar, bilateralmente, um
ou dois pré-molares inferiores vitais, recessões classe II de Miller não cariosa de ambos os lados, com faixa de tecido queratinizado menor ou igual a
1mm, com nível ósseo interproximal normal e sem perda de altura de papila, com profundidade de sondagem menor do que 3mm e ausência de
sangramento à sondagem e doença periodontal;-O procedimento cirúrgico proposto, seus riscos e benefícios, bem como outras possibilidades de
tratamento, serão explicados para todos pacientes, os quais assinaram um termo de consentimento antes do início do tratamento;-Ausência de
discrasia sanguínea;-O termo de consentimento formal para participação no estudo (Resolução CNS no 196/96) e o protocolo de pesquisa
aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista –UNESP;

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andreberloz@foa.unesp.br

Continuação do Parecer: 2.662.126

-Menos de 20% de índice de placa (Almano & Bay, 1975) e de sangramento à sondagem (Muhlemann & Son, 1971) após 4 semanas da terapia inicial; Critérios de exclusão:-Apresentar hábito tabagista; -Apresentar contra-indicação para realização de cirurgia periodontal; -Fazer uso de medicação que puder interferir com o reparo e a cicatrização gengival;-Pacientes com história de alcoolismo; -Usuários de drogas ilícitas;- Cardiopatas;-Pacientes que estão sob intervenção ortodôntica;-Diabéticos descompensados; -Pacientes irradiados;-Pacientes com discrasias sanguíneas;-Pacientes que se submeteram a tratamento com esteróides por longo período. Os pacientes selecionados de acordo com os critérios de inclusão para o estudo, receberão escovas dentais padronizadas com cerdas macias (Oral B- 30) e serão instruídos quanto à importância da higiene oral, não devendo ser realizada de forma traumática. As medidas clínicas registradas previamente à cirurgia incluirão: índice gengival, índice de placa, altura da recessão gengival (HR), largura da recessão gengival (LR), quantidade de gengiva queratinizada (GQ), profundidade de sondagem (PS), gengiva inserida (GI) e nível de inserção clínica (NIC).Através de um programa computacional os tratamentos realizados em cada paciente serão divididos da seguinte forma: -Grupo EGL (n=20): Preparo do leito receptor, mantendo as papilas e sutura do enxerto gengival Livre (EGL) no nível da junção cemento-esmalte (JCE);-Grupo EGL/L-PRF (n=20): Preparo do leito receptor, mantendo as papilas, estabilização da membrana de L-PRF no leito receptor e sutura do EGL no nível da JCE. No grupo EGL, o enxerto será posicionado no nível da JCE sobre o leito receptor. Já no Grupo EGL/L-PRF, o enxerto será posicionado sobre a membrana de L-PRF a qual estará localizada na JCE. Para a coleta veia do braço com maior calibre será identificada para venopunção. Será coletado 20 ml de sangue e imediatamente levado à centrífuga o qual será centrifugado a 400 g por um período de 12 minutos. Após término da centrifugação, será aguardado 30 minutos e após este período as fibrinas serão coletadas e colocadas na caixa de preparo do L-PRF. No pós-operatório, serão realizadas medições aos 30, 90, 180 e 360 dias. Na qual serão realizadas novas tomadas radiográficas com os posicionadores indexados, também será registrada

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: andreberloz@foa.unesp.br

a altura da recessão gengival (HR), mucosa
queratinizada (MQ), altura do enxerto (HE) e profundidade de sondagem (PS). Aos 90, 180 e 360 dias, será realizada a avaliação da quantidade de
CA. Este será calculado como a diferença entre a recessão presente aos 30 dias e a presente nos demais períodos avaliados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Constituem objetivos específicos do presente estudo, avaliar o efeito do tratamento de recessões gengivais classe II de Miller com enxerto gengival
livre associado ao L-PRF no creeping attachement do enxerto por meio da avaliação clínica do recobrimento radicular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Toda pesquisa clínica possui seus riscos moderados, no entanto os procedimentos a serem realizados estão bem fundamentados na literatura.

