



JOSÉ MARCOS ALVES FERNANDES

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS ASSOCIADO A ENXERTO
ÓSSEO AUTÓGENO E A MEMBRANA ABSORVÍVEL NO
TRATAMENTO DE LESÕES DE FURCA GRAU III.
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM CÃES**

**ARARAQUARA
2004**



JOSÉ MARCOS ALVES FERNANDES

**PLASMA RICO EM PLAQUETAS ASSOCIADO A ENXERTO
ÓSSEO AUTÓGENO E A MEMBRANA ABSORVÍVEL NO
TRATAMENTO DE LESÕES DE FURCA GRAU III.
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM CÃES**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, do Campus de
Araraquara, como requisito para a obtenção do
Título de Doutor em Odontologia (Área de
concentração: *PERIODONTIA*).**

Orientador: Prof. Dr. *Joni Augusto Cirelli*

**ARARAQUARA
2004**

Fernandes, José Marcos Alves

Plasma rico em plaquetas associado a enxerto ósseo autógeno e a membrana absorvível, no tratamento de lesões de furca grau III. Estudo histomorfométrico em cães. / José Marcos Alves Fernandes. – Araraquara: [s.n.], 2004.
88 f. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

1. Defeitos de furca 2. Plasma rico em plaquetas 3. Regeneração tecidual guiada 4. Membrana absorvível I. Título.

Agradecimentos

A DEUS por ter sempre me auxiliado em todos os momentos na concretização deste trabalho.

Dedico este trabalho à memória do meu pai, que durante sua vida foi o meu maior incentivador.

A minha mãe e meus irmãos, pelo esforço conjunto no desenrolar desta jornada.

*A minha esposa **Maria Inez** e meus filhos **Marcos Leonardo** e **Paulo Vitor**, pela compreensão, apoio e pelo muito que significam em minha vida.*

*À Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa da Diretora, Profa. Dra. **Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio**.*

*Ao Prof. Dr. **Joni Augusto Cirelli**, pela orientação científica, amizade e valiosa colaboração na execução desta pesquisa.*

*A todos os Professores do Departamento de Periodontia desta Faculdade e de
outros Departamentos.*

*Ao Prof. Dr. Luis Carlos Spolidório, pela colaboração na parte histológica
descritiva.*

*Ao Prof. Dr. Romeu Magnani do Instituto de Química da UNESP, pela
elaboração da análise estatística.*

*A Andréa Márcia Marcaccini, Emílio Barbosa e Silva, Vanessa
Camila da Silva e Daniela Grisi, pela amizade e grandecolaboração no
desenvolvimento da parte experimental.*

*Aos colegas de Pós-graduação, funcionários e a todos que de alguma forma
colaboraram na concretização deste trabalho.*

Sumário

INTRODUÇÃO.....	05
REVISÃO DA LITERATURA.....	09
PROPOSIÇÃO.....	26
MATERIAL E MÉTODO.....	27
RESULTADO.....	45
DISCUSSÃO.....	62
CONCLUSÃO.....	69
REFERÊNCIAS.....	70
RESUMO.....	87
ABSTRACT.....	88

Introdução

O objetivo ideal da terapia periodontal é a eliminação das doenças periodontais e a recuperação dos tecidos destruídos por estas.⁴⁴ No entanto, o completo restabelecimento periodontal com resolução dos defeitos ósseos, atualmente, continua sendo um desafio, principalmente nas lesões mais extensas como os defeitos de furca grau III.^{14,15} Várias técnicas têm sido desenvolvidas no sentido de buscar um tratamento adequado para a resolução destes defeitos, variando desde técnicas ressectivas, até técnicas conservadoras e/ou regenerativas que buscam proporcionar a reconstituição dos tecidos originais.^{6,25}

Diversas técnicas, procedimentos e materiais têm sido propostos com o intuito de se obter a regeneração dos tecidos destruídos pela doença periodontal. Dentre elas o deslocamento coronário do retalho^{3,34,82,87}, o condicionamento químico radicular^{70,75}, a regeneração tecidual guiada (RTG)^{29,61}, os enxertos ósseos autógenos^{9,22,49,56,57}, e de materiais aloplásticos^{24,93}, fatores de crescimento (FC)^{4,45,50} e a combinação dos procedimentos citados.

Apesar da multiplicidade de materiais e técnicas descritas na literatura, o sucesso no tratamento das lesões de furca grau II e III tem sido limitado pela dificuldade de se obter um adequado fechamento dessas lesões. Geralmente, um rompimento mecânico do coágulo sanguíneo, com subsequente contaminação salivar e bacteriana, favorece a migração epitelial ao longo da superfície radicular, impedindo uma nova inserção do tecido conjuntivo.^{53,88} A

proteção da interface coágulo sanguíneo/superfície radicular nos estágios iniciais de cicatrização parece ser essencial quando se deseja obter regeneração dos tecidos perdidos.^{69,88} Das técnicas citadas, a RTG apresenta vantagens quanto a estes requisitos. Proposta inicialmente por Nyman et al.⁶¹, em 1982, esta técnica utiliza uma membrana que age como uma barreira mecânica, colocada entre o retalho mucoperióstico e o defeito periodontal, com os seguintes objetivos: impedir a migração epitelial para dentro do defeito, excluir o tecido conjuntivo gengival do retalho no local da lesão e favorecer o repovoamento da superfície radicular por células progenitoras provenientes do ligamento periodontal. Desta forma, esta técnica contribui para a formação de nova inserção promovendo ainda, a manutenção de um espaço regenerativo e a retenção do coágulo sanguíneo.³² No entanto, não existe uma previsibilidade de resultado quando do uso da RTG²⁵, sendo o emprego do termo regeneração, no contexto desta técnica, questionada por alguns autores^{7,35}.

Considerável atenção tem sido dirigida à aplicação de FC e de diferenciação celular para aumentar o potencial regenerativo no processo de cicatrização da ferida. Produtos de plaquetas e liberação múltipla de FC são decisivos para a estimulação e regulação desta cicatrização, incluindo entre estes o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF).⁸⁶

A aplicação tópica dos PDGF tem sido estudada por acelerar a cicatrização dos tecidos moles em modelos de feridas experimentais.⁶⁷ Recentes evidências sugerem que os PDGF podem aumentar a regeneração e o reparo periodontal.⁶⁵ Estudos com culturas de células suportam que os PDGF tem um

significante papel no processo de cicatrização de feridas, além disso, demonstra capacidade para estimular a quimiotaxia, ativação celular e proliferação de fibroblastos e células semelhantes a osteoblastos.⁵⁴

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é derivado de uma preparação autógena de um concentrado de plaquetas, formado através da concentração do sangue. O concentrado de plaquetas é ativado por meio do cloreto de cálcio, e o resultado dessa ativação é a liberação de uma cascata de FC presentes nos grânulos a das plaquetas.⁷⁹ Os sete FC conhecidos no PRP são: Fatores de Crescimento Derivados de Plaquetas (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB), Fatores de Crescimento Transformador Beta (TGF- β_1 , TGF- β_2), Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento Epitelial (EGF) os quais podem favorecer e acelerar a maturação do enxerto ósseo⁵², além desses, Marx,⁵¹ (1999), e Petrunaro,⁶⁶ (2001), acrescentam o Fator Angiogênese Derivado de Plaquetas (PDAF) e os Fatores de Crescimento Semelhante a Insulina (IGF). O mecanismo de ação do PRP seria principalmente na liberação desses FC a partir do coágulo de fibrina, rico nestes componentes.^{50,91}

Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado resultados promissores com o emprego do PRP na atividade de reparo de fibroblastos, na cicatrização da ferida, na capacidade de estimular a quimiotaxia e proliferação de células semelhantes a osteoblastos.^{54,74} Na maioria dos estudos, o PRP é associado a materiais de enxerto promovendo melhora das propriedades do material em casos de aumento de rebordo, elevação do seio maxilar, tratamento de defeitos

perimplantares e significantes aumentos na regeneração óssea em defeitos criados cirurgicamente em cães.^{4,5,47,48,50,66,79}

Tendo em vista os resultados obtidos em estudos com o PRP e a dificuldade de se conseguir terapias eficazes que resultem em regeneração periodontal nos defeitos de fôrca III, o uso desse produto, rico em FC, associado a enxerto ósseo autógeno e à técnica de RTG pode ser uma alternativa de tratamento, na qual a associação de técnicas busca maior previsibilidade para este tipo de lesão.

Revisão da literatura

As plaquetas são consideradas o componente mais importante quando o enfoque é modulação cicatricial para enxertos ósseos, devido a capacidade de liberar FC.^{51,91}

Dois terços das plaquetas circulam no sangue periférico num período de 9-11 dias, e 1/3 fica armazenado no baço. Elas possuem um aparato de síntese de proteína rudimentar, e sua função é o armazenamento e transporte de FC nela existentes, os quais são liberados quando as plaquetas são expostas a agentes tais como trombina e colágeno. Conseqüentemente, a liberação desses mitógenos requer uma contínua liberação de novas plaquetas.^{33,85,90}

Os FC são uma sub das citocinas que especificamente estimulam a proliferação de células. As citocinas são moléculas de proteínas secretadas por uma célula, em pequenas quantidades, as quais irão se ligar a receptores presentes em uma outra célula, permitindo assim uma comunicação entre as mesmas. Quando esta proteína é liberada na circulação e afeta células em áreas distantes tem uma resposta endócrina. Quando a célula secreta uma proteína para estimular uma célula da vizinhança, a resposta é chamada de parácrina. Proteínas podem ser liberadas por uma célula e se ligar aos receptores dessa própria célula numa resposta autócrina. A denominação FC é mal empregada para descrever essas citocinas, pois embora elas apresentem a propriedade de proliferação celular,

possuem outras funções como: diferenciação celular, síntese de DNA, quimiotaxia por outras células, síntese de matriz e, em alguns casos, um determinado FC tem a habilidade de afetar todos os aspectos do fenótipo celular.³¹

Os FC têm o potencial de melhorar o reparo de feridas através de vários mecanismos: 1- apresentam quimiotaxia para células inflamatórias e fibroblastos para a região da ferida; 2- agem como mitógenos estimulando a proliferação celular; 3- podem estimular a angiogênese e o crescimento interno de vasos sanguíneos; 4- atuam na produção e degradação da matriz extracelular e 5- influenciam na síntese de citocinas e FC pelas células adjacentes.³¹

Estudos específicos do PRP identificaram uma lista completa dos FC em sua composição. Destes, pelo menos três importantes FC são derivados dos grânulos α -plaquetários, a saber: Fatores de Crescimento Derivados de Plaquetas (PDGF), Fatores de Crescimento de Transformação Beta (TGF- β s) e os Fatores de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF-I).^{4,47,51}

O PDGF é uma glicoproteína e tem uma estrutura formada por duas cadeias básicas de aminoácidos “A e B”^{4,51}. A cadeia “A” é formada por 121 aminoácidos e a cadeia “B” por 125, as quais apresentam similaridade de até 60%.⁵¹ A sua estrutura dimérica, com dois sítios de ligação, permite a união com receptores adjacentes para iniciar o processo de sinalização celular, sendo que os receptores *alfa* ligam-se às cadeias A e B, enquanto os receptores *beta* ligam-se somente às cadeias B. Estes receptores (*alfa e beta*) estão presentes em vários tipos de células, incluindo osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal.^{46,51}

Os PDGF são os principais FC do PRP, por serem os primeiros a estar presente na ferida e guiar a revascularização, a síntese de colágeno e a regeneração óssea.^{54,84}

De acordo com Ross,⁷⁷ (1987), quando os PDGF são expostos a células susceptíveis, eles as induzem a migrar. Vários eventos intracelulares ocorrem após a exposição aos PDGF, alguns imediatamente, tais como a autofosforilação dos receptores dos PDGF, que leva ao aumento da mitose e a síntese de DNA.

Os PDGF tem um papel importante no reparo. Ele é primeiramente liberado pelas plaquetas no local da injúria, iniciando o processo de reparo devido às suas propriedades quimiotáticas para leucócitos e fibroblastos. Os PDGF liberados pelos macrófagos têm um importante papel na continuação do processo de reparo.⁷⁶

Os TGFβs existentes e mais comuns no PRP são os TGF-β₁ e TGF-β₂, que são FC ligados à cicatrização do tecido conjuntivo e à regeneração do tecido ósseo respectivamente.⁵¹ As funções mais importantes do TGF-β₁ e β₂ parecem ser a quimiotaxia e a mitogênese dos osteoblastos estimulando a formação óssea.⁴⁷ Quando atuam sobre os osteoclastos, por exemplo, inibem a reabsorção óssea.^{4,51,91}

O terceiro grupo de FC mais comum no PRP são os IGF. Os IGF são secretados pelos osteoblastos durante a formação óssea para aumentar a osteogênese e acelerar a deposição óssea.^{28,51} Existem dois tipos de IGF: IGF-I e IGF-II, cada um deles se adere a um receptor da membrana celular IGF específico,

que estimula a atividade mitogênica de células formadoras de osso.^{28,51} Ambos apresentam propriedades biológicas semelhantes, porém, o IGF-I é quatro a sete vezes mais potente que o IGF-II.⁴⁵

Devido a escassez de trabalhos utilizando o PRP em periodontia, optamos por incluir nesta revisão da literatura os principais estudos realizados com FC específicos mais presentes no PRP.

PDGF - Estudos em animais

Lynch et al.,⁴⁶ (1989), relataram observações iniciais da aplicação de PDGF e IGF-I em dentes de três cães beagle, com periodontite de ocorrência natural. Foram utilizados, em cada cão, cinco dentes pré-molares em um quadrante para o estudo com os FC e sete pré-molares contra-laterais (controles) somente com o veículo. Todos os dentes estudados exibiam, inicialmente, evidências radiográficas de perda óssea horizontal de 30 a 80%. Duas semanas após a cirurgia os animais foram sacrificados. A análise histológica do grupo controle revelou um epitélio juncional longo e nenhuma formação óssea e cementária. Os sítios tratados com FC exibiram quantidades significantes de novo osso e novo cimento, e uma camada quase contínua de osteoblastos enfileirados sob o osso recentemente formado. Estes resultados preliminares sugerem que a aplicação *in vivo* da associação de PDGF e IGF-I pode aumentar a regeneração das estruturas periodontais.

Lynch et al.,⁴⁷ (1991), avaliaram histologicamente o efeito, a curto prazo, da aplicação de uma associação de PDGF e IGF-I sobre a cicatrização de feridas periodontais. Para testar esta hipótese, foram realizadas cirurgias periodontais convencionais nos quatro quadrantes da boca de 13 cães beagles com ocorrência de doença periodontal natural. Todos os dentes pré-molares em dois quadrantes de cada cão receberam uma combinação de 3µg da associação de PDGF-B e IGF-I, mais um gel de metilcelulose, enquanto que nos pré-molares contra-laterais (controle) somente o gel. A análise histológica computadorizada de biópsias obtidas em duas e cinco semanas pós-operatório, revelou um aumento em dobro de novo osso e cemento nos sítios tratados com PDGF-B/IGF-I quando comparado ao grupo controle. Formou-se também um espaço de ligamento periodontal fisiológico entre o novo osso e novo cemento. Este estudo, segundo os autores, demonstra que a aplicação a curto prazo da associação de PDGF-B e IGF-I pode aumentar significativamente a formação do aparato de inserção durante a fase inicial de cicatrização da ferida cirúrgica.

Giannobile et al.,²⁶ (1994), realizaram estudos para comparar terapias regenerativas periodontais seguidas de uma única aplicação de PDGF/IGF-I em dois modelos de animais geralmente usados, cães beagle e macacos. Os cães selecionados para este estudo tinham defeitos do tipo horizontal e vertical com aproximadamente 30 a 80% de perda óssea. Foram utilizados pré-molares e 1^{os} molares de ambos os arcos. Nos macacos com doença periodontal induzida por ligadura foram utilizados os incisivos laterais maxilares, pré-molares e 1^{os} molares

maxilar e mandibular. Grupo teste - PDGF/IGF-I, grupo controle - cirurgia e placebo. Medidas clínicas da altura óssea na hora da aplicação do tratamento revelavam profundidades de defeitos ósseos de 4.5 mm nos cães e 2.9 mm nos macacos. Os resultados, após um mês, mostraram que o grupo teste resultou em um aumento de 64,1% e 51.4% na formação de nova inserção em macacos e cães, respectivamente, enquanto nos controles foi de 34.1% e 8,6%, respectivamente. O preenchimento ósseo no grupo teste foi de 21.6% e 65% nos macacos e cães, respectivamente, e os controles de 8.5% e 14.5%, respectivamente. Os resultados positivos destes dois modelos animais, tratados com PDGF/IGF-I, podem justificar testes clínicos em humanos para uma suposta terapia regenerativa.

