

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Thiago Marchi Martins

**CICATRIZAÇÃO DE DEFEITOS DE DEISCÊNCIA PERIODONTAL
ASSOCIADOS AO APLAINAMENTO RADICULAR TRATADOS COM
ENXERTO DE TECIDO CONJUNTIVO SUBEPITELIAL OU MEMBRANA
BIOABSORVÍVEL: ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA EM CÃES.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, do Campus de Araçatuba, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Odontologia – Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Francisco Bosco

ARAÇATUBA - SP

2009

Dados Curriculares

Thiago Marchi Martins

Nascimento: *02 de dezembro de 1978 - Araçatuba – S.P.*

Filiação: *Ariovaldo Antonio Martins.*

Verônica Marchi Martins.

1998 – 2001: Curso de Graduação em Odontologia, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

2001: Curso de Aperfeiçoamento em Periodontia.

2002 – 2003: Curso Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Dentística, nível de Especialização, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

2004–2005: Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Periodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

2007: Curso de Aperfeiçoamento em Implantodontia.

2006 – 2009: Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de Periodontia, nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Dedicatória

Aos meus pais, Ariovaldo e Verônica:

Pai,

Obrigado por ter lutado a vida inteira para me oferecer a melhor das heranças, a oportunidade de estudar.

Agradeço muito pela confiança depositada em mim e pelos conselhos.

Exemplo de trabalho, honestidade e garra.

Mãe,

Obrigado por estar sempre presente em todos os momentos da minha vida, sempre vigiando os meus passos.

Agradeço pelos conselhos certos nas horas em que mais precisei.

Exemplo de força, trabalho e generosidade.

Serei eternamente grato pela formação que me concederam.

Sem vocês tudo isso não poderia ser realizado.

Amo vocês.

Aos meus irmãos Augusto e Giovanna:

Guto,

Agradeço pela nossa amizade,

Obrigado pelo companheirismo e ensinamentos durante toda a nossa caminhada.

Gi,

Continue transmitindo sua luz pela nossa casa.

Agradeço pela força em momentos difíceis e pela amizade em todos os momentos.

Agradeço a Deus pela oportunidade de tê-los como irmãos. Valeu pela torcida. Também rezo e torço por vocês!

Amo vocês!

Aos meus avós Sr. Pedro e Dona Maria

Agradeço eternamente pelos ensinamentos de vida e pelo apoio que sempre me deram para sempre estudar e aprender. Considero vocês exemplo de força, dedicação e honestidade!!!

Obrigado por tudo!

Agradecimentos Especiais

A Deus:

Companheiro fiel e inseparável

Obrigado pela oportunidade de viver.

Obrigado por me mostrar os melhores caminhos.

Obrigado por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas.

Agradeço eternamente pela oportunidade de aprender todos os dias.

Ao meu orientador Professor Dr. Alvaro Francisco Bosco

Pela amizade, confiança e ensinamentos diários.

Pela honra de tê-lo como orientador. Considero-te uma referência como ser humano, amigo, professor, clínico e pesquisador.

Pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e aprender com a sua capacidade de aliar o conhecimento clínico ao conhecimento científico. Sempre procurando através das pesquisas, responder suas dúvidas clínicas. Sensacional!! Tenho orgulho em dizer que sou seu orientado! Espero que sua orientação perdure daqui por diante, pois sempre terei como referência e como ponto de apoio a sua pessoa e experiência.

Apesar de tudo isso, a humildade é uma qualidade que se destaca. Todos somos iguais perante o Professor Alvaro.

Meu eterno agradecimento pela incomparável orientação e pela confiança depositada em mim.

Enfim, obrigado por todos os conselhos durante minha vida aqui na UNESP. Conselhos profissionais e pessoais paternais, que me tornaram um profissional e uma pessoa melhor.

Conto com sua orientação sempre!!!

Dra. Maria José Hitomi Nagata

Pela amizade, confiança e ensinamentos diários.

Pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e aprender com a sua capacidade científica durante todas as fases dessa jornada. Espetacular!

Obrigado por todos os ensinamentos durante minha vida aqui na UNESP. Obrigado pela ajuda nas minhas pesquisas e na orientação de redigir artigos. Obrigado pela confiança depositada em mim desde a época da graduação.

Tenho orgulho de ter obtido minha formação em Periodontia baseada em uma pessoa e pesquisadora como a Professora Maria José. Jamais me esquecerei o que fez por mim nessa jornada!!! E espero sempre contar com sua orientação.

Dr. Valdir Gouveia Garcia.

Pelos essenciais ensinamentos desde a graduação, confiança, agradável convivência e auxílio com palavras sábias e construtivas em todos os momentos. Tenho grande admiração pela pessoa, pelo seu conhecimento científico e pela habilidade de lidar com os alunos e com as pessoas ao seu redor.

Obrigado pela abertura em trabalhar junto com seus orientados em pesquisas utilizando o Laser. Com certeza, contribuiu muito com minha formação científica e profissional

Muito obrigado pelos conselhos durante toda essa jornada. Conselhos que me encorajaram a enfrentar todas as dificuldades com mais segurança.

Tenho orgulho em dizer que o Senhor também é meu orientador!!! Espero que continue sendo. Experiência e conhecimentos vindos do Senhor serão sempre bem-vindos em todos os momentos.

Aos meus amigos Leandro e Ana Cristina

Pelo companheirismo e pela ajuda incondicional em todas as etapas desse trabalho. Obrigado por tudo o que realizaram por mim. Sem a presença de vocês, nada disso teria acontecido.

Agradeço muito pelos momentos que passamos juntos e pela convivência sempre agradável. Espero em vocês o compartilhamento dessa amizade por toda a vida!

Ao meu amigo Odair Vicente

Pelo companheirismo e pela ajuda incondicional na fase experimental desse trabalho. Obrigado por tudo o que realizou por mim. Sem a sua presença, a realização dessa pesquisa não teria acontecido. Meus eternos agradecimentos pela sua essencial contribuição e pela convivência sempre agradável durante toda essa jornada.

Aos meus amigos Samara Bonfante e Juliano Milanezi

Pela ajuda na fase experimental e na revisão de literatura deste trabalho. Obrigado por me atender prontamente em todos os momentos que necessitei. Obrigado pela convivência salutar durante toda a jornada do mestrado e doutorado. Espero em vocês o compartilhamento dessa amizade por toda a vida!

Agradecimientos

À Direção desta Universidade, representada pela pessoa do Diretor prof. Titular Pedro Felício Estrada Bernabé e vice-Diretora prof.^a Adj. Ana Maria Pires Soubhia.

À ex-direção desta Universidade, representada pela pessoa do prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Vice-diretor prof. Dr. Célio Percinoto.

À coordenação do curso de Pós-graduação em Odontologia, representada pela pessoa do prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior, pelo afinho com que conduz sua jornada para o desenvolvimento e aprimoramento do curso de Pós-graduação.

À ex-coordenação do curso de Pós-graduação em Odontologia na pessoa do prof. Dr. Wilson Roberto Poi, por todo suporte oferecido e pelos ensinamentos valiosos durante toda essa Jornada.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, por todos os ensinamentos durante todos esses anos de pós-graduação.

Aos meus amigos e colegas de doutorado: Alex, Danielle, Flávia, Juliano, Sérgio, Tatiana, Valmir, Leandro, muito obrigado pelo convívio, pelos aprendizados e pelos momentos salutares no decorrer desta jornada.

Aos funcionários do Departamento de Periodontia, Claudiomiro e especialmente ao Odair pela grande amizade que nasceu durante todos esses anos, pelo sorriso e bom humor inerentes à sua pessoa, pela solicitude e carinho com que sempre se prontificou, abdicando de momentos de descanso, para a realização deste trabalho.

À Ana Cristina, Leandro e Odaír, pela ajuda “incansável” durante todos os procedimentos cirúrgicos experimentais. Ao Leandro, Ana Cristina, Ricardo e Erivan pela ajuda despretensiosa e prontidão durante o experimento e processamento laboratorial.

Aos funcionários do Biotério, Camilo e João, pela ajuda despretensiosa durante todo o período experimental, sem a qual a viabilização deste trabalho não seria possível. Obrigada pela amizade, receptividade e preocupação para que tudo ocorresse da melhor forma possível.

Aos funcionários do Laboratório do Departamento de Cirurgia Bernadete, Dirce e Gilmar, que acolheram a “nossa turma” de uma maneira muito especial. Obrigado pelo carinho e disponibilidade e por todos os ensinamentos ao longo da pós-graduação. A ajuda e os ensinamentos transmitidos foram e serão sempre fundamentais para a nossa formação como pesquisadores. O meu eterno carinho e gratidão.

À Cleide, secretária do Departamento de Cirurgia, pela maneira dedicada e amável com que conduz seu trabalho. Pela seriedade e disposição em sempre ajudar o próximo.

Ao Dr. Tetuo Okamoto e Dr. Roberto Holland por serem exemplos de competência, humildade e sabedoria!

Ao professor Edílson, pela ajuda fundamental na análise dos resultados histológicos do presente trabalho.

A todos os funcionários da biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, pela simpatia e dedicação com que se empenham em nos ajudar em todos os momentos.

À Golgran, representada pela pessoa do Sr. Souza, pela doação dos instrumentais para a realização deste experimento.

A todos os alunos da pós-graduação da periodontia: Juliano, Samara, Tatiana, Flávia, Danielle, Valmir, Alex, Michel, Leandro, Ana Cristina, Luis Augusto, Michyele, Ricardo, Natália Pola, Natália Campos e Erivan.

Aos estagiários do Departamento de Periodontia, Luana Rodrigues Carmona, Paula Lazilha Faleiros, Fernando Moreno de Oliveira e Murilo.

Às funcionárias da Endodontia, Nelci, Hermelinda e Neuza pelo compartilhamento de suas experiências e conhecimentos sobre processamento técnico laboratorial.

Aos funcionários da seção de pós-graduação, Marina, Diogo e Valéria, pelo enorme carisma e simpatia com que sempre nos receberam. Pelo exemplo de boa vontade e dedicação.

Ao professor Edgard Moraes pelos ensinamentos na área da implantodontia e pela oportunidade de sempre aprender ao seu lado.

Aos professores companheiros em Santa Fé do Sul, Mitsuru Ogata, Aimeè Guiotti, André, Landucci, Guilherme, Jean, Fernando, Oscar, Samira, Paulo, Humberto, Eduardo e Edgard.

Aos animais experimentais, o meu profundo respeito.

Ao meu amigo Eduardo Mariano pelo companheirismo e pelo grande apoio que me foi concedido em Bauru, para realização dos cursos de Implantodontia.

A todos os colegas e amigos da pós-graduação com os quais tive o prazer de conviver e que de alguma forma foram capazes de me incentivar e encorajar a busca de meus ideais, seja pela presença, pela palavra ou pela simples lembrança.

A todos os meus familiares que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões e objetivos traçados!!!

Epígrafe

“O prazer no trabalho aperfeiçoa a obra”.

(Aristóteles)

Resumo

Martins TM. Cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou membrana bioabsorvível: análise histológica e histométrica em cães. [tese]. Araçatuba: UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2009.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar histológica e histometricamente a cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) ou Membrana Bioabsorvível (MB), cada qual comparado ao tratamento com Retalho Posicionado Coronal (RPC). Foram utilizados 12 cães, divididos em dois grupos de 6. Defeitos de deiscência óssea (6x8 mm) e o aplainamento radicular foram realizados nos caninos superiores e os grupos divididos, seguindo um modelo de boca dividida de acordo com o tratamento. Os caninos esquerdos serviram como controle (RPC), onde o retalho foi somente posicionado coronalmente. Os caninos direitos receberam os tratamentos com ETC ou MB. Após 3 meses pós-operatórios os animais foram submetidos à eutanásia e os blocos processados para análise histológica e histométrica. Os parâmetros histométricos avaliados incluíram extensão de tecido epitelial (TE), extensão da nova inserção de tecido conjuntivo (NITC) e extensão da aposição de tecido conjuntivo (ATC), extensão de novo cemento (NC) e extensão de novo osso (NO). Histologicamente, o grupo MB mostrou significativamente maiores NC, NO e NITC (4.12 ± 1.24 ; 2.44 ± 0.78 ; 1.80 ± 0.39 , respectivamente) em comparação ao grupo RPC (1.04 ± 0.43 ; 0.93 ± 0.23 ; 0.71 ± 0.45 , respectivamente) ($P < 0.05$) e significativamente menor ATC (0.29 ± 0.33) comparado aos grupos RPC (2.79 ± 1.74) e ETC (2.62 ± 1.52) ($P < 0.05$). A NITC no grupo ETC (0.71 ± 0.36) foi significativamente menor, enquanto a ATC (2.62 ± 1.52) e TE (1.70 ± 0.53) foram

significativamente maiores comparado ao grupo MB (1.80 ± 0.39 ; 0.29 ± 0.33 ; 1.00 ± 0.35 , respectivamente) ($P < 0.05$). Dentro dos limites deste estudo, concluiu-se que o grupo MB mostrou melhores resultados histológicos de nova inserção de tecido conjuntivo, formação de novo osso e novo cimento em relação aos grupos RPC e ETC.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas. Tecido conjuntivo. Regeneração tecidual guiada. Transplantes. Modelos animais.