Benefícios:

As técnicas cirúrgicas empregadas irão favorecer a saúde do elemento dental, sendo que no grupo teste o processo de reparo terá a tendência de
ser mais favorável que o grupo controle, face aos diferentes estudos apresentados na literatura com o uso do L-PRF em promover o processo de
reparo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa apresenta se apta para a sua realização.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa L-PRF associado ao enxerto gengival livre no creeping attachment: Estudo clínico randomizado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/10/2018.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_694149.pdf	23/04/2018 17:44:37		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	06/03/2018 14:25:10	Breno Edson Sendão Alves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/08/2017 07:49:33	Breno Edson Sendão Alves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	07/06/2016 15:35:44	Juliano Milanezi de Almeida	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

ARACATUBA, 18 de Maio de 2018

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador)

Anexo B - Normas para Publicação segundo o Periódico - Journal of Clinical Periodontology.

Author Guidelines

Content of Author Guidelines: 1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Manuscript Submission Procedure, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance

Relevant Document: Sample Manuscript

Useful Websites: Submission Site, Articles published in *Journal of Clinical Periodontology*, Author Services, Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL

Journal of Clinical Periodontology publishes original contributions of high scientific merit in the fields of periodontology and implant dentistry. Its scope encompasses the physiology and pathology of the periodontium, the tissue integration of dental implants, the biology and the modulation of periodontal and alveolar bone healing and regeneration, diagnosis, epidemiology, prevention and therapy of periodontal disease, the clinical aspects of tooth replacement with dental implants, and the comprehensive rehabilitation of the periodontal patient. Review articles by experts on new developments in basic and applied periodontal science and associated dental disciplines, advances in periodontal or implant techniques and procedures, and case reports which illustrate important new information are also welcome.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Journal of Clinical Periodontology*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell's Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Journal of Clinical Periodontology adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

Journal of Clinical Periodontology adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisiation of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.
Please note that it is a requirement to include email addresses for all co-authors at submission. If any of the email-addresses supplied are incorrect the corresponding author will be contacted by the journal administrator.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full

accordance with ethical principles, including the World Medical AssociationDeclaration of Helsinki (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/, http://isrctn.org/. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

2.5 Conflict of Interest and Source of Funding

Journal of Clinical Periodontology requires that all authors (both the corresponding author and co-authors) disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or indirectly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include but are not limited to patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. If authors are unsure whether a past or present affiliation or relationship should be disclosed in the manuscript, please contact the editorial office at cpeedoffice@wiley.com. The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal.

The above policies are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the International Committee of Medical Journal Editors (http://www.icmje.org/). It is the responsibility of the corresponding author to have all authors of a manuscript fill out a conflict of interest disclosure form, and to upload all forms together with the manuscript on submission. The disclosure statement should be included under Acknowledgements. Please find the form below:

Conflict of Interest Disclosure Form

2.6 Appeal of Decision

Under exception circumstances, authors may appeal the editorial decision. Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by e-mailing the editorial office at cpeedoffice@wiley.com with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision.

Please note that all revisions and resubmissions of papers should also include a separate rebuttal and a tracked changes document to assist in peer review.

2.7 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available on the submission site. Further assistance can be obtained from the Senior Editorial Office Assistant, Kim Harris, at cpeedoffice@wiley.com.

Please note that all revisions and resubmissions of papers should also include a separate rebuttal and a tracked changes document to assist in peer review.

3.1. Manuscript Files Accepted

Main manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected). The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, clinical reference, main text, references, acknowledgement, statement of source of funding and any potential conflict of interest, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference any figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc. to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded.

Figure files should be uploaded separately to the main text. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing.

Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

Please ensure that ALL items (figures and tables) are cited in the main text.

3.2. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Journal of Clinical Periodontology* will be reviewed by two or more experts in the field. Papers that do not conform to the general aims and scope of the journal will, however, be returned immediately without review. *Journal of Clinical Periodontology* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.3. Suggest a Reviewer

Journal of Clinical Periodontology attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the name and current email address of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the editor will choose one or two reviewers as well.

3.4. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.5. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.6 Resubmissions

If your manuscript was given the decision of reject and resubmit, you might choose to submit an amended version of your manuscript. This should be submitted as a new submission following the guidelines above under 3.2. In addition you should upload comments to the previous review as “supplementary files for review”.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Journal of Clinical Periodontology publishes **original research articles**, **reviews**, **clinical innovation reports** and **case reports**. The latter will be published only if they provide new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician. It is expected that any manuscript submitted represents

unpublished original research.