Park et al.,⁶⁵ (1995), analisaram histologicamente e morfometricamente a eficácia de uma terapia regenerativa intitulada de PDGF-BB Modulada, associada à Regeneração Tecidual Guiada (RTG-P), comparando-a ao tratamento somente com RTG, no reparo e regeneração de defeitos de furca grau III, em seis cães beagle. Defeitos de furca horizontais foram criados ao redor do segundo (P2) e quarto (P4) pré-molares, com profundidade de sondagem de 4,5 mm e 5,5 mm respectivamente. Foi colocada uma ligadura ortodôntica ao redor da junção cimento esmalte (JCE) das furcas e deixada por quatro semanas para induzir a doença periodontal crônica. Após desmineralização da superfície radicular com ácido cítrico, as superfícies dos P2 e P4 esquerdos foram tratados com PDGF + membrana periodontal (terapia de RTG-P), e os dentes contra-laterais tratados somente com veículo (terapia de RTG). Após um período de cinco, oito e

onze semanas da reconstrução cirúrgica, dois cães foram sacrificados. Os resultados mostraram que nas cinco primeiras semanas, em ambas terapias, as lesões foram preenchidas primariamente por epitélio, tecido inflamado, pequena quantidade de nova formação de tecido conjuntivo fibroso e uma área livre de tecido. Na 8^a e 11^a semana após terapia com RTG-P as lesões apresentavam estatisticamente uma maior quantidade de osso e ligamento periodontal, menos epitélio e área livre de tecido, menos tecido inflamado e menos tecido conjuntivo. Após a 8^a semana de terapia com RTG-P houve uma quase completa regeneração periodontal, e na 11^a semana uma completa regeneração. No grupo controle, na 8^a semana, nenhuma formação óssea e cementária foi observada, já na 11^a semana somente os 2/3 apicais foram preenchidos com novo osso e ligamento periodontal. Conseqüentemente, a terapia com RTG-P efetivamente promove regeneração periodontal com reprodutibilidade.

Cho et al.,¹⁸ (1995), realizaram um estudo para desenvolver uma terapia regenerativa efetiva, capaz de conseguir regeneração periodontal sem anquilose em defeitos de furca III nos 2^o e 4^o pré-molares, com profundidade de sondagem de 4 mm e 5 mm respectivamente, em cães beagle. No grupo teste utilizaram uma associação de terapias, a qual foi intitulada “terapia regenerativa tecidual guiada modulada - PDGF-BB, composta por PDGF-BB aplicado para promover migração e proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal (LP), e uma barreira de membrana (ePTFE) colocada entre a gengiva e o osso alveolar para prevenir anquilose. Nos sítios controles empregaram somente terapia com

RTG. Os resultados histomorfométricos foram os seguintes: cinco semanas após o tratamento cirúrgico, nenhuma diferença significativa no reparo dos defeitos de furca foi observada nos dois grupos. Os defeitos foram ocupados primariamente por epitélio, tecido inflamado e espaço vazio. Após oito semanas, o grupo teste exibiu um grande aumento no reparo periodontal com completa regeneração quando comparado ao grupo controle. Os defeitos estavam preenchidos com novo osso (80%) e LP (20%). Por outro lado, o grupo controle apresentava uma significativa área ocupada por espaço vazio e epitélio (26%) e tecido inflamado (31%). Após 11 semanas o grupo controle apresentava aumento no reparo comparado aos de oito semanas, com os seguintes resultados: fórnix da furca ocupado por epitélio (4,3%), tecido inflamado (9,4%), o restante da furca foi preenchido com tecido conjuntivo (12%), tecido ósseo (60%) e LP (14%). Nenhuma anquilose e reabsorção radicular foram observadas em ambos os grupos. Os autores concluíram que a “terapia regenerativa tecidual guiada modulada-PDGF-BB” promove completa regeneração periodontal mais rapidamente e efetivamente quando comparada somente à terapia de RTG.

PDGF - Estudos em humanos

A primeira tentativa clínica em humanos testando a segurança e eficácia dos PDGF/IGF-I foi recentemente relatada por Howell et al.,³⁶ em 1997. Foram avaliados 38 pacientes que possuíam doença periodontal moderada-severa com defeitos ósseos angulares tratados com PDGF-BB e IGF-I em um veículo de

metilcelulose, comparando-o ao tratamento com veículo sozinho, ou associado à cirurgia. Os pacientes tratados com PDGF/IGF-I responderam com 42,3% de preenchimento ósseo dos defeitos enquanto no grupo controle, que consistia no veículo associado à cirurgia, os pacientes tratados demonstraram 18,5% de preenchimento dos defeitos ósseos, sendo estas diferenças estatisticamente significantes.

Nevins et al.,⁵⁸ (2003), testaram a aplicação de PDGF-BB associado com aloenxerto ósseo para induzir uma completa regeneração em molares com lesões de furca II, em humanos. Nove pacientes adultos (15 sítios) com periodontite avançada exibiam pelo menos um dente que necessitava de extração devido a um extenso defeito de furca II, sendo esse dente utilizado no estudo. Onze defeitos foram selecionados fortuitamente para receber PDGF-BB. Os defeitos ósseos foram preenchidos com osso desmineralizado seco congelado (DFDBA) e com três concentrações de PDGF-BB (0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml, ou 5.0 mg/ml). Simultaneamente, foram tratados quatro defeitos interproximais com enxerto de osso bovino inorgânico em colágeno (ABB-C) e uma membrana de colágeno. Radiografias, profundidades de sondagens clínicas (PS) e níveis de inserção (NI) foram obtidos pré operatoricamente e nove meses após. Aos nove meses do pós-operatório, o dente em estudo e tecidos circunvizinhos foram removidos em bloco. Nos sítios com PDGF/aloenxerto, a redução na profundidade de sondagem vertical (PSv) dos defeitos interproximais foi de 6.42 ± 1.69 mm e o ganho no NI foi de 6.17 ± 1.94 mm. O preenchimento radiográfico foi de $2.14 \pm$

0.85 mm. Os sítios preenchidos com ABB-C tiveram uma redução da PS e ganho no NI de 5.75 ± 0.5 e 5.25 ± 1.71 , respectivamente. Defeitos de furca tratados com PDGF/aloenxerto exibiram uma média de redução da PS horizontal e vertical 3.40 ± 0.55 mm e 4.00 ± 1.58 mm, respectivamente. O ganho no NI para os defeitos de furca foi de 3.2 ± 2.17 mm. A avaliação histológica revelou uma completa regeneração do aparato de inserção periodontal e em quatro dos seis defeitos interproximais, incluindo novo cimento, ligamento periodontal e osso coronal à marcação na raiz, em todos os defeitos de furca avaliados tratados com PDGF (quatro de quatro). Dois dos quatro defeitos intraósseos interproximais tratados com ABB-C e membrana exibiram regeneração. Os autores concluíram que o uso de PDGF-BB associado com aloenxerto ósseo resultou em uma grande regeneração periodontal nos defeitos de furca II e intraósseos interproximais. Este é o primeiro relatório de regeneração periodontal demonstrado histologicamente em defeitos furca II em humanos, tratados com PDGF.

Camelo et al.,¹³ (2003), avaliaram clinicamente em humanos a resposta histológica do PDGF-BB associado a aloenxerto ósseo para o tratamento de defeitos de furcas avançados II. Foram tratados quatro defeitos de furca, sendo três em molares mandibulares e um maxilar: Dois receberam 0.5 mg/ml e dois receberam 1.0 mg/ml de PDGF-BB, todos associados com DFDBA. Profundidades de sondagem clínica e níveis de inserção foram obtidos pré-cirurgicamente e nove meses pós-cirúrgico, após os quais os dentes e tecidos foram removidos em bloco. Ambas as concentrações de PDGF-BB resultaram em

substancial melhora na profundidade de sondagem horizontal (média 3.5 mm), vertical (média 4.25 mm) e nível de inserção (média 3.75 mm). A avaliação histológica mostrou regeneração periodontal, incluindo novo osso, cemento e ligamento periodontal coronal à marcação na raiz. A regeneração também estava presente coronal à crista óssea original. Este estudo documentou a resposta favorável do tecido ao tratamento com PDGF-BB em ambos os níveis clínicos e microscópicos, sendo a primeira evidência histológica humana fornecida de novo tecido calcificado com inserção de fibras colágenas ocorrendo sobre projeções de esmalte dentro da furca, e demonstrou, pela primeira vez, que uma completa regeneração periodontal pode ser alcançada em defeitos de furcas II avançados usando uma associação de PDGF-BB e aloenxerto ósseo.

Estudos com PRP

Slater et al.,⁸⁰ (1995), testaram se o concentrado de plaquetas humanas, como um suplemento para meio básico, poderia ajudar na proliferação e atividade funcional das células fetais humanas semelhantes a osteoblastos em culturas a curto prazo e a longo prazo. Em estudos a curto prazo, com Thymidine[3H] as culturas tratadas com plaquetas foram aumentadas por mais de quatro vezes comparadas ao controle com 10% de suplemento de soro. Quando em culturas por períodos prolongados, as células formaram multicamadas, com uma base de matriz de colágeno separando estas camadas. Estes resultados indicam que o meio plaquetas-suplementado estimula a proliferação e mantém a função

diferenciada de células semelhantes a osteoblastos humanos. As plaquetas podem representar um importante papel na cicatrização inicial de fraturas e também podem ser úteis como uma fonte autógena barata de múltiplos FC para aumentar a proliferação de osteoblastos *in vivo* e *in vitro*.

Marx et al.,⁵⁰ (1998), fizeram um dos primeiros relatos do uso do PRP em Cirurgia Oral Maior. Os autores avaliaram a reconstrução de mandíbula em 88 pacientes. Estes foram divididos em dois grupos de tratamento: grupo teste enxerto ósseo medular com PRP e o grupo controle enxerto ósseo medular sem PRP. Foram realizados exames radiográficos nos pacientes em três períodos: dois, quatro e seis meses após a realização do enxerto. Após seis meses, cada paciente recebeu ao menos um implante na região enxertada e uma biópsia da área foi coletada. Os autores formularam um índice de maturidade do enxerto (GMI) para realizar a análise radiográfica e observaram que o grupo teste apresentava maior GMI do que o grupo controle. As biópsias foram analisadas através da histometria. Os enxertos com PRP apresentaram uma área de osso trabecular maior que os enxertos sem PRP (74,0% x 55,1%).

Obarrio et al.,⁶⁴ (2000), apresentaram três casos clínicos para tratamento de defeitos ósseos periodontais em cinco pacientes, com idade variando de 27 a 64 anos. Caso 1: perda óssea severa no incisivo central maxilar direito, com profundidade de sondagem (PS) de 12mm na distal e palatal. Caso 2: PS de 12mm na mesial e palatal do 3º molar maxilar direito. Caso 3: PS de 12mm na mesial,

lingual e distal do 2º molar esquerdo. Os três casos foram tratados com: PRP+DFDBA + membrana de colágeno, PRP+DFDBA sem membrana, PRP+DFDBA sem membrana, respectivamente. Após um período de cicatrização de seis, treze e dezenove meses, os resultados mostraram uma redução na profundidade de sondagem de 12mm para 3mm (caso 1), de 12mm para 4mm (caso 2) e de 12mm para 3mm (caso 3). A reentrada cirúrgica após dois anos revelou um completo preenchimento ósseo dos defeitos periodontais.

Petrungaro,⁶⁶ (2001), apresentou um relato de três casos clínicos, com relação ao uso de PRP em pacientes que necessitavam de cirurgias mucogengivais para recobrimento de recessões gengivais múltiplas. A técnica usada foi a de tecido conjuntivo sub-epitelial, e a mesma terapia foi realizada para os três casos. Após a obtenção do enxerto do palato, o mesmo foi impregnado com PRP, o leito receptor também foi tratado com PRP. Em todos os casos houve recobrimento total das recessões e aumento de espessura da mucosa ceratinizada. O autor concluiu que o PRP trouxe benefícios à técnica, como: menor sangramento no leito receptor devido às suas propriedades hemostáticas, menor dor pós-operatória devido à maturação mais rápida do enxerto, estabilidade inicial do enxerto devido às suas propriedades adesivas e promoção de uma revascularização mais rápida.

Aghaloo et al.,¹ (2002), avaliaram o efeito do PRP no reparo ósseo por meio de defeitos criados na calota craniana de coelhos. Foram criados

quatro defeitos de 8mm de diâmetro nas calotas de 15 coelhos. Os defeitos foram imediatamente enxertados com: (1) osso autógeno, (2) PRP, (3) osso autógeno associado ao PRP, e (4) controle sem tratamento. Os defeitos foram analisados radiograficamente e histomorfometricamente em um, dois e quatro meses. Os resultados histométricos mostraram um aumento significativo na área óssea, e na densidade óssea analisada radiograficamente, nas amostras dos grupos osso autógeno e osso autógeno associado ao PRP, quando comparadas ao controle e ao PRP sozinho. Não foi observado aumento significativo na formação óssea com a adição do PRP ao osso autógeno. A formação óssea observada nos defeitos tratados com PRP e no grupo controle não apresentou diferença significativa. Concluiu-se que a adição do PRP no tratamento desses defeitos não teve vantagens.

Lekovic et al.,⁴² (2002), compararam a efetividade clínica de duas técnicas regenerativas em defeitos intra-ósseos em humanos, usando uma associação de PRP/BPBM/RTG comparada à combinação de PRP/BPBM. Vinte e um pacientes, utilizando o método de boca dividida, com defeitos ósseos interproximais foram tratados com estas associações. Foram avaliados clinicamente quanto a mudanças na profundidade de sondagem (PS), nível de inserção (NI) e preenchimento dos defeitos revelados por reentrada cirúrgica, 6 meses pós-tratamento. Os resultados mostraram que: A redução na PS foi maior no grupo de PRP/BPBM/RTG (diferenças de 0.21 ± 0.32 mm na vestibular e 0.27 ± 0.36 mm na lingual), mas sem diferença estatisticamente significativa. O grupo PRP/BPBM/RTG apresentou um ganho de inserção clínica de 4.12 ± 0.78 mm na

vestibular e 4.16 ± 0.83 mm nos sítios linguais, enquanto no grupo PRP/BPBM foi de 3.78 ± 0.72 mm na vestibular e 3.84 ± 0.76 mm nos sítios linguais, as diferenças entre os dois grupos não foram estatisticamente significantes. O preenchimento dos defeitos foi semelhante para ambos os grupos de tratamento: 4.96 ± 1.28 mm na vestibular e 4.78 ± 1.32 mm nos sítios linguais para o grupo de PRP/BPBM/RTG, e 4.82 ± 1.34 mm na vestibular e 4.74 ± 1.30 mm nos sítios linguais para o grupo de PRP/BPBM. Concluíram que ambas associações são efetivas no tratamento de defeitos intra-ósseos em pacientes com periodontite crônica avançada. Sugeriram, também, que a RTG não teve nenhum benefício clínico adicional.

Camargo et al.,¹² (2002), utilizaram uma combinação de PRP/BPBM e membrana (grupo teste), comparada ao uso apenas da membrana absorvível (grupo controle) no tratamento de 18 pacientes apresentando 36 defeitos intra-ósseos interproximais como segue: 13 defeitos de duas paredes e 5 de três paredes no grupo teste, e 11 defeitos de duas paredes e 7 de três paredes no grupo controle. Foi utilizado um desenho de boca dividida. Mudanças na profundidade de bolsa, nível de inserção e preenchimento do defeito foram avaliados após seis meses por reentrada cirúrgica. Os resultados em ambas modalidades de tratamento resultaram em significativa redução na profundidade de bolsa. As diferenças entre os dois grupos foram de 1.36 ± 0.32 mm na vestibular e 1.39 ± 0.33 mm nos sítios linguais a favor do grupo teste. O ganho no nível de inserção clínica quando comparado aos valores iniciais foi significativa a favor do grupo teste, as diferenças entre os dois grupos foram de 1.75 ± 0.96 mm na vestibular e 1.84 ± 1.12 mm nos

sítios linguais. O preenchimento ósseo dos defeitos tratados com PRP/BPBM/RTG apresentou uma média de 4.78 ± 1.26 mm na vestibular e de 4.66 ± 1.32 mm nos sítios linguais. No grupo controle o preenchimento ósseo foi de 2.31 ± 0.76 mm na vestibular e de 2.26 ± 0.81 mm nos sítios linguais. Todas diferenças entre os dois grupos foram estatisticamente significantes a favor do grupo teste. Com base nos resultados desse estudo concluíram que PRP/BPBM/RTG promovem sinais clínicos de regeneração periodontal de defeitos intra-ósseos, em pacientes com periodontite severa.

Lekovic et al.,⁴³ (2003), avaliaram a efetividade do PRP, BPBM e RTG usados em associações no tratamento de lesões de furca II, em humanos. Com um modelo de boca dividida e um total de 52 defeitos de furca em molares mandibulares, foram tratados 26 defeitos com PRP/BPBM/RTG (grupo experimental) e 26 defeitos (grupo controle) com retalho aberto para debridamento. Foram avaliadas mudanças na profundidade de sondagem, nível de inserção e do nível ósseo (horizontal e vertical) por reentrada, entre o início e 6 meses pós-operatório. Os resultados mostraram que o grupo experimental apresentou-se significativamente com maior redução de bolsa (4.07 ± 0.33 mm para grupo experimental e 2.49 ± 0.38 mm para grupo controle), ganho clínico de inserção (grupo experimental 3.29 ± 0.42 mm e grupo controle 1.68 ± 0.31 mm), preenchimento vertical dos defeitos (grupo experimental 2.56 ± 0.36 mm e grupo controle 0.19 ± 0.02 mm) e preenchimento horizontal dos defeitos (grupo experimental 2.28 ± 0.33 mm e grupo controle 0.08 ± 0.02 mm). Concluíram que a

técnica combinada de PRP/BPBM/RTG é uma modalidade efetiva de tratamento regenerativo para defeitos de furca II. Outros estudos são necessários para elucidar o verdadeiro papel de cada componente dessa terapia combinada.

Proposição

Avaliar histomorfometricamente, em cães, a aplicação do Plasma Rico em Plaquetas associado a enxerto ósseo autógeno e à membrana absorvível, no tratamento de lesões de furca III.