Abstract

Martins TM. Healing of periodontal dehiscence defects associated to root planing treated with subepithelial connective tissue graft or bioabsorbable membrane: a histologic and histometric study in dogs. [thesis]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2009.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate histologically and histometrically the healing of periodontal dehiscence defects associated to root planing treated with subepithelial connective tissue graft (CTG) or Bioabsorbable Membrane (BM), each one compared to the treatment with Coronally Positioned Flap (CPF). Twelve dogs were used, divided into two groups of six elements. Bone dehiscence defects (6x8 mm) and root planing were accomplished in the upper canine and the groups were divided, following a model of divided mouth according to the treatment used. Left canine were used as control (CPF), where the flap was only coronally positioned. Right canine received treatments with CTG or BM. After three post-operative months, the animals were euthanized and the blocks were processed for histological and histometrical analysis. The evaluated histometric parameters included length of epithelial tissue (TE), new attachment (NACT) and connective tissue apposition (CTA), new cementum (NC), and new bone (NB). Histologically, group BM showed significant higher values of NC, NO and NITC (4.12 ± 1.24 ; 2.44 ± 0.78 ; 1.80 ± 0.39 , respectively) in comparison to the group CPF (1.04 ± 0.43 ; 0.93 ± 0.23 ; 0.71 ± 0.45 , respectively) ($P < 0.05$) and significant lower values of ATC (0.29 ± 0.33) in comparison to the groups CPF (2.79 ± 1.74) and CTG (2.62 ± 1.52) ($P < 0.05$). NITC in group CTG (0.71 ± 0.36) was significantly lower, while ATC (2.62 ± 1.52) and TE (1.70 ± 0.53) were significantly higher in comparison to group BM (1.80 ± 0.39 ; 0.29 ± 0.33 ; 1.00 ± 0.35 , respectively) ($P < 0.05$). Within the limits of this study, it can be concluded that group BM showed better histological results of connective tissue new attachment, new bone

and new cementum formation in comparison to groups CPF and CTG.

Key-words: Wound healing. Connective tissue. Guided tissue regeneration. Transplants.
Models, animal.

Lista de Figuras

Lista de Figuras

Figura 1 - Procedimento operatório. (a) Gengiva compreendida entre as incisões, 63
verticais e a horizontal removida, permanecendo 2 mm de gengiva
ceratinizada. (b) Defeito de deiscência criado, raiz aplainada e marcação
coronal e apical na superfície radicular; (c) Retalho suturado coronalmente;
(d) MB suturada no leito receptor; (e) Área doadora de mucosa ceratinizada
após desepitelização; (f) ETC suturado no leito receptor.

Figura 2 - Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal nos 64
diferentes grupos (RPC, ETC e MB): (a) Grupo RPC, fibras colágenas
paralelas à superfície radicular desprovida de cimento neoformado; (b)
Grupo ETC, fibras colágenas paralelas à superfície radicular desprovida de
cimento neoformado; (c) Grupo MB, Cimento neoformado em grande
parte da superfície radicular aplainada; (d) Grupo MB, fibras colágenas
inseridas obliquamente no cimento neoformado (seta) (H&E; aumento
original: a,b e c, x5; d, x40). D, superfície dentinária; NC, cimento
neoformado; NO, tecido ósseo neoformado; AN, notch apical; ATC,
aposição de tecido conjuntivo; ETC, enxerto de tecido conjuntivo; MB,
membrana bioabsorvível.

Figura 3 - Grupo RPC: Reabsorção radicular (seta) na região coronal ao cimento 65
neoformado (H&E; aumento original: x12.5). NC, cimento neoformado;
NO, tecido ósseo neoformado; D, superfície dentinária; AN, notch apical;
TC, tecido conjuntivo.

Figura 4 - Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal de 66

acordo com a relação do ETC com a superfície radicular: (a) Grupo ETC, proximidade do ETC à superfície radicular; (b) Grupo ETC, ETC afastado da superfície radicular; (H&E; aumento original: a e b x5). NC, cimento neoformado; NO, tecido ósseo neoformado; AN, notch apical; ETC, enxerto de tecido conjuntivo.

Figura 5 - Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal nos 67 diferentes grupos (RPC, ETC e MB): (a) Grupo RPC, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com RPC; (b) Grupo ETC, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com ETC; (c) Grupo MB, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com MB; (d) Grupo RPC, superfície radicular desprovida de cimento neoformado com aposição do tecido conjuntivo; (e) Grupo ETC, aposição do tecido conjuntivo interposto entre o ETC e a superfície radicular desprovida de cimento neoformado; (f) Grupo MB, cimento e tecido ósseo neoformados sobre a superfície radicular aplainada (H&E; aumento original: a,b e c, x5; d, e, f, x40). D, superfície dentinária; NC, cimento neoformado; TC, tecido conjuntivo; NO, tecido ósseo neoformado; AC, notch coronário; AN, notch apical; ATC, aposição de tecido conjuntivo; ETC, enxerto de tecido conjuntivo; MB, membrana bioabsorvível.

Lista de Tabelas

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Média e desvio padrão ($M \pm DP$) das medidas lineares comparadas entre os grupos RPC, ETC, RPC e MB nos diferentes parâmetros avaliados (TE=Extensão do Tecido Epitelial; NITC=Extensão da nova inserção de tecido conjuntivo; ATC=Extensão de Aposição de Tecido Conjuntivo; NC=Extensão de novo cimento; NO=Extensão de novo osso; DO=Extensão do defeito ósseo.	62
--	----

Lista de Anexos

Lista de Anexos

Anexo A	Autorização da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA)	69
Anexo B	Figuras da fase Experimental	71
Anexo C	Normas para a publicação segundo o periódico “Journal of Clinical Periodontology”	77

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANOVA – Análise de Variância.

ATC – Extensão de Aposição de Tecido Conjuntivo.

CEEA – Comissão de Ética na Experimentação Animal.

DO – Extensão do Defeito Ósseo.

Dp – Desvio padrão.

ETC – Enxerto de Tecido Conjuntivo.

H&E - Expressa a técnica de coloração das lâminas – Hematoxilina e Eosina.

IM – Intramuscular.

JMG – Junção mucogengival.

Kg – Quilograma - Unidade fundamental de medida de massa.

LP – Ligamento Periodontal.

M – Média.

MB – Membrana Bioabsorvível.

mg – Miligrama – equivalente à milésima parte do grama.

mm – Milímetro – equivalente à milésima parte do metro.

n – Tamanho da amostra.

NC – Extensão de Novo Cimento.

NITC – Extensão de Nova Inserção de Tecido Conjuntivo.

NO – Extensão de Novo Osso.

D – Superfície dentinária

AN – Notch apical.

CN – Notch coronal.

PMNs – Leucócitos polimorfonucleares

p – Probabilidade do valor do teste.

PTFEe – Politetrafluoretileno expandido.

RPC – Retalho Posicionado Coronal.

RTG – Regeneração Tecidual Guiada.

TE - Extensão de Tecido Epitelial.

TC – Tecido conjuntivo.

Sumário

Sumário

1 - Manuscrito para Publicação	35
1.1 - Introdução	39
1.2 - Materiais e Métodos	42
1.3 - Resultados	47
1.4 - Discussão	50
Referências	55
Figuras	63
Anexos	68

*Manuscrito para Publicação**

***Segundo as normas do periódico “Journal of Clinical Periodontology” (Anexo C)**

Título: Cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou membrana bioabsorvível. Análise histológica e histométrica em cães.

Autores:

*Thiago Marchi Martins, DDS, MS

*Alvaro Francisco Bosco, DDS, MS, PhD.

* Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Brasil.

Autor responsável pela correspondência:

Alvaro Francisco Bosco

Address: Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP:

Rua Jose Bonifácio 1193, Centro.

CEP: 16050-300 Araçatuba, SP, Brazil.

E-mail: afbosco@hotmail.com

Número de figuras: 05

Número de tabelas: 01

Título resumido: Cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com ETC ou MB.

Conflitos de interesses e fontes de financiamento

Os autores declaram que não há conflitos de interesses. Este estudo foi suportado pelo Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista (UNESP) Araçatuba, São Paulo, Brazil.

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi avaliar histológica e histometricamente a cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) ou Membrana Bioabsorvível (MB), cada qual comparado ao tratamento com Retalho Posicionado Coronal (RPC).

Material e Métodos: Foram utilizados 12 cães, divididos em dois grupos de 6. Defeitos de deiscência óssea (6x8 mm) e o aplainamento radicular foram realizados nos caninos superiores e os grupos divididos, seguindo um modelo de boca dividida de acordo com o tratamento. Os caninos esquerdos serviram como controle (RPC), onde o retalho foi somente posicionado coronalmente. Os caninos direitos receberam os tratamentos com ETC ou MB. Após 3 meses pós-operatórios os animais foram submetidos à eutanásia e os blocos processados para análise histológica e histométrica. Os parâmetros histométricos avaliados incluíram extensão de tecido epitelial (TE), extensão da nova inserção de tecido conjuntivo (NITC) e extensão da aposição de tecido conjuntivo (ATC), extensão de novo cemento (NC) e extensão de novo osso (NO).

Resultados: Histologicamente, o grupo MB mostrou significativamente maiores NC, NO e NITC (4.12 ± 1.24 ; 2.44 ± 0.78 ; 1.80 ± 0.39 , respectivamente) em comparação ao grupo RPC (1.04 ± 0.43 ; 0.93 ± 0.23 ; 0.71 ± 0.45 , respectivamente) ($P < 0.05$) e significativamente menor ATC (0.29 ± 0.33) comparado aos grupos RPC (2.79 ± 1.74) e ETC (2.62 ± 1.52) ($P < 0.05$). A NITC no grupo ETC (0.71 ± 0.36) foi significativamente menor, enquanto a ATC (2.62 ± 1.52) e TE (1.70 ± 0.53) foram significativamente maiores comparado ao grupo MB (1.80 ± 0.39 ;

0.29 ± 0.33 ; 1.00 ± 0.35 , respectivamente) ($P < 0.05$).

Conclusão: Dentro dos limites deste estudo, concluiu-se que o grupo MB mostrou melhores resultados histológicos de nova inserção de tecido conjuntivo, formação de novo osso e novo cemento em relação aos grupos RPC e ETC.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas, tecido conjuntivo, regeneração tecidual guiada, transplantes, modelos animais.

1.1 - Introdução

A recessão gengival ocorre quando a margem gengival se desloca apicalmente à junção cimento-esmalte (JCE) (American Academy of Periodontology 2001). As recessões gengivais estão associadas a fatores predisponentes e desencadeantes. Dentre eles os mais comuns são técnica de escovação dentária traumática, doença periodontal (Løe et al. 1992), inserção alta de frênulos e músculos, posição dentária (Modeer & Odenrick 1980), deiscência óssea alveolar (Løe et al. 1992) e fatores iatrogênicos (Lindhe et al. 1987). Como conseqüências das recessões gengivais estão os problemas associados com a estética, hipersensibilidade dentinária e cáries radiculares (Løe et al. 1992).

Várias técnicas cirúrgicas mucogengivais reconstrutivas têm sido empregadas para o tratamento das recessões gengivais, como o enxerto gengival livre, retalhos pediculados, associados ou não ao enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) (técnicas bilaminares) (Bouchard et al. 1994, Harris 1997, 1998, 1999, Majzoub et al. 2001, Novaes et al. 2001, Tal et al. 2002) ou matriz dérmica acelular alógena (MDA) (Harris 1998, Tal 1999, Harris 2000, Novaes et al. 2001, de Oliveira et al. 2005, Pontes et al. 2006, Sallum et al. 2006, Luczyszyn et al. 2007) e técnicas regenerativas (regeneração tecidual guiada, RTG) com membranas bioabsorvíveis ou não-bioabsorvíveis (Gottlow et al. 1990, 1984, Cortellini et al. 1993, Sallum et al. 1998, Weng et al. 1998, Borghetti et al. 1999, Casati et al. 2000, da Silva Pereira et al. 2000, Lee et al. 2002). A seleção de uma ou outra técnica cirúrgica depende de vários fatores, alguns relacionados ao tipo e característica do defeito e outros relacionados ao desejo do paciente (Baker & Seymour 1976).