Original Research Articles must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

Clinical Innovation Reports are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

Case Reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors´ own previous work, so extensive citation of the authors´ own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. It is preferred that manuscript is professionally edited. Please refer to English Language Editing Services offered by Wiley at http://wileyeditingservices.com/en/.

Japanese authors can also find a list of local English improvement services at http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: *Journal of Clinical Periodontology* adheres to the conventions outlined in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors. Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used.

5.2. Structure

All articles submitted to Journal of Clinical Periodontology should include:

- Title Page
- Conflict of Interest and Source of Funding
- Clinical Relevance
- Abstract
- I ntroduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- References
- Tables (where appropriate)
- Figure Legends (where appropriate)
- Figures (where appropriate and uploaded as separate files)

All manuscripts should emphasize clarity and brevity. Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and be clearly explained where its use is unavoidable.

Title Page: The title must be concise and contain no more than 100 characters including spaces. The title page should include a running title of no more than 40 characters; 5-10 key words, complete names of institutions for each author, and the name, address, telephone number, fax number and e-mail address for the corresponding author.

Conflict of Interest and Source of Funding: Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Source of Funding Statement".

See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's Editorial on Conflict of Interest and Source of Funding and www.icmje.org/#conflicts for generally accepted definitions.

Abstract: is limited to 200 words in length and should not contain abbreviations or references. The abstract should be organized according to the content of the paper.

For Original Research Articles the abstract should be organized with **aim, materials and methods, results and conclusions**.

For clinical trials, it is encouraged that the abstract finish with the clinical trial registration number on a free public database such as clinicaltrials.gov.

Clinical Relevance: This section is aimed at giving clinicians a reading light to put the present research in perspective. It should be no more than 100 words and should not be a repetition of the abstract. It should provide a clear and concise explanation of the rationale for the study, of what was known before and of how the present results advance knowledge of this field. If appropriate, it may also contain suggestions for clinical practice.

It should be structured with the following headings: **scientific rationale for study, principal findings, and practical implications**.

Authors should pay particular attention to this text as it will be published in a highlighted box within their manuscript; ideally, reading this section should leave clinicians wishing to learn more about the topic and encourage them to read the full article.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

5.3. Original Research Articles

These must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

The word limit for original research articles is 3500 words, and up to 7 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

Main Text of **Original Research Articles** should be organized with

- Introduction,
- Materials and Methods,
- Results and Discussion.
- References (Harvard, see section 5.7)

The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Please see Sample Manuscript.

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation.

Material and Methods: must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This includes antibodies and the constructs used to make transgenic animals, although not the animals themselves.

(a) Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material. If your study is a randomized clinical trial, you will need to fill in all sections of the CONSORT Checklist. If your study is not a randomized trial, not all sections of the checklist might apply to your manuscript, in which case you simply fill in N/A.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

(b) Statistical Analysis: As papers frequently provide insufficient detail as to the performed statistical analyses, please describe with adequate detail. For clinical trials intention to treat analyses are encouraged (the reasons for choosing other types of analysis should be highlighted in the submission letter and clarified in the manuscript).

(c) DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations: Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

(d) Experimental Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

Results: should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations.

Discussion: may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The discussion section should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

The discussion may usefully be structured with the following points in mind (modified from the proposal by Richard Horton (2002), The Hidden Research Paper, The Journal of the American Medical Association,

287, 2775-2778). Not all points will apply to all studies and its use is optional, but we believe it will improve the discussion section to keep these points in mind.

Summary of key finding
* Primary outcome measure(s)
* Secondary outcome measure(s)
* Results as they relate to a prior hypothesis
Strengths and Limitations of the Study
* Study Question
* Study Design
* Data Collection
* Analysis
* Interpretation
* Possible effects of bias on outcomes
Interpretation and Implications in the Context of the Totality of Evidence
* Is there a systematic review to refer to?
* If not, could one be reasonably done here and now?
* What this study adds to the available evidence
* Effects on patient care and health policy
* Possible mechanisms
Controversies Raised by This Study Future Research Directions
* For this particular research collaboration
* Underlying mechanisms
* Clinical research

5.4. Clinical Innovation Reports

These are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards**.**

The word limit for clinical innovation reports is 3000 words, and up to 12 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

The main text of Clinical Innovation Reports should be organized with

- Introduction,
- Clinical Innovation Report,
- Discussion and Conclusion
- References (see section 5.7)

5.5. Case Reports

Case reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

The main text of Case Reports should be organized with

- Introduction,
- Case report,
- Discussion and Conclusion
- References (see section 5.7)

5.6. Reviews

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors´ own previous work, so extensive citation of the authors´ own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

The word limit for reviews is 4000 words.