Material e método

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Ofício CEEA-FO/Ar. N° 05/2003).

Foram empregados para a realização da pesquisa cinco cães de raça indefinida, mantidos em cativeiro no Biotério do Campus de Araraquara – UNESP, após tratamento profilático de vacinações e vermifugação. Os animais encontravam-se com peso corporal variando de 12 a 15 kg, e não apresentavam doenças ou alterações sistêmicas evidentes. Quanto às condições orais, apresentavam dentição permanente completa, ausência de perda óssea e de sinais clínicos de doença periodontal destrutiva.

Foram utilizados os 3^{os} pré-molares inferiores (P3) de ambos os lados, de cada cão, totalizando 10 dentes.

A parte experimental clínica constou das seguintes etapas:

1. Criação e cronificação dos defeitos ósseos de furca.
2. Tratamento das lesões.
3. Período de cicatrização periodontal.
4. Análise histológica e histométrica.

1. Criação dos defeitos ósseos.

Para a realização das intervenções cirúrgicas, os animais foram pesados e sedados com 1ml de sulfato de atropina intradérmico (Sulfato de Atropina 0,08 ml/kg, máximo de 1,5 ml por cão) (Bayer S.A.-Saúde Animal, São

Paulo, SP) e injeção intramuscular de cloridrato de tiletamina e zolazepam (Zoletil® 50, Virbac do Brasil Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP), como indutor pré-anestésico na proporção de 0,2 ml/Kg. Posteriormente, os animais foram submetidos à anestesia geral, por injeção endovenosa de Tiopental Sódico (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., São Paulo, SP), na concentração de 20 mg/ml e na proporção de 0,5 ml/kg, dividida em dose inicial e doses de manutenção. Os animais foram mantidos com soro fisiológico durante o ato cirúrgico, possibilitando a manutenção anestésica, a hidratação e a medicação endovenosa quando necessária.

Na primeira sessão de atendimento, foram realizadas tomadas radiográficas iniciais, pela técnica periapical da bisettriz que permitiu a avaliação do nível ósseo e das características anatômicas da área de furca dos dentes de interesse. Os dentes foram examinados clinicamente para verificação das condições periodontais. Em seguida, foram raspados com o auxílio de curetas de Gracey nº 7-8 e universais McCall nº 13-14 (Neumar, São Paulo, SP), para a remoção de placa bacteriana e cálculo, de forma a padronizar as condições gengivais do grupo.

Após uma semana, os animais foram novamente anestesiados para criação cirúrgica dos defeitos. Em complementação foi realizada anestesia local por meio da técnica infiltrativa com Lidocaína a 2% (Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Itirapina, São Paulo, SP), para obter melhor hemostasia durante o ato cirúrgico. Posteriormente, foi realizada uma incisão sulcular em todas as faces do 2º pré-molar ao 1º molar inferior, com bisturi Bard

Parker e lâmina nº 15, deslocando-se um retalho mucoperióstico com espátula nº 7 (Duflex, Rio de Janeiro, RJ) a fim de expor as tábuas ósseas vestibular e lingual. Após o acesso ao tecido ósseo, foi realizada a remoção do tecido conjuntivo gengival remanescente sobre a superfície radicular.

O passo subsequente foi a criação dos defeitos nas áreas de furca dos 3^{os} pré-molares inferiores (P3) (Figura 1, pág. 30). Com o auxílio de uma fresa esférica carbide nº 2 (KG Sorensen, São Paulo, SP) em baixa velocidade, sob refrigeração com solução salina, e de microcinzéis de Ochsenbein nº 1 e 2 (Neumar, São Paulo, SP) e de Rhodes nº 36 e 37 (Neumar, São Paulo, SP), foi realizada a osteotomia na região de furca.

Os defeitos criados nos dentes P3 apresentaram uma altura no sentido cérvico apical de 5 mm, em média, tanto por vestibular como por lingual, criando-se desta forma, um defeito de furca III. Os defeitos descritos seguem a classificação descrita por Hamp e Nyman,³⁴ (1965).

A superfície radicular foi raspada com curetas de furca PL-N nº 1-2, 3-4, 5-6 (Neumar, São Paulo, SP) de forma a remover as fibras de Sharpey e o tecido cementário. As cavidades ósseas foram preenchidas com guta percha (Odahcam, Herpe Produtos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ) para dificultar a regeneração espontânea e permitir a cronificação dos defeitos¹⁷ (Figura 2, pág.30). Os retalhos foram reposicionados e suturados com fio de seda Ethicon 4.0 Atralog (Johnson & Johnson, São Paulo, SP), por meio de sutura interrompida interproximal (Figura 3, pág. 30). Quando necessárias, suturas suspensórias

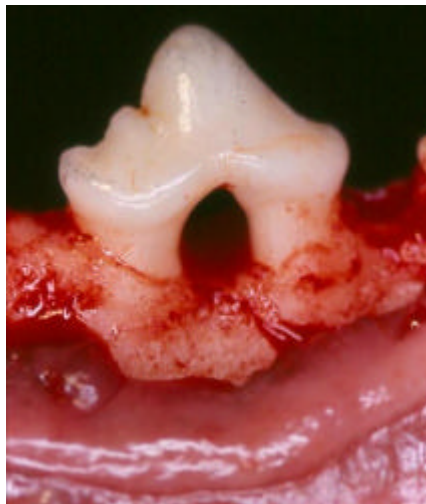


Fig. 1. Criação do defeito de furca.



Fig. 2. Cavidade óssea preenchida com guta percha.



Fig. 3. Sutura dos retalhos.

foram realizadas posicionando o retalho vestibular e lingual de forma a cobrir toda a guta percha. Imediatamente após, os animais receberam 10 ml de fructogenase-protetor hepático(Marjan, Ind. e Com. Ltda, Santo Amaro, SP) e medicação analgésica em doses de 2 ml de novalgina intravenosa (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda, São Paulo, SP), sendo a última após 12hs.

As suturas foram removidas uma semana após o procedimento cirúrgico. Os animais foram mantidos sem nenhum controle de higiene oral, com dieta macia, constituída de ração acrescida de água, por um período de oito semanas para favorecer o acúmulo de placa bacteriana e propiciar um ambiente bucal favorável ao desenvolvimento da doença periodontal. Após este período, os animais foram pesados e anestesiados, segundo protocolo já descrito, para a remoção da guta percha das áreas de furca, com auxílio de curetas de Gracey nº 7-8 (Neumar, São Paulo, SP) e de uma sonda exploradora nº 5 (Duflex, Rio de Janeiro, RJ). Neste momento, os animais receberam tratamento de raspagem e profilaxia dental com pasta Odahcam (Impe Produtos Dentários Ltda., Rio de Janeiro) e taça de borracha para reduzir o grau de inflamação gengival e facilitar a próxima etapa cirúrgica.

2. Tratamento das lesões.

Uma semana após a profilaxia dental, os animais foram novamente anestesiados e um retalho mucoperióstico foi realizado na região e deslocado de forma a expor as lesões de furca, criadas na etapa cirúrgica anterior.

Os defeitos foram curetados e as superfícies radiculares raspadas e aplainadas com o auxílio de curetas para furca PL-N nº 1-2, 3-4, 5-6 e de Gracey nº 7-8 (Neumar, São Paulo, SP). Em seguida, com uma broca carbide nº 1/2 foi confeccionada uma marcação na superfície radicular do defeito, na altura da crista óssea alveolar, para auxiliar na delimitação do defeito na análise histológica (Figura 4, pág. 33). A partir desse momento, os dentes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos, de forma que cada animal tivesse um 3º pré-molar pertencente a cada grupo, sendo que o tratamento recebido para cada lesão variou de acordo com o grupo pertencente.

2.1. Obtenção do Enxerto Ósseo Autógeno. O enxerto ósseo autógeno empregado em ambos os grupos foi retirado da região de pré-molares inferiores, posterior ao forame mentoniano com um coletor de osso (Bone Collector, Conexão, São Paulo, SP) (Figura 5, pág. 33). Antes da inserção nos defeitos, ele foi adicionado ao PRP no grupo teste (Figura 6, pág. 33) e misturado com o próprio sangue do animal no grupo controle.

2.2. Preparo do gel de Plasma Rico em Plaquetas (PRP). O PRP foi preparado de acordo com Anitua,⁴ (1999), em local apropriado (laboratório ao lado da sala cirúrgica) em temperatura ambiente de 20 a 22 °C. Os procedimentos laboratoriais consistiram na obtenção de sangue endovenoso dos cães, antes do início do procedimento cirúrgico, armazenado em um tubo estéril para coleta de sangue a vácuo com volume de aspiração de 4,5 ml, contendo 0,5 ml de anticoagulante

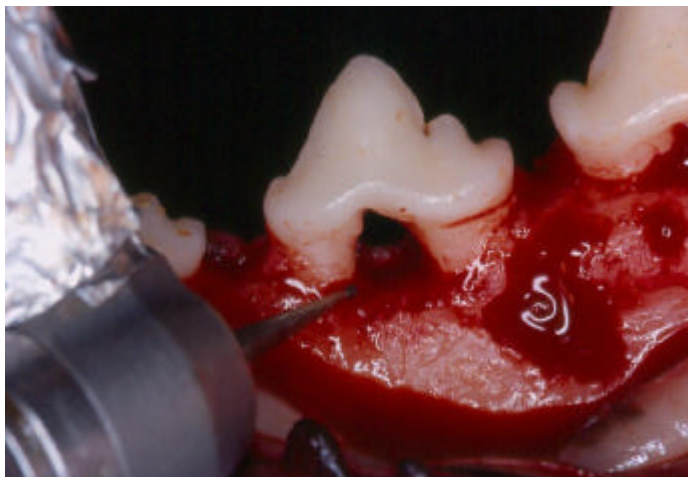


Fig. 4. Marcação na superfície radicular do defeito.



Fig. 5. Obtenção do enxerto ósseo autógeno com um coletor de osso.

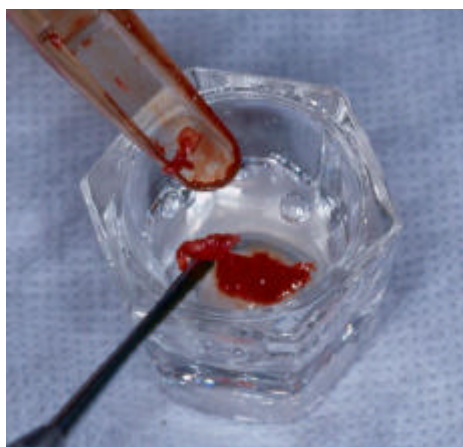


Fig. 6. Osso autógeno adicionado ao PRP.

Citrato de Sódio tamponado a 3,2% (VacutainerTM, Becton Dickson UK Ltd., Belliver Industrial, State Plymouth, England) (Figura 7, pág.35). Aproximadamente 30 minutos antes do preenchimento dos defeitos, o sangue foi levado neste mesmo tubo a uma centrífuga (Figura 8, pág. 35) (SIN-Sistema de Implante Nacional Ltda - Centrífuga 1200 rpm) a 1200 rpm por 8 minutos, a fim de se obter uma separação em duas faixas de células sanguíneas, série branca constituída de duas partes: Plasma Pobre em Plaquetas, Plasma Rico em Plaquetas (objeto do nosso estudo) e série vermelha, separadas por uma tênue camada de leucócitos (Figuras 9 e 10, pág.35). O Plasma Rico em Plaquetas foi retirado com o auxílio de uma micropipeta de volume ajustável (Boeckel Co, GmbH Co, Hamburgo, Germany) e colocado em um pote dappen esterilizado (Figuras 11 e 12 pág. 36). Nesse momento, foi adicionado o coagulante cloreto de cálcio a 10% ao PRP e misturado ao osso autógeno, obtendo-se assim um gel para preenchimento imediato dos defeitos de furca correspondentes (Figura 13, pág. 36).

Após a obtenção dos produtos acima descritos, finalizou-se o tratamento das lesões de acordo com o grupo pertencente:

Grupo Teste (G1): Plasma Rico em Plaquetas + enxerto ósseo autógeno + membrana absorvível Gore Resolut XT (W.L.Gore & Associates, Inc. Arizona). Após preenchimento dos defeitos com o PRP misturado ao enxerto ósseo autógeno os defeitos foram protegidos com a membrana, fixada por meio de suturas suspensas ao redor do colo dentário, com fio Vicryl Ethicon 6.0

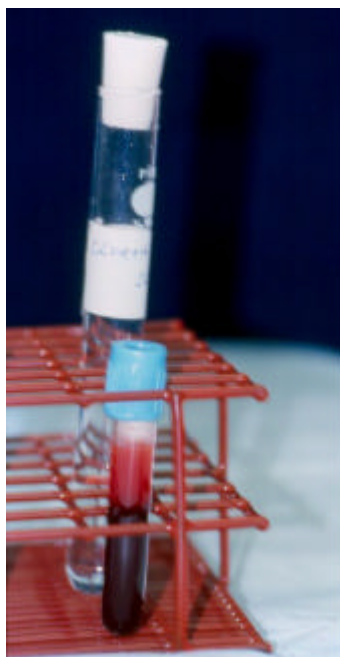


Fig. 7. Sangue endovenoso coletado.



Fig. 8. Centrífuga SIN Ltda.

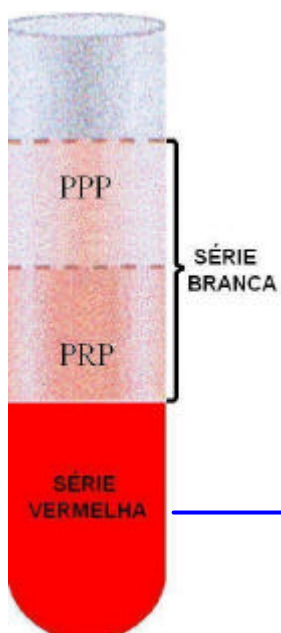


Fig.9. Esquema com a separação das séries: branca e vermelha.

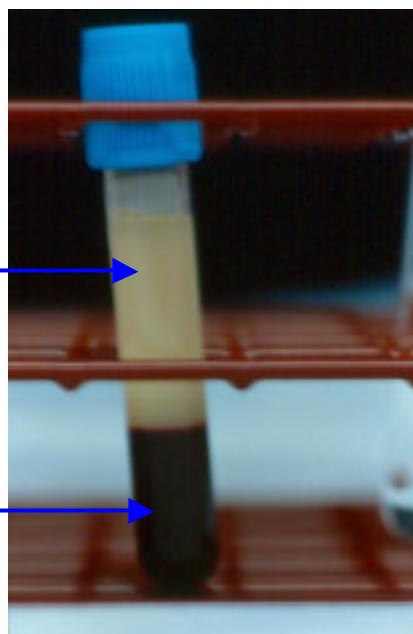


Fig.10. Tubo de ensaio após a centrifugação.

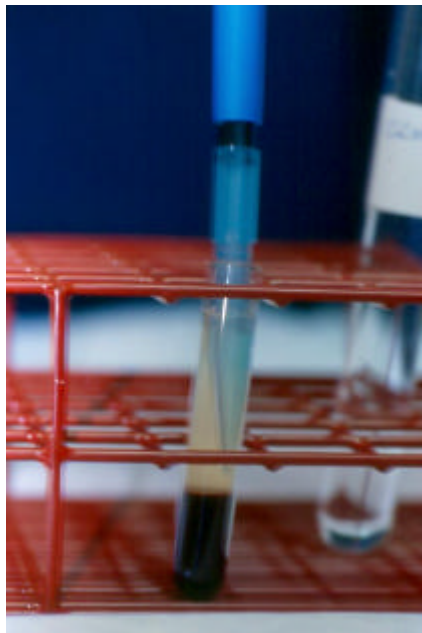


Fig. 11. Pipetação do PRP.

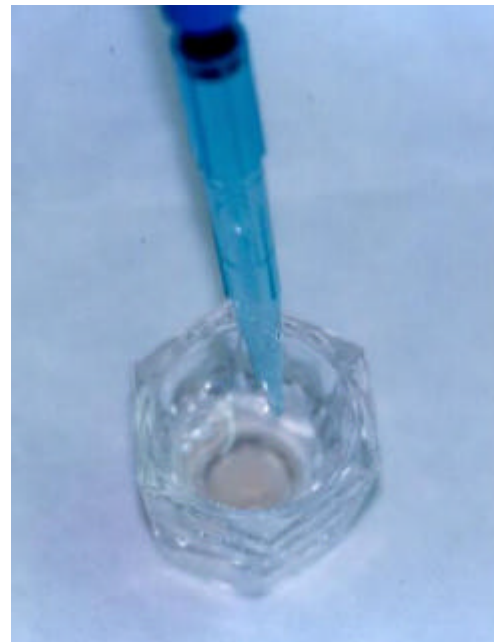


Fig.12. Pote dappen estéril com PRP.



Fig.13. PRP + osso autógeno.

(Johnson & Johnson, São Paulo, SP), recobrindo todo o defeito e estendendo-se 2 a 3 mm sobre o tecido ósseo (Figuras 14 e 15, pág.38).

Grupo Controle (G2): Os defeitos receberam o mesmo tratamento descrito no Grupo Teste, exceto a aplicação do PRP. Nesses defeitos, o osso autógeno foi misturado ao sangue do animal para facilitar o preenchimento e acomodação do material (Figuras 16 e 17, pág. 38).