Tem sido aceito que, embora a cirurgia mucogengival reconstrutiva resulte em recobrimento radicular satisfatório, não se obtém uma melhora significativa no periodonto de inserção. Estudos histológicos em animais (Sugarman 1969, Caffesse et al. 1984, Gottlow et al. 1986,

Cortellini et al. 1991) e humanos (Harris 1999, Majzoub et al. 2001, Cummings et al. 2005, Souza et al. 2008) após procedimentos de terapia mucogengival demonstraram, principalmente, a formação de epitélio juncional longo entre a superfície radicular e o retalho pediculado. Somente quantidade limitada de regeneração tem sido observada na porção apical da superfície radicular exposta (Wilderman & Wentz 1965, Sugarman 1969, Caffesse et al. 1984, Kon et al. 1984, Gottlow et al. 1986, Cortellini et al. 1991, Sallum et al. 1998, Weng et al. 1998, Bruno & Bowers 2000, Casati et al. 2000).

Após realizar estudo clínico comparativo do tratamento de recessões gengivais com ETC ou RTG (membrana de colágeno), Rosetti et al. (2000) concluíram que as recessões gengivais tratadas com ETC demonstraram melhores resultados nos parâmetros clínicos de tamanho da recessão gengival, recobrimento radicular e quantidade de tecido ceratinizado, enquanto que o grupo RTG demonstraram melhor redução na profundidade de sondagem. Os resultados estéticos finais foram semelhantes para ambas as técnicas. Estudos histológicos em animais para o tratamento de defeitos de recessão gengival comparando o RPC e RTG (membrana bioabsorvível de ácido polilático) (Casati et al. 2000) e o ETC com RTG (membrana de PTFEe) (Weng et al. 1998) demonstraram não haver diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em vários parâmetros histológicos analisados (extensão do epitélio, regeneração óssea, cemento neoformado, nova inserção, reabsorção e anquilose), embora esses procedimentos mostraram resultados favoráveis para o recobrimento radicular.

Outros estudos em animais encontraram diferenças estatísticas nos resultados entre diferentes procedimentos. Após realizar estudo histomorfométrico comparativo em cães do tratamento de defeitos tipo deiscência, com membranas bioabsorvível e não-reabsorvível, da Silva Pereira et al. (2000) demonstraram que ambas são efetivas na formação de novo cemento e a membrana bioabsorvível pode resultar em maior área óssea do que a não-reabsorvível. Lee et al. (2002) em cães, após 16 semanas de pós-operatório de defeitos de recessão gengival

tratados com membrana de colágeno (RTG) ou RPC, encontraram clinicamente maior quantidade de gengiva ceratinizada no grupo RPC, enquanto histologicamente o grupo RTG demonstrou significante maior nova inserção quando comparado ao RPC.

Defeitos radiculares em forma de abrasão podem ocorrer quando uma técnica de escovação agressiva é empregada. Geralmente estes defeitos estão associados a um baixo índice de placa (IP) (Løe et al. 1992, Levitch et al. 1994, Baelum et al. 1998). Com o advento de novos materiais restauradores estéticos, o tratamento de abrasões cervicais tem sido também de competência da odontologia restauradora. Entretanto, a restauração conservadora da abrasão cervical não pode ser considerada o tratamento mais apropriado em situações que este defeito envolve somente ou principalmente a superfície radicular, comprometa a estética pelo comprimento excessivo do dente com recessão gengival, ou na presença de cáries radiculares. Nestas circunstâncias, o defeito de abrasão deve ser tratado por meio de técnicas de manipulação de tecidos moles nos recobrimentos radiculares (Mele et al. 2008) ou associação da técnica restauradora (Terry et al. 2003, Martins et al. 2007, Santamaria et al. 2009). Em 2007, Martins et al. demonstraram que o recobrimento radicular sobre superfícies radiculares restauradas com materiais resinosos resultou em formação de epitélio juncional longo sobre a superfície radicular restaurada.

Na presença de abrasão cervical associada à recessão gengival, as técnicas bilaminares devem ser consideradas como primeira opção, desde que o ETC fique localizado dentro do defeito de abrasão, tanto para aumentar a espessura do tecido gengival, como, ao mesmo tempo, restaurar o correto perfil de emergência do tecido mole em relação ao dente (Mele et al. 2008). Estudos histológicos de recobrimento de raízes com defeitos de abrasão não restaurados são inexistentes na literatura.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar histológica e histometricamente a cicatrização de defeitos de deiscência periodontal associados ao aplainamento radicular tratados com

enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) ou Membrana Bioabsorvível (MB), cada qual comparado ao tratamento com Retalho Posicionado Coronal (RPC).

1.2 - Materiais e Métodos

Animais

O protocolo inicial de pesquisa do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) (protocolo nº 47/06) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba.

Para o presente trabalho foram utilizados 12 cães adultos machos, de raça indefinida, com peso entre 15 a 20 Kg, fornecidos pelo Biotério Central desta Universidade. Todos os animais apresentaram-se em boas condições de saúde sistêmica e bucal. Durante todo o período experimental estes foram mantidos em celas individuais, com água e ração canina (Purumix Vegetais; Bercamp Alimentos Ltda, Bernardino de Campos, SP-Brasil) *ad libitum*.

Antes de todos os procedimentos experimentais os animais receberam acepromazina (0,1 a 0,2 mg/kg - IM) (Acepran® Univet S. A. – Indústria Veterinária, São Paulo, SP, Brasil.) como medicação pré-anestésica e foram anestesiados com xilazina (1mg/kg - IM) (Coopazine® Coopers Brasil, São Paulo, SP, Brasil.) e cloridrato de tiletamina associado ao cloridrato de zolazepan (50mg/kg - IM) (Zoletil® 50, Virbac, São Paulo, SP, Brasil). Duas semanas antes do procedimento operatório foi realizada raspagem supra e subgengival de todos os dentes com curetas de Gracey (Golgran, Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP, Brasil.) e instrumentos ultra-sônicos. Foi realizado semanalmente o controle de placa com aplicação tópica de digluconato de clorexidina 0,12%.

Desenho Experimental

De cada animal foram selecionados os caninos superiores, os quais, após a criação dos defeitos de deiscência foram designados um dos seguintes tratamentos: 1) Retalho posicionado coronal (RPC) - controle, 2) Enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) - experimental e 3) Membrana bioabsorvível (MB) constituída de um copolímero sintético de ácidos glicólico e láctico (Resolut XT, XTW1, Gore-Tex periodontal material, W.L. Gore & Associates, Inc., Flagstaff, AZ, USA) - experimental. Os tratamentos foram distribuídos seguindo um modelo de boca dividida, ou seja, todos os cães foram submetidos ao tratamento controle (RPC) sempre no canino esquerdo (CE) e o canino direito (CD) foi submetido a um dos tratamentos experimentais (ETC ou MB).

Procedimento Operatório (Fig. 1)

Todas as cirurgias foram realizadas pelo mesmo cirurgião.

As áreas cirúrgicas receberam complementação anestésica local infiltrativa com mepivacaína a 2% contendo epinefrina (1:100.000) para reduzir o sangramento. Partindo da margem gengival foram realizadas duas incisões verticais, uma mesial e outra distal, divergentes estendendo além da junção mucogengival (JMG), mantendo aproximadamente uma largura de 12 mm de mucosa ceratinizada entre elas. Estas foram unidas por uma incisão horizontal a 2 mm da JMG (Fig. 1a). A partir da margem gengival, com auxílio de uma lâmina 15C, foi realizado um retalho dividido, o mais próximo possível do tecido ósseo, ultrapassando a incisão horizontal e adentrando a mucosa alveolar (ultrapassando a JMG). Depois de rebatido o retalho, a parte compreendida entre as incisões, verticais e a horizontal, foi desprezada. Com um raspador de MacCal nº 10 (Golgran, Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP, Brasil.) foi realizado na superfície radicular uma marcação ("notch" coronal), determinando o nível ósseo pré-operatório. Defeitos de deiscência óssea medindo 6 mm de altura por 8 mm de largura foram criados por osteotomia com micro cinzel

de Ochsenshein nº 1 (Golgran, Indústria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP, Brasil.) (Fig. 1b). Ao nível da crista óssea cirurgicamente criada foi feita a segunda marcação (“notch” apical), determinando o nível ósseo apical. A partir da JCE, realizou-se um preparo tipo caixa medindo 4 mm de altura por 4 mm de largura, com 1 mm de profundidade. Esse preparo foi aplainado com uma ponta diamantada 3118 FF (KG Sorensen, São Paulo-SP, Brasil), de modo que as bordas terminassem suavemente com a superfície radicular adjacente. Para complementar o aplainamento, a superfície radicular exposta foi raspada e alisada manualmente com curetas de Gracey, com o objetivo de remover todo o cimento. Em ato contínuo procedeu-se uma demarcação na face vestibular da coroa, com ponta diamantada tronco-cônica 3195 F (KG Sorensen, São Paulo-SP, Brasil), com o objetivo de identificar o centro do defeito ósseo (Martins et al. 2007).

No grupo RPC (controle), o retalho dividido contendo 2 mm de mucosa ceratinizada, foi posicionado coronalmente, livre de tensão e suturado recobrimdo a junção cimento-esmalte, através de suturas suspensórias com fio monofilamento não-absorvível de politetrafluoretileno expandido (ePTFE) (Gore-Tex periodontal material, W.L. Gore & Associates, Inc., Flagstaff, AZ, USA). As incisões verticais foram suturadas com pontos interrompidos (Fig. 1c). No grupo MB, a membrana foi posicionada recobrimdo todo o defeito ósseo e estabilizada com suturas interrompidas com fio de ácido poliglicólico absorvível 4.0 (Gore-Tex periodontal material, W.L. Gore & Associates, Inc., Flagstaff, AZ, USA). Nas extremidades (mesial e distal), as suturas foram realizadas mantendo os nós no tecido adjacente à área receptora. Em ato contínuo foi realizada uma sutura vertical compressiva presa ao periósteo apicalmente a membrana e ancorada ao redor do dente de maneira a manter o nó voltado para a face palatina, para facilitar sua posterior remoção (Fig. 1d). Em seguida o retalho foi posicionado coronalmente sem tensão e suturado conforme descrito no grupo RPC.

No grupo ETC, a faixa de tecido gengival da vestibular do canino contralateral serviu como

área doadora. Previamente ao deslocamento do retalho dividido e criação do defeito de deiscência óssea, a faixa de mucosa ceratinizada compreendida entre as incisões previamente descritas, foi desepitelizada (Fig. 1e). Posteriormente, removeu-se o enxerto com dimensões aproximadas de 12x7mm com uma lâmina 15C, preservando 2 mm apical de mucosa ceratinizada. O enxerto de tecido conjuntivo retirado do canino esquerdo foi posicionado no defeito previamente criado no canino direito e suturado com fio absorvível Vycryl 5.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.) (Fig. 1f) conforme o grupo MB. Em seguida o retalho foi posicionado coronalmente sem tensão e suturado conforme descrito no grupo RPC.

Todos os cães receberam Amoxicilina (33,3mg/kg) via oral, de 12 em 12 horas, durante 07 dias, iniciando duas horas antes do procedimento operatório e Ceterolac (5mg/kg), via oral, uma vez ao dia, durante 3 dias.

Procedimento pós-operatório

As suturas foram removidas aos 10 dias pós-operatórios. O controle de placa foi realizado por meio de aplicação de solução de digluconato de clorexidina a 0,12% e profilaxia cuidadosa com ultra-som e polimento dental uma vez por semana, durante todo o período experimental. Decorridos 90 dias pós-operatórios, sob anestesia geral, os animais foram submetidos à eutanásia por perfusão com solução de cloreto de sódio e em seguida com formol neutro a 10%.

Processamento Laboratorial

Após a perfusão, blocos contendo o canino e os tecidos moles e mineralizados circunjacentes foram removidos e fixados em formol neutro a 10%. Em seguida, após completa desmineralização em uma solução com partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%, os espécimes foram divididos em dois blocos seguindo a demarcação feita na coroa e então submetidos ao processamento laboratorial de rotina. Foram realizados cortes longitudinais seriados de 6µm de espessura, no plano

vestíbulo-lingual, iniciando na porção mais central do defeito. Os cortes foram corados com Hematoxilina & Eosina. As 6 lâminas mais centrais de cada espécime foram selecionadas para análise em microscopia de luz .

Análise histológica e histométrica

Para análise histométrica, a lâmina mais central de cada dente experimental foi selecionada e capturada por uma câmera digital (AxioCam MRc5, Carl Zeiss MicroImaging, GmbH, Germany) acoplada ao microscópio óptico (Leitz Wetzlar GmbH, Germany) e então transferida para o computador.