The main text of Reviews should be organized with

- Introduction,
- Review of Current Literature,
- Discussion and Conclusion
- References (see section 5.7)

5.7. References
It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

References should be prepared according to the Publication Manual of the American Psychological Association (6th edition). This means in text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the APA FAQ. Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article

Beers, S. R. , & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. The American Journal of Psychiatry, 159, 483–486. doi:10.1176/appi.ajp.159.3.483

Book
Bradley-Johnson, S. (1994). Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

Chapter in an Edited Book
Borstrøm, I., & Elbro, C. (1997). Prevention of dyslexia in kindergarten: Effects of phoneme awareness training with children of dyslexic parents. In C. Hulme & M. Snowling (Eds.), Dyslexia: Biology, cognition and intervention (pp. 235–253). London: Whurr.

Internet Document
Norton, R. (2006, November 4). How to train a cat to operate a light switch [Video file]. Retrieved from *http://www.youtube.com/watch?v=Vja83KLQXZs*

Please note that all unpublished papers (submitted or in press) included in the reference list should be provided in a digital version at submission. The unpublished paper should be uploaded as a supplementary file for review.

5.8. Tables, Figures and Figure Legends
Tables: should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.
Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Each copy should be marked with the figure number and the corresponding author's name. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the

smallest size at which essential details are visible.

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size. Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by thin spaces (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

Preparation of Electronic Figures for Publication
Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.
Detailed information on our digital illustration standards can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp.
Check your electronic artwork before submitting it: http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp.

Guidelines for Cover Submission
If you would like to send suggestions for artwork related to your manuscript to be considered to appear on the cover of the journal, please follow these guidelines.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

Figure Legends: should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

5.9. Supplementary Material
Supplementary material, such as data sets or additional figures or tables that will not be published in the print edition of the Journal but which will be viewable in the online edition, can be uploaded as 'Supporting information for review and online publication only'.

Please see **http://authorservices.wiley.com/bauthor/suppmat.asp** for further information on the submission of Supplementary Materials.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections
The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html . This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor

within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

The Journal of Clinical Periodontology is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Production Tracking

Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with **Wiley-Blackwell's Author Services**.

6.4 Accepted Articles

'Accepted Articles' have been accepted for publication and undergone full peer review but have not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance, appear in PDF format only (without the accompanying full-text HTML) and are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked. The DOI remains unique to a given article in perpetuity. More information about DOIs can be found online at http://www.doi.org/faq.html. Given that Accepted Articles are not considered to be final, please note that changes will be made to an article after Accepted Article online publication, which may lead to differences between this version and the Version of Record. The Accepted Articles service has been designed to ensure the earliest possible circulation of research papers after acceptance. Given that copyright licensing is a condition of publication, a completed copyright form is required before a manuscript can be processed as an Accepted Article.

Accepted articles will be indexed by PubMed; therefore the submitting author must carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript, as it will not be possible to alter these once a paper is made available online in Accepted Article format.

6.5 Video Abstracts

Bring your research to life by creating a video abstract for your article! Wiley partners with Research Square to offer a service of professionally produced video abstracts. Learn more about video abstracts at www.wileyauthors.com/videoabstracts and purchase one for your article at https://www.researchsquare.com/wiley/ or through your Author Services Dashboard. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

7. OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

8. Copyright Assignment

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will

receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions: http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.aspand visit http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant selfarchiving policy please visit: http://www.wiley.com/go/funderstatement.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.aspand visit http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html.

Subsequently the final copyedited and proofed articles will appear either as Early View articles in a matter of weeks or in an issue on Wiley Online Library; thelink to the article in PubMed will automatically be updated.