Os retalhos foram reposicionados coronariamente por meio de suturas interrompidas interproximais e suspensórias, com fio de seda Ethicon 4.0 Atralog (Johnson & Johnson, São Paulo, SP), estas foram removidas no 10º dia pós-cirúrgico. Os animais receberam medicação pós-operatória imediata de Pentabiótico Veterinário de Pequeno Porte (antibiótico-0,5ml/5Kg); Novalgina (analgésico-2ml); Fructogenase (protetor hepático-10ml). Novas doses de Pentabiótico foram aplicadas ao animal, respectivamente 12hs e 5 dias após a 1ª dose.

3. Período de Cicatrização Periodontal.

Esta etapa compreendeu o período imediato de pós-operatório do tratamento das lesões de furca ao momento do sacrifício dos animais, totalizando 90 dias. Durante esta fase, os cães foram mantidos com alimentação macia para evitar a ruptura dos pontos ou o deslocamento do material de enxerto.

Foi realizado controle de placa bacteriana diária durante todo o período de cicatrização (90 dias), através da aplicação tópica da solução de digluconato de clorexidina a 0,2% (Farmácia Santa Paula, Araraquara, SP) sobre

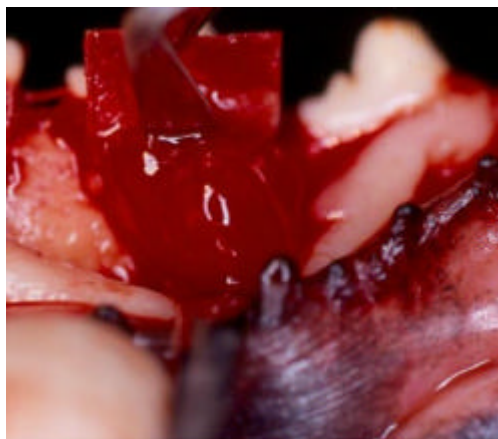
GRUPO TESTE

Fig. 14. Preenchimento do defeito com PRP+osso autógeno.

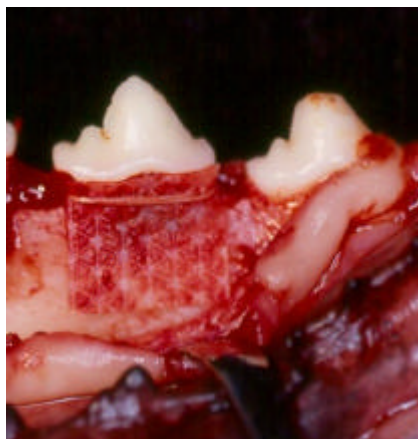


Fig. 15. Proteção do defeito com membrana.

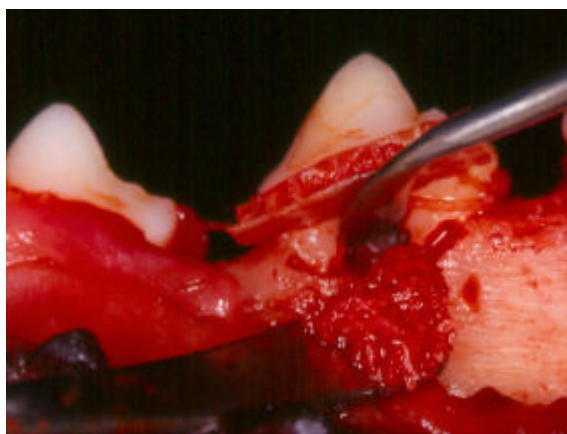
GRUPO CONTROLE

Fig. 16. Preenchimento do defeito com osso autógeno.

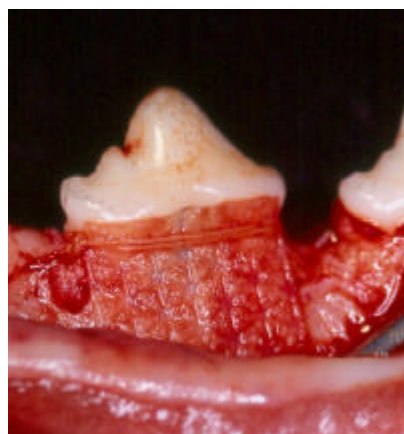


Fig. 17. Proteção do defeito com membrana.

os dentes e tecidos gengivais. Foram feitas também profilaxias semanais durante o primeiro mês e quinzenais até o final do experimento, com auxílio de ultra-som, taça de borracha e pasta profilática, sendo aplicado logo a seguir gel de clorexidina 0,2% (Farmácia Santa Paula, Araraquara, SP).

4. Obtenção dos dados histológicos e histométricos.

Finalizado o período de 90 dias, os animais foram anestesiados conforme protocolo e em seguida sacrificados com aprofundamento do plano anestésico. Os 3^{as} pré-molares inferiores foram removidos em bloco e colocados em solução de formol a 10% por 48hs para fixação. A seguir, as peças foram reduzidas e lavadas em água corrente por 24hs e, então, acondicionadas em cassetes plásticos individuais e colocadas em solução de Morse (partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%) para descalcificação.

A solução de descalcificação foi trocada a cada dois dias, e o grau de desmineralização da peça avaliado com uma agulha descartável. O período de descalcificação foi, em média, de quatro meses. Após a descalcificação adequada, as peças foram novamente lavadas em água corrente por 24hs e colocadas em solução de sulfato de sódio a 5% por 48hs, com o objetivo de neutralizar o ácido da solução anterior. Após nova lavagem em água corrente por 24 hs, foi realizado o processamento laboratorial de rotina, com desidratação em álcool em ordem crescente de concentração até o álcool absoluto, diafanização em xilol e incluídos em blocos de parafina.

A microtomia foi realizada em micrótomo automático (Jung Supercut 2065 – Leica Instruments GmbH, Heidelberg, Germany), obtendo-se cortes seriados com 5 micrometros de espessura ao longo de toda extensão do bloco. Estes cortes foram realizados no plano longitudinal dos dentes, no sentido mésio-distal, de forma a obter-se uma visão panorâmica da área de furca.

Para análise histológica descritiva e histométrica foram selecionados cinco cortes, sendo que o primeiro e último evidenciavam em ambas as raízes a marca de referência na altura da crista óssea, confeccionada no momento do tratamento do defeito, e serviram de referência para a seleção dos outros três, de forma a apresentarem-se equidistantes entre si e com os dois primeiros, representando as porções vestibulares, médias e linguais da furca, no sentido vestibulo-lingual.

As técnicas de coloração empregadas foram Hematoxilina e Eosina (H/E) e tricrômico de Masson.

Na análise histológica descritiva foram avaliados o tipo e a qualidade dos tecidos neoformados, reação tecidual ao material, presença de reação inflamatória, reabsorção radicular, anquilose, migração epitelial e regeneração tecidual.

Para a realização das medições foram utilizados: microscópio óptico com objetiva de aumento de 2.5/0.10 (Diastar - Cambridge Instruments, Buffalo, NY, USA), câmara de vídeo DXC-107AP/107AP - (Sony Eletronics Inc., Japan) acoplada a esse microscópio e conectada a um microcomputador com um

software analisador de imagens digitalizadas Jandel Sigma Scan Pro, Version 2.0 (Jandel Corporation-San Rafael, CA, USA).

Na análise histométrica foram obtidas as seguintes medições lineares e de área (Figura 18, pág.42):

1. extensão radicular total do defeito - superfície radicular compreendida entre as marcações produzidas nas raízes mesial e distal.
2. formação cementária (ce) - soma das extensões lineares da superfície radicular do defeito recobertas por cimento novo.
3. tecido conjuntivo (co) - soma das extensões lineares da superfície radicular do defeito não recobertas por cimento novo ou epitélio, estando o tecido conjuntivo em contato direto com a superfície radicular.
4. regeneração periodontal linear (r) - soma das extensões lineares da superfície radicular do defeito recobertas por novo cimento adjacente a novo osso.
5. migração epitelial (ep)- extensão linear da superfície radicular do defeito recoberta pelo tecido epitelial.
6. superfície livre (sl) - extensão linear da superfície radicular do defeito não ocupada por qualquer tipo de tecido e em contato com placa bacteriana.
7. área total do defeito - área da furca delimitada apicalmente por uma reta unindo a base das duas marcações radiculares.
8. área de tecido ósseo (Ao)- porção da área total do defeito preenchida por osso novo.

9. área de tecido mole (Am) - porção da área total do defeito preenchida por tecido conjuntivo e epitelial.

10. área de região vazia (Av) - porção da área total do defeito sem a presença de qualquer tipo de tecido, ocupada por placa bacteriana depositada na superfície radicular.

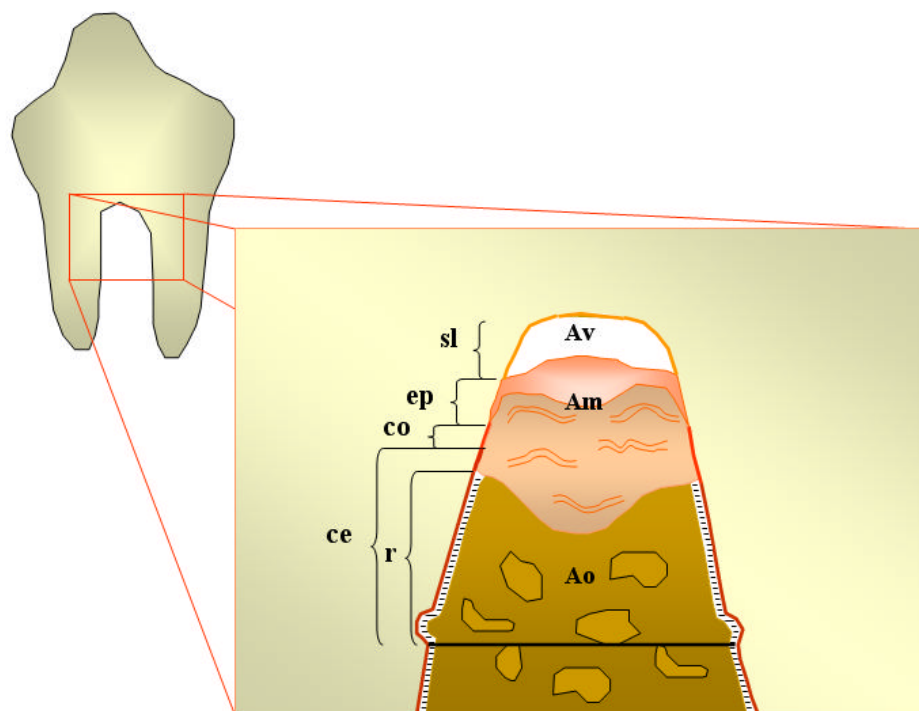


Fig. 18. Esquema das medidas lineares e de área.

5. Metodologia estatística

O tratamento teste (G1) e o controle (G2) foram atribuídos aleatoriamente aos pré-molares esquerdo e direito de um mesmo cão, de modo que cada animal teve um 3º pré-molar pertencente a cada grupo experimental. Dessa forma, foram consideradas as medidas histométricas obtidas nos dois dentes pré-molares de um cão, constituindo pares, e avaliadas as diferenças entre as medidas histométricas dos grupos G1 e G2, relativamente à extensão linear como à área da lesão. Então, se o tratamento em teste apresentar algum efeito histométrico, deve-se esperar que a diferença seja significativamente diferente de zero.

Para analisar o efeito do tratamento teste sobre o tratamento controle, através das diferenças entre as medidas dos grupos G1 e G2, foram aplicados procedimentos estatísticos multivariados. Utilizou-se a estatística T^2 de Hotelling para julgar se as diferenças das medidas histométricas foram, em conjunto, significativamente diferentes de zero e o método de Bonferroni para a determinação de intervalos de 95% de confiança simultâneos para a diferença média real entre as medidas obtidas nos grupos G1 e G2. O método de Bonferroni propõe uma correção nos intervalos univariados baseados na distribuição *t de Student*, de modo a ter validade multivariada.

No teste de Hotelling, estabeleceu-se o nível de 5% de significância, o qual representa a probabilidade de se cometer um erro do tipo I, isto é, errar quando se afirma que há algum efeito do tratamento em estudo. A análise multivariada permite a comparação simultânea das médias de diferenças,

mantendo inalterada a taxa 5% de erro tipo I. Isso estaria comprometido se fosse empregado, por exemplo, o teste t de Student para cada variável histométrica separadamente. Além disso, a análise multivariada leva em consideração as correlações entre as variáveis.

A validade do teste de Hotelling depende de que os dados experimentais representem amostras aleatórias da população de interesse e que as observações, nas diversas unidades experimentais formadas pelos diferentes cães, sejam independentes. Essas condições se verificaram neste trabalho. Outra pressuposição é a de normalidade, tanto multivariada quanto nas variáveis individuais. No entanto, o número reduzido de unidades experimentais não permitiu uma verificação rigorosa da normalidade. Ela, então, foi analisada apenas graficamente para cada variável isoladamente.

Finalmente, deve-se ressaltar que toda a metodologia aplicada neste trabalho foi baseada em um livro texto³⁸ relevante na área da análise multivariada e os cálculos efetuados em uma planilha eletrônica.

Resultado

1. Análise histológica descritiva

1.1. Grupo Teste (G1) (Figuras 19 a 22, págs. 54 a 57)

Parte dos cortes analisados revelou que a área de furca estava preenchida em grande parte por tecido fibroso denso. O tecido fibroso se caracterizava por apresentar extensos feixes de fibras de colágeno de variável espessura, entremeadas por delicadas estruturas vasculares. Acompanhando os feixes de colágeno observava-se células fusiformes e eventualmente células inflamatórias mononucleares. Recobrando o tecido fibroso observava-se epitélio pavimentoso estratificado de variável espessura, composto por células com características de normalidade, emitindo pronunciadas projeções para o tecido conjuntivo. Subjacente ao epitélio observava-se variável intensidade de infiltrado inflamatório composto principalmente por células mononucleares, em resposta à presença de biofilme dentário presente no teto da furca.

Na área da marcação observava neoformação cementária que se projetava até o início do tecido epitelial, apresentando-se com espessura variável. O cimento novo se caracterizava por não apresentar linhas incrementais, denotando aposição desorganizada, englobando cementócitos. Dispostos paralelamente à superfície do cimento era possível observar camadas únicas de cementoblastos, que se caracterizavam por morfologia variável arredondada, ovalada ou muitas vezes com citoplasma basófilo. Em algumas regiões da marca

experimental observava-se no interior do cimento imagem sugestiva de inclusão de fibras de colágeno provenientes do tecido conjuntivo.

Na base da lesão observa-se tecido ósseo com aspecto de normalidade. Na altura da marca experimental notava-se presença de regeneração óssea, observando-se lamelas ósseas dispostas aleatoriamente e inúmeros osteócitos.

1.2. Grupo Controle (G2) (Figuras 23 a 26, págs.58 a 61)

Observou-se área de furca preenchida em grande parte por tecido conjuntivo fibroso denso, que se apresentava com extensos feixes de fibras de colágeno de variável espessura, parte dispostos aleatoriamente e parte com orientação definida. Entre os feixes de colágeno observavam-se delicadas estruturas vasculares, com morfologia normal. Acompanhando a orientação dos feixes de colágeno observava-se células fusiformes. Na porção coronária, recobrando o tecido conjuntivo fibroso observava-se epitélio pavimentoso estratificado composto por células com morfologia normal e arranjadas normalmente. O epitélio emitia pronunciadas projeções para o tecido conjuntivo fibroso. Subjacente ao epitélio observava-se variável intensidade de infiltrado inflamatório composto principalmente por células mononucleares, talvez em resposta à presença de biofilme dentário observado no teto da furca, que ora apresentava-se espesso ora se apresentava mais delgado. Na base da lesão observavam-se nichos de material sem morfologia definida, de coloração

basofílica e de diversas dimensões envolto em fibras de colágeno com morfologia semelhante às demais regiões.

Até a marca experimental o cimento apresentava-se com aspecto de normalidade, apresentando-se mais espesso e irregular na região apical. Na região da marcação experimental se estendendo as demais regiões da lesão induzida observava-se presença de novo cimento, exuberante e celularizado, apresentando esparsos cementócitos no seu interior. O novo cimento também não apresentava linhas incrementais. Dispostos paralelamente à superfície do cimento era possível observar camadas únicas de cementoblastos, que se caracterizavam como células de morfologia arredondada, ovalada ou muitas vezes com citoplasma basófilo. Em algumas regiões da marca experimental observava-se no interior do cimento imagem sugestiva de inclusão de fibras de colágeno provenientes do tecido conjuntivo.

Na base da lesão observava-se tecido ósseo com aspecto de normalidade. Na região da marca experimental notava-se presença de “ilhas” de regeneração óssea.

2. Análise estatística dos dados histométricos

Na tabela A1 do apêndice A (pág.83) são apresentados os dados histométricos das variáveis de extensão linear da raiz: formação cementária (cimento), migração epitelial (epitélio) e superfície livre (placa) e da regeneração periodontal linear (RPL), em milímetros. Na tabela A2 (pág.84) do mesmo apêndice são dados os resultados histométricos de área da lesão (tecido ósseo,

tecido mole e região vazia), em milímetros quadrados. O comprimento referente ao tecido conjuntivo foi igual a zero em todas as amostras analisadas e descartado da análise.

Na tabela 1 (pág.50) são dadas as diferenças entre as medidas histométricas dos grupos teste (G1) e controle (G2), relativas às variáveis de extensão linear da raiz: cimento, epitélio e placa; e à regeneração periodontal linear (RPL), bem como as médias e desvios padrão. Na tabela 2 (pág.51), para essas mesmas variáveis, são dados os coeficientes de correlação. Os maiores coeficientes de correlação estão relacionados com a RPL.