Medidas histométricas lineares foram realizadas por meio do software ImageLab 2000 (DiracomBio Informática Ltda., Vargem Grande do Sul, SP, Brasil), por um único examinador previamente calibrado (98% de confiabilidade). As seguintes medidas lineares foram realizadas:

- 1. Extensão de tecido epitelial – TE** (sulcular e juncional): distância da margem gengival até a extensão apical do epitélio juncional.
- 2. Extensão de Tecido Conjuntivo:**
 - 2a) Extensão da nova inserção de tecido conjuntivo – NITC:** extensão de tecido conjuntivo inserido no cimento radicular.
 - 2b) Extensão de aposição de tecido conjuntivo – ATC:** extensão de tecido conjuntivo justaposto à superfície radicular, ou seja, fibras do tecido conjuntivo dispostas paralela à superfície radicular.
- 3. Extensão de novo cimento – NC:** distância entre a borda apical da marcação apical até a extensão mais coronal de tecido semelhante à cimento.
- 4. Extensão de novo osso – NO:** Distância entre a borda apical da marcação apical até a extensão mais coronal de tecido ósseo.
- 5. Extensão do defeito ósseo – DO:** Distância entre a borda apical da marcação apical e a

borda apical da marcação coronal.

Análise Estatística

A análise estatística dos diferentes parâmetros avaliados (TE = Extensão de tecido epitelial; NC = Extensão de novo cimento; NO = Extensão de novo osso; NITC = Extensão de nova inserção de tecido conjuntivo; ATC = Extensão de aposição de tecido conjuntivo, DO = Extensão do defeito ósseo), foi realizada pelo software BioEstat 4.0 (BioEstat, Windows 1995, Sonopress, Indústria Brasileira, Manaus, AM, Brasil).

Após análise de normalidade dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, as análises inter-grupo foram realizadas. Para dados pareados (tratamentos realizados no mesmo animal), os parâmetros avaliados (TE, NITC, ATC, NC, NO, DO) entre os grupos RPC e ETC e entre os grupos RPC e MB foi realizado pelo teste T de student (dados paramétricos) ou teste de Wilcoxon (dados não-paramétricos). Para esses mesmos parâmetros, a análise estatística dos dados não-pareados (tratamentos realizados em animais diferentes), foi realizada pelo teste ANOVA e complementada pelo teste de Tukey (dados paramétricos) ou teste de Kruskal-Wallis e complementação com teste de Dunn (dados não-paramétricos) com nível de significância a 5%.

1.3 - Resultados

Observações clínicas

Todos os animais toleraram bem os procedimentos cirúrgicos. No total foram operados 18 cães. Houve exposição da membrana em 2 espécimes e deiscência de sutura em 1 espécime do grupo ETC. A cicatrização ocorreu normalmente nos demais espécimes, sem a presença de supuração e formação de abscesso.

Análise histológica

Durante a fase laboratorial, 2 espécimes do grupo ETC e 1 do grupo MB foram excluídos devido à intercorrências no processamento dessas peças. Portanto, foram considerados 12 cães para o presente trabalho.

Na maioria dos espécimes do grupo RPC e dos grupos experimentais, o tecido epitelial apresentou características histológicas normais e extensão variável. O tecido conjuntivo subjacente ao sulco gengival apresentou discreto processo inflamatório agudo, caracterizado por leucócitos polimorfonucleares (PMNs), mais visível nas imediações da margem gengival. Na área de inserção conjuntiva do grupo RPC e dos grupos experimentais (ETC e MB), coronal à crista óssea, as fibras colágenas ainda não mostravam uma típica organização dos grupos de fibras principais da junção dento-gengival. O grupo principal de feixes de fibras colágenas que se destacou foi o grupo alvéolo-gengival partindo da crista óssea para o tecido conjuntivo gengival, e o das fibras que se originavam no periósteo da face vestibular do osso alveolar que se dirigiam para o tecido conjuntivo da junção dento-gengival.

Nos grupos RPC e ETC, grande parte da superfície radicular aplainada (superfície dentinária) estava desprovida de novo cemento quando comparado ao grupo MB (Fig. 2). Nessas áreas, os feixes de fibras colágenas assumiam uma típica posição paralela à superfície radicular assemelhando-se a uma aposição conjuntiva (ATC) (Fig. 2a e b). Na superfície do cemento neoformado, pode-se observar a inserção de fibras colágenas delgadas, dispostas obliquamente, principalmente no grupo MB (Fig. 2c e d). A superfície dentinária desnuda nesses grupos apresentou irregularidades e reabsorção de superfície. A reabsorção radicular estava freqüentemente associada com áreas localizadas entre o término apical do epitélio e a borda mais coronal do cemento neoformado (Fig. 3). Ao contrário, na maioria dos espécimes do grupo MB, as áreas de reabsorção radicular eram menos freqüentes.

A presença do enxerto deslocou o grupo das fibras alvéolo gengival que partiam tanto da

crista óssea quanto da cortical vestibular do osso alveolar ou para um espaço mais restrito entre o enxerto e a superfície radicular, ou então, dividiu esses dois grupos de fibras, para as proximidades da interface enxerto-raiz e para a interface enxerto-retalho.

O ETC mostrou-se caracterizado por fibras colágenas espessas com diferentes orientações que se destacavam das fibras colágenas da área receptora, com orientação mais definida, permitindo uma diferenciação do enxerto com os tecidos adjacentes. Também foram observadas células compatíveis com fibroblastos, mas principalmente fibrócitos e somente as fibras colágenas periféricas do enxerto mostraram algum grau de embricamento com o tecido conjuntivo da área receptora.

Na maioria dos espécimes a neoformação óssea alveolar restringiu-se ao o terço apical do defeito cirurgicamente criado. Embora a espessura do osso alveolar tenha variado entre os espécimes, o tecido ósseo neoformado seguiu os padrões do osso subjacente, com inserção de fibras de Sharpey, linhas incrementais, espaços medulares em continuidade com o ligamento periodontal, porém não foi observada uma relação entre o NO e a espessura da base óssea alveolar.

Nos espécimes em que ocorreu algum crescimento ósseo, o ligamento periodontal apresentou-se em reestruturação, com a maior parte das fibras dispostas obliquamente, análogas àquelas situadas apicalmente, na região do periodonto que não foi exposto cirurgicamente.

Na maioria dos espécimes, o ETC estava em íntimo contato com a superfície radicular, limitando a neoformação óssea e cementária. Por outro lado, quando o ETC não estava intimamente próximo da superfície radicular, foi possível observar maior formação dessas estruturas (Fig. 4).

Em todos os espécimes do grupo MB houve a presença de remanescentes da membrana, localizados mais na porção apical do defeito ósseo criado. A MB mostrou-se envolta por um tecido conjuntivo denso caracterizado por fibras colágenas espessas e discreto infiltrado

inflamatório crônico. Além disso, notou-se a presença de algumas porções isoladas da MB entremeadas completamente por tecido conjuntivo, indicando provavelmente o processo de reabsorção da mesma.

Análise histométrica

Os dados histométricos estão ilustrados na tabela 1.

Na análise dos dados pareados, em relação aos parâmetros NC, NO e NITC, o grupo MB (4.12 ± 1.24 ; 2.44 ± 0.78 ; 1.80 ± 0.39 , respectivamente) mostrou resultados significativamente maiores, comparado ao grupo RPC (1.04 ± 0.43 ; 0.93 ± 0.23 ; 0.71 ± 0.45 respectivamente) ($P < 0.05$). O grupo MB apresentou significativamente menor ATC (0.29 ± 0.33) comparado ao RPC (2.79 ± 1.74) e ETC (2.62 ± 1.52) ($P < 0.05$) (Fig. 5).

Com relação aos dados não pareados, os parâmetros NITC, ATC e TE, do grupo ETC (0.71 ± 0.36 ; 2.62 ± 1.52 ; 1.70 ± 0.53 , respectivamente) diferiram estatisticamente ($P < 0.05$) comparado ao grupo MB (1.80 ± 0.39 ; 0.29 ± 0.33 ; 1.00 ± 0.35 , respectivamente). A NITC no grupo ETC foi menor, enquanto ATC e TE foram maiores comparado ao grupo MB (Fig. 5).

1.4 - Discussão

Considerando-se que o recobrimento de superfícies radiculares restauradas com materiais resinosos (resina composta e cimento de ionômero de vidro modificado por resina) tenha resultado em interferência no desenvolvimento de nova inserção periodontal (Martins et al. 2007), o presente estudo foi desenhado para observar as diferenças histológicas e histométricas entre o RPC e os grupos experimentais (ETC e MB) para o tratamento de defeitos de deiscência associados a superfícies radiculares aplainadas e não restauradas.

Os defeitos experimentais comumente utilizados são aqueles causados por doença periodontal natural, induzidos por dispositivos de retenção de placa (defeitos crônicos), ou defeitos

cirurgicamente criados (defeitos agudos) que podem ser imediatamente tratados, como realizado neste estudo. A dificuldade em selecionar um ou outro modelo experimental existe. A racionalidade para usar a doença periodontal natural ou modelo crônico não está bem esclarecida (Wikesjö & Selvig 1999), pois se por um lado, defeitos de doença periodontal natural resultam em destruição gradual do periodonto, por incluir impregnação de toxinas bacterianas sobre o cimento, reproduzindo o que ocorre em humanos, por outro lado dificulta a criação de defeitos semelhantes bilaterais (Kon et al. 1991).

A instrumentação radicular de defeitos crônicos possibilita condição semelhante àquelas encontradas nos defeitos agudos (Jones & O'Leary 1978). Neste contexto, a literatura tem mostrado que espécimes com raízes previamente afetadas pela periodontite e defeitos criados cirurgicamente não demonstraram diferenças histológicas na cicatrização (Isidor et al. 1985), porém, nos defeitos agudos, algum grau de cicatrização espontânea pode ocorrer. Assim, a necessidade de controles não-tratados para garantir que a resposta cicatricial seja resultado do tratamento e não da capacidade das lesões em regenerar espontaneamente tem sido sugerida (Blumenthal 1988).

Estudos anteriores têm demonstrado várias limitações no uso do RPC, incluindo a largura e espessura da gengiva apical à recessão e regeneração limitada ou ausente dos tecidos periodontais perdidos. A maioria dos procedimentos tradicionais de recobrimento radicular incluindo RPC tem demonstrado reparar por meio de um epitélio juncional longo com mínima quantidade de nova inserção (Matter 1979, Listgarten & Rosenberg 1979, Weng et al. 1998, Casati et al. 2000, Guiha et al. 2001, Lee et al. 2002). Ao contrário, procedimentos de recobrimento radicular com RTG têm mostrado maior formação de nova inserção quando comparado às intervenções tradicionais (Pitaru et al. 1987, Cortellini et al. 1991, Tinti et al. 1992, Vincenzi et al. 1998). Em particular, as membranas bioabsorvíveis têm obtido popularidade devido as suas propriedades. Ela oferece a possibilidade de realizar o

procedimento de recobrimento radicular em apenas um estágio cirúrgico. A eliminação do segundo procedimento para remoção da membrana previne os riscos de trauma mecânico aos tecidos imaturos na fase inicial de cicatrização (Casati et al. 2000).

As membranas bioabsorvíveis têm demonstrado que inibem a migração apical do epitélio, estabilizam o coágulo, e aumentam a espessura do tecido via degradação enzimática (Blumenthal 1993). No presente estudo, o tecido epitelial apresentou-se com extensão variável entre os espécimes de todos os grupos, porém com diferenças significantes somente entre o grupo ETC (1.70 ± 0.53) e MB (1.00 ± 0.35). Isto pode ser explicado pelo fato de que a membrana possa ter atuado como uma barreira, excluindo a presença de células epiteliais, de modo a permitir que células mesenquimais indiferenciadas provenientes do periodonto de sustentação repopulassem o espaço do defeito criado e promovessem a regeneração dos tecidos (Pitaru et al. 1987). Esses resultados estão de acordo com Cortellini et al. (1991), que relataram a ocorrência de significativamente maior NITC com a RTG do que com o retalho posicionado lateralmente para o tratamento de defeitos de recessão gengival em forma de V em cães, depois de um período de cicatrização de 50 dias e contrários aos resultados relatados por Casati et al. (2000), que ao compararem a membrana de ácido poliláctico bioabsorvível com o RPC para o tratamento de defeitos de recessão gengival de formato retangular não obtiveram nenhuma diferença estatística entre os dois tratamentos em qualquer dos parâmetros histológicos analisados.

No grupo MB, o cemento neoformado foi observado em grande parte da extensão do defeito ósseo (4.12 ± 1.24 mm), diferindo estatisticamente do grupo RPC (1.04 ± 0.43 mm), mas não do grupo ETC (2.21 ± 1.28 mm). Resultados semelhantes foram relatados por Gottlow et al. (1990) em macacos, usando defeitos tipo recessão tratados com RTG (74.3%), comparados ao controle sem membrana (36.9%), e por Weng et al. (1998), em cães, nos defeitos tratados pela RTG (60.7%). Ao tratar defeitos tipo-deiscência com RTG (membrana de ácido poliláctico),

da Silva Pereira et al. (2000) também relataram maior extensão de novo osso e cimento comparado ao debridamento em retalho aberto.