A estatística T^2 de Hotelling, para testar se as médias das diferenças são conjuntamente diferentes de zero, deu o valor 20,86 ao qual está associada à estatística $F= 1,30$ e o valor de probabilidade $p= 0,569$ (maior do que 0,05). Portanto, ao nível de 5% de significância, não há evidência de que as médias das diferenças entre os comprimentos das medidas tomadas na extensão linear da raiz ou entre o comprimento da RPL sejam conjuntamente diferentes de zero.

No gráfico 1 (pág.51) estão representadas as médias das diferenças e os intervalos de 95% de confiança para as médias reais. Esses intervalos, determinados pelo método de Bonferroni, incluem o valor zero, mostrando que realmente não pode ser descartada a hipótese de que as diferenças médias são, em conjunto, iguais a zero. Nota-se uma tendência das diferenças relativas ao epitélio serem menores que zero, indicando valores maiores do

epitélio no grupo controle. Entretanto, essa tendência não foi suficientemente forte para apontar uma significância do efeito do tratamento teste.

Ainda que não seja possível verificar exatamente se os dados seguem uma distribuição de probabilidade multinormal, construíram-se gráficos para determinar se cada variável de extensão linear isoladamente pode ser considerada com distribuição normal. Os gráficos dos valores esperados pela normal padrão contra os valores observados, apresentados no gráfico A1 (pág. 85), do apêndice A, mostram que os dados experimentais se distribuem em torno de uma linha reta e, então, não se deve rejeitar a hipótese de que eles seguem uma distribuição normal para qualquer variável de extensão linear.

Na tabela 3 (pág.52) são dadas as diferenças entre as medidas histométricas dos grupos teste (G1) e controle (G2), relativas às variáveis de área da lesão: tecido ósseo, tecido mole e região vazia, bem como as médias e desvios padrão. Na tabela 4 (pág.52), para essas mesmas variáveis, estão os coeficientes de correlação. O maior grau de correlação foi obtido entre as variáveis: tecido ósseo e região vazia.

A estatística T^2 de Hotelling, para testar se as médias das diferenças são conjuntamente diferentes de zero, deu o valor 34,79 ao qual está associada a estatística $F= 5,80$ e o valor de probabilidade $p= 0,151$ (maior do que 0,05). Portanto, ao nível de 5% de significância não há evidência de que as médias das diferenças das variáveis de área da lesão entre os grupos teste e controle sejam diferentes de zero.

No gráfico 2 (pág.53) estão representadas as médias das diferenças e os intervalos de 95% de confiança para as médias reais. Novamente, os intervalos incluem o valor zero, mostrando que não pode ser rejeitada a hipótese de que o tratamento teste e o controle têm efeitos equivalentes, quanto às variáveis histométricas de área da lesão. Aqui há uma tendência das medidas de região vazia no grupo controle (G2) serem maiores do que no grupo teste (G1), mas não suficiente para indicar uma diferença significativa entre esses dois grupos.

Os valores do gráfico A2 do Apêndice A (pág. 86) mostram que é razoável a hipótese de que as variáveis de área da lesão, consideradas como diferenças entre o valor do grupo teste e o correspondente no grupo controle, seguem distribuições normais.

Tabela 1. Valores das diferenças entre as medidas histométricas dos grupos teste (G1) e controle (G2) relativas à extensão linear da raiz: cimento, conjuntivo, epitélio, placa e relativas à regeneração periodontal linear (RPL). Médias e desvios padrão (DP) das diferenças.

Cão	Extensão linear			RPL
	Cimento	Epitélio	Placa	
494	-0,62	-0,34	0,43	-1,43
499	0,69	-1,02	-0,15	0,00
319	0,68	-0,39	-0,42	1,55
484	2,31	-0,81	-0,22	1,26
492	0,63	-0,16	-0,74	-0,24
Média	0,74	-0,54	-0,22	0,23
DP	1,04	0,36	0,43	1,21

Tabela 2. Coeficientes de correlação entre as variáveis de extensão linear da raiz e da regeneração periodontal linear (RPL), consideradas como diferenças entre as medidas dos grupos teste e controle.

Variável	Cimento	Epitélio	Placa	RPL
Cimento	1			
Epitélio	-0,486	1		
Placa	-0,458	-0,214	1	
RPL	0,768	-0,278	-0,537	1

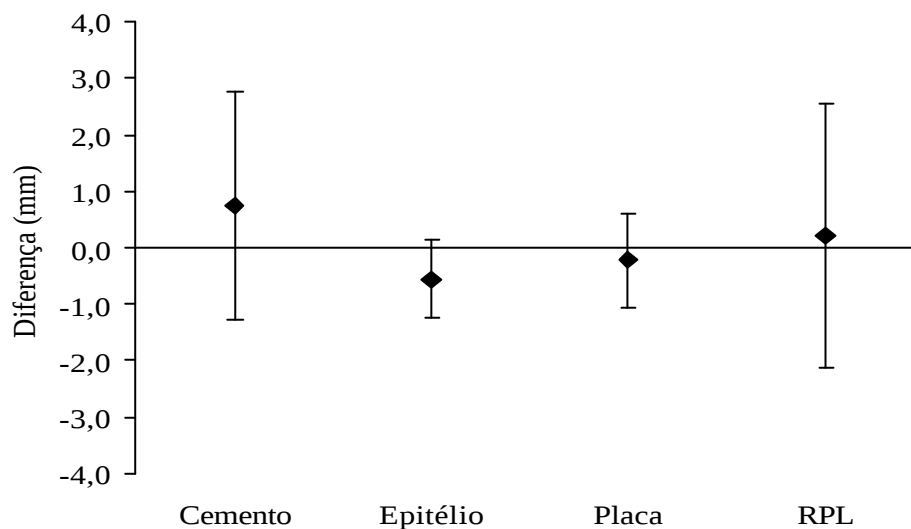


Gráfico 1. Representação das médias de diferenças entre as medidas histométricas de extensão linear da raiz e da regeneração periodontal linear (RPL) dos grupos teste e controle. A barra vertical representa o intervalo de 95% de confiança para a diferença real, obtido pelo método de Bonferroni.

Tabela 3. Valores das diferenças entre as medidas histométricas dos grupos teste (G1) e controle (G2) relativas à área da lesão: tecido ósseo, tecido mole e região vazia. Médias e desvios padrão (DP) das diferenças.

Cão	Tecido ósseo	Tecido mole	Região vazia
494	0,77	0,47	-0,04
499	-0,16	-0,23	-0,27
319	0,66	-1,24	-0,37
484	0,52	1,03	-0,10
492	-0,05	1,55	-0,50
Média	0,35	0,32	-0,26
DP	0,42	1,09	0,19

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre as variáveis de área da lesão, consideradas como diferenças entre as medidas dos grupos teste e controle.

Variável	Tecido ósseo	Tecido mole	Região vazia
Tecido ósseo	1		
Tecido mole	-0,276	1	
Região vazia	-0,580	0,034	1

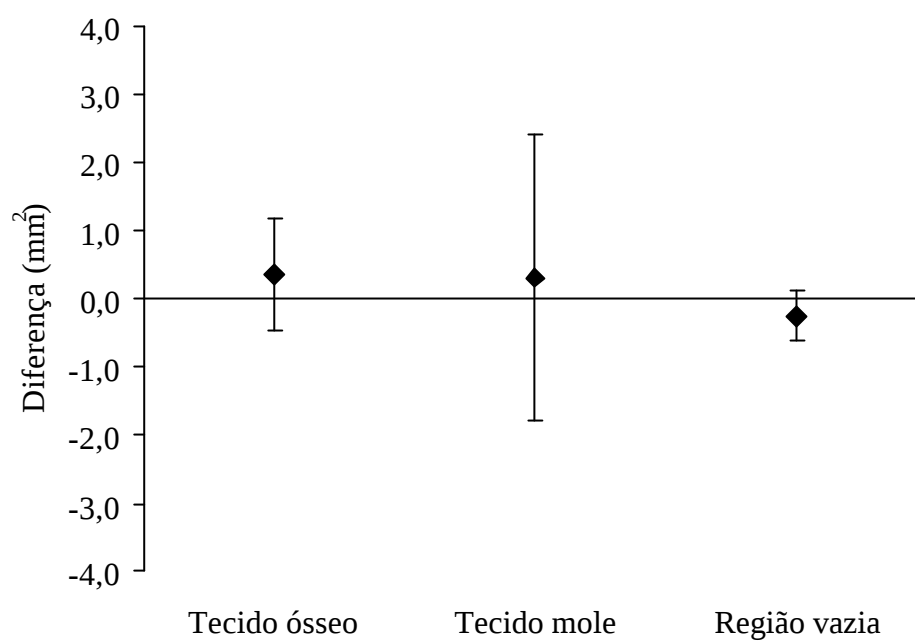


Gráfico 2. Representação das médias de diferenças entre as medidas histométricas de área da lesão dos grupos teste e controle. A barra vertical representa o intervalo de 95% de confiança para a diferença real, obtido pelo método de Bonferroni.

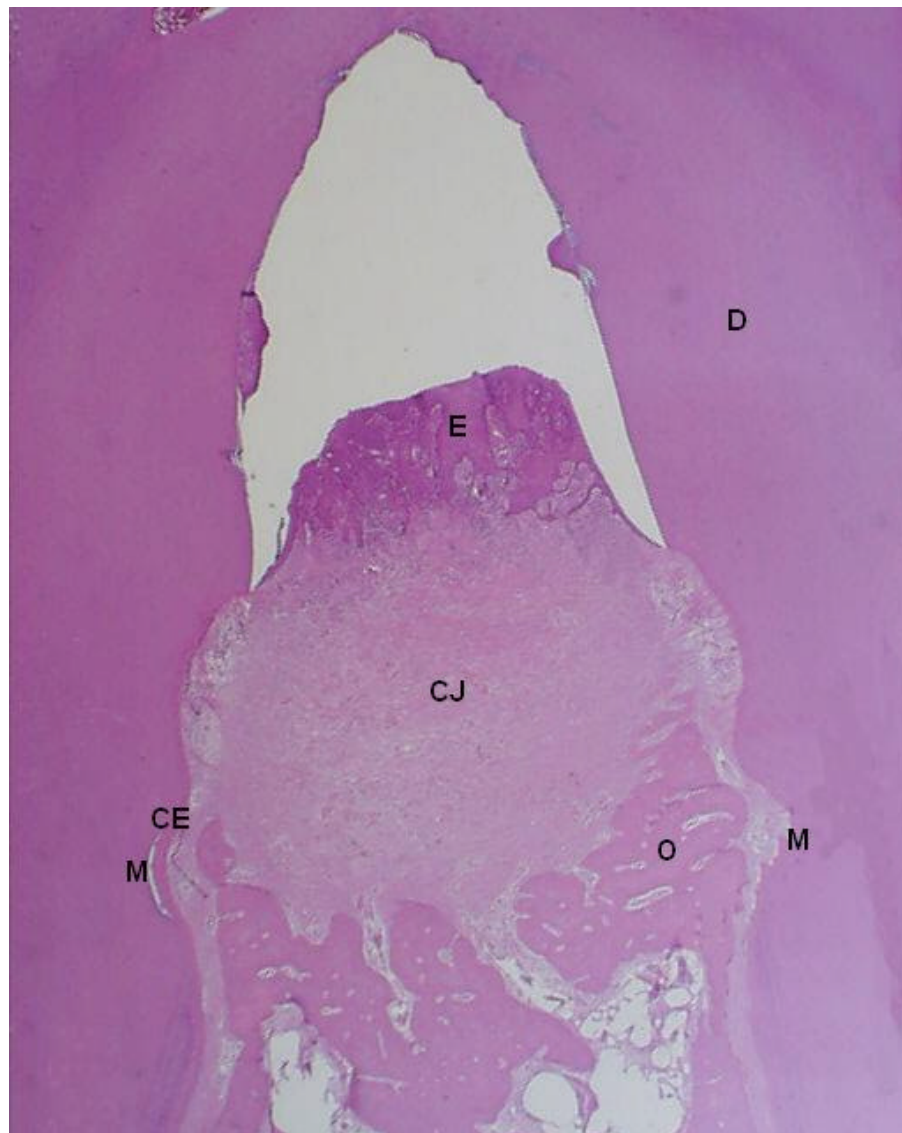


Figura 19. Grupo G1 – Vista panorâmica da área da lesão de furca III induzida experimentalmente e tratada com PRP + enxerto ósseo autógeno + membrana. Observa-se: dentina (D), neoformação cementária (CE) e óssea (O) próximas à “marca” radicular (M), tecido conjuntivo fibroso (CJ) até o terço médio, recoberto por epitélio pavimentoso estratificado (E). H/E. Reichert & Jung (20X).

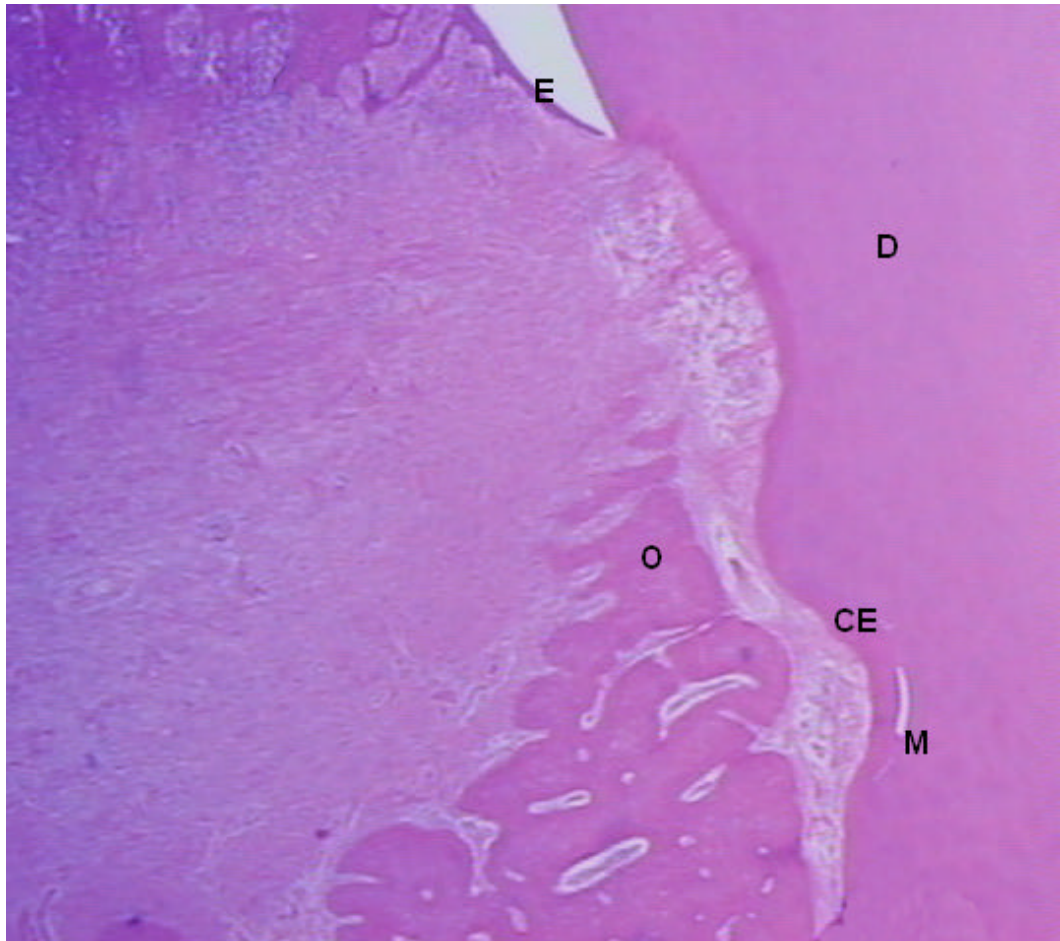


Figura 20. Grupo G1 – Detalhe da figura anterior, mostrando área da marcação (M) induzida experimentalmente, osso (O) e dentina (D). Observa-se regeneração cementária (CE) recobrindo a dentina (D) até próximo a presença do epitélio (E). H/E. Reichert & Jung (100X).

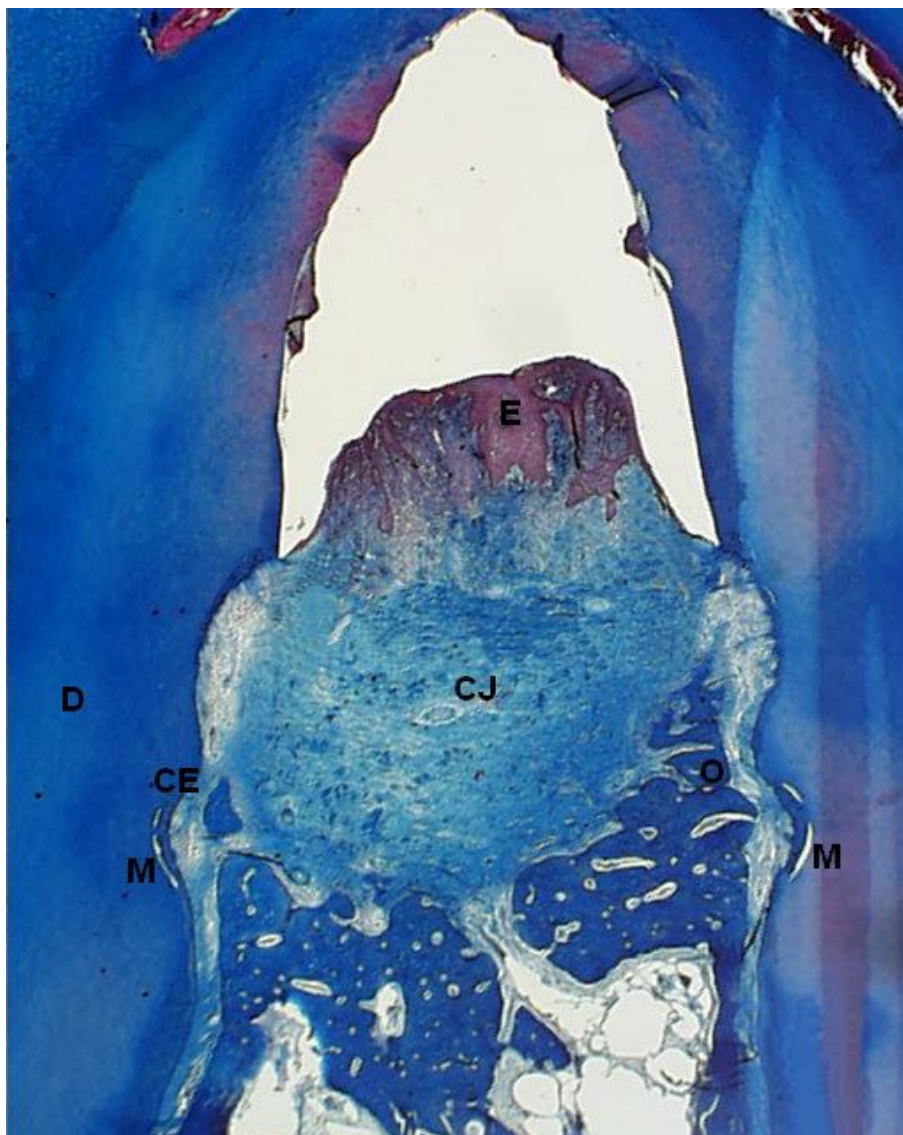


Figura 21. Grupo G1 – Vista panorâmica da área da lesão de furca III induzida experimentalmente e tratada com PRP + enxerto ósseo autógeno + membrana. Observa-se: dentina (D), neoformação cementária (CE) e óssea (O) próximas à “marca” radicular (M) e tecido conjuntivo fibroso (CJ) até o terço médio, recoberto por epitélio pavimentoso estratificado (E). Tricrômico de Masson. Reichert & Jung (20X).

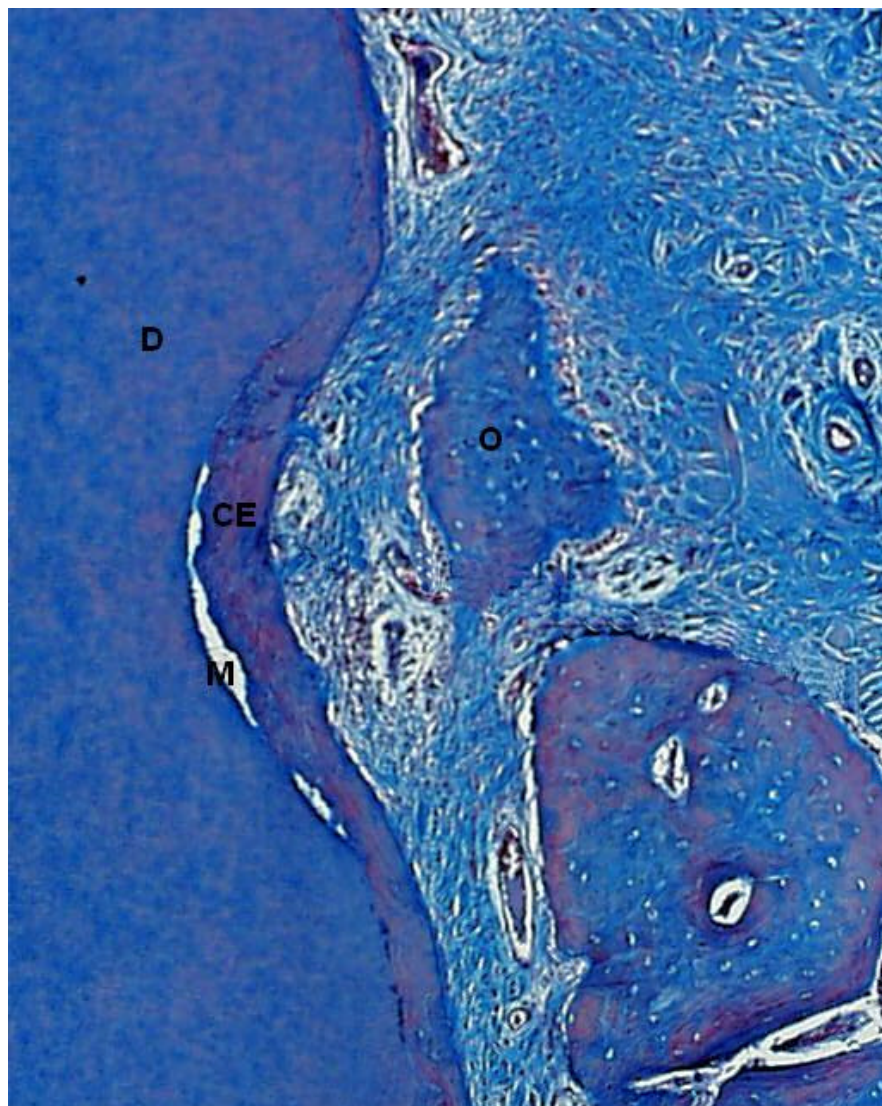


Figura 22. Grupo G1 – Detalhe da figura anterior, mostrando área da marcação (M) induzida experimentalmente, osso (O) e dentina (D). Observa-se regeneração cementária recobrindo a dentina até próximo a presença do epitélio (CE). Tricrômico de Masson. Reichert & Jung (100X).

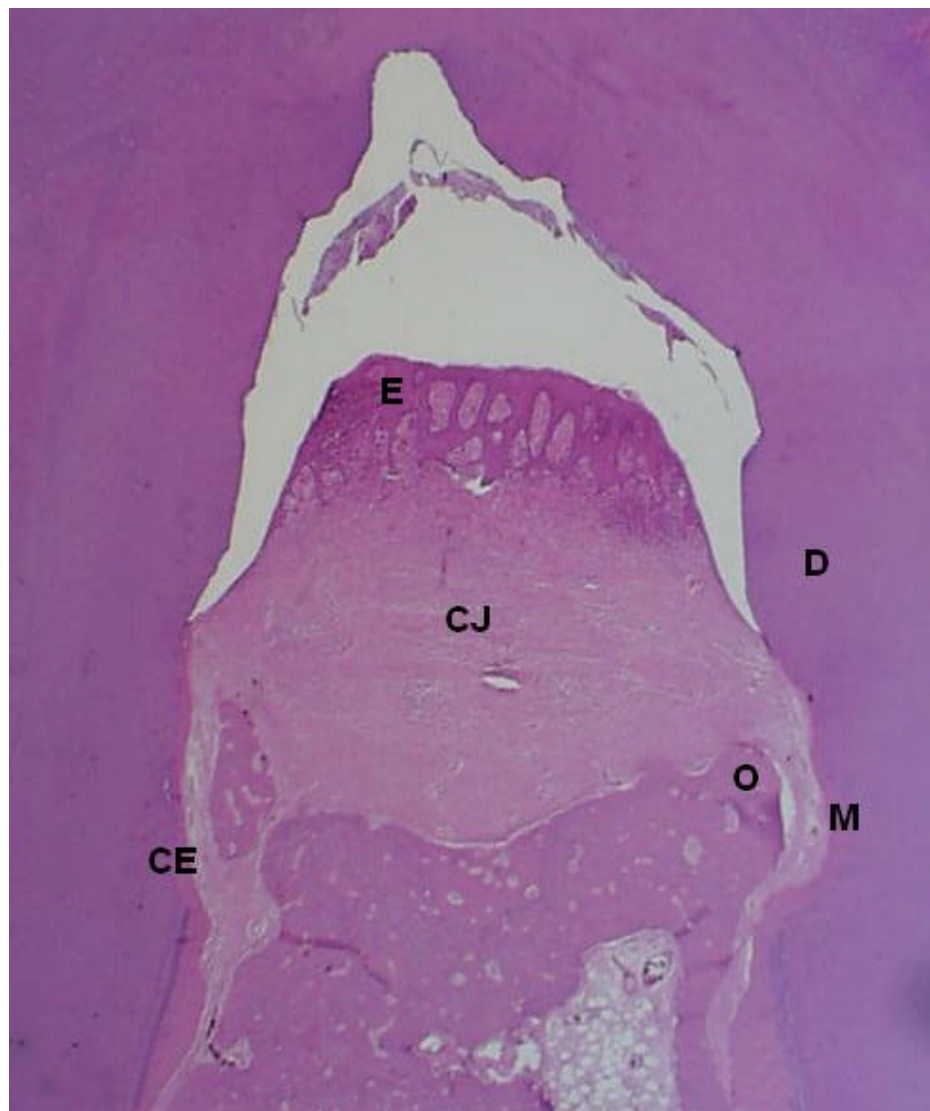


Figura 23. Grupo G2 - Vista panorâmica da área da lesão de furca III induzida experimentalmente e tratada com enxerto ósseo autógeno + membrana. Observa-se que a lesão é parcialmente ocupada por tecido conjuntivo (CJ) denso recoberto por epitélio pavimentoso estratificado (E) e a presença de tecido ósseo (O) somente na área da marcação experimental. Observa-se, também, dentina (D) e neoformação cementária (CE). H/E. Reichert & Jung (20X).



Figura 24. Grupo G2 – Detalhe da figura anterior, mostrando área da marcação (M) induzida experimentalmente. Notar que a regeneração óssea (O) se deu somente na área da marcação. Observa-se regeneração cementária (CE) recobrindo a dentina (D). H/E. Reichert & Jung (100X).

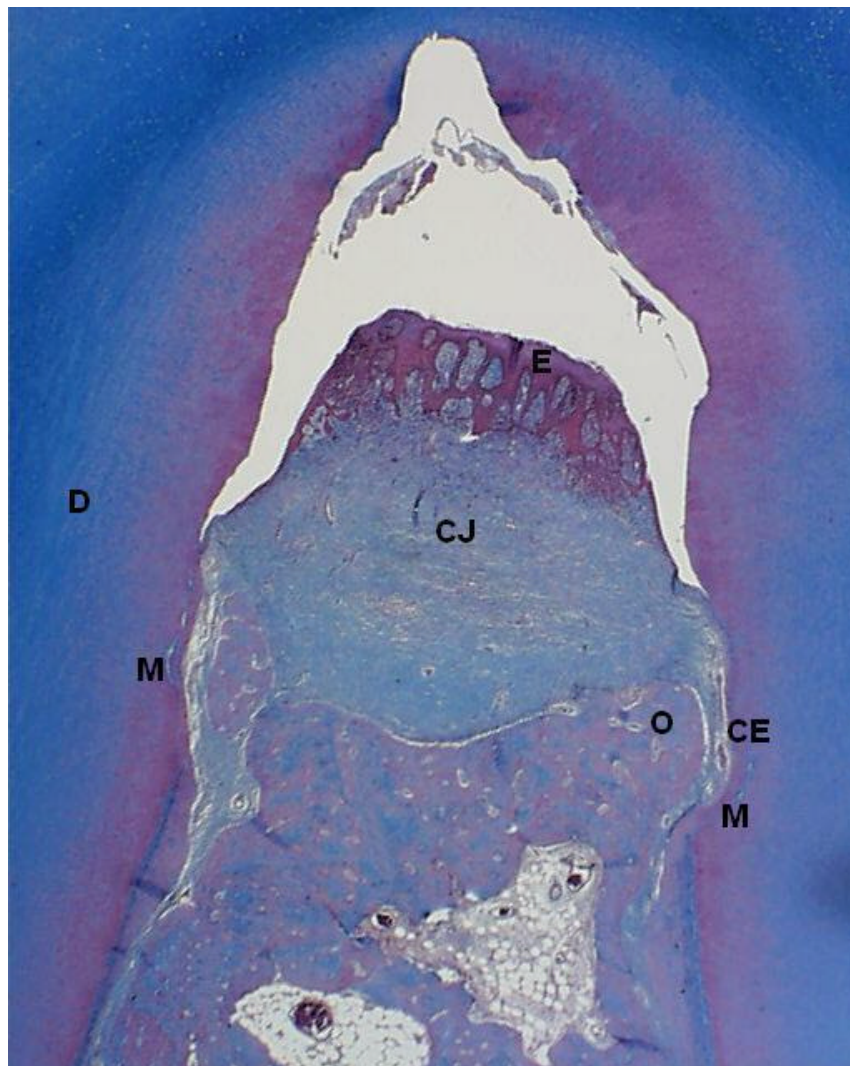


Figura 25. Grupo G2 - Vista panorâmica da área da lesão de furca III induzida experimentalmente e tratada com enxerto ósseo autógeno + membrana. Observa-se que a lesão é parcialmente ocupada por tecido conjuntivo (CJ) denso recoberto por epitélio pavimentoso estratificado (E) e a presença de tecido ósseo (O) somente na área da marcação experimental. Observa-se, também, dentina (D) e neoformação cementária (CE). Tricômico de Masson. Reichert & Jung (20X).

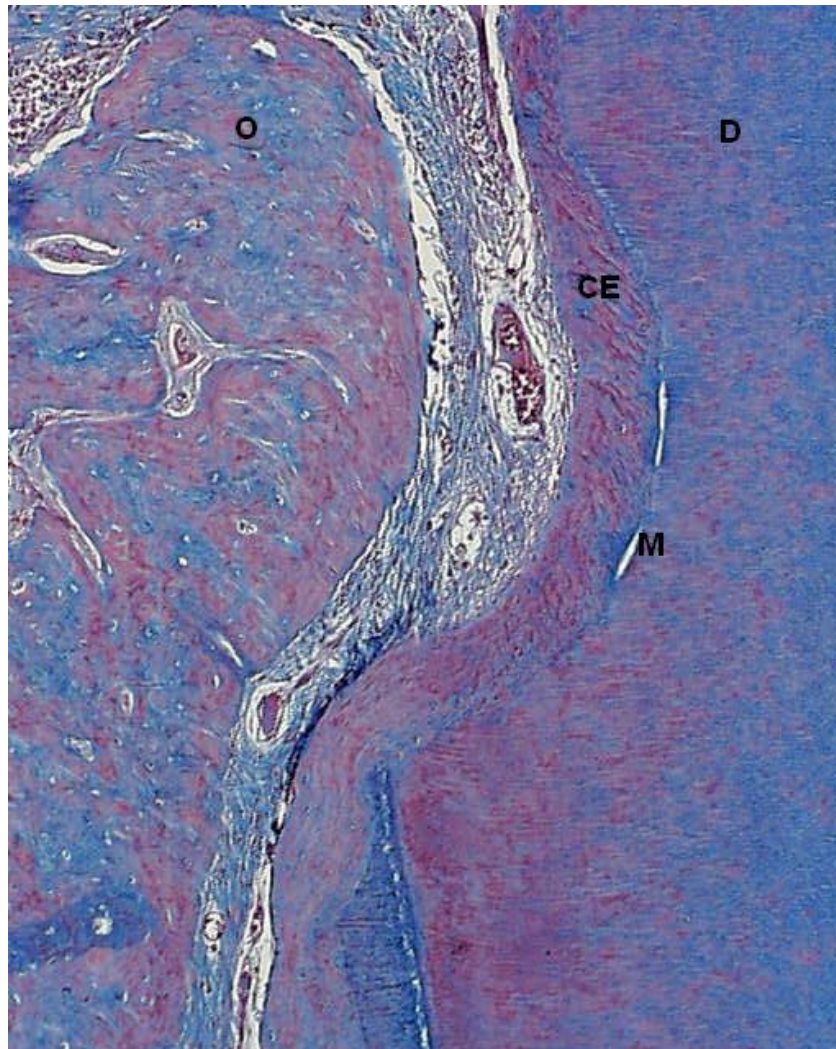


Figura 26. Grupo G2 – Detalhe da figura anterior, mostrando área da marcação (M) induzida experimentalmente. Notar que a regeneração óssea (O) se deu somente na área da marcação. Observa-se regeneração cementária (CE) recobrindo a dentina (D). Tricrômico de Masson. Reichert & Jung (100X).