A quantidade de tecido ósseo neoformado variou bastante entre os animais. Embora tenha sido relatada relação positiva entre a espessura da crista óssea alveolar da base do defeito e a regeneração óssea (Polimeni et al. 2005), no presente experimento este fenômeno não foi uma constante, já que algumas áreas que proporcionaram uma base alveolar ampla, não favoreceram a regeneração, e áreas com uma base estreita, exibiram alguma quantidade de regeneração periodontal.

Alguns estudos mostraram maior formação óssea com a RTG quando comparado a controles sem membrana (Magnusson et al. 1988, Pitaru et al. 1987, Lee et al. 2002), enquanto outros não mostraram diferença (Caffesse et al. 1988, Sallum et al. 1998, Casati et al. 2000). Na presente pesquisa, houve significativamente maior NO no grupo MB (2.44 ± 0.78 mm) em relação ao grupo RPC (0.93 ± 0.23 mm), mas não diferiu do grupo ETC (1.52 ± 1.31 mm). Resultados semelhantes também foram relatados por Weng et al. (1998), que encontraram maiores quantidades de formação de NO nos sítios tratados com RTG (PTFEe) do que no grupo ETC, porém, sem diferenças estatísticas significantes entre eles. Caffesse et al. (1994) utilizaram a mesma MB do presente estudo para comparar com membrana não-reabsorvível (PTFEe) em defeitos de furca Classe II em cães. Os autores concluíram que resultados semelhantes podem ser encontrados quando ambos os procedimentos de RTG forem aplicados.

Justificativas para a dificuldade em estabelecer relações diretas entre os resultados do presente estudo aos encontrados na literatura estão relacionadas, de certa forma, às variações no “design” experimental, como o tamanho do defeito, a quantidade de tecido queratinizado envolvido no retalho, o emprego de tratamentos da superfície radicular, as áreas selecionadas para análise das medidas histométricas, o tipo e a localização dos pontos de referência

(notchs), os períodos de cicatrização e até mesmo o valor de “n” utilizado para análise estatística.

Dentro dos limites deste estudo, concluiu-se que o grupo MB mostrou melhores resultados histológicos de nova inserção de tecido conjuntivo, formação de novo osso e novo cimento em relação aos grupos RPC e ETC.

Referências

- American Academy of Periodontology. (2001) *Glossary of periodontal terms*. 4th ed. Chicago: The American Academy of Periodontology.
- Baelum, V., Fejerskov, O., Manji, F. (1988) Periodontal diseases in adult Kenyans. *Journal of Clinical Periodontology* **15**, 445–452.
- Baker, D.L. & Seymour, G. (1976) The possible pathogenesis of gingival recession. A histological study of induced recession in the rat. *Journal of Clinical Periodontology* **3**, 208–219.
- Blumenthal, N.M. (1988) The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. *Journal of Periodontology* **59**, 830-836.
- Blumenthal, N.M. (1993) A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. *Journal of Periodontology* **64**, 925-933.
- Borghetti, A., Glise, J.M., Monnet-Corti, V. & Dejou, J. (1999) Comparative clinical study of a bioabsorbable membrane and subepithelial connective tissue graft in the treatment of human gingival recession. *Journal of Periodontology* **70**, 123-130.
- Bouchard, P., Etienne, D., Ouhayoun, J.P. & Nilveus, R. (1994) Subepithelial connective tissue grafts in the treatment of gingival recessions. A comparative study of 2 procedures. *Journal of Periodontology* **65**, 929-936.
- Bruno, J.F. & Bowers, G.M. (2000) Histology of a human biopsy section following the placement of a subepithelial connective tissue graft. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **20**, 225-231.
- Caffesse, R.G., Kon, S., Castelli, W.A. & Nasjleti, C.E. (1984) Revascularization following the lateral sliding flap procedure. *Journal of Periodontology* **55**, 352-358.
- Caffesse, R.G., Nasjlet, C.E., Morrison, E.C. & Sanches, R. (1994) Guided tissue

regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *Journal of Periodontology* **65**, 583-591.

Caffesse, R.G., Smith B.A., Castelli, W.A. & Nasjlet, C.E. (1988) New attachment achieved by guide tissue regeneration in beagle dogs. *Journal of Periodontology* **59**, 589-594.

Casati, M.Z., Sallum, E.A., Caffesse, R.G., Nociti, F.H. Jr., Sallum, A.W. & Pereira, S.L. (2000) Guided tissue regeneration with a bioabsorbable polylactic acid membrane in gingival recessions. A histometric study in dogs. *Journal of Periodontology* **71**, 238-248.

Cortellini, P., Clauser, C. & Prato, G.P. (1993) Histologic assessment of new attachment following the treatment of a human buccal recession by means of a guided tissue regeneration procedure. *Journal of Periodontology* **64**, 387-391.

Cortellini, P., DeSanctis, M., Pini Prato, G., Baldi C. & Clauser, C. (1991) Guided tissue regeneration procedure using a fibrin-fibronectin system in surgically induced recession in dogs. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **11**, 150-163.

Cummings, L.C., Kaldahl, W.B. & Allen, E.P. (2005) Histologic evaluation of autogenous connective tissue and acellular dermal matrix grafts in humans. *Journal of Periodontology* **76**, 178-186.

da Silva Pereira, S.L., Sallum, A.W., Casati, M.Z., Caffesse, R.G., Weng, D., Nociti, F.H. Jr. & Sallum, E.A. (2000) Comparison of bioabsorbable and non-resorbable membranes in the treatment of dehiscence-type defects. A histomorphometric study in dogs. *Journal of Periodontology* **71**, 1306-1314.

de Oliveira, C.A., Spolidorio. L.C., Cirelli, J.A. & Marcantonio, R.A. (2005) Acellular dermal matrix allograft used alone and in combination with enamel matrix protein in gingival recession: histologic study in dogs. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **25**, 595-603.

Gottlow, J., Karring, T. & Nyman, S. (1990) Guided tissue regeneration following treatment

of recession-type defects in the monkey. *Journal of Periodontology* **61**, 680-685.

Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T. & Lindhe, J. (1984) New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* **11**, 494-503.

Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. & Wennström, J. (1986) New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *Journal of Clinical Periodontology* **13**, 604-616.

Guiha, R., el Khodeiry, S., Mota, L. & Caffesse, R.G. (2001) Histological evaluation of healing and revascularization of the subepithelial connective tissue graft. *Journal of Periodontology* **72**, 470-478.

Harris, R.J. (2000) A comparative study of root coverage obtained with an acellular dermal matrix versus a connective tissue graft: results of 107 recession defects in 50 consecutively treated patients. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **20**, 51-59.

Harris, R.J. (1997) A comparative study of root coverage obtained with guided tissue regeneration utilizing a bioabsorbable membrane versus the connective tissue with partial-thickness double pedicle graft. *Journal of Periodontology* **68**, 779-790.

Harris, R.J. (1999) Human histologic evaluation of root coverage obtained with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft. A case report. *Journal of Periodontology* **70**, 813-821.

Harris, R.J. (1998) Root coverage with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft and an acellular dermal matrix graft: a clinical and histological evaluation of a case report. *Journal of Periodontology* **69**, 1305-1311.

Isidor, F., Karring, T., Nyman, S. & Lindhe, J. (1985) New attachment-reattachment following reconstructive periodontal surgery. *Journal of Clinical Periodontology* **12**, 728-735.

Jones, W.A. & O'Leary, T.J. (1978) The effectiveness of in vivo root planing in removing

bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth. *Journal of Periodontology* **49**, 337-342.

Kon, S., Caffesse, R.G., Castelli, W.A. & Nasjleti, C.E. (1984) Revascularization following a combined gingival flap-split thickness flap procedure in monkeys. *Journal of Periodontology* **55**, 345-351.

Kon, S., Ruben, M.P., Bloom, A.A., Mardam-Bey, W. & Boffa, J. (1991) Regeneration of periodontal ligament using resorbable and nonresorbable membranes: clinical, histological, and histometric study in dogs. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **11**, 58-71.

Lee, E.J., Meraw, S.J., Oh, T.J., Giannobile, W.V. & Wang, H.L. (2002) Comparative histologic analysis of coronally advanced flap with and without collagen membrane for root coverage. *Journal of Periodontology* **73**, 779-788.

Levitch, L.C., Bader, J.D., Shugars, D.A. & Heymann, H.O. (1994) Non-carious cervical lesions. *Journal of Dentistry* **22**, 195-207.

Lindhe, J., Socransky, S.S., Nyman, S. & Westfelt, E. (1987) Dimensional alteration of the periodontal tissues following therapy. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **7**, 9-21.

Listgarten, M.A. & Rosenberg, M.M. (1979) Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. *Journal of Periodontology* **50**, 333-344.

Löe, H., Anerud, A. & Boysen, H. (1992) The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, and extent of gingival recession. *Journal of Periodontology* **63**, 489-495.

Luczyszyn, S.M., Grisi, M.F., Novaes, A.B. Jr., Palioto, D.B., Souza, S.L. & Taba, M. Jr. (2007) Histologic analysis of the acellular dermal matrix graft incorporation process: a pilot study in dogs. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **27**, 341-347.

Magnusson, I., Batich, C. & Collins, B.R. (1988) New attachment formation following

controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. *Journal of Periodontology* **59**, 1-6.

Majzoub, Z., Landi, L., Grusovin, M.G. & Cordioli, G. (2001) Histology of connective tissue graft. A case report. *Journal of Periodontology* **72**, 1607-1615.

Martins, T.M., Bosco, A.F., Nóbrega, F.J., Nagata, M.J., Garcia, V.G. & Fucini, S.E. (2007) Periodontal tissue response to coverage of root cavities restored with resin materials: a histomorphometric study in dogs. *Journal of Periodontology* **78**, 1075-1082.

Matter, J. (1979) Free gingival graft and coronally repositioned flap. A 2-year follow-up report. *Journal of Clinical Periodontology* **6**, 437-442.

Mele, M., Zucchelli, G., Montevecchi, M. & Checchi, L. (2008) Bilaminar technique in the treatment of a deep cervical abrasion defect. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **28**, 63-71.

Modeer, T. & Odenrick, L. (1980) Post-treatment periodontal status of labially erupted maxillary canines. *Acta Odontologica Scandinavica* **38**, 253-56.

Novaes, A.B. Jr., Grisi, D.C., Molina, G.O., Souza, S.L., Taba, M. Jr. & Grisi, M.F. (2001) Comparative 6-month clinical study of a subepithelial connective tissue graft and acellular dermal matrix graft for the treatment of gingival recession. *Journal of Periodontology* **72**, 1477-1484.

Pitaru, S., Tal, H., Soldinger, M., Azar-Avidan, O. & Noff, M. (1987) Collagen membranes prevent the apical migration of epithelium during periodontal wound healing. *Journal of Periodontal Research* **22**, 331-333.

Polimeni, G., Albandar, J.M. & Wikesjö, U.M. (2005) Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of space provision. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 951-954.

Pontes, A.E., Pontes, C.C., Souza, S.L., Novaes, A.B. Jr., Grisi, M.F. & Taba, M. Jr. (2006) Evaluation of the efficacy of the acellular dermal matrix allograft with partial thickness flap in

the elimination of gingival melanin pigmentation. A comparative clinical study with 12 months of follow-up. *Journal of Esthetic Restorative Dentistry* **18**, 135-143.

Rosetti, E.P., Marcantonio, R.A., Rossa, C. Jr., Chaves, E.S., Goissis, G. & Marcantonio, E. Jr . (2000) Treatment of gingival recession: comparative study between subepithelial connective tissue graft and guided tissue regeneration. *Journal of Periodontology* **71**, 1441–1447.

Sallum, E.A., Nogueira-Filho, G.R., Casati, M.Z., Pimentel, S.P., Saldanha, J.B. & Nociti, F.H. Jr. (2006) Coronally positioned flap with or without acellular dermal matrix graft in gingival recessions: a histometric study. *American Journal of Dentistry* **19**, 128-32.

Sallum, E.A., Sallum, A.W., Nociti, F.H. Jr., Marcantonio, R.A. & de Toledo S. (1998) New attachment achieved by guided tissue regeneration using a bioresorbable polylactic acid membrane in dogs. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **18**, 502-510.

Santamaria, M.P., Feitosa, D.S., Nociti, F.H. Jr., Casati M.Z., Sallum, A.W. & Sallum E.A. (2009) Cervical restoration and the amount of soft tissue coverage achieved by coronally advanced flap: a 2-year follow-up randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 434–441.

Souza, S.L., Macedo, G.O., Tunes, R.S., Silveira e Souza, A.M., Novaes, A.B. Jr., Grisi, M.F ., Taba, M. Jr., Palioto, D.B. & Correa, V.M. (2008) Subepithelial connective tissue graft for root coverage in smokers and non-smokers: a clinical and histologic controlled study in humans. *Journal of Periodontology* **79**, 1014–1021.