Discussão

A regeneração periodontal se destaca como um dos objetivos da terapia periodontal e tornou-se uma das principais áreas de investigações.^{21,39} Devido a diferenças no potencial de cicatrização entre os tecidos periodontais, a regeneração completa do periodonto após terapia tradicional, tem sido difícil de ser alcançada em animais e humanos. Dentre as principais causas para essa limitação nos resultados pode-se incluir crescimento apical do epitélio juncional ao longo da superfície radicular desnudada^{21,89}, reabsorção radicular^{40,60}, anquilose entre o osso alveolar e as raízes desprotegidas do ligamento periodontal (LP) e do cimento¹⁹. A formação lenta do novo LP parece ser um fator crítico na cicatrização, e assim, estimular ou favorecer a formação do LP tem sido considerado como um dos passos mais importante para o sucesso da regeneração periodontal.^{21,37}

A terapia regenerativa tecidual guiada (RTG) foi introduzida com o objetivo de induzir à repopulação seletiva de fibroblastos do LP^{39,61,73}, e tem demonstrado maiores extensões de regeneração periodontal em animais^{10,61} e humanos^{8,71}. Entretanto em defeitos maiores como os de furca III, a eficácia desta técnica na regeneração periodontal é limitada.^{8,11,72}

O uso de FC com efeitos estimulatórios na migração, proliferação celular e síntese de componentes da matriz pelas células tem sido proposto para promover regeneração periodontal.^{63,83} Assim como a RTG, a aplicação de alguns FC têm também demonstrado aumento da regeneração periodontal em macacos e cães beagle.^{46,47,78} Entretanto, os efeitos específicos dos FC sobre as atividades dos

fibroblastos do LP não estão completamente esclarecidos, assim como a melhor maneira de aplicação destes FC para promover regeneração periodontal precisa ainda, ser estabelecida.^{18,43}

Baseando-se nos resultados das pesquisas com os FC e considerando que alguns desses FC estão presentes nas plaquetas, estudos foram realizados associando o PRP ao enxerto ósseo autógeno ou a diferentes biomateriais, visando aumentar o volume de material disponível e acelerar o processo de aposição e maturação óssea.^{12,42,50,64,66,79}

Somando-se às pesquisas anteriores, o objetivo do presente estudo foi avaliar histomorfometricamente em cães, o Plasma Rico em Plaquetas associado a enxerto ósseo autógeno e membrana absorvível em defeitos de furca grau III, induzidos cirurgicamente e cronificados.

Contrariando grande parte dos estudos existentes na literatura sobre o uso do PRP^{42,43,50,64,66}, os quais, na maioria das vezes, são relatos de casos ou pesquisas clínicas em humanos, sem análise histológica e/ou histométrica, com exceção de Marx et al.,⁵⁰ (1998), o resultado deste estudo não encontrou diferenças estatisticamente significantes nos tratamentos entre o grupo teste e controle. Ambos os grupos, apresentaram pequena regeneração periodontal, com formação óssea na altura da marcação e cemento celular se estendendo da região da marcação até o início do epitélio localizado no 1/3 coronal do defeito de furca. Estudos realizados por Aghaloo et al.,¹ (2002), com o PRP e osso autógeno em defeitos criados na calota de coelhos, também não observaram aumento significativo na formação óssea.

Nos trabalhos pesquisados em lesões de furca III em animais, os autores trabalharam com FC específicos PDGF associado à membrana^{18,65} ou ao IGF-I^{46,47} obtendo resultados estatisticamente significantes. Segundo Lynch et al.,⁴⁶ (1989), os PDGF e IGF-I podem ser potentes agentes mitogênicos e quimiotáticos para fibroblastos e osteoblastos, e quando aplicados *in vivo* eles podem estimular a migração e proliferação dessas células na área. Além disso, estes parecem ser capazes de estimular processos metabólicos das células recrutadas que conduzem a nova formação de colágeno e osso.

Segundo Lynch et al.,⁴⁵ (1987) e Greenhalgh et al.,³⁰ (1993), quando associações ou “coquetéis” de diferentes FC são usados, maior reparo é alcançado do que quando FC individuais são aplicados. De acordo com Giannobile,²⁸ (1999), o IGF-I quando associado a outro FC como TGF- β ou PDGF pode aumentar a osteogênese em processos cicatriciais promovendo a deposição da matriz óssea. Mais de um FC pode ser requisitado por uma célula para que esta entre no ciclo celular, por exemplo, células imóveis que são tratadas com PDGF, FGF, ou IGF-I sozinhos não entraram no ciclo celular; porém, quando o PDGF ou FGF é associado pela adição de IGF-I, a proliferação ocorre.⁸¹

O PRP por apresentar vários FC em sua composição poderia ter um significativo potencial osteoindutor, porém isto não se confirmou no estudo atual. Vários fatores inerentes ao próprio PRP podem estar relacionados aos resultados encontrados, como: quantidade e tipo de FC presentes, forma de aplicação, viabilidade destes FC e falta de outros componentes moleculares que desencadeiem a ativação destes fatores.

Segundo Gannobile,²⁸ (1999), para que os FC exerçam sua ação o requisito básico é que haja suprimento suficiente de células progenitoras próximas ao sítio de interesse, e essas células devem expressar receptores específicos para o FC e possuir capacidade proliferativa e metabólica máxima. Se essas células não estiverem presentes, ou existirem em número limitado, reparo deve ocorrer ao invés de regeneração. No caso da doença periodontal crônica, aspectos morfológicos, fisiológicos e aqueles peculiares ao microambiente inflamatório/infeccioso podem agir como moduladores da resposta à terapia regenerativa. Processos inflamatórios crônicos por sua vez levam a alterações nas funções celulares, especialmente na sua capacidade proliferativa.^{2,16,41,92} Porém, não se sabe se tais alterações podem ser revertidas com a cura da doença. De qualquer modo, a resposta pouco favorável obtida de pacientes com periodontite crônica, submetidos à terapia regeneradora com FC, sugere que as células alvo estão em número reduzido ou perderam a capacidade de responder ao estímulo biológico.

Além do mais, inúmeros tipos celulares, em diferentes estágios de diferenciação, podem responder de maneira diversa ao estímulo biológico, indicando a necessidade de controle sobre dose, tempo de atuação e combinação adequada de FC.²⁷

Outras possibilidades têm sido levantadas, incluindo a degradação rápida dessas moléculas no seu sítio de atuação e variabilidade na resposta do paciente.^{94,95} Estas últimas, inclusive, têm sido usadas para justificar a proposta de

utilização da terapia de transferência do gene que codifica o PDGF para fibroblastos periodontais.²⁷

Sabe-se também que essas moléculas atuam, geralmente, em concentrações extremamente baixas. Diferentes concentrações acarretam efeitos diversos e, muitas vezes, opostos como demonstrado *in vitro* para vários FC.^{23,94}

Também foi demonstrado recentemente, que o PDGF se encontra em quantidade elevada em tecido gengival de pacientes com periodontite crônica, localizando-se principalmente no epitélio inflamado da bolsa. No caso específico do PDGF, existem amplas evidências que essa molécula mitogênica pode também ter efeitos catabólicos, à semelhança de citocinas pró-inflamatórias, dependendo da dose e do tempo de atuação nos tecidos.⁶⁸

Porém, considerando a divergência dos resultados deste estudo com outros estudos da literatura, fatores ligados à metodologia também devem ser considerados.

No presente estudo, os defeitos de furca III ao redor dos pré-molares tinham uma altura cervico apical de 5mm, o que pode ter influenciado negativamente nos resultados. O sucesso do reparo e regeneração periodontal dos defeitos de furca também está relacionado ao tamanho dos defeitos, especialmente defeitos de furca III.^{11,72} Segundo Park et al.,⁶⁵ (1995), a regeneração periodontal ao redor de defeitos de furca III requer tempo maior de cicatrização (mais do que 11 semanas) e o resultado parece ser mais variável e impossível de prever. Estes defeitos tendem a ser mais vulneráveis à infecção bacteriana e subsequentemente a cicatrização deles fica menos previsível e fidedigna.

Além das características dos defeitos de furca III, outro fator que pode ter influenciado na variabilidade dos resultados deste estudo, em comparação aos de Lynch et al.,⁴⁶ (1989); Lynch et al.,⁴⁷ (1991); Cho et al.,¹⁸ (1995); Park et al.,⁶⁵ (1995), e que pode ter gerado dificuldades na observação de diferenças estatísticas, foi a utilização de cães de raça indefinida e PRP, enquanto os autores citados trabalharam com cães de raça definida (beagle) e FC específicos.

Segundo Mellonig,⁵⁵ (1999), é importante notar que o tipo de material regenerativo a ser empregado é somente um dos determinantes para o sucesso do resultado. Temos que levar em conta: seleção do paciente, a morfologia e tamanho do defeito, considerações oclusais, mobilidade dental, preparação radicular, sutura, fechamento do retalho, cobertura antibiótica, controle de placa, estabilização da ferida, bloqueio epitelial. Todas estas variáveis são consideradas importantes quando se busca uma verdadeira regeneração periodontal.

O controle adequado do biofilme dental parece ser de importância básica, já que este é o agente etiológico da lesão e, provavelmente, uma das causas de insucesso da terapia de regeneração periodontal. A relação do biofilme com o microambiente inflamatório e o efeito desse sobre os diferentes componentes celulares e moleculares envolvidos com a cicatrização da ferida e remodelagem do tecido periodontal, necessitam ser mais bem compreendidos.⁵⁹ Em nosso estudo apesar de termos realizado diariamente um adequado controle, em vários cortes histológicos era possível detectar placa bacteriana no teto da furca. Isto é justificado pela dificuldade de controle adequado em lesões de furca grau III, em cães, devido à morfologia e dificuldade de acesso na região.

Do mesmo modo, é insuficiente o que se sabe a respeito do efeito dos FC nas células em diferentes estágios de desenvolvimento e sobre diferentes tipos celulares interagindo, espacial e temporalmente, na sequência de reparo dos tecidos periodontais. A rápida degradação proteolítica, característica do próprio fator de crescimento ou devido ao ambiente inflamatório desfavorável, aponta a necessidade de desenvolvimento de dispositivos que aumentem a estabilidade *in vivo* dessas moléculas.²⁰

No futuro, poderá ser usada a associação certa de FC que são exigidos para uma ferida específica prevenindo os vários fracassos de cicatrização. O vasto potencial para os FC aumentar a cicatrização da ferida não deve ser ignorado, pelo contrário, precisa de mais investigações.³¹

No momento não existem evidências científicas que suportem a aplicação clínica dos FC, com objetivos de promover regeneração dos tecidos periodontais destruídos pela doença inflamatória crônica.²⁰

Tendo em vista as dificuldades encontradas no tratamento de lesões de furca grau III, os resultados obtidos e os poucos estudos clínicos e histológicos com o PRP, novas pesquisas são necessárias para elucidar o seu real papel na regeneração dos tecidos periodontais.

Conclusão

A associação do Plasma Rico em Plaquetas ao enxerto ósseo autógeno e membrana absorvível, não apresentou benefícios adicionais quanto à regeneração periodontal em lesões de furca grau III, em cães, quando comparado ao grupo tratado apenas com enxerto ósseo autógeno e membrana absorvível.

Referências *

1. AGHALOO, T.L; MOY, P.K; FREYMILLER, E.G. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v.60, n.10, p.1176-1181, 2002.
2. AIKATA, H. et al. Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. **Exp. Cell Res.**, v.256, p.578-582, 2000.
3. ALLEN, E.P; MILLER, P.D. Coronal positioning of existing gingival. Short term results in the treatment of shallow marginal tissue recession. **J. Periodontol.**, Chicago, v.60, p.316-319, 1989.
4. ANITUA, E. Plasma Rich in Growth Factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Carol Stream, v.14, p.529-535, 1999.
5. ANITUA, E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. **Pract. Proced. Aesthet. Dent.**, v.13, n.6, p.487-493, Aug. 2001.
6. ARAÚJO, M.G; LINDHE, J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.25, p.524-530, 1998.

*ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

7. ARAÚJO, M.G; BERGLUNDH, T; LINDHE, J. The periodontal tissues in healed degree III furcation defects. An experimental study in dogs. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, p.532-541, 1996.
8. BECKER, W; BECKER, B.E; BERG, L. repair intrabony defects as a result of open debridement procedures. Report of 36 treated cases. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v.6, n.2, p.9-21, 1986.
9. BRUNSVOLD, M.A; MELLONIG. Bone grafts and periodontal regeneration. **Periodontol. 2000.**, Munksgaard, v.1, p.80-91, 1993.
10. CAFFESSE, R.G. et al. New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v.59, p.589, 1988.
11. CAFFESSE, R.G. et al. Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration (GTR). **J. Periodontol.**, Chicago, v.61, p.45-50, 1990.
12. CAMARGO, P.M. et al. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects humans. **J. Periodontol. Res.**, Copenhagen, v.37, p.300-306, 2002.
13. CAMELO, M et al. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor—BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.23, n.3, p.213-225, 2003.
14. CARRANZA Jr. F.A. Reconstructive osseous surgery. In: Carranza Jr., F.A., Newman, M.G., eds. **Glickman's Clinical Periodontology**, Philadelphia: WB Saunders; cap.1, p.621-666, 1996.

15. CARRANZA Jr. F.A; JOLKOVSKY, D.L. Current status of periodontal therapy for furcation involvements. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.35, p.555-571, 1991.
16. CARRO, O.M; EVANS, S.A.S; LEONE, C.W. Effect of inflammation on the proliferation of human gingival epithelial cells in vitro. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, p.1070-1075, 1997.
17. CIRELLI, J.A. et al. Evaluation of anionic collagen membranes in the treatment of class II furcation lesions: An histometric análisis in dogs. **Biomaterials.**, Guildford, v.18, p.1227-1234, 1997.
18. CHO, M.I.; LIN W.L; GENCO, R.J. Platelet-derived growth factor modulated guided tissue regenerative therapy. **J. Periodontol.**, Chicago, v.66, p.522-530, 1995.
19. CRIGGER, M. et al. The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v.13, p.538-549, 1978.
20. CROMBLEHOLME, T.M. Adeniorival-mediated gene transfer in wound healing. **Wound Repair Regen.**, v.8, p.460-472, 2000.
21. EGELBERG, J. Regeneration and repair of periodontal tissues. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.22, p.233-242, 1987.
22. ELLEGAARD, B; NIELSEN, I.M; KARRING, T. Composit jaw and iliac cancellous bone grafts in intrabony defects in monkeys. **J. Periodontal Res.**, Copenhagen, v.11, p.299-310, 1976.

23. FERES-FILHO, E.J. Pre and post-translation regulation of lysyl oxidase by TGF- β 1 in osteoblastic MC3T3-EL cells. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.270, p.30797-30803, 1995.
24. FROUM, S.J. et al. Human clinical and histologic responses to durapatite in intraosseous lesions. Case reports. **J. Periodontol.**, Chicago, v.53, p.719-729, 1982.
25. GARRET, S. Periodontal regeneration around natural teeth. In: AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. **Ann. Periodontol.**: 1996 World Workshop in Periodontics. Chicago: American Academy of periodontology. v.1, Cap.7, p.621-666.
26. GIANNOBILE, W.V; FINKELMAN, R.D; LYNCH, S.E. Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: Results following a single administration of PDGF/IGF-I. **J. Periodontol.**, Chicago v.65, n.12, p.1158-1168, 1994.
27. GIANNOBILE, W.V. et al. Platelet-derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. **J. Periodontol.**, Chicago v.72, n.6, p.815-823, 2001.
28. GIANNOBILE, W.V. Periodontal tissue regeneration by polypeptide growth factors and gene transfer. Tissue Engennering, 1^a ed., Illinois, **Quintessence Books.**, p.231-243, 1999.
29. GOTTLOW, J. et al. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.11, p.494-503, 1984.

30. GREENHALGH, D.G. et al. Synergistic actions of platelet-derived growth factor and the insulin-like growth factors *in vivo*: Enhancement of tissue repair in genetically diabetic mice. **Wound Repair and Regeneration.**, v.1, p.69-81, 1993.
31. GREENHALGH, D.G. The role of growth factors in wound healing. **J. Trauma**, Baltimore, v.41, n.1, p.159-167, 1996.
32. GREENSTEIN, G; CATON, J.G. Biodegradable barriers and guide tissue regeneration. **Periodontol. 2000.**, Munksgaard, v.1, p.36-45, 1993.
33. HARKER, L.A; FINCH, C.A. Thrombokinetis in man. **J. Clin. Invest.**, New York, v.48, n.6, p.963-974, 1969.
34. HAMP, S.E; NYMAN. Tratamento de dente com envolvimento de furca. In: HARVEY, P. Management of advanced periodontitis. Part I. Preliminary report of a method of surgical reconstruction. **N.Z. Dent. J.**, Auckland, v.61, p.180-187, 1965.
35. HIROOKA, H. The biologic concept for the use of enamel matrix protein: true periodontal regeneration. **Quintessence Int.**, Illinois, v.29, p.621-630, 1998.
36. HOWELL, H. et al. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, p.1186-1193, 1997.

37. ISIDOR, F. The significance of coronal growth of periodontal ligament tissue for new attachment formation. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.13, p.145-150, 1986.
38. JOHNSON, R.A; WICHERN D.W. **Applied multivariate statistical analysis**. 4^a ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998, 816p.
39. KARRING, T; NYMAN, S; LINDHE, J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.7, p.96-105, 1980.
40. KARRING, T. et al. New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.12, p.51-60, 1985.
41. KITADA, T. et al. Telomere shortening in chronic liver diseases. **Bioch. Bioph. Res. Comm.**, v.211, p.33-39, 1995.
42. LEKOVIC, V. et al. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: A reentry study. **J. Periodontol.**, Chicago, v.73, n.2, p.198-205, 2002.
43. LEKOVIC, V. et al. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.30, p.746-751, 2003.
44. LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**, cap.15, 3^a edição, 1997.

45. LYNCH, S.E. et al. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: synergistic effects with other growth factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences.**, USA 84, 7696-7700, 1987.
46. LYNCH, S.E; WILLIAMS, RC; POLSON, AM. A combination of platelet-derived growth factor and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.16, p.545-548, 1989.
47. LYNCH, S.E. et al. The effects of short- term application of a combination of a platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. **J. Periodontol.**, Chicago, v.62, p.458-467, 1991.
48. LYNCH, S.E; GENCO, R.J; MARX, R.E. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Illinois: **Quintessence Publishing Co, Inc**, 1999. 297p.
49. MANN, W. Autogenous transplant in the treatment of an infrabony pocket. **Periodontics**, Brookline, v.2, p.205-208, 1964.
50. MARX, R.E. et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.85, n.6, p.638-646. Jun. 1998.
51. MARX, R.E. Platelet-rich plasma: A source of múltiple autologous growth factors for bone grafts. Tissue Engennering: Aplications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. 1^a ed., Illinois, **Quintessence Books**, p.71-82, 1999.
52. MARX, R.E. et al. Platelet-rich plasma (PRP): GAT is PRP and what is not PRP? **Implant. Dent.**, Baltimore, v.10, n.4, p.225-228, 2001.

53. MARTIN, M. et al. Treatment of periodontal furcation defects. (I) Review of the literature and description of a regenerative surgical technique. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.15, p.227-231, 1988.
54. MATSUDA, N. et al. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, n.6, p.515-525, 1992.
55. MELLONIG, J.T. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.19, n.1, p.9-19, 1999.
56. NABERS, C.L; O'LEARY, T.J. Autogenous bone transplant in the treatment of osseous defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v.36, p.5-14, 1965.
57. NABERS, C.L; O'LEARY, T.J. Autogenous bone grafts: case report. **Periodontics**, Brookline, v.5, p.251-253, 1967.
58. NEVINS, M. et al. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. **J. Periodontol.**, Chicago, v.74, n.9, p.1282-1292, 2003.
59. NOWZARI, H; LONDON, R; SLOTS, J. The importance of periodontal pathogens in guided periodontal tissue regeneration and guided bone regeneration. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v.16, n.10, p.1042, 1044 passim; quiz 1058, 1995.
60. NYMAN, S. et al. Healing following implantation of periodontitis affected roots into gingival connective tissue. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.7, p.394-401, 1980.

61. NYMAN, S. et al. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.9, p.290-296, 1982.
62. NYMAN, S. et al. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.9, p.257-265, 1982.
63. OATES, T.W; ROUSE, C.A; COCHRAN, D.L. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells *in vitro*. **J. Periodontol.**, Chicago, v.64, p.142-148, 1993.
64. OBARRIO, J.J. et al. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: Platelet gel biotechnology – Case report. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v.20, n.5, p.487-497, 2000.
65. PARK, J.B. et al. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. **J. Periodontol.**, Chicago, v.66, p.462-477, 1995.
66. PETRUNGARO, P.S. Using Platelet-rich Plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, v.22, p.729-746. Sep. 2001.
67. PIERCE, G.F. et al. Platelet-derived growth factor-beta (BB homodimer), transforming growth factor-beta 1, and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing. Neovessel and matrix formation and cessation of repair. **Am. J. Pathol.**, v.140, p.1375-1388, 1992.

68. PINHEIRO, M.L. et al. Quantification and localization of platelet-derived growth factor gingival of periodontitis patients. **J. Periodontol.**, Chicago, v.74, n.3, p.323-328, 2003.
69. POLSON, A.M; PROYE, M.P. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. **J. Periodontol.**, Chicago, v.54, p.141-147, 1983.
70. POLSON, A.M. et al. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. **J. Periodontol.**, Chicago, v.55, p.443-446, 1984.
71. PONTORIERO, R. Et al. Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.15, p.247-254, 1988.
72. PONTORIERO, R. et al. Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. A clinical study of degree III involvements. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.16, p.170-174, 1989.
73. PONTORIERO, R. et al. Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects: An experimental study in the beagle dog. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.19, p.159-163, 1992.
74. RACZ E THEK. Buffy coat or platelet-rich plasma? Comparison of two platelet processing techniques. **Vox Sang.**, v.47, n.2, p.108-113, 1984.
75. REGISTER, A.A; BURDIK. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, desmineralized in situ. I. Optimum range. **J. Periodontol.**, Chicago, v.46, p.646-655, 1975.

76. ROSS, R; RAINES, E.W; BOWEN-POPE D.F. The biology of platelet derived growth factor. **Cell.**, v.46, p.155-169, 1986.
77. ROSS, R. Platelet-derived growth factor. **Ann. Rev. Med.**, v.38, p.71-79, 1987.
78. RUTHERFORD, R.B. et al. Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v.27, p.285-290, 1992.
79. SANCHES, A.R. et al. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Carol Stream, v.18, p.93-103, 2003.
80. SLATER, M. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. **J. Orthopaedic Research.**, v.13, n.5, p.655-663, 1995.
81. STILES, C.D., et al. Dual role of cell growth by somatomedins and platelet derived growth factor. **Proc. Nalt. Acad. Sei.**, USA, v.76, p.1279, 1979.
82. SUMNER, C.F. Surgical repair of recession on the maxillary cuspid: incisionally repositioning the gingival tissues. **J. Periodontol.**, Chicago, v.40, p.119-121, 1969.
83. TERRANOVA, V.P; WISKESJÖ, U.M.E. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of cells of the periodontium. **J. Periodontol.**, Chicago, v.58, p.371-380, 1987.
84. WANG, H.L. et al. The effect of platelet-derived growth factor on the cellular response of the periodontium: An autoradiographic study on dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, p.429-436, 1994.

85. WARSHAW, AL. et al. Protein síntesis by human platelets. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.242, n.9, p.2094-2107, 1967.
86. WARTIOVAARA, U. et al. Peripheral blood platelets express VEGF-C and VEGF which are released during platelet activation. **Thromb Haemost.**, v.80, p.171-175, 1998.
87. WENNESTRÖM E ZUCCELLI. Increased gingival dimensions. A significant factor for successful outcome of root coverage procedures? A 2-year prospective clinical study. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, n.8, p.770-777, 1996.
88. WIKESJÖ, U.M.E; NILVÉUS, R.E; SELVIG, K.A. Significance of early healing events on periodontal repair: A review. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, p.158-165, 1992.
89. WIRTHLIN, M.R. The current status of new attachment therapy. **J. Periodontol.**, Chicago, v.52, p.529-544, 1981.
90. WITTE, L.D. et al. Studies of the release from human platelets of the growth factor for cultured human arterial muscle cells. **Circ. Res.**, v.42, n.3, p.402-409, 1978.
91. WHITMAN, D.H; BERRY, R.L; GREEN, D.M. Platelet Gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v.55, p.1294-1299, 1997.
92. WU, K. et al. Telomerase activity is increased and telomere length shortened in T cells from blood of patients with a topic dermatitis and psoriasis. **J. Immunol.**, Baltimore, v. 165, p.4742-4747, 2000.

93. YUKNA, R. et al. Six month evaluation of calcitite (hydroxyapatite ceramics) in periodontal osseous defects. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v.3, p.35-45, 1986.
94. ZHAO, M; BERRY, J.E; SOMERMAN, M.S. Bone morphogenetic protein-2 inhibits differentiation and mineralization of cementoblasts in vitro. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.82, p.23-27, 2003.
95. ZHU, Z. et al. Gene transfer and expression of platelet-derived growth factors modulate periodontal cellular activity. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v.80, p.892-897, 2001.

Apêndice

Apêndice A

Tabela A1. Dados obtidos da análise histométrica de extensão linear da raiz e da regeneração periodontal linear (RPL), em milímetros.

Grupo	Cão	Dente	Extensão linear da raiz				RPL
			Cimento	Epitélio	Placa	Total	
G1	494	3-PME	1,99	2,81	4,50	9,30	0,00
G1	499	3-PMD	1,41	5,51	3,40	10,32	0,00
G1	319	3-PME	3,81	2,76	2,76	9,33	1,55
G1	484	3-PME	4,04	2,62	3,20	9,86	1,63
G1	492	3-PMD	3,61	2,09	3,56	9,26	0,53
G2	494	3-PMD	2,61	3,15	4,07	9,83	1,43
G2	499	3-PME	0,72	6,53	3,55	10,80	0,00
G2	319	3-PMD	3,13	3,15	3,18	9,46	0,00
G2	484	3-PMD	1,73	3,43	3,42	8,58	0,37
G2	492	3-PME	2,98	2,25	4,30	9,53	0,77

Tabela A2. Dados da análise histométrica de área da lesão, em milímetros quadrados.

Grupo	Cão	Dente	Tecido ósseo	Tecido mole	Região Vazia	Total
G1	494	3-PME	0,77	6,78	2,41	9,96
	499	3-PMD	0,00	8,67	1,57	10,24
	319	3-PME	0,66	6,45	1,01	8,12
	484	3-PME	0,59	7,75	1,36	9,70
	492	3-PMD	0,17	8,88	1,75	10,80
G2	494	3-PMD	0,00	6,31	2,45	8,76
	499	3-PME	0,16	8,90	1,84	10,90
	319	3-PMD	0,00	7,69	1,38	9,07
	484	3-PMD	0,07	6,72	1,46	8,25
	492	3-PME	0,22	7,33	2,25	9,80

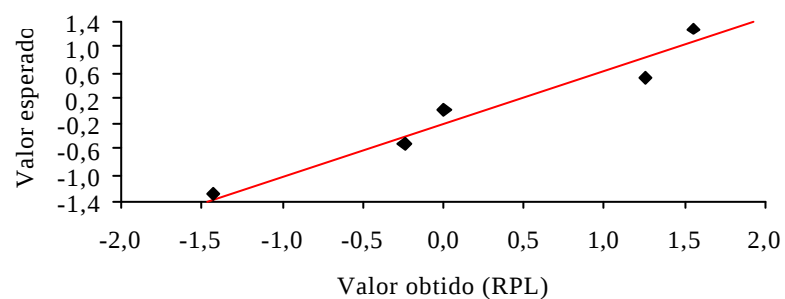
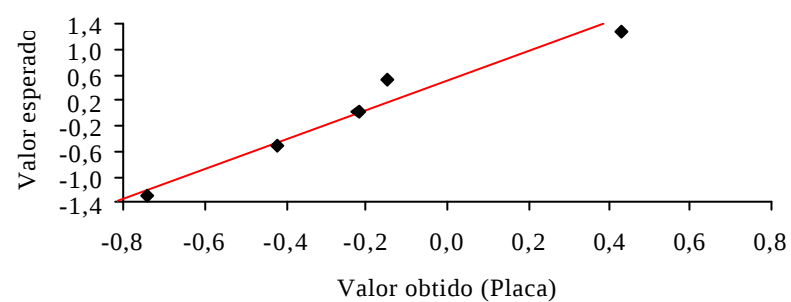
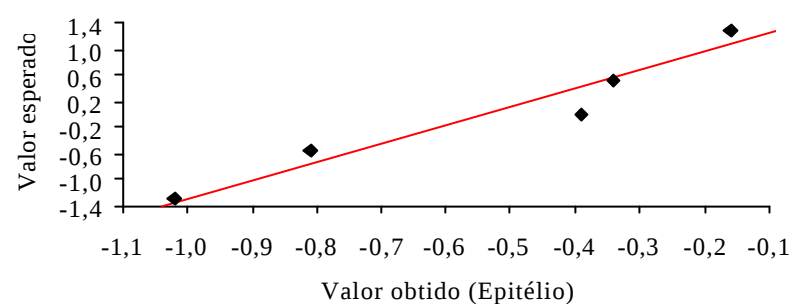
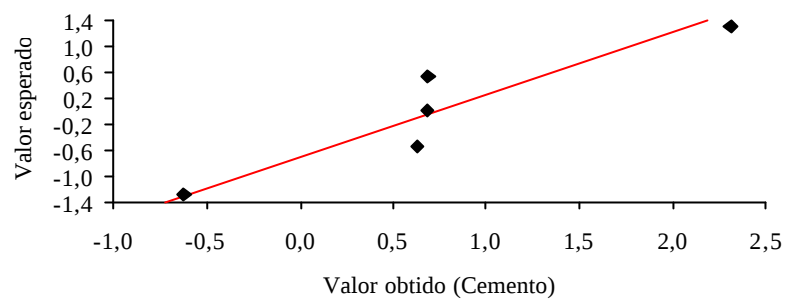


Gráfico A1: Avaliação da normalidade das variáveis de extensão linear.

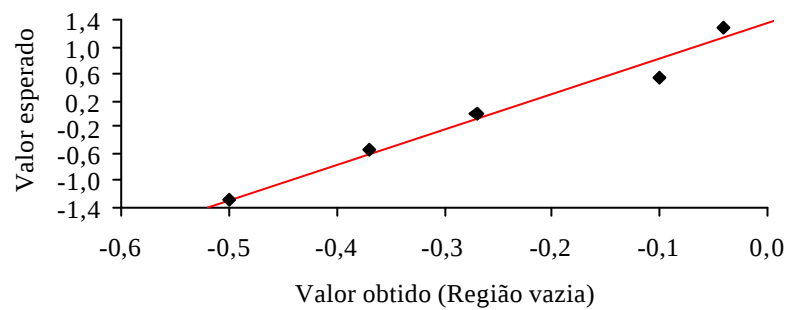
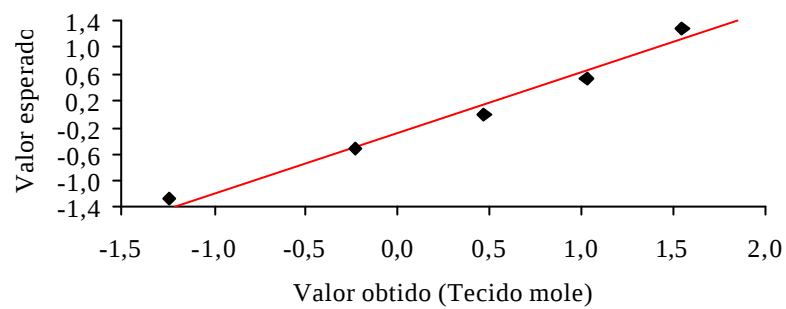
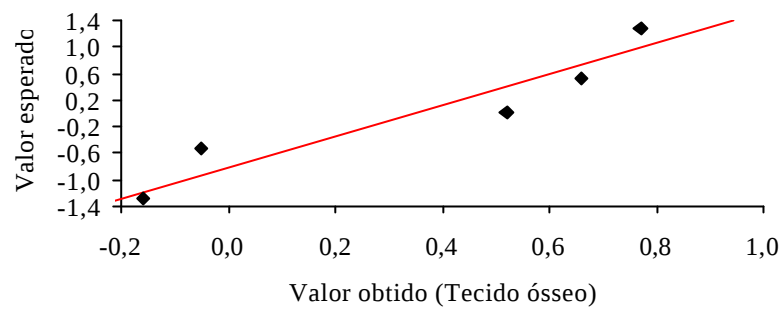


Gráfico A2: Avaliação da normalidade das variáveis de área da lesão.

FERNANDES, J.M.A. **Plasma rico em plaquetas associado a enxerto ósseo autógeno e a membrana absorvível, no tratamento de lesões de furca grau III. Estudo histomorfométrico em cães.** 2004. 88p. Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar histomorfometricamente o efeito do plasma rico em plaquetas (PRP), associado a enxerto ósseo autógeno e a membrana absorvível (Resolut®), no tratamento de lesões de furca grau III. Foram criados defeitos cirúrgicos nos 3^{os} pré-molares inferiores (P3) de cinco cães, de ambos os lados, totalizando 10 dentes. Após um período de três meses de cronificação, as lesões foram divididas aleatoriamente em dois grupos de tratamento. (1) Grupo teste: PRP + enxerto ósseo autógeno + membrana; (2) Grupo controle: enxerto ósseo autógeno + membrana. Após um período de cicatrização de 90 dias, os animais foram sacrificados. A análise histológica, a partir da marcação, mostrou formação de novo cemento celular, mínima quantidade de novo osso e ligamento periodontal, em ambos os grupos. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos teste e controle. A associação do PRP ao enxerto ósseo autógeno e membrana, ou somente, do enxerto ósseo autógeno e membrana, não apresentou vantagens estatisticamente significantes no tratamento das lesões, resultando em preenchimento parcial das furcas e regeneração periodontal limitada à marca experimental das lesões.

Palavras-chave: defeitos de furca, regeneração tecidual guiada, plasma rico em plaquetas, membrana absorvível.

FERNANDES, J.M.A. **Platelet-rich plasma effects associated with autogenous bone graft and absorbable membrane, for the treatment of Class III furcation defects. Histomorphometric study in dogs.** 2004. 88p. Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

Abstract

The objective of this study was to evaluate histomorphometrically the platelet-rich plasma (PRP) effects, associated with autogenous bone graft and absorbable membrane (Resolut®), for the treatment of Class III furcation defects, in 5 dogs. Surgical defects were created in the 3rd mandibular premolars (P3) on both sides, of each dog, totaling 10 teeth. After a period of three months of chronified, the defects were randomly divided in two treatment groups. (1) Group Tests: PRP + graft bone autogenous + membrane; (2) Group Control: graft bone autogenous + membrane. Animals were sacrificed after 90 days healing. Histologic evaluation revealed new cellular cementum, low amount of bone and periodontal ligament formation in both groups, starting from the demarcation. No statistically significant difference was observed between Groups Test and Control. PRP + autogenous bone graft + membrane or autogenous bone graft + membrane no present statistically significant advantages on the lesions treatment, resulting in furcation partial filling and periodontal regeneration limited to the experimental mark of the lesions.

Key words: furcation defects, guided tissue regeneration, platelets-rich plasma, absorbable membrane