Sugarman, E.F. (1969) A clinical and histological study of the attachment of grafted tissue to bone and teeth. *Journal of Periodontology* **40**, 381–387.

Tal, H. (1999) Subgingival acellular dermal matrix allograft for the treatment of gingival recession: a case report. *Journal of Periodontology* **70**, 1118-1124.

Tal, H., Moses, O., Zohar, R., Meir, H. & Nemcovsky, C. (2002) Root coverage of advanced gingival recession: a comparative study between acellular dermal matrix allograft and subepithelial connective tissue grafts. *Journal of Periodontology* **73**, 1405-1411.

Terry, D.A., McGuire, M.K., McLaren, E., Fulton, R. & Swift, E.J. Jr. (2003) Perioesthetic approach to the diagnosis and treatment of carious and noncarious cervical lesions: part I. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* **15**, 217-232.

Tinti, C., Vincenzi, G., Cortellini, P., Pini Prato, G. & Clauser, C. (1992) Guided tissue regeneration in the treatment of human facial recession: a 12-case report. *Journal of Periodontology* **63**, 554-560.

Vincenzi, G., De Chiesa, A. & Trisi, P. (1998) Guided tissue regeneration using a resorbable membrane in gingival recession-type defects: a histologic case report in humans. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **18**, 24-33.

Weng, D., Hurzeler, M.B., Quinones, C.R., Pechstadt, B., Mota, L. & Caffesse, R.G. (1998) Healing patterns in recession defects treated with ePTFE membranes and with free connective tissue grafts. A histologic and histometric study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 238-245.

Wikesjö, U.M. & Selvig, K.A. (1999) Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology 2000* **19**, 21-39.

Wilderman, M.N. & Wentz, F.M. (1965) Repair of a dentogingival defect with a pedicle flap. *Journal of Periodontology* **36**, 218-231.

Tabela 1. Média e Desvio padrão (M±DP) das medidas lineares (mm) comparadas entres os grupos RPC, ETC, RPC e MB nos diferentes parâmetros avaliados (TE=Extensão do Tecido Epitelial; NITC=Extensão da nova inserção de tecido conjuntivo; ATC=Extensão de Aposição de Tecido Conjuntivo; NC=Extensão de novo cimento; NO=Extensão de novo osso; DO=Extensão do defeito ósseo).

	Controle	Experimental	Teste	P		Controle	Experimental	Teste	P
	M±DP	M±DP				M±DP	M±DP		
Medidas	RPC	ETC			Medidas	RPC	MB		
TE	1.18±0.49	1.70±0.53 ^{&}	T	0.1734	TE	1.44±0.50	1.00±0.35 ^{&}	T	0.1080
NITC	0.95±0.53	0.71±0.36*	T	0.3181	NITC	0.71±0.45	1.80±0.39*	Wilcoxon	0.0277
ATC	2.03±1.03	2.62±1.52 ^{&}	T	0.1566	ATC	2.79±1.74	0.29±0.33 ^{&}	T	0.0128
NC	2.44±1.97	2.21±1.28	T	0.7553	NC	1.04±0.43	4.12±1.24	Wilcoxon	0.0277
NO	1.96±2.29	1.52±1.31	T	0.4937	NO	0.93±0.23	2.44±0.78	Wilcoxon	0.0277
DO	5.51±0.32	5.29±0.28	T	0.0735	DO	5.46±0.27	5.51±0.23	T	0.7323
N	6	6			N	6	6		

*Diferença estatisticamente significativa, entre os subgrupos ETC e MB, detectada pela análise de variância (Kruskal-Wallis) com $p < 0.05$.

[&]Diferença estatisticamente significativa, entre os subgrupos ETC e MB, detectada pela análise de variância (Anova e Tukey) com $p < 0.05$.

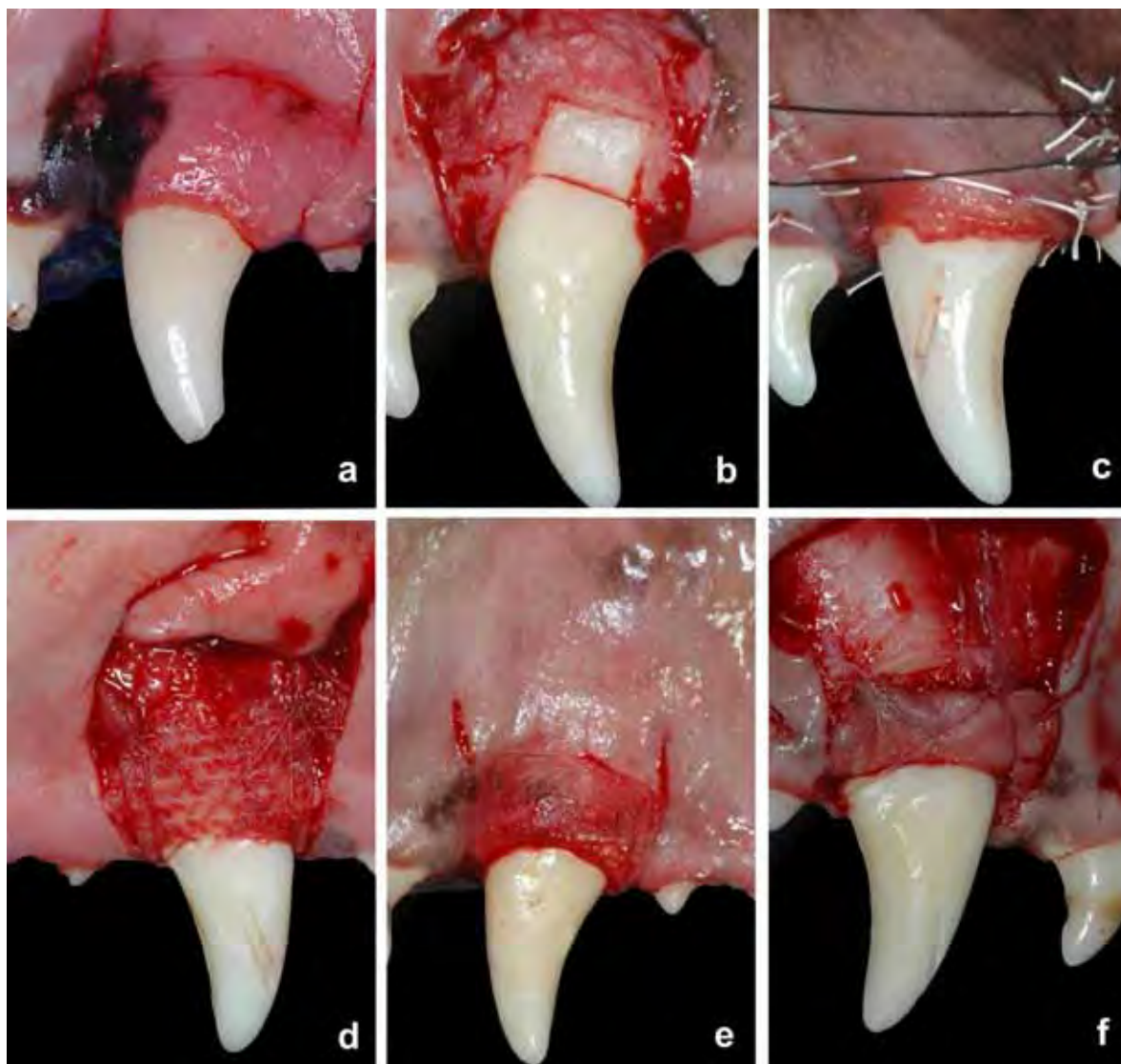
FIGURAS:

Fig. 1. Procedimento operatório: (a) Gengiva compreendida entre as incisões, verticais e a horizontal removida, permanecendo 2 mm de gengiva ceratinizada. (b) Defeito de deiscência criado, raiz aplainada e marcação coronal e apical na superfície radicular; (c) Retalho suturado coronalmente; (d) MB suturada no leito receptor; (e) Área doadora de mucosa ceratinizada após desepitelização; (f) ETC suturado no leito receptor.

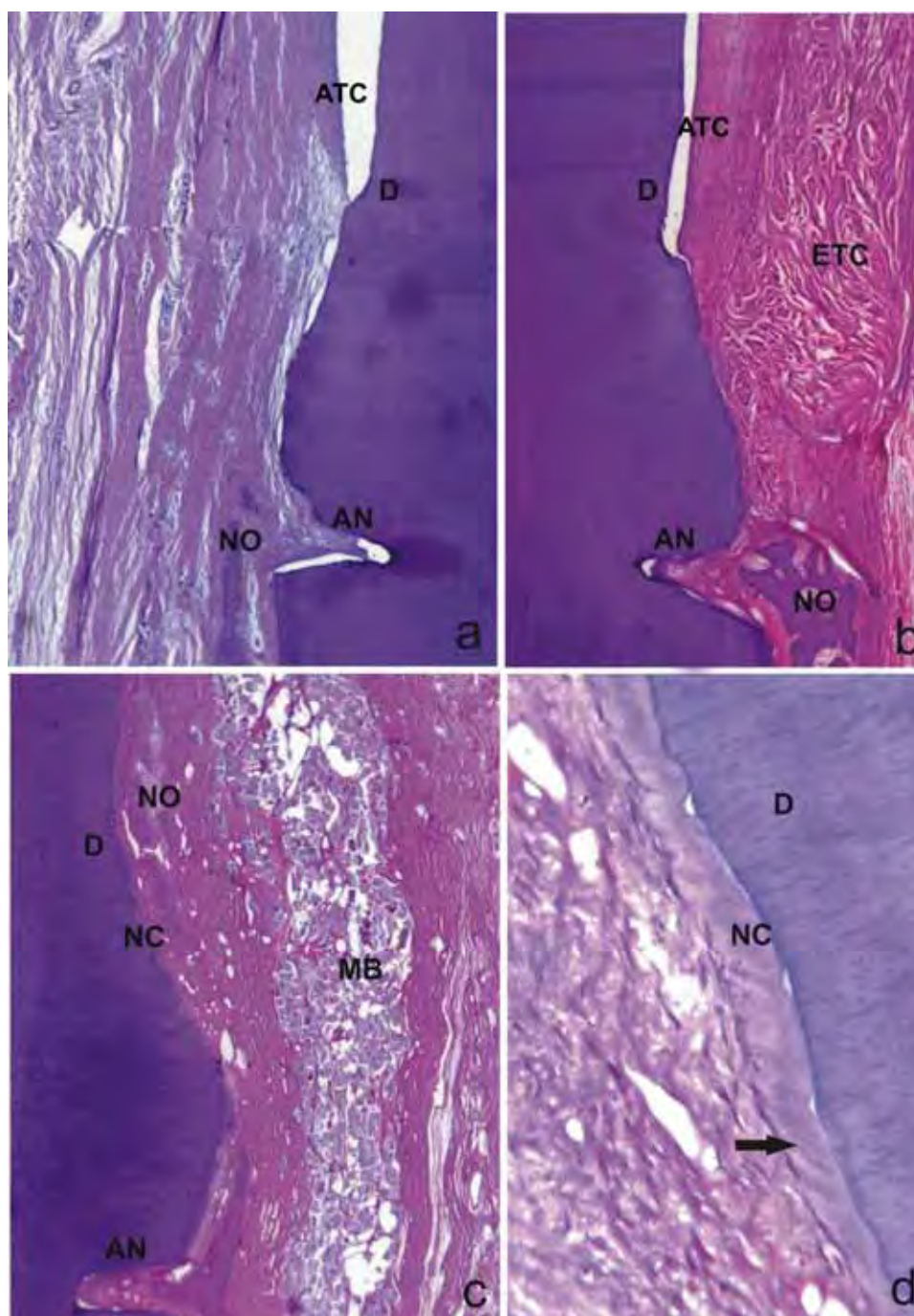


Fig. 2. Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal nos diferentes grupos (RPC, ETC e MB): (a) Grupo RPC, fibras colágenas paralelas à superfície radicular desprovida de cimento neoformado; (b) Grupo ETC, fibras colágenas paralelas à superfície radicular desprovida de cimento neoformado; (c) Grupo MB, Cimento neoformado em grande parte da superfície radicular aplainada; (d) Grupo MB, fibras colágenas inseridas obliquamente no cimento neoformado (seta) (H&E; aumento original: a,b e c, x12.5; d, x40). D, superfície dentinária; NC, cimento neoformado; NO, tecido ósseo neoformado; AN, notch apical; ATC, aposição de tecido conjuntivo; ETC, enxerto de tecido conjuntivo; MB, membrana bioabsorvível.

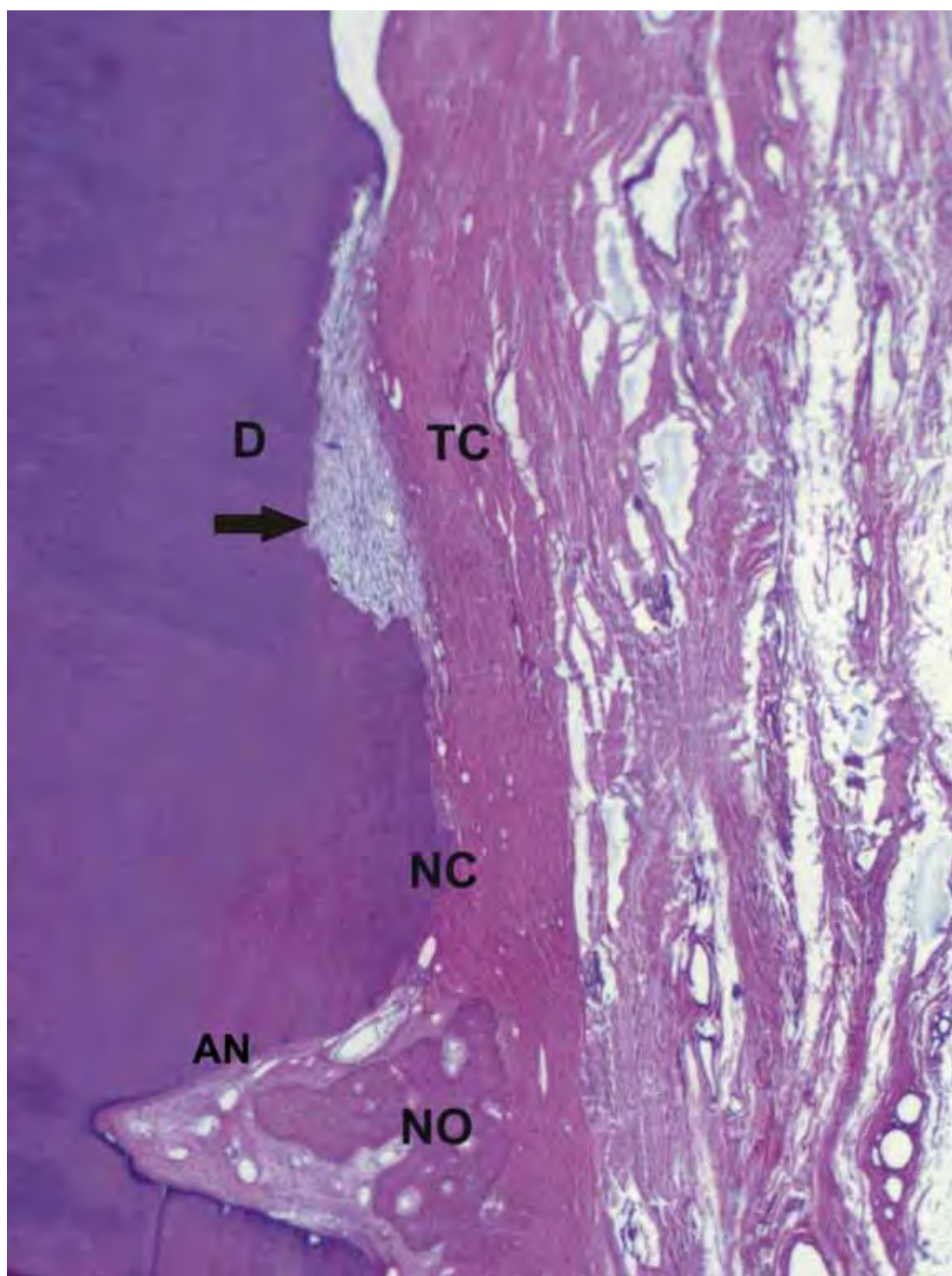


Fig. 3. Grupo RPC: Reabsorção radicular (seta) na região coronal ao cimento neoformado (H&E; aumento original: x12.5). NC, cimento neoformado; NO, tecido ósseo neoformado; D, superfície dentinária; AN, notch apical; TC, tecido conjuntivo.

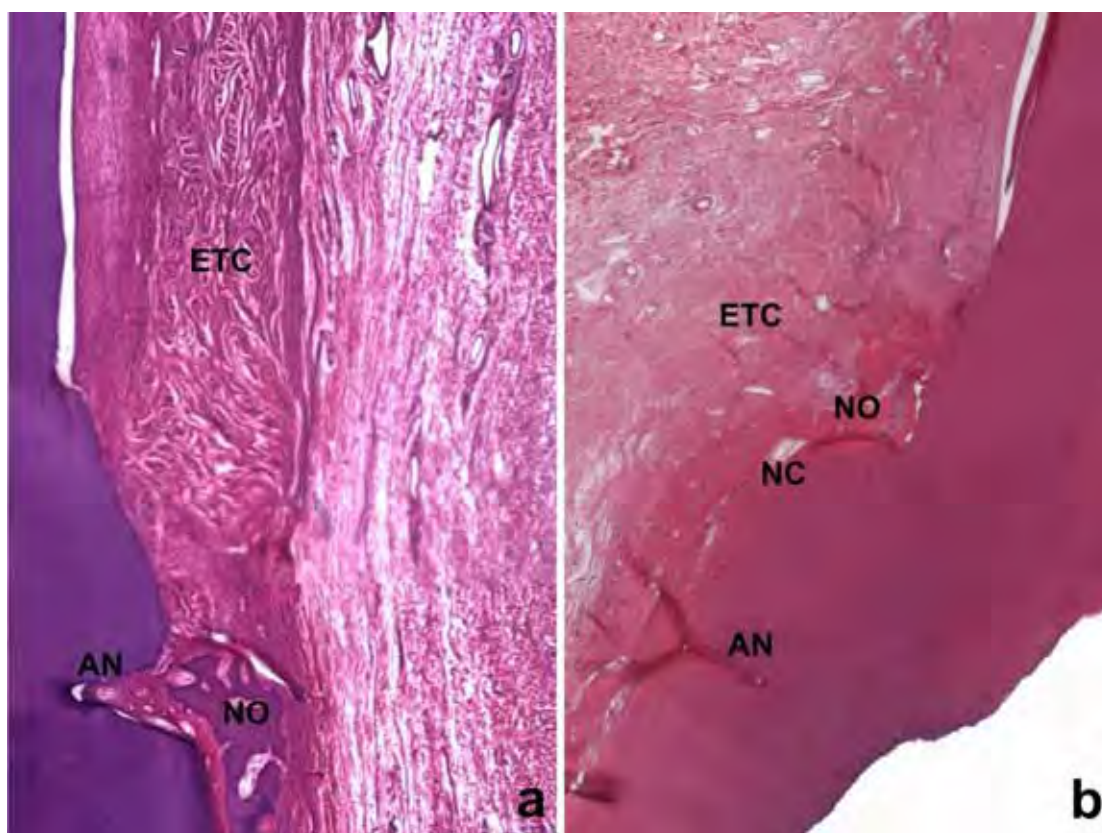


Fig. 4. Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal de acordo com a relação do ETC com a superfície radicular: (a) Grupo ETC, proximidade do ETC à superfície radicular; (b) Grupo ETC, ETC afastado da superfície radicular; (H&E; aumento original: a e b, x12.5). NC, cemento neoformado; NO, tecido ósseo neoformado; AN, notch apical; ETC, enxerto de tecido conjuntivo.

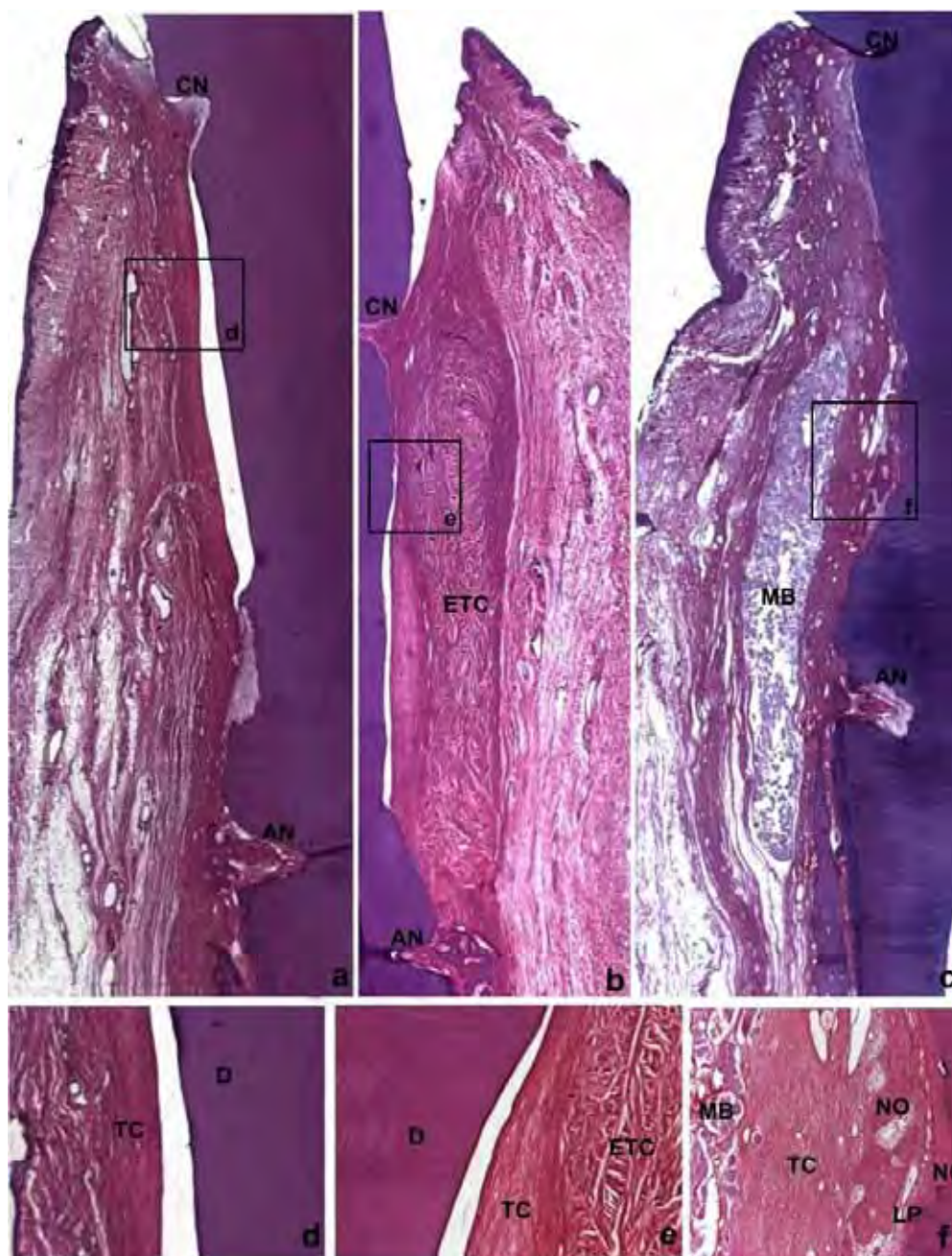


Fig. 5. Fotomicrografia ilustrando os padrões de cicatrização periodontal nos diferentes grupos (RPC, ETC e MB): (a) Grupo RPC, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com RPC; (b) Grupo ETC, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com ETC; (c) Grupo MB, visão panorâmica da superfície radicular aplainada tratada com MB; (d) Grupo RPC, superfície radicular desprovida de cemento neoformado com aposição do tecido conjuntivo; (e) Grupo ETC, aposição do tecido conjuntivo interposto entre o ETC e a superfície radicular desprovida de cemento neoformado; (f) Grupo MB, cemento e tecido ósseo neoformados sobre a superfície radicular aplainada (H&E; aumento original: a,b e c, x12.5; d, e, f, x40). D, superfície dentinária; NC, cemento neoformado; TC, tecido conjuntivo; NO, tecido ósseo neoformado; AC, notch coronário; AN, notch apical; ATC, aposição de tecido conjuntivo; ETC, enxerto de tecido conjuntivo; MB, membrana bioabsorvível.

Anexos

Anexo A (CEE A)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"ANÁLISE DO TRATAMENTO DE DEFEITOS PERIODONTAIS TIPO DEISCÊNCIA ASSOCIADOS A RAÍZES ABRASIONADAS COM ENXERTO DE TECIDO CONJUNTIVO SUBEPITELIAL E MEMBRANA BIOABSORVÍVEL. ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM CÃES."** sob responsabilidade de THIAGO MARCHI MARTINS e ALVARO FRANCISCO BOSCO está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião ordinária de 22 de junho de 2006, de acordo com o protocolo nº 47/06.

Araçatuba, 22 de junho de 2006.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente

Anexo B (*Figuras da fase Experimental*)



Fig. 1 – Extensão ocluso-apical do defeito criado.



Fig. 2 – Extensão mésio-distal do defeito criado.



Fig. 3 – Preparo tipo caixa (4x4x1 mm) para padronizar o aplainamento.



Fig. 4 – Aplainamento radicular.



Fig. 5 – Demarcação dos notchs.



Fig. 6 – Defeito criado e retalho posicionado e suturado coronalmente.



Fig. 7 – Extensão ocluso-apical da membrana bioabsorvível.

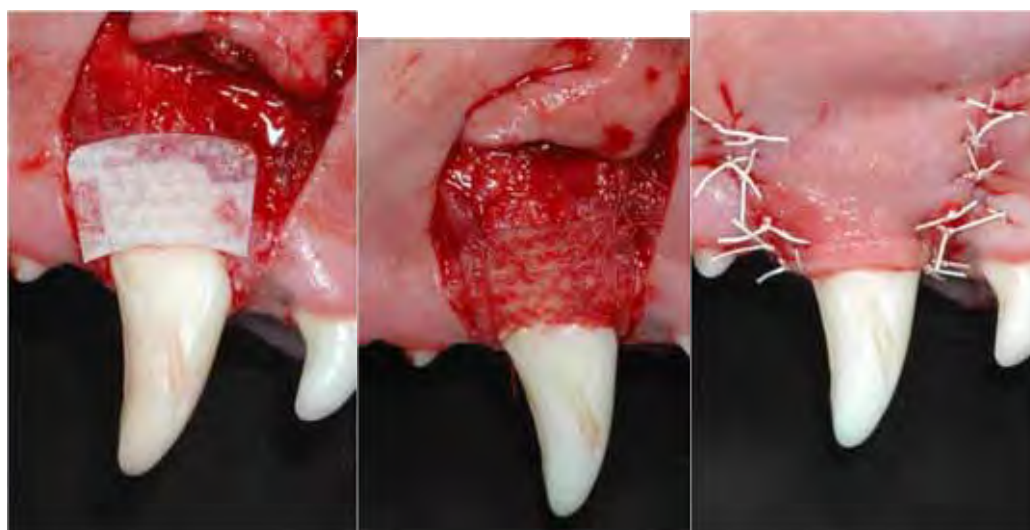


Fig. 8 – Membrana suturada sobre o defeito e retalho posicionado e suturado coronalmente.



Fig. 9 – Área doadora do enxerto de tecido conjuntivo.

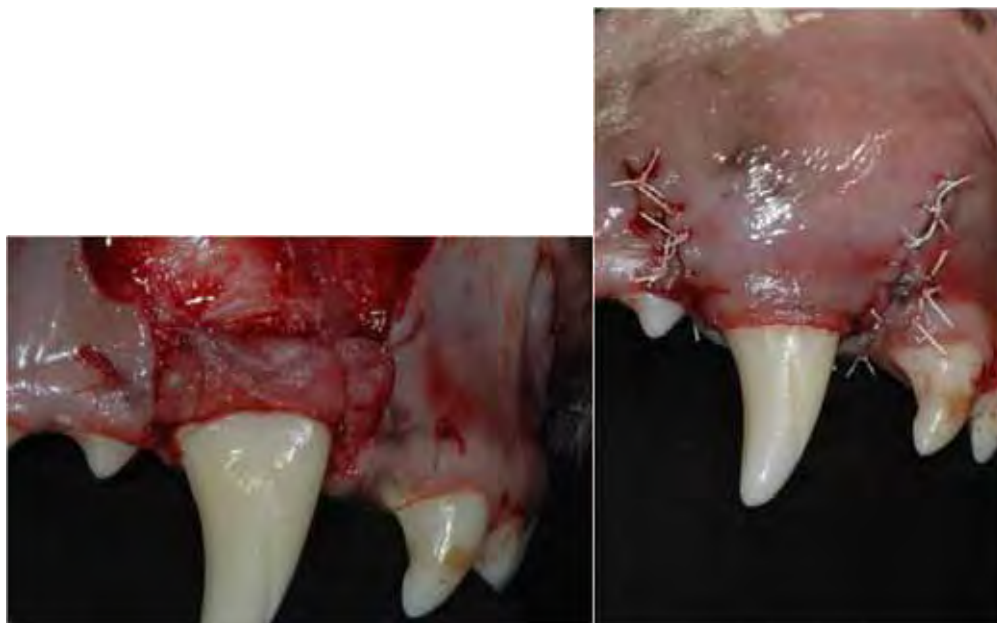


Fig. 10 – Enxerto de tecido conjuntivo suturado sobre o defeito e retalho posicionado e suturado coronalmente.



Fig. 11 – Aspecto clínico após 90 dias do ato operatório (RPC, ETC e MB, respectivamente).

Anexo C (*Normas do Periódico “Journal
of Clinical Periodontology”*)

1. GENERAL

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

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

2. ETHICAL GUIDELINES

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

2.1. Authorship and Acknowledgements

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

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

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Please note that it is a requirement to include email addresses for all co-authors at submission. If any of the email-addresses supplied are incorrect the corresponding author will be contacted by the journal administrator.

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

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version VI, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

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

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

2.3 Clinical Trials

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

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

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

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

2.5 Conflict of Interest and Sources of Funding

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

2.6 Appeal of Decision

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

2.7 Permissions

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

2.8 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Blackwell Publishing if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author licences the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the exclusive licence to publish their paper to Blackwell Publishing. Assignment of the exclusive licence is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless licence has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed [Copyright Transfer Agreement](#) (CTA) must be sent to the Editorial Office before any manuscript can be published. Authors must send the completed CTA upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the CTA at submission.

The CTA should be sent to:

Journal of Clinical Periodontology Editorial Office
Wiley-Blackwell
John Wiley & Sons Ltd
9600 Garsington Road
Oxford
OX4 2DQ
UK

Or by email to: cpedoffice@wiley.com

For questions concerning copyright, please visit [Blackwell Publishing's Copyright FAQ](#).

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Journal Admin, Miss Isabel Martinez, at cpedoffice@wiley.com.

3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>

- Log-in or, if you are a new user, click on "register here".
- If you are registering as a new user.
 - After clicking on "register here", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next."
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your areas of expertise. Click "Finish".
 - If you are registered, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under "Password Help". The system will automatically send you your user ID and a new temporary password.
 - Log-in and select "Corresponding Author Center".

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your "Corresponding Author Center", submit your manuscript by clicking the submission link under "Author Resources".
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
 - Click the "Next" button on each screen to save your work and advance to the next screen.
 - You are required to upload your files.
 - Click on the "Browse" button and locate the file on your computer.
 - Upload your manuscript main document complete with title page, statement concerning source(s) of funding and conflict(s) of interest, abstract, clinical relevance section, references, tables and figure legends as "main document". Upload figures as "figures". For clinical trials a Consort Checklist will be required, and it should be uploaded as "supplementary file for review". If any unpublished papers are referenced in the reference list, a digital version of the referenced paper should also be uploaded as "supplementary file for review".
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the "Upload Files" button.
 - Review your submission (in HTML and PDF format). Notice that all documents uploaded as supplementary files for review will not be viewable in the HTML and PDF format. Click the "Submit" button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, clinical reference, main text, references, acknowledgement, statement of source of funding and any potential conflict of interest, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference any figures as for instance "Figure 1", "Figure 2" etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

3.4. Blinded Review

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

3.5. Suggest a Reviewer

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

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

You can access Manuscript Central any time to check your "Corresponding Author Center" for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit a revised manuscript, locate your manuscript under "Manuscripts with Decisions" and click on "Submit a Revision". Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

3.10 Resubmissions

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

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

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

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

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

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

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

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. **Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>.** All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

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

5.2. Structure

All articles submitted to *Journal of Clinical Periodontology* should include Title Page, Abstract, and References. In addition, Journal of Clinical Periodontology requires that all articles include a section on Clinical Relevance and disclose Source of Funding and Conflict of Interests. Figures, Figure Legends and Tables should be included where appropriate. All manuscripts should emphasize clarity and brevity. Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and be clearly explained where its use is unavoidable.

Title Page: The title must be concise and contain no more than 100 characters including spaces. The title page should include a running title of no

more than 40 characters; 5-10 key words, complete names of institutions for each author, and the name, address, telephone number, fax number and e-mail address for the corresponding author.

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

Abstract: is limited to 200 words in length and should not contain abbreviations or references. The abstract should be organized according to the content of the paper. For Original Research Articles the abstract should be organized with aim, materials and methods, results and conclusions. For clinical trials, it is encouraged that the abstract finish with the clinical trial registration number on a free public database such as clinicaltrials.gov.

Clinical Relevance: This section is aimed at giving clinicians a reading light to put the present research in perspective. It should be no more than 100 words and should not be a repetition of the abstract. It should provide a clear and concise explanation of the rationale for the study, of what was known before and of how the present results advance knowledge of this field. If appropriate, it may also contain suggestions for clinical practice. It should be structured with the following headings: scientific rationale for study, principal findings, and practical implications. Authors should pay particular attention to this text as it will be published in a highlighted box within their manuscript; ideally, reading this section should leave clinicians wishing to learn more about the topic and encourage them to read the full article.

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

5.3. Original Research Articles

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

Main Text of Original Research Articles should be organized with Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Please see Sample Manuscript.

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

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

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

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

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

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

(d) Experimental Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version VI, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

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

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

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

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

The discussion may usefully be structured with the following points in mind (modified from the proposal by [Richard Horton \(2002\), The Hidden Research Paper, The Journal of the American Medical Association, 287, 2775-2778](#)). Not all points will apply to all studies and its use is optional, but we believe it will improve the discussion section to keep these points in mind.

Summary of key finding

* Primary outcome measure(s)

- * Secondary outcome measure(s)
- * Results as they relate to a prior hypothesis

Strengths and Limitations of the Study

- * Study Question
- * Study Design
- * Data Collection
- * Analysis
- * Interpretation
- * Possible effects of bias on outcomes

Interpretation and Implications in the Context of the Totality of Evidence

- * Is there a systematic review to refer to?
- * If not, could one be reasonably done here and now?
- * What this study adds to the available evidence
- * Effects on patient care and health policy
- * Possible mechanisms

Controversies Raised by This Study

Future Research Directions

- * For this particular research collaboration
- * Underlying mechanisms
- * Clinical research

5.4. Clinical Innovation Reports

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

Main Text of Clinical Innovation Reports should be organized with Introduction, Clinical Innovation Report, Discussion and Conclusion.

5.5. Case Reports

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

Main Text of Case Reports should be organized with Introduction, Case report, Discussion and Conclusion.

5.6. Reviews

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

Main Text of Reviews should be organized with Introduction, Review of Current Literature, Discussion and Conclusion.

5.7. References

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

We recommend the use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: www.endnote.com/support/enstyles.asp Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

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

References in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Brown & Smith 1966). Three or more authors should always be referred to as, for example, Brown et al. 1966.

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Biological and Medical Editors and Authors, (1975), p. 36. London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by first author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, chapter title, title of book in italics, edition, volume, page number(s), town of publication, publisher.

c) Authors' names should be arranged thus:

Smith, A. B., Jones, D. E. & Robinson, F. C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Authors' names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1967).

e) The title of the paper should be included without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining in typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript) and page numbers.

Examples:

Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* 10, 820-828. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00565.x

Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring, K. (2003) *Periodontology and Implant Dentistry*. 4th edition, p. 1014, Oxford. Blackwell Munksgaard.

Bodansky, O. (1960) Enzymes in tumour growth with special reference to serum enzymes in cancer. In *Enzymes in Health and Disease*, eds.

Greenberg, D. & Harper, H. A., pp. 269-278. Springfield: Thomas.

URL:

Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text.

Example:

Smith A. (1999) Select Committee Report into Social Care in the Community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report0394498.html> [accessed on 7 November 2003]

5.8. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5–2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction symbols should be at least 2.0–3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Each copy should be marked with the figure number and the corresponding author's name. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

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

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by thin spaces (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible).

For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures: www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp.

Check your electronic artwork before submitting it: www.blackwellpublishing.com/bauthor/cachechecklist.asp

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

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

5.9. Supporting Information

Supporting Information, such as data sets or additional figures or tables that will not be published in the print edition of the Journal but which will be viewable in the online edition can be submitted. The Editor-in-Chief should be contacted at the time of submission of your paper. Please see www.blackwellpublishing.com/bauthor/suppmat.asp for further information on the submission of Supporting Information.

6. AFTER ACCEPTANCE

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

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site.

Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

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

6.2 Early Online Publication Prior to Print

Journal of Clinical Periodontology is covered by Blackwell Publishing's Early View service. Early View articles are complete full-text articles

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

6.3 Online Production Tracking

Online production tracking is available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit www.blackwellpublishing.com/bauthor for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all electronic material submitted one month after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: Offprint.Cosprinters. If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

6.6 Author Services

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Blackwell Publishing Author Services](#)

6.7 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate