

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

Samara Bonfante

**PADRÃO DE CICATRIZAÇÃO DE DEFEITOS DE
DEISCÊNCIA PERIODONTAL TRATADOS COM ENXERTO
DE TECIDO CONJUNTIVO SUBEPITELIAL OU MATRIZ
DÉRMICA ACELULAR:**

Estudo histológico e histométrico 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

**ARAÇATUBA
2008**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

B713p Bonfante, Samara
Padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou matriz dérmica acelular / Samara Bonfante. – Araçatuba: [s.n.], 2008.
87 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2008.
Orientador: Prof. Dr. Alvaro Francisco Bosco

1.Cicatrização de feridas. 2.Transplante autólogo. 3. Transplante homólogo 4.Tecido conjuntivo. 5.Modelos animais.

Black D64
CDD 617.6

Dados Curriculares

Samara Bonfante

- Nascimento: *14 de fevereiro de 1978 - Bauru - S.P.*
- Filiação: *Gerson Bonfante.*
Maria Elenice P. Bonfante.
- 1996-2000: *Curso de Graduação em Odontologia*
Universidade do Sagrado Coração - USC - Bauru, S.P.
- 2001-2002: *Curso de Aperfeiçoamento em Oclusão e Disfunção*
têmporo-mandibular.
- 2003-2004: *Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de*
concentração em Periodontia, nível de Mestrado, na
Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.
- 2004: *Curso de Atualização em Periodontia.*
- 2005: *Curso de Aperfeiçoamento em Implantodontia.*
- 2005-2008: *Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de*
Periodontia, nível de Doutorado, na Faculdade de
Odontologia de Araçatuba - UNESP.

*A Deus, por se fazer presente em minha vida,
por me proteger em todas as idas e vindas,
por direccionar os meus passos e iluminar os meus caminhos,
Obrigada Senhor, pelo sustento em todos os momentos, pela
“força” que provém de Ti...*

O Senhor é minha rocha, minha fortaleza! (Sl 18:2)

...tudo posso Naquele que me fortalece! (Fl 4:13)

Aos meus amados pais, Gerson e Elenice,

meu Alicerce,

minha Base,

minha Referência por toda a vida!!!

Minha maior riqueza!!!

...O reconhecimento...

pelo amor incondicional,

por toda dedicação durante todas as etapas da minha vida!

Dizer somente “muito obrigada”...seria muito pouco...

frente ao tudo que vocês representam pra mim!!!

Amo Vocês Infinitamente!!!

*Aos meus irmãos, Luiz Fernando e Estevam,
Agradeço a Deus, pela oportunidade de compartilhar da minha vida
com vocês...*

Meus amigos, meus companheiros... presente de Deus!!!

*Obrigada por todo apoio, preocupação e ajuda
com palavras e atitudes...*

*...e pela forte base de Amor que nos une
e se faz presente em nossas vidas!!!*

Amo muito Vocês!!!

À todos os meus familiares...

*Avós maternos (in memorian) e avós paternos, tios, tias,
primos e primas... pelo carinho que sempre tiveram por mim.*

Ao meu noivo Fábio,

Por todo amor, respeito, cumplicidade e admiração que compõem a base da “nossa história”. Poucos são abençoados por ter pessoas como você ao lado... e Deus me deu esse privilégio!!!

Hoje, comemoramos juntos mais uma vitória, da qual você também faz parte..., obrigada, por todo apoio, por toda dedicação, por toda compreensão... que sem dúvida, só se concretizaram, por que existe o mais nobre dos sentimentos...o amor!!!

Obrigada por fazer parte da minha vida!!!

Te Amo Muito!!!

O Amor é paciente, é bondoso...

...Não busca seus próprios interesses... nunca perece!!

... tudo espera, tudo crê, tudo suporta!!! (I Cor 13, 1.4-7)

Agradecimentos

Especiais

Ao meu “eterno” Mestre e Amigo Professor Álvaro Francisco Bosco.

Foram cinco anos de convivência, aprendizado, de conquistas,

e o carinho paternal que o senhor sempre transmitiu!

O meu muito obrigada, por toda dedicação,

pelas oportunidades, pela confiança, incentivo

e pelos valiosos ensinamentos Profissionais e de Vida!

O “caderninho em branco” que chegou, hoje certamente tem “páginas

escritas”, e o senhor como parte fundamental dessa trajetória.

Levarei comigo o seu exemplo ...

...como clínico e pesquisador... sem dúvida que sim...

mas principalmente pelo grande “ser humano” que o senhor representa

pra mim...!

Pela ética e responsabilidade com que trata o ser humano,

pela humildade e dedicação com que se dedica a ensinar...

Agradeço a Deus a oportunidade de poder conviver e aprender com o

senhor...

O meu eterno respeito e admiração!

Faço extensivamente os meus agradecimentos à sua Família, e em

especial à D. Thereza, pelo carinho e simpatia com que sempre me

acolheu... não importando o dia ou a hora...

*Ao Professor Dr Valdir Gouveia Garcia,
pessoa “ímpar”, observadora, extremamente capaz...
um “ser humano” de inestimável valor.*

*Capaz de agir com o coração e com a razão... pessoa rara de se
encontrar hoje em dia.*

*A você “chefe GG” o meu profundo respeito e admiração. Por todas as
palavras, ensinamentos, pela oportunidade e confiança, o meu sincero
muito obrigada.*

*A professora Drª Maria José Hitomi Nagata,
Pelo exemplo de pessoa e profissional que a senhora é,
Pela paciência e competência com que transmite seus conhecimentos,
Por toda “garra” e honestidade que conduz a sua jornada.
E hoje, eu agradeço e reconheço o seu valor, na minha formação, para
que eu fosse capaz de superar minhas expectativas...*

À Carol, a irmã que eu escolhi, pela pureza da amizade que existe entre nós, pelo elo de respeito mútuo, confiança e amor.

Pela vibração e torcida até mesmo nas menores conquistas.

Pela alegria contagiante e por tudo o que você representa pra mim!!!

"Todos ouvem o que você diz. Os amigos escutam o que você fala. Os melhores amigos prestam atenção ao que você não diz."

À querida Soraya,

pela amizade desde a graduação,

pelo amor demonstrado nos pequenos gestos.

Muito obrigada por todo apoio e pela torcida durante todos esses anos!

Pelo carinho e preocupação e por se fazer presente em todos os momentos.

À Paloma, pelo carinho e amabilidade inerentes à sua pessoa,

pelo sorriso e disposição, e pela convivência sempre agradável.

Obrigada por fazer parte da "nossa" família.

À Carol e tia Sônia...

Pelo exemplo de doação e prontidão em todos os momentos,

pelo abraço que acolhe e sobretudo pela amizade.

*Ao Sr. Marcio e Dona Neuza,
aos meus “cunhados” e “cunhadas”,
pelo apoio e compreensão durante todos esses anos
e pelo amor e respeito que sempre dedicaram a mim.*

Aos meus amigos,

Juliano, Ana Cristina, Danielle, Valmir, Luciana, Leandro e Thiago

Pela ajuda despretensiosa e fundamental,

Pela preocupação durante cada etapa percorrida,

Pelos ensinamentos profissionais e de vida...

Minha admiração, respeito e o meu muito obrigada!!!

Amigos são anjos...

O importante é tentarmos, ao longo das nossas vidas, termos sempre algum anjo com o qual possamos contar nas horas difíceis para nos dar alento...

e nas horas alegres para rir com a gente, rir da gente, da vida enfim...

O importante é termos anjos...

O importante é sermos anjos...

(Maria Lucia Padilha)

À querida Karen Vaz Ayub,

Foram mais de dois anos de convivência...

Momentos esses que sempre guardarei com saudades...

Das muitas risadas de coisas simples,

Das muitas manias em comum...

Do carinho e respeito que sempre fizeram parte do nosso dia a dia!

Do bom humor contagiante... da alegria de viver que você transmite!!

À você e à sua família...o meu eterno carinho!

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 e Valmir, o meu muito obrigada pelo convívio, pelos aprendizados e pelos momentos salutareis 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.

Ao Juliano e Odair, pela ajuda “incansável” durante todos os procedimentos cirúrgicos experimentais. À Ana Cristina e ao Thiago pela ajuda despretensiosa e prontidão durante todo 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. Obrigada 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 Dr. Cláudio Casatti, pela ajuda fundamental na elaboração dos resultados 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.

À Bercamp de Bernardino de Campos, pela doação da ração canina Purumix vegetal, durante todo o período experimental.

A todos os alunos da pós-graduação da periodontia: Thiago, 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 e Fernando Moreno de Oliveira e em especial à Daniela Mayumi Inatomi Kavano pela ajuda durante a etapa de coloração das lâminas.

Ao Dr. Rumio Taga e à Tania Mary Cestari, da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, o meu eterno agradecimento por toda ajuda prestada em todos os momentos que precisei, pelo carinho e dedicação com que sempre me acolheram.

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.

Aos animais experimentais, o meu profundo respeito.

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.

“Peçam, e lhes será dado; busquem, e encontrarão;

batam, e a porta lhes será aberta.

Pois todo o que pede, recebe; o que busca, encontra;

e àquele que bate, a porta será aberta”(Mt 7.7-8).

Esforça-te que Eu te ajudarei!

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios,

incompreensões e períodos de crise...

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria

história...

...É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida!

...É ter coragem para ouvir um não. É ter segurança para receber uma crítica,

mesmo que injusta.

Pedras no caminho?

Guardo todas, um dia vou construir um castelo!

(Fernando Pessoa)

Bonfante S, Bosco AF. Padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou matriz dérmica acelular. Estudo histológico e histométrico em cães. 2008. [Tese]. Araçatuba: UNESP - Universidade Estadual Paulista; 2008.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar histológica e histometricamente o padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) ou matriz dérmica acelular (MDA), cada qual comparado ao tratamento com Retalho posicionado Coronal (RPC).

Foram utilizados 10 cães, divididos em dois grupo de 5. Defeitos de deiscência óssea (6x8 mm) foram criados nos caninos superiores e os grupos divididos seguindo um modelo de boca dividida de acordo com o tratamento. Em um grupo de 5 cães foi realizado o tratamento com ETC e no lado contralateral RPC e o outro grupo de 5 cães foi tratado com MDA e RPC no lado contralateral. 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), nova inserção (NITC) e aposição de tecido conjuntivo (ATC), novo cimento (NC) e novo osso (NO). Os dados histométricos transformados em porcentagem, foram estatisticamente analisados pelo teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ausência de diferença estatística foi na extensão de: TE com $45,92 \pm 17$ para ETC e $46,70 \pm 20$ para RPC ($P = 0,9486$) e de $27,58 \pm 9$ para MDA e $35,06 \pm 24$ para RPC ($P = 0,5519$); NC foi $55,06 \pm 26$ para ETC e de $49,28 \pm 16$ para RPC ($P = 0,6923$) e de $69,14 \pm 21$ para MDA e $61,59 \pm 29$ para RPC ($P = 0,6550$); NO foi $18,52 \pm 20$ para ETC e de $16,62 \pm 14$ para RPC (P

= 0,8648) e de $27,76 \pm 22$ para MDA e $45,46 \pm 23$ para RPC ($P = 0,2589$); NITC foi de $48,36 \pm 14$ para ETC e de $47,12 \pm 16$ para RPC ($P = 0,8993$) e de $52,20 \pm 17$ para MDA e de $59,13 \pm 30$ ($P = 0,6751$); ATC foi de $16,92 \pm 20,45$ para ETC e de $7,40 \pm 4,47$ para RPC ($P = 0,0406^*$) e de $27,34 \pm 31$ para MDA e de $13,34 \pm 12,55$ para RPC ($P = 0,6084$). Diferença significativamente maior foi encontrada somente para ATC para o grupo ETC quando comparado ao RPC.

Dentro dos limites do presente estudo, pode se concluir que as diferentes terapias empregadas resultaram em uma cicatrização compatível com os padrões de normalidade, sem diferença significativa para a maioria dos parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas; Transplante autólogo; Transplante homólogo; Tecido conjuntivo; Modelos animais.

Bonfante S, Bosco AF. Healing pattern of periodontal dehiscence defects treated with subepithelial connective tissue graft or acellular dermal matrix. Histologic and histometric study in dogs. 2008. [Thesis]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2008.

Abstract

The aim of the present study was to evaluate histologically and histometrically the healing pattern of periodontal dehiscence defects treated with Subepithelial Connective Tissue Graft (CTG) or Acellular Dermal Matrix (ADM), when compared to the Coronally Positioned Flap (CPF).

Dehiscence bone defects (6x8mm) were created bilaterally in the maxillary canine area of dogs (n=10, divided in 2 groups). By means of a split mouth test design, a group of 5 dogs was randomly allocated to receive subepithelial connective tissue graft (CTG) in one of the sides and a coronally positioned flap (CPF) in the opposing side. The remaining 5 dogs had acellular dermal matrix graft (ADM) as a treatment in either one of the sides and CPF on the other side. Three months after surgery, dogs were euthanized and blocks of interest were processed. The histometric parameters for the latter included length of epithelial tissue (ET), new attachment (NACT) and connective tissue apposition (CTA), new cementum (NC), and new bone (NB). Histometric data were converted to percentage and statistically analyzed by ANOVA followed by Tukey test at a $p < 0.05$.

No significant difference was detected in the following parameters for both groups: ET yielding $45,92 \pm 17$ for CTG and $46,70 \pm 20$ for CPF ($P = 0,9486$), while $27,58 \pm 9$ was found for ADM compared to $35,06 \pm 24$ for CPF ($P = 0,5519$). NC values averaged $55,06 \pm$

26 for CTG and $49,28 \pm 16$ ($P = 0,6923$) for CPF whereas for ADM they reached $69,14 \pm 21$ compared to $61,59 \pm 29$ ($P = 0,6550$) for the CPF. NB histometry was $18,52 \pm 20$ (CTG) and $16,62 \pm 14$ (CPF) ($P = 0,8648$) for one study group and $27,76 \pm 22$ (ADM) and $45,46 \pm 23$ (RPC) ($P = 0,2589$) for the other. NI averaged $48,36 \pm 14$ (SCT) and $47,12 \pm 16$ (CPF) ($P = 0,8993$) while ADM and CPF presented $52,20 \pm 17$ and $59,13 \pm 30$ ($P = 0,6751$) respectively. CTA found for CTG and CPF were $16,92 \pm 20,45$ and $7,40 \pm 4,47$ ($P = 0,0406^*$) respectively whereas for ADM and CPF were $27,34 \pm 31$ and $13,34 \pm 12,55$ ($P = 0,6084$). A statistical significant difference was detected only for CTA in CTG group.

Within the limits of the present study, it can be concluded that CTG and ADM were comparable to CPF regarding the majority of the histometric parameters analyzed and healing response was favorable.

Keywords: Wound healing; Transplantation, Autologous; Transplantation, Homologous; Connective Tissue; Models, Animal.

Lista de Figuras

Lista de Figuras

Figura 1: Procedimento operatório. (a) Delimitação das incisões verticais divergentes e incisão horizontal próxima à JMG. (b) Defeito de deiscência criado e marcações coronal e apical na superfície radicular; (c) Retalho suturado coronalmente; (d) MDA suturada no leito receptor; (e) Área doadora de mucosa ceratinizada após desepitelização; (f) ETC suturado no leito receptor.

Figura 2: Fotomicrografia do Grupo RPC; (a) Visão panorâmica da área tratada com RPC (H&E, 40X); (b) Detalhe da superfície dentinária e da formação de novo cemento (NC) com inserção de fibras colágenas dispostas obliquamente (H&E, 400X); (c) Detalhe da crista óssea alveolar e acúmulos de osteoblastos (seta amarela) (H&E, 400X); (d) Detalhe da crista óssea e das fibras alvéolo-gengivais surgindo tanto da crista óssea quanto da cortical vestibular do osso alveolar (setas pretas) (H&E, 200X); (e) Visão panorâmica do ligamento periodontal (LP) e do tecido ósseo neoformado (NO) (TM, 40X).

Figura 3: Fotomicrografia do Grupo ETC; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando ETC e NO (H&E, 40X); (b) Detalhe do ETC e do deslocamento do grupo de fibras (setas pretas) da inserção conjuntiva para interface enxerto-leito e enxerto-retalho (TM, 200X); (c) Detalhe do ETC, tecido ósseo neoformado (NO) e tecido conjuntivo (TC) circunjacente (H&E, 400X); (d) Detalhe do ETC, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (asterisco) (H&E, 400X); (e) Detalhe do NC, ligamento periodontal (LP) e NO (H&E, 400X); (f) Detalhe do NC com cementoblastos pavimentosos (seta branca) e do ETC em íntimo contato com a superfície radicular (H&E, 400X).

Figura 4: Fotomicrografia do Grupo MDA; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando MDA (H&E, 40X); (b) Detalhe da MDA e do deslocamento do grupo de fibras da inserção

conjuntiva para interface enxerto-retalho (seta preta) (H&E, 100X); (c) Detalhe da MDA, NO e TC circunjacente (TM, 160X); (d) Detalhe da MDA, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (H&E, 400X); (e) Detalhe do NO coronalmente à MDA (H&E, 40X); (f) Visão panorâmica do LP, NO e MDA (H&E, 40X).

Lista de Tabelas

Lista de Tabela

Tabela 1: Valores percentuais médios das medidas lineares e desvio padrão, com comparação entre os grupos ETC e RPC e MDA e RPC, nos diferentes parâmetros avaliados (Dp = Desvio padrão; 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; n = número de animais).

Lista de Abreviaturas

Lista de Abreviaturas

% - Por cento.

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.

MDA – Matriz Dérmica Acelular Alógena.

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.

p – Probabilidade do valor do teste.

PTFEe – Politetrafluoretileno expandido.

RPC – Retalho Posicionado Coronal.

TC – Tecido Conjuntivo.

TE - Extensão de Tecido Epitelial.

TM - Expressa a técnica de coloração das lâminas – Tricrômico de Masson.

1	INTRODUÇÃO	41
2	PROPOSIÇÃO	43
3	MATERIAL e MÉTODO	44
4	RESULTADOS	50
5	DISCUSSÃO	55
6	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60
	ANEXOS	75

Manuscrito
para
Publicação*

* De acordo com as normas do *Journal of Periodontology*.

Título:

Padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou matriz dérmica acelular. Estudo histológico e histométrico em cães.

Autores:

* Samara Bonfante, Cirurgiã-dentista, Mestre.

*Alvaro Francisco Bosco, Cirurgião-dentista, Mestre, Doutor.

*Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – Disciplina de Periodontia, Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Autor para correspondência:

Alvaro Francisco Bosco

Endereço: Rua Floriano Peixoto nº 573, Centro.

CEP:16015-000, Araçatuba, São Paulo, Brasil.

e-mail: afbosco@hotmail.com

Fax: 55-18-36233620

Número de palavras: 4723

Número de figuras: 4

Número de tabelas: 1

Título resumido: Padrão de cicatrização de defeitos tratados com ETC e MDA.

RESUMO

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi avaliar histológica e histometricamente o padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC) ou matriz dérmica acelular (MDA), cada qual comparado ao tratamento com Retalho posicionado Coronal (RPC).

Métodos: Foram utilizados 10 cães, divididos em dois grupos de 5. Defeitos de deiscência óssea (6x8 mm) foram criados nos caninos superiores e os grupos divididos seguindo um modelo de boca dividida de acordo com o tratamento. Em um grupo de 5 cães foi realizado o tratamento com ETC e no lado contralateral RPC e o outro grupo de 5 cães foi tratado com MDA e RPC no lado contralateral. 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), nova inserção (NITC) e aposição de tecido conjuntivo (ATC), novo cemento (NC) e novo osso (NO). Os dados histométricos transformados em porcentagem, foram estatisticamente analisados pelo teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados: Ausência de diferença estatística foi na extensão de: TE com $45,92 \pm 17$ para ETC e $46,70 \pm 20$ para RPC ($P = 0,9486$) e de $27,58 \pm 9$ para MDA e $35,06 \pm 24$ para RPC ($P = 0,5519$); NC foi $55,06 \pm 26$ para ETC e de $49,28 \pm 16$ para RPC ($P = 0,6923$) e de $69,14 \pm 21$ para MDA e $61,59 \pm 29$ para RPC ($P = 0,6550$); NO foi $18,52 \pm 20$ para ETC e de $16,62 \pm 14$ para RPC ($P = 0,8648$) e de $27,76 \pm 22$ para MDA e $45,46 \pm 23$ para RPC ($P = 0,2589$); NITC foi de $48,36 \pm 14$ para ETC e de $47,12 \pm 16$ para RPC ($P = 0,8993$) e de $52,20 \pm 17$ para MDA e de $59,13 \pm 30$ ($P = 0,6751$); ATC foi de $16,92 \pm 20,45$ para ETC e de $7,40 \pm 4,47$ para RPC ($P = 0,0406^*$) e de $27,34 \pm 31$ para MDA e de $13,34 \pm 12,55$ para RPC ($P = 0,6084$). Diferença significativamente maior foi encontrada somente para ATC para o grupo ETC quando comparado ao RPC.

Conclusão: Dentro dos limites do presente estudo, pode se concluir que as diferentes terapias empregadas resultaram em uma cicatrização compatível com os padrões de normalidade, sem diferença significativa para a maioria dos parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas; Transplante autólogo; Transplante homólogo; Tecido conjuntivo; Modelos animais.

INTRODUÇÃO

Os objetivos da terapia periodontal são não somente cessar a progressão da doença periodontal, mas também restituir parcial ou totalmente as estruturas periodontais de suporte destruídas pela doença periodontal.

Diversos procedimentos de terapia mucogengival têm sido desenvolvidos, mostrando resultados cada vez mais promissores para corrigir defeitos na morfologia, posição e/ou quantidade dos tecidos de revestimento e de inserção periodontal.¹ Durante as décadas de 60 e 70, as técnicas mais empregadas foram os retalhos com posicionamento coronal² e lateral.³ Nos casos onde as regiões adjacentes à recessão gengival não apresentavam tecido doador, recomendava-se uma combinação de enxerto gengival livre prévio associado ao posterior deslocamento coronal do retalho.² Nestes casos, com o propósito de evitar os dois procedimentos cirúrgicos, passou-se a indicar o enxerto de tecido conjuntivo subepitelial.^{4,5} Embora a técnica de enxerto de tecido conjuntivo subepitelial apresente vantagens quanto ao alto potencial de sobrevivência, obtido pela dupla fonte de suprimento sanguíneo^{6,7} e excelente estética pode apresentar, além do desconforto da área doadora, limitações quanto ao material doador⁸ e risco de hemorragias, particularmente quando enxertos amplos são necessários. Portanto, o emprego da matriz dérmica acelular tem sido uma alternativa nesses casos, como substituto do tecido conjuntivo retirado do palato, tanto para recobrimento radicular^{9,10} quanto no tratamento de deformidades do rebordo alveolar.

Estudos clínicos e em animais tem utilizado e comparado diferentes procedimentos de retalhos e suas modificações, abrangendo técnicas tradicionais como retalho posicionado coronal (RPC),¹¹⁻¹³ enxerto gengival livre (EGL),¹⁴ retalho posicionado lateral (RPL),¹⁵⁻¹⁷ associadas ou não ao enxerto de tecido conjuntivo subepitelial (ETC)^{7-10,18-25} ou matriz

dérmica acelular alógena (MDA)^{6, 8-10, 13, 26, 27} e de regeneração tecidual guiada (RTG),^{11,12,22, 25,28-32} com membranas reabsorvíveis e não-reabsorvíveis, para o tratamento de recessões.

Tem sido aceito que, embora a cirurgia mucogengival resulte em recobrimento radicular satisfatório, não se obtém uma melhora significativa no periodonto de inserção. Estudos histológicos em animais^{15,17,33,34} e humanos^{16,20,21,23,35,36} 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 foi observada na porção apical da superfície radicular exposta.^{11,15,17,25,32-38}

Weng et al.²⁵ realizaram estudo em cães para comparar o padrão de cicatrização de defeitos tratados com ETC e membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFEE) após 4 meses pós-operatórios. Dentre todos os parâmetros avaliados (altura do recobrimento, regeneração de osso, cemento inserção de tecido conjuntivo, extensão do epitélio, reabsorção e anquilose), nenhuma diferença estatística foi detectada.

Casati et al.¹¹ avaliaram histológica e histometricamente defeitos tratados com membrana de ácido polilático ou com retalho posicionado coronal. Os dados histométricos de extensão epitelial, adaptação de tecido conjuntivo, novo cemento e novo osso, não demonstraram diferenças estatisticamente significativas, muito embora ambos os procedimentos demonstrassem resultados favoráveis.

A utilização da matriz dérmica acelular (MDA) associada ou não à proteína de matriz de esmalte para tratamento de recessão gengival, não revelou diferença estatisticamente significativa na formação de novo cemento, regeneração óssea e nível gengival. No entanto, a medida de extensão epitelial foi estatisticamente menor quando utilizada a proteína de matriz de esmalte.²⁷

O tratamento de recessão gengival utilizando MDA não diferiu estatisticamente dentre os parâmetros avaliados, quando comparado ao posicionamento coronal do retalho, exceto quando foi considerado o aumento da espessura gengival, que foi maior no grupo MDA.¹³

A grande maioria dos estudos realizados em humanos descreve os resultados clínicos (porcentagem de recobrimento radicular) de tratamento de recessões, porém, o sucesso do tratamento de uma recessão também deveria ser considerado do ponto de vista histológico.²⁵

Os estudos histológicos de tratamento de recessões em humanos, por razões éticas, são limitados. Para tanto, modelos animais podem ser empregados para uma melhor compreensão do processo de cicatrização envolvido no tratamento de defeitos de deiscência, com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial e de matriz dérmica acelular.

Assim, o presente estudo se propõe a avaliar histológica e histometricamente em cães, o padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal cirurgicamente criados, e imediatamente tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial ou enxerto alógeno de matriz dérmica acelular quando comparado ao retalho posicionado coronal.

MATERIAL e MÉTODOS

Animais

O protocolo inicial de pesquisa do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa) (protocolo nº 86/05) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba.

Para o presente trabalho foram utilizados 16 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 acepromazina¹ (0,1 a 0,2 mg/kg - IM) como medicação pré-anestésica e foram anestesiados com xilazina² (1mg/kg - IM) e cloridrato de tiletamina associado ao cloridrato de zolazepan³ (50mg/kg - IM).

Duas semanas antes do procedimento operatório foi realizada raspagem supra e subgingival de todos os dentes com curetas de Gracey⁴ e instrumentos ultra-sônicos. Foi realizado semanalmente o controle de placa com aplicação tópica de digluconato de clorexidina 0,12%^{||}.

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) Enxerto de matriz dérmica acelular^{5¶} (MDA) - experimental. Os tratamentos

¹ Acepran® Univet S. A. – Indústria Veterinária, São Paulo, SP, Brasil.

² Coopazine® Coopers Brasil, São Paulo, SP, Brasil.

³ Zoletil® 50, Virbac, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Golgran, Industria e Comércio de Instrumentos Odontológicos Ltda. São Caetano do Sul, SP, Brasil.

^{||} Colgate, Palmolive, New York, NY, EUA.

[¶] AlloDerm, LifeCell Corp, The Woodlands, TX.

foram distribuídos aleatoriamente seguindo um modelo de boca dividida, ou seja, todos os cães foram submetidos ao tratamento controle (RPC) em um dos caninos e o canino contralateral foi submetido a um dos tratamentos experimentais (ETC ou MDA).

Procedimento Operatório

Todas as cirurgias foram realizadas pelo mesmo cirurgião.

As áreas cirúrgicas receberam anestesia local infiltrativa com mepivacaína a 2% contendo epinefrina (1:100.000) para reduzir o sangramento.

Partindo da margem gengival foram realizadas duas incisões verticais 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 próxima à JMG, preservando 1 mm de mucosa ceratinizada (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). Após rebatido o retalho, a parte compreendida entre as incisões, verticais e a horizontal, foi desprezada. Com um raspador de MacCal nº 10[§] 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 Ochsenbein nº 1 (Fig.1b). Ao nível da crista óssea cirurgicamente criada foi feita a segunda marcação (“notch” apical), determinando o nível ósseo apical. A superfície radicular foi raspada e alisada manualmente com curetas de Gracey, com o objetivo de remover todo o cimento. Ato contínuo procedeu-se uma demarcação na face vestibular da coroa, com ponta diamantada tronco-cônica, com o objetivo de identificar o centro do defeito ósseo.³⁹

No grupo RPC (controle), o retalho dividido contendo 1 mm de mucosa ceratinizada, foi posicionado coronalmente, livre de tensão e suturado ao nível da junção cimento-esmalte, através de suturas suspensórias (Poliglactina 910 nº 5-0⁶). As incisões verticais foram suturadas com pontos interrompidos (Fig.1c).

No grupo MDA (Experimental): a matriz dérmica acelular foi preparada de acordo com as instruções do fabricante e recortada com dimensões aproximadas de 12 mm de largura por 8 mm de altura. Esta foi posicionada recobrindo todo o defeito ósseo e estabilizada com suturas interrompidas nas extremidades (mesial e distal), mantendo os nós no tecido adjacente à área receptora e sutura vertical compressiva presa ao periósteo apicalmente ao enxerto e ancorada ao redor do dente de maneira a manter o nó voltado para a face palatina, facilitando sua posterior remoção (Fig.1d). Em seguida o retalho foi posicionado coronalmente sem tensão e suturado conforme descrito no grupo RPC.

No grupo ETC, o canino contralateral serviu como controle. 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). Ato contínuo, removeu-se o enxerto com dimensões aproximadas de 12x8mm com uma lâmina 15C, preservando o 1 mm apical de mucosa ceratinizada e suturado (Fig.1f) conforme o grupo MDA.

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

⁶ Vicryl, Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil.

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

Análise 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 2000⁷, 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 a 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 marcação apical e a marcação coronal.

Análise Estatística:

A análise estatística dos diferentes parâmetros avaliados (Dp = Desvio padrão; 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), foi realizada pelo software Bio Estat 3.0.⁸

As medidas lineares avaliadas (TE, NITC, ATC, NC e NO) foram calculadas como uma porcentagem da Extensão do Defeito Ósseo (DO). A unidade estatística utilizada foi o cão.

⁷ DiracomBio Informática Ltda., Vargem Grande do Sul, SP, Brasil

⁸ 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. O teste da hipótese nula de não haver diferença estatisticamente significativa nos parâmetros avaliados (TE, ITC, ATC, NC, NO) entre os grupos RPC e ETC e entre os grupos RPC e MDA foi realizado pela análise de variância (ANOVA $p < 0.05$). Quando o ANOVA detectou diferença estatística, as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Observações Clínicas

Todos os animais toleraram bem os procedimentos cirúrgicos e a cicatrização clínica ocorreu sem incidentes.

Análise Histológica

Durante a análise histológica, 3 animais do grupo ETC e 3 animais do grupo MDA apresentaram cimento remanescente decorrente da remoção incompleta durante o ato operatório e para padronização dos resultados foram excluídos do presente estudo.

Os eventos histológicos encontrados nos animais do grupo RPC, tanto da MDA quanto do ETC foram semelhantes e, portanto descritos aqui como um único grupo.

Grupo Retalho Posicionado Coronal (RPC – Controle): Fig. 2

O epitélio gengival oral mostrou-se estratificado pavimentoso paraqueratinizado e o epitélio da mucosa alveolar estratificado pavimentoso não queratinizado em todos os animais desse grupo. O epitélio juncional apresentou características histológicas de normalidade e com extensões variáveis. 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 maioria dos espécimes, a área de inserção conjuntiva situada coronalmente à crista óssea alveolar apresentou-se em processo de regeneração. O cimento exibiu um processo de neoformação sobre a dentina, com uma típica configuração de linhas de inversão, na maior extensão revestida principalmente por cimento acelular. Na superfície do cimento neoformado, pode-se observar a inserção de fibras colágenas delgadas, dispostas obliquamente. Em algumas áreas a superfície dentinária apresentou-se com discreta deposição de cimento, no entanto foi possível observar algumas células pavimentosas representando cementoblastos com baixa atividade sintética. Nessas áreas, os feixes de fibras colágenas

assumiam uma típica posição paralela à superfície radicular assemelhando-se a uma aposição conjuntiva.

Na área de inserção conjuntiva, 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 e se dirigiam para o tecido conjuntivo da junção dento-gengival. A maior parte das fibras colágenas delgadas que se implantavam no cimento (grupo dento-gengival) surgia secundariamente ao grupo alvéolo-gengival.

Também foi possível observar alguns acúmulos dispersos de leucócitos polimorfonucleares próximos ao tecido conjuntivo frouxo associados aos vasos sanguíneos e linfáticos com maior calibre.

Regeneração periodontal:

Na maioria dos espécimes a neoformação óssea alveolar restringiu-se ao o terço apical do defeito cirurgicamente criado, sendo que em nenhum animal o tecido ósseo regenerado alcançou o nível pré-cirúrgico. Em um espécime a neoformação atingiu o terço coronal do defeito ósseo e em outro espécime esta neoformação se limitou à marcação apical. Em metade dos espécimes desse grupo observou-se acúmulos de osteoblastos na crista óssea indicando que o crescimento ósseo em sentido coronal continuava ativo.

Embora a espessura do osso alveolar tenha variado entre os espécimes, o tecido ósseo neoformado seguiu os padrões do osso subjacente, com características histológicas de normalidade, com inserção de fibras de Sharpey, linhas incrementais, espaços medulares em continuidade com o ligamento periodontal que está se reestruturando, apresentando áreas de aposição e reabsorção óssea.

O cemento dessa região apresentou-se principalmente do tipo celular, revestido por cementoblastos típicos, mostrando que há uma intensa síntese de matriz orgânica cementária. Algumas vezes notou-se áreas de repouso com cementoblastos pavimentosos.

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. Em algumas áreas, onde existe ainda um potencial de crescimento do osso alveolar coronal, as fibras colágenas do ligamento periodontal apresentaram-se delgadas, ainda em processo de espessamento (polimerização).

Grupo Enxerto de Tecido Conjuntivo Subepitelial (ETC – Experimental): Fig. 3

O epitélio gengival oral mostrou-se paraqueratinizado e o epitélio da mucosa alveolar não queratinizado. O epitélio juncional apresentou extensões variáveis, com o tecido conjuntivo subjacente exibindo discreto processo inflamatório agudo, mais visível nas imediações da margem gengival.

Na área de inserção conjuntiva localizada coronalmente à crista óssea alveolar, o enxerto de tecido conjuntivo não apresentou um embricamento fibrilar com as fibras principais da junção dento-gengival. A presença do ETC 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.

A superfície dentinária apresentou-se revestida por cemento acelular com inserção de fibras colágenas delgadas, dispostas obliquamente. Em algumas áreas, a superfície radicular revelava uma discreta camada de cemento. Nessas áreas, as fibras colágenas delgadas assumiam uma posição paralela à superfície radicular, caracterizando uma aposição conjuntiva.

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 semelhante a fibroblastos, mas principalmente fibrócitos e somente as fibras colágenas periféricas do enxerto mostraram algum grau de embricamento com o tecido conjuntivo na área receptora. Vasos sanguíneos se destacavam com maior diâmetro na periferia do enxerto, enquanto em sua área interna havia principalmente capilares, arteríolas e vênulas.

Regeneração periodontal:

Na maioria dos espécimes a neoformação óssea alveolar restringiu-se ao o terço apical do defeito. Em um espécime a neoformação atingiu o terço médio do defeito ósseo e em outro espécime esta neoformação se limitou à marcação apical. Essa neoformação óssea também exibiu características de normalidade, conforme o grupo controle. O cemento neoformado nessa região também se apresentou do tipo celular, com fibras colágenas do ligamento periodontal em sua maior parte dispostas obliquamente.

Em alguns espécimes, o ETC estava em íntimo contato com a superfície radicular, impedindo ou limitando a neoformação óssea alveolar. Por outro lado, quando o ETC não estava intimamente próximo da superfície radicular, foi possível observar um crescimento coronal da crista óssea alveolar.

Grupo Matriz Dérmica Acelular (MDA – Experimental): Fig. 4

As características do epitélio oral e da mucosa alveolar foram semelhantes aos demais grupos. O epitélio juncional também revelou extensões variáveis entre os espécimes.

Na área de inserção conjuntiva localizada coronalmente à crista óssea alveolar, a matriz dérmica acelular também não demonstrou um embricamento fibrilar com as fibras da junção

dento-gengival, semelhante ao grupo experimental ETC; ora deslocando o grupo de fibras alvéolo gengival da crista óssea e da cortical vestibular do osso alveolar para um espaço mais restrito entre o enxerto e a superfície radicular, ora dividindo esses dois grupos.

A superfície dentinária também se apresentou similar aos demais grupos, ou seja, ora com áreas revestidas por cimento com inserção de fibras dispostas obliquamente, ora com discreta camada de cimento e fibras dispostas paralela à superfície radicular.

A MDA estava constituída de aglomerado de fibras colágenas espessas com diferentes orientações, demonstrando uma nítida distinção dos tecidos adjacentes, aparentemente mais nítida quando comparada ao ETC. Também foram observados vasos de diferentes calibres, sendo principalmente capilares, arteríolas e vênulas. As principais células presentes foram da linhagem fibroblástica do tipo fibroblastos.

Regeneração periodontal:

Na maioria dos espécimes desse grupo, o periodonto de sustentação regenerado apresentou características similares ao relatado no grupo ETC.

Ocasionalmente, quando a membrana se apresentou em íntimo contato com a superfície radicular, nitidamente ela parecia impedir a formação do osso alveolar. Neste caso, se restringia a uma pequena neoformação óssea na porção apical e/ou coronal à MDA. O tecido conjuntivo mostrou um aposicionamento à superfície radicular com cimento delgado e células cementoblásticas em estado de repouso. Por outro lado, quando a membrana não estava intimamente próxima à superfície radicular, ela permitiu um crescimento coronal da crista óssea alveolar.

ANÁLISE HISTOMÉTRICA e ESTATÍSTICA:

Os resultados dos valores médios e desvio padrão, dos diferentes parâmetros avaliados, com comparação entre os grupos ETC e RPC e MDA e RPC, estão apresentados na Tabela 1.

DISCUSSÃO

O presente estudo foi delineado para comparar, em cães, o padrão de cicatrização de defeitos de deiscência periodontal tratados com ETC ou MDA respectivamente comparados ao RPC.

A utilização de modelos animais oferece a oportunidade da análise histológica, fornecendo dados importantes sobre a base biológica da cicatrização periodontal, frente a diferentes procedimentos terapêuticos. Neste estudo, o cão foi selecionado como animal experimental, por ser um animal cujo porte possibilita a simulação clínica que, no caso, foi a criação de defeitos de deiscência óssea, com características morfológicas semelhantes^{40,41} e de redução significativa de tecido queratinizado, considerando que as dimensões gengivais são comprometidas em função do processo natural da doença periodontal.⁴²

Terapias reconstrutivas têm utilizado defeitos experimentais crônicos, quando causados pela doença periodontal natural ou induzida e defeitos agudos, quando criados cirurgicamente e imediatamente tratados.⁴¹ A opção pela utilização do defeito agudo procedeu da possibilidade da padronização, ou seja, criação de defeitos semelhantes e em diferentes áreas. Além disso, exige menor dispêndio de tempo, advindo do fato que a superfície radicular, uma vez submetida à instrumentação efetiva, teria todo o cemento removido, independente do defeito ser agudo ou crônico.⁴³

No presente estudo, a MDA foi posicionada com o lado da membrana basal voltado para o retalho e o lado do tecido conjuntivo para o leito receptor (dente e periósteo), conforme recomendado pelo fabricante.^{6,44} Alguns estudos utilizaram a MDA de maneira inversa à recomendada pelo fabricante;^{7-10,13} Harris,⁹ considerou que a dinâmica da cicatrização de recobrimento radicular seria diferente da de aumento gengival e que a MDA com o lado do tecido conjuntivo voltado para o retalho se beneficiaria mais do tecido conjuntivo do retalho que o lado da lâmina basal, uma vez que a mesma é revascularizada via canais preservados e se integra ao tecido do hospedeiro. No entanto, a orientação da MDA não interferiu na

resposta ao tratamento e resultados similares já foram apresentados mesmo com diferentes orientações.⁴⁵

Embora tenha sido afirmado que o aumento na quantidade de tecido queratinizado seja um efeito desejado para a redução da possibilidade de recorrência da recessão gengival,^{46,47} no presente experimento, o epitélio da mucosa alveolar apresentou características histológicas originais, independente do tratamento empregado. Este achado está de acordo com outros estudos que também mostraram que ETC posicionado abaixo da mucosa alveolar, não teria capacidade de induzir a transformação do epitélio da mesma em epitélio queratinizado.^{48,49} No entanto, em longo prazo, a cicatrização do tecido conjuntivo pode se tornar o tecido dominante, e esta mucosa alveolar com uma base de tecido conjuntivo espesso pode funcionar como uma mucosa mastigatória.⁵⁰ Estudos clínicos comparativos demonstraram aumento significativo na quantidade de tecido queratinizado nos casos tratados com ETC quando comparado à MDA.^{8,10} Nessa linha de raciocínio, Novaes Jr et al.⁸ relataram que embora a MDA forneça um aumento marcante na largura e melhora na espessura do tecido gengival, quando a solução de Schiller foi utilizada, uma área limitada de tecido queratinizado foi evidente, mesmo após 6 meses do procedimento cirúrgico.

Além disso, partindo do princípio que as informações genéticas contidas no tecido conjuntivo é que determinarão o fenótipo do epitélio,⁵¹ pode-se inferir que em um retalho mais espesso, pelo menos em curto prazo, prevalecerão as informações contidas no tecido conjuntivo do retalho que recobre o enxerto, o que pode ter ocorrido no presente trabalho, uma vez que a mucosa alveolar, após realização do retalho dividido, mostrava-se consideravelmente espessa inclusive com a presença de fibras musculares. Portanto, a queratinização do tecido gengival sobrejacente ao enxerto pode ser determinada pela espessura do retalho, o que também explicaria as diferenças encontradas nos estudos.^{52,53}

Após procedimento de terapia mucogengival, o padrão de cicatrização esperado é geralmente composto por um epitélio juncional longo. O posicionamento mais coronário do retalho poderia contribuir com um maior distanciamento da margem gengival e conseqüente aumento da distância que as células epiteliais teriam que migrar apicalmente, favorecendo a nova inserção^{11, 33}. No presente estudo, as medidas lineares de extensão epitelial entre ETC (45,9% $\pm$ 17) e RPC (46,7% $\pm$ 20) e entre MDA (27,5% $\pm$ 9) e RPC (35% $\pm$ 24) não foram estatisticamente significativas, fato este condizente com resultados de outros estudos como os de Gottlow et al.,³³ e Casati et al.¹¹ que obtiveram respectivamente 38,5% e 42% de extensão epitelial no grupo tratado com retalho posicionado coronal. Portanto, a justificativa do deslocamento do retalho para coronal por si só, não parece justificar os resultados do presente trabalho, uma vez que nos três tratamentos utilizados os retalhos foram posicionados de maneira similar.

Uma tentativa de retardar a migração do tecido epitelial, utilizando enxerto gengival livre, foi proposta inicialmente por Ellegaard et al. (1974, 1976).⁵⁴⁻⁵⁶ O emprego do ETC^{57,58} e posteriormente da MDA^{6,59} atuando como barreira frente a migração apical do epitélio tem sido recentemente empregado. No presente experimento, no grupo ETC a extensão epitelial (45,9%) foi comparável aos resultados obtidos por Weng et al. (43%).²⁵

A atuação do ETC como barreira parece estar relacionada à posição final do retalho. Considerando as diferentes técnicas do posicionamento do retalho sobre ETC, nos casos em que o retalho é suturado deixando a porção médio-vestibular do enxerto exposta, o tecido conjuntivo atuaria como barreira, prevenindo o contato precoce do epitélio oral do retalho com a superfície radicular, retardando a migração epitelial e, conseqüentemente, aumentando o período durante o qual as células do ligamento periodontal poderiam proliferar coronalmente.²³ No entanto, no presente experimento, o epitélio oral do retalho ficou em

contato direto com a superfície radicular recobrando completamente tanto o ETC quanto a MDA e não pareceu atuar como barreira frente à migração epitelial.

A quantidade de nova inserção obtida no presente estudo não diferiu estatisticamente entre os grupos ETC ($48,36 \pm 14$) e RPC ($47,12 \pm 17$) e entre os grupos MDA ($52,20 \pm 17$) e RPC ($59,13 \pm 30$). Da mesma maneira, a quantidade de novo cemento, também não diferiu entre os grupos ETC ($55,06 \pm 26$) e RPC ($49,28 \pm 17$) e entre os grupos MDA ($69,14 \pm 21$) e RPC ($61,59 \pm 29$). Esses resultados são similares a diversos trabalhos da literatura, que utilizaram o cão como modelo experimental, empregando diferentes tipos de procedimentos mucogengivais associados ou não à membrana, e que também não encontraram diferença estatisticamente significativa nos parâmetros supracitados.^{11,13,25,27,60} No entanto, quando considerada a medida de aposição de tecido conjuntivo, foi encontrada diferença significativa somente para o grupo ETC. Essa diferença poderia ser atribuída às características do ETC, que era clinicamente mais delgado e mais flexível que a MDA, o que resultaria em um maior colapamento do mesmo para o “interior” do defeito, ficando em íntimo contato com a superfície radicular. Essa área denominada de aposição, com sinônimas de adaptação de tecido conjuntivo ou adesão colágena, foi avaliada por Selvig et al. em 1995.⁶¹ Os autores concluíram que nessas áreas de adesão colágena, havia um mecanismo de inserção colágena que poderia ser reconhecida como inserção histológica, conforme relatada nos estudos de terapia periodontal reconstrutiva. No entanto, estudos futuros analisando histologicamente essas áreas, trariam informações relevantes quanto ao tipo de inserção que prevalecerá se períodos pós-operatórios mais longos forem avaliados, aliadas ao fato que clinicamente tem sido relatada diferentes respostas avaliando a estabilidade de procedimentos mucogengivais em longo prazo^{62, 63}.

A quantidade de novo osso variou bastante entre os animais e também não foi estatisticamente significativa. A variação na neoformação óssea pode, pelo menos em parte, ser atribuída às

diferentes espessuras da tabua óssea vestibular. Um relacionamento significativo entre a largura da crista alveolar da base do defeito e a regeneração óssea tem sido relatado⁶⁴. A largura da crista óssea parece influenciar efetivamente a provisão de espaço, que auxilia a regeneração. Portanto, áreas que proporcionaram uma base alveolar ampla, favoreceram a regeneração ao passo em que áreas com uma base estreita, exibiram quantidade limitada de regeneração.⁶⁵ A utilização de materiais de preenchimento seria uma alternativa para manter o espaço e evitar o colapamento.⁶⁶ Além disso, pode-se inferir que um maior crescimento ósseo pode ser esperado, uma vez que alguns espécimes ainda demonstraram um potencial de crescimento coronal da crista óssea alveolar.

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, a localização dos pontos de referência (notch), os períodos de cicatrização e até mesmo o valor de “n” utilizado para análise estatística.

Dentro dos limites do presente estudo, pode se concluir que as diferentes terapias empregadas resultaram em uma cicatrização compatível com os padrões de normalidade, sem diferença significativa para a maioria dos parâmetros avaliados.

REFERÊNCIAS:

1. *Glossary of Periodontal Terms*. Chicago: American Academy of Periodontology; 2001.
2. Bernimoulin JP, Luscher B, Muhlemann HR. Coronally repositioned periodontal flap. Clinical evaluation after one year. *J Clin Periodontol* 1975;2:1-13.
3. Guinard EA, Caffesse RG. Treatment of localized gingival recessions. Part I. Lateral sliding flap. *J Periodontol* 1978;49:351-356.
4. Langer B, Langer L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. *J Periodontol* 1985;56:715-720.
5. Raetzke PB. Covering localized areas of root exposure employing the "envelope" technique. *J Periodontol* 1985;56:397-402.
6. Tal H. Subgingival acellular dermal matrix allograft for the treatment of gingival recession: a case report. *J Periodontol* 1999;70:1118-1124.
7. Tal H, Moses O, Zohar R, Meir H, Nemcovsky C. Root coverage of advanced gingival recession: a comparative study between acellular dermal matrix allograft and subepithelial connective tissue grafts. *J Periodontol* 2002;73:1405-1411.
8. Novaes AB, Jr., Grisi DC, Molina GO, Souza SL, Taba M, Jr., Grisi MF. Comparative 6-month clinical study of a subepithelial connective tissue graft and acellular dermal matrix graft for the treatment of gingival recession. *J Periodontol* 2001;72:1477-1484.
9. Harris RJ. 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. *J Periodontol* 1998;69:1305-1311.

10. Harris RJ. 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. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:51-59.
11. Casati MZ, Sallum EA, Caffesse RG, Nociti FH, Jr., Sallum AW, Pereira SL. Guided tissue regeneration with a bioabsorbable polylactic acid membrane in gingival recessions. A histometric study in dogs. *J Periodontol* 2000;71:238-248.
12. Gottlow J, Karring T, Nyman S. Guided tissue regeneration following treatment of recession-type defects in the monkey. *J Periodontol* 1990;61:680-685.
13. Sallum EA, Nogueira-Filho GR, Casati MZ, Pimentel SP, Saldanha JB, Nociti FH, Jr. Coronally positioned flap with or without acellular dermal matrix graft in gingival recessions: a histometric study. *Am J Dent* 2006;19:128-132.
14. Pasquinelli KL. The histology of new attachment utilizing a thick autogenous soft tissue graft in an area of deep recession: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995;15:248-257.
15. Caffesse RG, Kon S, Castelli WA, Nasjleti CE. Revascularization following the lateral sliding flap procedure. *J Periodontol* 1984;55:352-358.
16. Common J, McFall WT, Jr. The effects of citric acid on attachment of laterally positioned flaps. *J Periodontol* 1983;54:9-18.
17. Cortellini P, DeSanctis M, Pini Prato G, Baldi C, Clauser C. Guided tissue regeneration procedure using a fibrin-fibronectin system in surgically induced recession in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1991;11:150-163.
18. Bouchard P, Etienne D, Ouhayoun JP, Nilveus R. Subepithelial connective tissue grafts in the treatment of gingival recessions. A comparative study of 2 procedures. *J Periodontol* 1994;65:929-936.

19. Harris RJ. 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. *J Periodontol* 1997;68:779-790.
20. Harris RJ. Human histologic evaluation of root coverage obtained with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft. A case report. *J Periodontol* 1999;70:813-821.
21. Harris RJ. Successful root coverage: a human histologic evaluation of a case. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:439-447.
22. Lee EJ, Meraw SJ, Oh TJ, Giannobile WV, Wang HL. Comparative histologic analysis of coronally advanced flap with and without collagen membrane for root coverage. *J Periodontol* 2002;73:779-788.
23. Majzoub Z, Landi L, Grusovin MG, Cordioli G. Histology of connective tissue graft. A case report. *J Periodontol* 2001;72:1607-1615.
24. Paolantonio M, Dolci M, Esposito P, et al. Subpedicle acellular dermal matrix graft and autogenous connective tissue graft in the treatment of gingival recessions: a comparative 1-year clinical study. *J Periodontol* 2002;73:1299-1307.
25. Weng D, Hurzeler MB, Quinones CR, Pechstadt B, Mota L, Caffesse RG. Healing patterns in recession defects treated with ePTFE membranes and with free connective tissue grafts. A histologic and histometric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 1998;25:238-245.
26. Luczyszyn SM, Grisi MF, Novaes AB, Jr., Palioto DB, Souza SL, Taba M, Jr. Histologic analysis of the acellular dermal matrix graft incorporation process: a pilot study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:341-347.
27. de Oliveira CA, Spolidorio LC, Cirelli JA, Marcantonio RA. Acellular dermal matrix allograft used alone and in combination with enamel matrix protein in gingival

- recession: histologic study in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005;25:595-603.
28. Borghetti A, Glise JM, Monnet-Corti V, Dejou J. Comparative clinical study of a bioabsorbable membrane and subepithelial connective tissue graft in the treatment of human gingival recession. *J Periodontol* 1999;70:123-130.
 29. Cortellini P, Clauser C, Prato GP. Histologic assessment of new attachment following the treatment of a human buccal recession by means of a guided tissue regeneration procedure. *J Periodontol* 1993;64:387-391.
 30. da Silva Pereira SL, Sallum AW, Casati MZ, et al. Comparison of bioabsorbable and non-resorbable membranes in the treatment of dehiscence-type defects. A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol* 2000;71:1306-1314.
 31. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1984;11:494-503.
 32. Sallum EA, Sallum AW, Nociti FH, Jr., Marcantonio RA, de Toledo S. New attachment achieved by guided tissue regeneration using a bioresorbable polylactic acid membrane in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:502-510.
 33. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. Treatment of localized gingival recessions with coronally displaced flaps and citric acid. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 1986;13:57-63.
 34. Wilderman MN, Wentz FM. Repair of a Dentogingival Defect with a Pedicle Flap. *J Periodontol* 1965;36:218-231.
 35. Pfeifer JS, Heller R. Histologic evaluation of full and partial thickness lateral repositioned flaps: a pilot study. *J Periodontol* 1971;42:331-333.
 36. Sugarman EF. A clinical and histological study of the attachment of grafted tissue to bone and teeth. *J Periodontol* 1969;40:381-387.

37. Bruno JF, Bowers GM. Histology of a human biopsy section following the placement of a subepithelial connective tissue graft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:225-231.
38. Kon S, Caffesse RG, Castelli WA, Nasjleti CE. Revascularization following a combined gingival flap-split thickness flap procedure in monkeys. *J Periodontol* 1984;55:345-351.
39. Martins TM, Bosco AF, Nobrega FJ, Nagata MJ, Garcia VG, Fucini SE. Periodontal tissue response to coverage of root cavities restored with resin materials: a histomorphometric study in dogs. *J Periodontol* 2007;78:1075-1082.
40. Selvig KA. Discussion: animal models in reconstructive therapy. *J Periodontol* 1994;65:1169-1172.
41. Wikesjo UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol* 2000 1999;19:21-39.
42. Wikesjo UM, Selvig KA, Zimmerman G, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: healing in experimentally created chronic periodontal defects. *J Periodontol* 1991;62:258-263.
43. Isidor F, Karring T, Nyman S, Lindhe J. New attachment-reattachment following reconstructive periodontal surgery. *J Clin Periodontol* 1985;12:728-735.
44. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA, Evans GH, Nasr HF, Mayer ET. Clinical evaluation of acellular allograft dermis for the treatment of human gingival recession. *J Periodontol* 2001;72:998-1005.
45. Henderson RD, Greenwell H, Drisko C, et al. Predictable multiple site root coverage using an acellular dermal matrix allograft. *J Periodontol* 2001;72:571-582.

46. Prato GP, Clauser C, Cortellini P. Guided tissue regeneration and a free gingival graft for the management of buccal recession: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1993;13:486-493.
47. Prato GP, Clauser C, Cortellini P. Periodontal plastic and mucogingival surgery. *Periodontol 2000* 1995;9:90-105.
48. Borghetti A, Louise F. Controlled clinical evaluation of the subpedicle connective tissue graft for the coverage of gingival recession. *J Periodontol* 1994;65:1107-1112.
49. Ouhayoun JP, Sawaf MH, Gofflaux JC, Etienne D, Forest N. Re-epithelialization of a palatal connective tissue graft transplanted in a non-keratinized alveolar mucosa: a histological and biochemical study in humans. *J Periodontal Res* 1988;23:127-133.
50. Miller PD, Jr. Root coverage grafting for regeneration and aesthetics. *Periodontol 2000* 1993;1:118-127.
51. Karring T, Lang NP, Loe H. The role of gingival connective tissue in determining epithelial differentiation. *J Periodontal Res* 1975;10:1-11.
52. Joly JC, Carvalho AM, da Silva RC, Ciotti DL, Cury PR. Root coverage in isolated gingival recessions using autograft versus allograft: a pilot study. *J Periodontol* 2007;78:1017-1022.
53. Woodyard JG, Greenwell H, Hill M, Drisko C, Iasella JM, Scheetz J. The clinical effect of acellular dermal matrix on gingival thickness and root coverage compared to coronally positioned flap alone. *J Periodontol* 2004;75:44-56.
54. Ellegaard B, Karring T, Davies R, Loe H. New attachment after treatment of intrabony defects in monkeys. *J Periodontol* 1974;45:368-377.
55. Ellegaard B, Karring T, Loe H. New periodontal attachment procedure based on retardation of epithelial migration. *J Clin Periodontol* 1974;1:75-88.

56. Ellegaard B, Karring T, Loe H. Retardation of epithelial migration in new attachment attempts in intrabony defects in monkeys. *J Clin Periodontol* 1976;3:23-37.
57. Edel A. The use of a connective tissue graft for closure over an immediate implant covered with occlusive membrane. *Clin Oral Implants Res* 1995;6:60-65.
58. Covani U, Marconcini S, Galassini G, Cornelini R, Santini S, Barone A. Connective tissue graft used as a biologic barrier to cover an immediate implant. *J Periodontol* 2007;78:1644-1649.
59. de Andrade PF, de Souza SL, de Oliveira Macedo G, et al. Acellular dermal matrix as a membrane for guided tissue regeneration in the treatment of Class II furcation lesions: a histometric and clinical study in dogs. *J Periodontol* 2007;78:1288-1299.
60. Sallum EA, Casati MZ, Caffesse RG, Funis LP, Nociti Junior FH, Sallum AW. Coronally positioned flap with or without enamel matrix protein derivative for the treatment of gingival recessions. *Am J Dent* 2003;16:287-291.
61. Selvig KA, Sigurdsson TJ, Wikesjo UM. "Collagen adhesion" revisited. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995;15:528-537.
62. Harris RJ. A short-term and long-term comparison of root coverage with an acellular dermal matrix and a subepithelial graft. *J Periodontol* 2004;75:734-743.
63. Zucchelli G, De Sanctis M. Long-term outcome following treatment of multiple Miller class I and II recession defects in esthetic areas of the mouth. *J Periodontol* 2005;76:2286-2292.
64. Polimeni G, Albandar JM, Wikesjo UM. Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of space provision. *J Clin Periodontol* 2005;32:951-954.
65. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjo UM. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000* 2006;41:30-47.

66. Rosetti EP, Marcantonio RA, Rossa C, Jr., Chaves ES, Goissis G, Marcantonio E, Jr. Treatment of gingival recession: comparative study between subepithelial connective tissue graft and guided tissue regeneration. *J Periodontol* 2000;71:1441-1447.

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Procedimento operatório. (a) Delimitação das incisões verticais divergentes e incisão horizontal próxima à JMG. (b) Defeito de deiscência criado e marcações coronal e apical na superfície radicular; (c) Retalho suturado coronalmente; (d) MDA suturada no leito receptor; (e) Área doadora de mucosa ceratinizada após desepitelização; (f) ETC suturado no leito receptor.

Figura 2: Fotomicrografia do Grupo RPC; (a) Visão panorâmica da área tratada com RPC (H&E, 40X); (b) Detalhe da superfície dentinária e da formação de novo cemento (NC) com inserção de fibras colágenas dispostas obliquamente (H&E, 400X); (c) Detalhe da crista óssea alveolar e acúmulos de osteoblastos (seta amarela) (H&E, 400X); (d) Detalhe da crista óssea e das fibras alvéolo-gengivais surgindo tanto da crista óssea quanto da cortical vestibular do osso alveolar (setas pretas) (H&E, 200X); (e) Visão panorâmica do ligamento periodontal (LP) e do tecido ósseo neoformado (NO) (TM, 40X).

Figura 3: Fotomicrografia do Grupo ETC; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando ETC e NO (H&E, 40X); (b) Detalhe do ETC e do deslocamento do grupo de fibras (setas pretas) da inserção conjuntiva para interface enxerto-leito e enxerto-retalho (TM, 200X); (c) Detalhe do ETC, tecido ósseo neoformado (NO) e tecido conjuntivo (TC) circunjacente (H&E, 400X); (d) Detalhe do ETC, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (asterisco) (H&E, 400X); (e) Detalhe do NC, ligamento periodontal (LP) e NO (H&E, 400X); (f) Detalhe do NC com cementoblastos pavimentosos (seta branca) e do ETC em íntimo contato com a superfície radicular (H&E, 400X).

Figura 4: Fotomicrografia do Grupo MDA; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando MDA (H&E, 40X); (b) Detalhe da MDA e do deslocamento do grupo de fibras da inserção conjuntiva para interface enxerto-retalho (seta preta) (H&E, 100X); (c) Detalhe da MDA, NO e TC circunjacente (TM, 160X); (d) Detalhe da MDA, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (H&E, 400X); (e) Detalhe do NO coronalmente à MDA (H&E); (f) Visão panorâmica do LP, NO e MDA (H&E, 40X).

Tabela 1: Valores percentuais médios das medidas lineares e desvio padrão, com comparação entre os grupos ETC e RPC e MDA e RPC, nos diferentes parâmetros avaliados (Dp = Desvio padrão; 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; n = número de animais).

GRUPO	<i>Experimental</i>		<i>Controle</i>		
	<i>ETC</i>		<i>RPC</i>		
Medidas	Média (%)	Dp	Média (%)	Dp	P (ANOVA)
TE	45,92 ± 17,72		46,70 ± 20,28		0,9486
NC	55,06 ± 26,45		49,28 ± 16,93		0,6923
NO	18,52 ± 20,47		16,62 ± 14,87		0,8648
NITC	48,36 ± 14,54		47,12 ± 16,81		0,8993
ATC	16,92 ± 20,45		7,40 ± 4,47		0,0406*
n	5		5		

GRUPO	<i>Experimental</i>		<i>Controle</i>		
	<i>MDA</i>		<i>RPC</i>		
Medidas	Média (%)	Dp	Média (%)	Dp	P (ANOVA)
TE	27,58 ± 9,98		35,06 ± 24,63		0,5519
NC	69,14 ± 21,18		61,59 ± 29,18		0,6550
NO	27,76 ± 22,51		45,46 ± 23,60		0,2589
NITC	52,20 ± 17,41		59,13 ± 30,85		0,6751
ATC	27,34 ± 31,95		13,34 ± 12,55		0,6084
n	5		5		

* Diferença estatisticamente significativa, detectada pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey (p).

Figura 1: Procedimento operatório. (a) Delimitação das incisões verticais divergentes e incisão horizontal próxima à JMG. (b) Defeito de deiscência criado e marcações coronal e apical na superfície radicular; (c) Retalho suturado coronalmente; (d) MDA suturada no leito receptor; (e) Área doadora de mucosa ceratinizada após desepitelização; (f) ETC suturado no leito receptor.

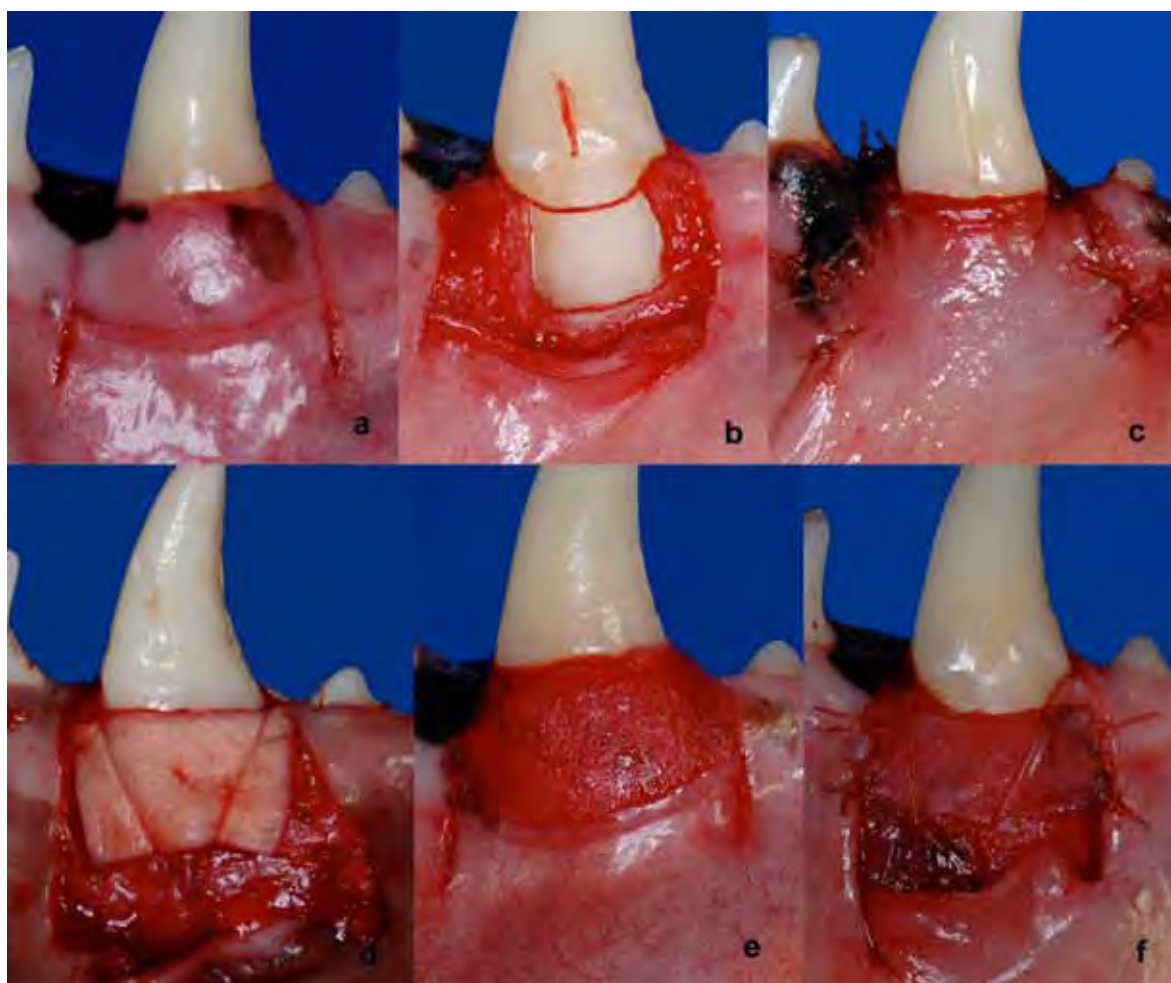


Figura 2: Fotomicrografia do Grupo RPC; (a) Visão panorâmica da área tratada com RPC (H&E, 40X); (b) Detalhe da superfície dentinária e da formação de novo cemento (NC) com inserção de fibras colágenas dispostas obliquamente (H&E, 400X); (c) Detalhe da crista óssea alveolar e acúmulos de osteoblastos (seta amarela) (H&E, 400X); (d) Detalhe da crista óssea e das fibras alvéolo-gengivais surgindo tanto da crista óssea quanto da cortical vestibular do osso alveolar (setas pretas) (H&E, 200X); (e) Visão panorâmica do ligamento periodontal (LP) e do tecido ósseo neoformado (NO) (TM, 40X).

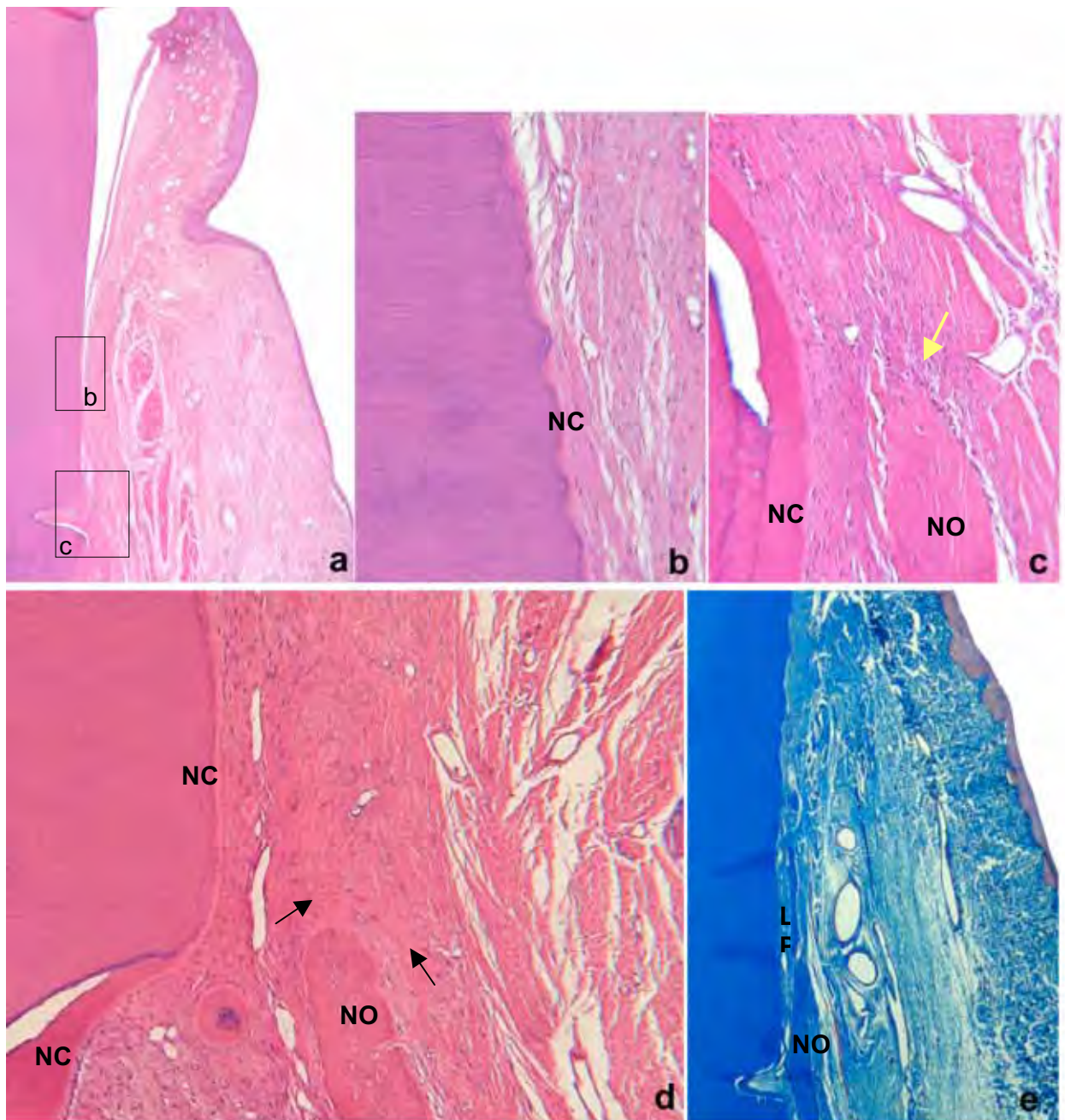


Figura 3: Fotomicrografia do Grupo ETC; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando ETC e NO (H&E, 40X); (b) Detalhe do ETC e do deslocamento do grupo de fibras (setas

pretas) da inserção conjuntiva para interface enxerto-leito e enxerto-retalho (TM, 200X); (c) Detalhe do ETC, tecido ósseo neoformado (NO) e tecido conjuntivo (TC) circunjacente (H&E, 400X); (d) Detalhe do ETC, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (asterisco) (H&E, 400X); (e) Detalhe do NC, ligamento periodontal (LP) e NO (H&E, 400X); (f) Detalhe do NC com cementoblastos pavimentosos (seta branca) e do ETC em íntimo contato com a superfície radicular (H&E, 400X).

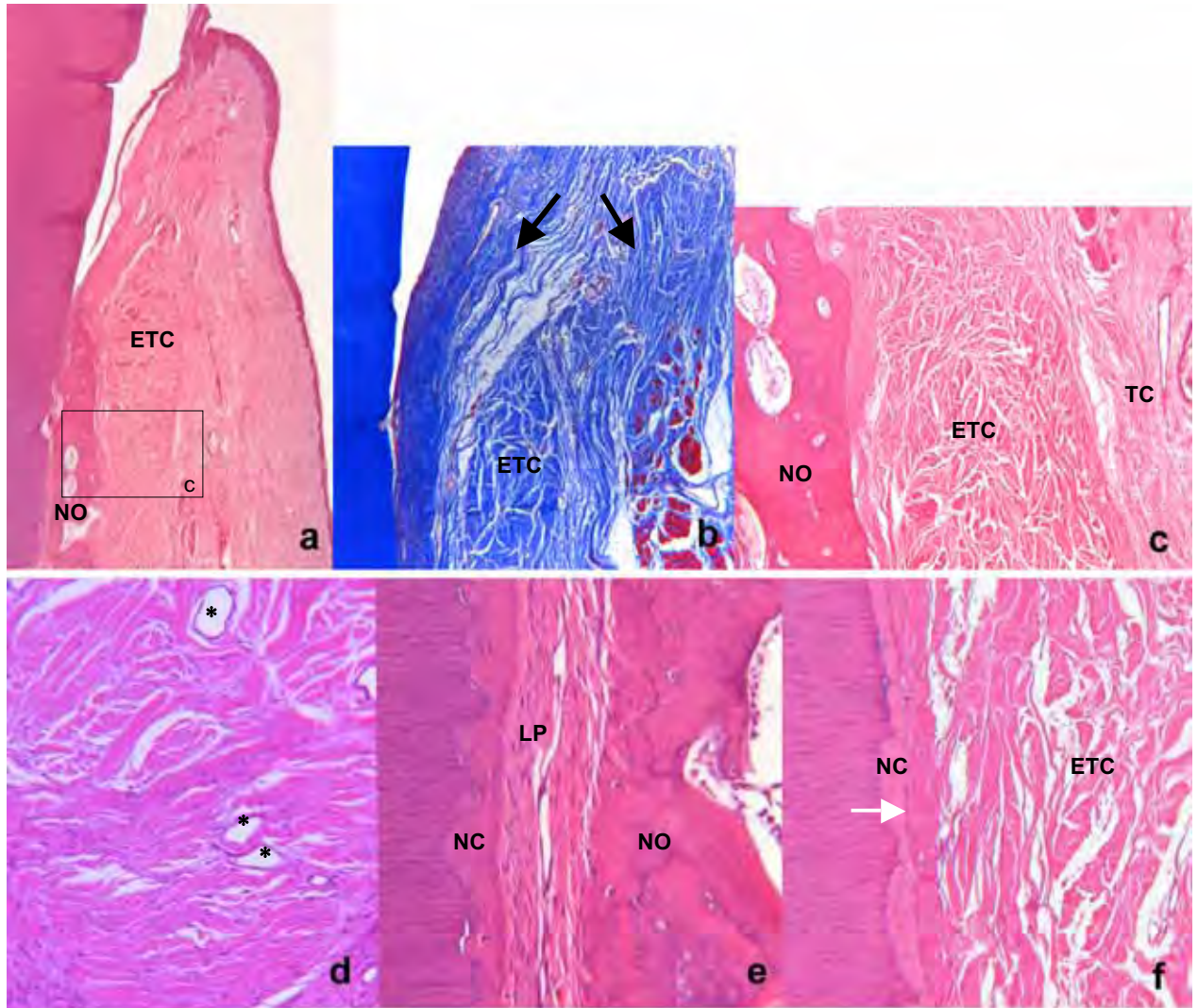
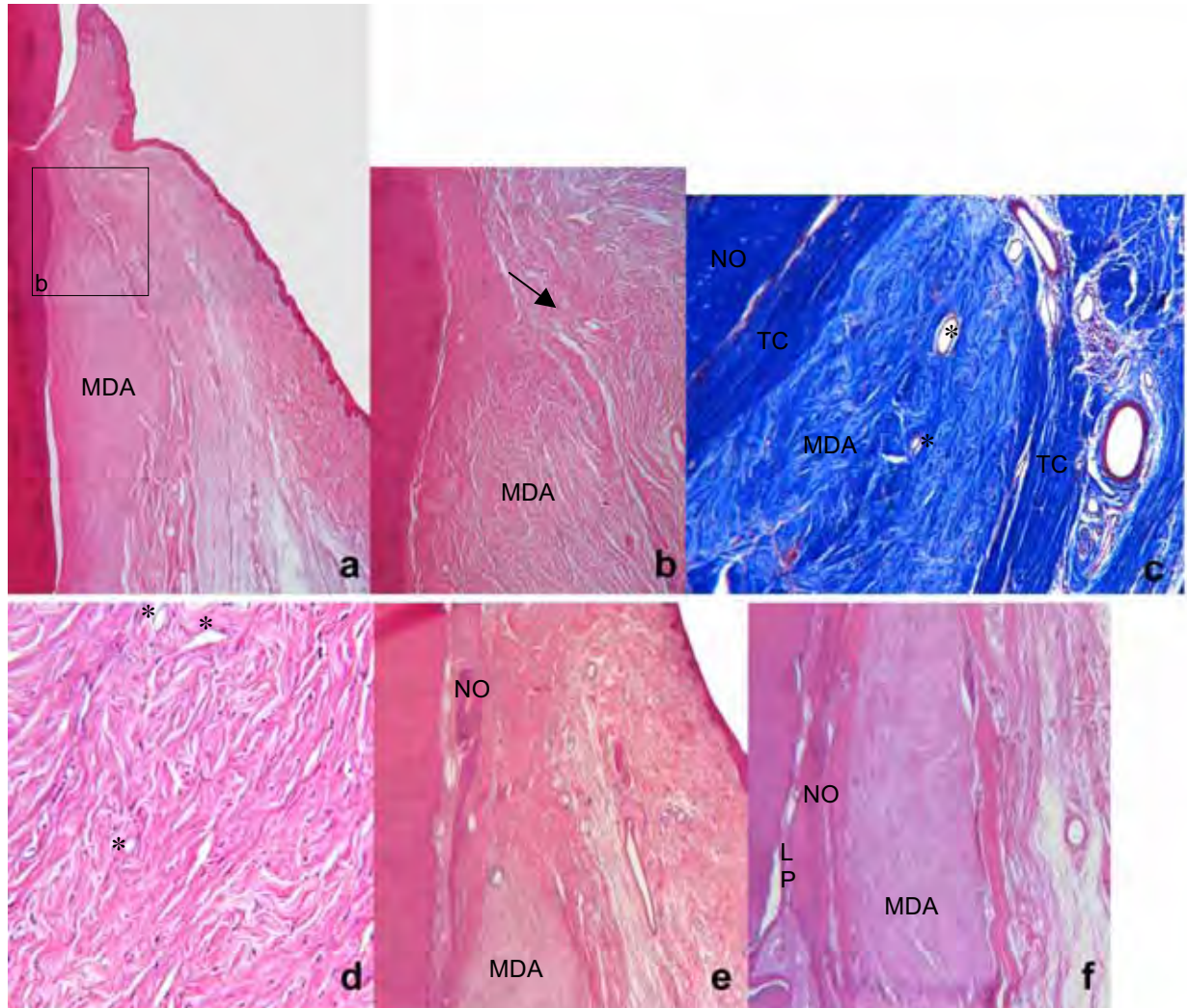


Figura 4: Fotomicrografia do Grupo MDA; (a) Visão panorâmica da área tratada mostrando MDA (H&E, 40X); (b) Detalhe da MDA e do deslocamento do grupo de fibras da inserção conjuntiva para interface enxerto-retalho (seta preta) (H&E, 100X); (c) Detalhe da MDA, NO e TC circunjacente (TM, 160X); (d) Detalhe da MDA, células semelhante a fibroblastos e vasos sanguíneos (H&E, 400X); (e) Detalhe do NO coronalmente à MDA (H&E, 40X); (f) Visão panorâmica do LP, NO e MDA (H&E, 40X).



Anexos

Comité de Ética



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



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEAA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO DE DEFEITOS DE DEISCÊNCIA TRATADOS COM ENXERTO DE TECIDO CONJUNTIVO SUBEPITELIAL OU MATRIZ DÉRMICA ACELULAR (ALLODERM). ESTUDO HISTOLÓGICO E HISTOMÉTRICO EM CÃES" sob responsabilidade de ÁLVARO FRANCISCO BOSCO/SAMARA BONFANTE está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEAA em reunião de 23 de agosto de 2005, de acordo com o protocolo nº 86/05.

Araçatuba, 23 de agosto de 2005.


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

Instructions to Authors

Updated July 2007

CONTENT

The *Journal of Periodontology* publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the *Journal of Periodontology* should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format.

All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the combined number of figures and tables must be 6 or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- * Background: Describes the problem being addressed.
- * Methods: Describes how the study was performed.
- * Results: Describes the primary results.
- * Conclusions: Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

Materials and Methods

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

Results

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and illustrations as appropriate.

Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

STATE OF THE ART REVIEWS

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. The review should be based on a critical assessment of the literature, and may include data or examples from the research or clinical experience of the author(s). Authors should discuss clinical relevance and future projections. At-large submissions will be considered, but authors should contact the Editor-in-Chief before developing a manuscript to avoid duplicating a topic already in preparation. Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Articles

Instructions to Authors

should be written at a level instructive to *Journal* readers. For example, clear definitions of abbreviations and a glossary of terms may be useful for defining highly technical or new terminology. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should not have a financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

Format

Abstract

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Introduction

A question or series of related questions to be addressed should be given; rationales for asking these questions and why the questions are timely should be explained.

Methods

The method of reviewing the literature should be discussed (e.g., bibliographic indexes and databases used, limits on years covered by the search, languages searched, and other important information regarding the search process should be described).

Body

A sequence of logical subsections that reflect the area being reviewed should be developed. This section should be a critical analysis of the literature, including arguments needed to support the conclusions reached; why certain papers not meeting well-described critical standards, such as randomized clinical trials, were not used as evidence; and what issues remain unresolved and need further study. Evidence tables are often useful in summarizing reviewed literature, and various statistical analyses appropriate to reviewing literature, such as meta-analysis, should be considered.

COMMENTARY

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentary articles should be concise (2,000 to 3,000 words); however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused. Appropriate references should be cited.

Format

Introduction

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated.

Summary

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

Acknowledgments

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

CASE REPORTS

These manuscripts emphasize clinical periodontics and related oral medicine and pathology. Unusual cases illustrating lesions affecting the orofacial structures that may be expected to influence management of periodontal and implant patients could be presented. Case reports should describe: 1) unique cases that may represent a previously undescribed condition; 2) unexpected association of two or more diseases; 3) adverse or unexpected treatment response; or 4) any other clinical observation based upon well-documented cases that provide important new information.

CASE SERIES

These papers report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed case series may lead to hypotheses about the usefulness

Instructions to Authors

of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

Format

Abstract

Case Reports and Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- * Background: Describes the clinical situation being discussed.
- * Methods: Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.
- * Results: Describes the clinical results.
- * Conclusions: Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

Introduction

This section should include a critical review of the pertinent literature.

Case Description and Results

This section describes the case or cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

Discussion

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the case(s) should be emphasized in all sections.

CLINICAL PRACTICE (FORMERLY INNOVATIONS IN PERIODONTICS)

These manuscripts should emphasize methods, such as the application of new technology, materials, and techniques to patient management, and should be illustrated carefully and fully, with radiographs and color clinical photographs. The innovation/method should be described in detail so that readers can duplicate the procedures.

In addition, the innovation/method should have been used on a sufficient number of cases or subjects to demonstrate its utility and any adverse effects. Also, experience in use of the technique should allow the author(s) to describe situations or conditions where the procedure may not work as effectively. Only pro-

cedures that give consistent results documented over a sufficiently large number of cases should be submitted for publication.

Manuscripts should be concise and should consist of an abstract, an introduction, a description of the innovation/method in conjunction with management of a case(s), and a discussion.

It should be noted that certain new innovations might require human subject review and informed consent. It is the responsibility of the author to obtain these.

In particular, the Editors are seeking papers describing how practitioners manage site preservation, pre-implant surgery, guided tissue regeneration, furcation preparation, root resection, suturing, and root coverage of extensively prepped teeth and/or previously restored roots, although other topics are encouraged as well.

GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the *Journal*, or on other items of interest to the readership.

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the *Journal* and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 60 days to respond to the observations.

Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

Letters should be brief, focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals.

Citations should be handled as standard references.

MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

The *Journal of Periodontology* accepts manuscript submissions online at the following URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>.

Authors should prepare manuscripts in accordance with both the instructions below and the preceding instructions provided for each manuscript category.

Detailed instructions for online submission are described under "Web Uploading Policies and Instructions."

Instructions to Authors

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Managing Editor, *Journal of Periodontology*, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3224; e-mail: julie@perio.org.

SUBMISSION

Authorship

Individuals identified as authors must meet the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, 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.

Once the *Journal* has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (described under "Acknowledgments and Conflicts of Interest").

Letter of Submission / Conflicts of Interest

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted for each author.

A template form can be found on JOP Manuscript Central™ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." More information on conflicts of interest can be found under "Conflicts of Interest" below.

PREPARATION

Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript:

- * Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
- * The *Journal of Periodontology* does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, *e.g.*, or *i.e.*
- * Use a block style; do not tabulate or indent material.
- * Refer to the 4th edition of the *Glossary of Periodontal Terms* published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.

Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the *Annals of Periodontology*, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions). A summary can be found on the American

Academy of Periodontology Web site at <http://www.perio.org/resources-products/classification.htm>.

FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom. Materials should appear in the following order:

Title Page
Abstract (or Introduction) and Key Words
Text
Footnotes
Acknowledgments
References
Figure Legends
Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

TITLE PAGE

The Title Page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation for each; 3) name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed (please use footnote symbols [in the sequence *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, etc.] to identify authors and their corresponding institutions); 4) disclaimers, if any; 5) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published); 6) sources of support in the form of grants, equipment, drugs, or other significant sources of support; 7) any financial relationships between any author and a commercial firm that may pose a conflict of interest; 8) word count and number of figures and tables in the manuscript; 9) a short running title of no more than 60 characters, including spaces; and 10) a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, to facilitate indexing should be listed below the abstract.

Instructions to Authors

TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

ACKNOWLEDGMENTS AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgments

At the end of the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

Conflicts of interest

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the *Journal of Periodontology* now requires that all authors declare potential competing interests relating to papers accepted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

- 1) A statement in the manuscript, following Acknowledgments, that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.
- 2) A conflict of interest and financial disclosure form for each author. This form can be found on JOP Manuscript Central™ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." The form should be completed by each author and provided to the corresponding author. The corresponding author is responsible for submitting these forms from each author when the manuscript is submitted. These forms should be sent to Bethanne Wilson, Editorial Coordinator, either via e-mail at bethanne@perio.org or fax at 312/573-3225. These forms can also be uploaded in the cover letter area during the manuscript submission process.

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

Example of conflict of interest statement:

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Drs. Able, Kim, and Bruce report no financial relationships related to any products involved in this study. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, MA. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation.

REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited.

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please refer to the NLM's comprehensive listing at <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/jlweb.pdf>.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual

Instructions to Authors

and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology's* preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Glass DA, Mellonig JT, Towle HJ. Histologic evaluation of bone inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskeletal site of the rat. *J Periodontol* 1989;60:121-125.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996; 12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loe H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National

Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.

8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic Citations

9. Online journals without volume and page information. Berlin JA, Antman EM. Advantages and limitations of meta-analytic regressions of clinical trials data. *Online J Curr Clin Trials* [serial online]. June 4, 1994; doc 134. Accessed July 20, 2000.
10. Online journals with volume and page information. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: A case report. *J Contemp Dent Pract* [serial online]. 2001;2(3):31-40. Available from: Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH. Accessed December 15, 2001.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: Addressing the problem of antimicrobial resistance. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan/antiresist/>. Accessed November 5, 2001.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules.

FIGURE LEGENDS

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Panel labels should be in capital letters. Legends should not appear on the same page as the actual figures.

FIGURES

Digital files must be submitted for all figures.

Instructions to Authors

Submit one file per figure. Multiple panels should be labeled and combined in a single file. Photomicrographs should have internal scale markings. Human subjects must not be identifiable in photographs, unless written permission is obtained and accompanies the photograph. Lettering, arrows, or other identifying symbols should be large enough to permit reduction and must be embedded in the figure file. Figure file names must include the figure number.

Clinical color photographs are encouraged. There is no charge to the author for publication of any figure. Authors are asked to use shades of green, blue, or purple in color graphs. Yellow, red, and orange should be avoided unless scientifically necessary (e.g., to depict species of the orange complex, red complex, etc.).

Authors are strongly encouraged to prepare basic, simple designs that can be clearly understood when reproduced; use of "3-dimensional" graphics is not recommended. Unnecessarily complex designs may be returned for simplification before publication.

Details of programs used to prepare digital images must be given to facilitate use of the electronic image. Use solid or shaded tones for graphs and charts. Patterns other than diagonal lines may not reproduce well.

DIGITAL FILE SPECIFICATIONS

To ensure the highest quality reproduction of your figures, please observe the following recommendations.

Resolution

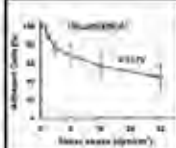
Proper resolution is very important to preserve the quality of your printed figures. The following resolutions must be submitted for your files.

Please do not reduce your figures below a readable size to achieve higher resolution. These files will not be usable.

Format

TIFF or EPS files at the proper resolution (see above) will give the best results. If you cannot produce these files, do not send low-resolution conversions. With all figures, please also send a PDF that can be rasterized in the event your files are not usable.

Word, Excel, PS, and JPEG files can sometimes be acceptable alternatives. Send these along with a PDF if you cannot achieve the proper results in TIFF or EPS format. For graphs and charts, do not use patterned fills. Solid tones or colors are recommended instead.

Line Art (type and line only)	All Color Images and B/W Combination Halftones (images and type)	B/W Halftones (grayscale with no type or lettering)
		
1000 dpi	600 dpi	300 dpi

Color Space

Figures should be saved as CMYK, not RGB. Files submitted in RGB will be converted to CMYK, and significant color shift may occur.

Font

Files other than TIFF or JPEG must be saved with fonts embedded. Acceptable fonts include Helvetica, Times New Roman, Symbol, Mathematical PI, and European PI. All other fonts may be replaced, resulting in data loss or realignment.

Other

Please send a PDF with all figure submissions and verify that the PDF and digital versions of your figures are identical. If you have any questions concerning the creation or submission of digital art, please visit the Dartmouth Journal Services Web site at <http://www.dartmouthjournals.com/digart.html> or send an e-mail to perio@dartmouthjournals.com.

UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.

STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original

Instructions to Authors

data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects or that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless express written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliation; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment,

medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, ††, etc.

IDENTIFICATION OF PRODUCTS

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

Peer Review

The *Journal of Periodontology* is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including State of the Art Reviews, Commentaries, Case Reports, Case Series, and Clinical Practice, are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

Copyright

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. A copyright form must be signed by all authors and returned to the Managing Editor. A file containing this form always accompanies the acceptance e-mail.

Reprints

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white.

Instructions to Authors

Web Uploading Policies and Instructions

The following information will help in preparing and submitting your manuscript to the *Journal of Periodontology* Web-based peer review system, JOP Manuscript Central™. Also refer to the previous pages for guidelines on preparing and formatting manuscripts.

Submit manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. You will be able to monitor the progress of your manuscript through the peer review process.

PREPARING AND FORMATTING ELECTRONIC MANUSCRIPTS

Text file: Submission of manuscripts must be in Microsoft Word (.doc). This applies to both Windows and Macintosh platforms. If you are using any other word processing program, you must save the text file as .rtf.

Use basic fonts such as Arial, Courier, Times, or Times New Roman. Special or mathematical characters and Greek letters that are not on a standard keyboard must be created using the Symbol font.

Tables: The system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

Equations: Create an equation as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the Symbol font.

Figures and illustrations: To prevent problems during the review process, figures and illustrations should be submitted only in the following formats:

EPS or TIFF, and at the highest resolution possible (at least 600 dpi for CMYK or halftones [grayscale mode] and 1,000 dpi for line art [bitmap mode]). Any other format might not be readable by a reviewer. Illustrations and graphics for revised manuscripts should be submitted in EPS or TIFF only.

Submit only one file per figure (combine and label panels). If panels are in different formats, save the entire file at the highest applicable resolution (see page 6). Save figures and illustrations with clear and simple file names, such as "Figure 1.tif" or "Fig1.tif." File names should match the labeling that appears in the legends in the text document.

SUBMITTING

For user account information, log on to *Journal of Periodontology* Manuscript Central™ at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. Here, you will be

able to either create an account or enter an existing account. If you believe you may already have an account, enter your e-mail address in the Password Help box on the right-hand side of the page. If the address you entered is found in the account records, an e-mail will be sent to you at that address containing your User ID and a temporary password.

If you do not have an account in the system, click "Create Account" in the upper right-hand corner. Please fill in all fields accurately. All fields with "req" are required. If a required field does not apply to you, enter "none" or "N/A" in the space provided. When you are finished with a screen, click "Next" to continue to the next screen. When you reach the final screen and all information is entered, click "Finish" to submit your information.

Author Center: To start the submission process, go to the Author Center and click "Click here to submit a new manuscript." The following are explanations of the 7 steps required to submit a manuscript:

Screen 1 – Type, Title, & Abstract. Select a manuscript type from the pull-down menu. Enter the title, running head, and abstract for your manuscript in the appropriate boxes. You can either copy-and-paste your information from your manuscript text file into the box or type it directly into the box. Use the "Special Characters" button for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. For example, when you click on the lowercase alpha, the appropriate code for the character appears where your cursor was placed on the previous screen. You can also use the "Preview" button to make sure all the codes are placed in the correct locations. If you are submitting a manuscript that does not require an abstract, please type "N/A" in the abstract box.

Click "Next" when you are finished with this screen.

Screen 2 – Attributes. Enter a minimum of 3 or a maximum of 6 key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, into the box. You can either copy-and-paste the key words from your manuscript text file into the box or type them directly into the box. Use the "Special Characters" button for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript.

Instructions to Authors

Click "Next" when you are finished with this screen or "Previous" to return to the previous screen.

Screen 3 – Authors & Institutions. Your name and institution should be completed and located at the top of the page. Click "Edit" if you need to make any changes to your information. Once your information is correct, you may add co-authors to the paper. Fill in the information under "Add a New Author" for each co-author. After typing in an e-mail address, you may search to see if that person's information is already in the database by clicking "Find." If an e-mail is matched, the information for that author will be displayed. You may make any necessary changes to the institutional information and click "Add to My Authors" to add this author to your paper. If an incorrect author is found, click the "Clear" button to search again. If a match is not found, fill in the required information and click "Add to My Authors." If a specific author has more than one affiliation, follow the link at the bottom of the "Add a New Author" box to add more affiliations. You must click the "+ Add" button for each affiliation. Make sure to click the "Save" checkmark before closing the "Add More Affiliations" screen. Once all authors have been added to the manuscript, click "Next" to proceed to the next screen or "Previous" to return to the previous screen.

Please note that once the *Journal of Periodontology* has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form.

Screen 4 – Reviewers. This step requests you to identify preferred or non-preferred reviewers but is not a mandatory part of the submission process. Fill in the required information and select "Designate as Preferred Reviewer" or "Designate as Non-Preferred Reviewer" as applicable. Once you have entered all information about reviewers, click "Next" to proceed to the next screen or "Previous" to return to the previous screen.

Screen 5 – Details and Comments. In the box provided, you should either copy-and-paste your cover letter/comments or type them directly into the field. Also, you can upload your cover letter/comments by clicking the "Browse" button and selecting a file on your computer. Click the "Attach this Cover Letter" button to attach it to your manuscript. You may also upload your conflict of

interest and financial disclosure forms here. Do not attach any files from your manuscript itself in this section.

In the boxes provided, fill in the total number of figures and tables. If there are no figures or tables in your manuscript, please enter "0" in the appropriate box. Your word count should also be entered in this area.

Be sure to read the submission statement and select "yes" from the pull-down menu.

The *Journal of Periodontology* also requires the signatures of all authors on the conflict of interest and financial disclosure form as part of the submission process. If these forms were not uploaded in the previous cover letter area, they may be e-mailed to bethanne@perio.org or faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator). You must check the box next to this explanation to acknowledge that you have read it and will provide conflict of interest and financial disclosure forms for each author. This form can be found on JOP Manuscript Central™ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms."

Click "Next" to proceed to the next screen or "Previous" to return to the previous screen.

Screen 6 – File Upload. When you upload your manuscript in Microsoft Word format (.doc), the file will automatically be converted to both .PDF and HTML formats. Any figure or illustration will also be converted to .PDF and HTML. A .PDF and HTML proof will be created, combining your document and images.

Follow steps 1 through 4 to upload your manuscript files:

1. Browse to find the desired file.
2. Select the file designation: image file (includes color and grayscale figures; color and black & white line art); main document (includes title page, abstract, key words, text, footnotes, acknowledgments, references, figure legends, and tables); or supplemental file (multimedia or other necessary documents).
3. You may upload as many as 5 files at a time. Repeat steps 1 and 2 for each file.
4. Click "Upload Files." You will see a "file details" window for each file that you have uploaded. On this screen, you are able to write a file tag or caption (if it is an image). Please note that if you have uploaded an image in EPS, TIFF, or JPEG format, it is recommended to place "Fig. 1, Fig. 2," etc. in the captions area for ease of viewing. Once you have done this, click "Save."

Instructions to Authors

You will be brought back to the File Upload (Screen 6), where you can continue uploading files. When you have no additional files to upload, click "Next" to proceed to the final screen or "Previous" to return to the previous screen.

Screen 7 – Review & Submit. Please verify that all screens have been completed (a green checkmark will appear if all required information is completed). You must also preview your .PDF proof before submitting your manuscript. Click the .PDF button at the bottom of the page (Step 7) to preview your manuscript. An option to preview your submission in HTML is also available, but not required. After you have confirmed that all information is correct and have previewed your .PDF proof, click "Submit." Confirmation of your submission will be noted. Print your manuscript ID number. Please include this number on any correspondence you send to the editorial office.

If for any reason you exit the system before completing any screen, you can continue where you left off by logging in, going to the Author Center, and clicking the "Continue Submission" button under "Unsubmitted Manuscripts."

FINALIZING SUBMISSION

If you did not upload a conflict of interest and financial disclosure form for each author during the online submission process, please fax these forms to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator).

CHECKING THE STATUS OF YOUR MANUSCRIPT

You can return to your Author Center at any time to check the status of your manuscript (click "Submitted Manuscripts"). Once a decision has been made, you will be notified by e-mail. No hard copy letters will be mailed.

SUBMITTING REVISED MANUSCRIPTS

To submit a revised paper, log on to JOP Manuscript Central™ at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>.

Select Author Center, then "Manuscripts with Decisions." Under the Actions column, click "create a revision" to begin your revision. The manuscript will now be moved to the "Revised Manuscripts in Draft" queue.

Once you have begun your revision, you will be prompted through the following screens:

Screen 1 – View and Respond to Decision Letter. Here you will be able to view the decision letter and comments from the reviewers. In the box below, please place a detailed response to each reviewer comment for the original manuscript. Your response to reviewers should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.

Screens 2 – 5 – Please see the above explanations under "Submitting."

Screen 6 – Please upload your revised manuscript files. All files uploaded with your original submission will be included on this screen. Include only the latest set of files. If you have updated a file, please delete the original version and upload the revised file. Please note that even if your figures have not been revised, they should be resubmitted with your revised manuscript.

Screen 7 – Please confirm that all information is correct and that you have previewed your .PDF proof before submitting.

Once you have submitted your revised manuscript, you will receive a confirmation e-mail message from the system when your revised paper has been successfully uploaded and received in the editorial office.

MANUSCRIPTS ACCEPTED FOR PUBLICATION

If your manuscript is accepted for publication, all authors must complete a copyright form, which can be found at <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio> under "Instructions & Forms" in the upper right-hand corner of the screen. A file containing this form also accompanies the acceptance e-mail. Please fax this form to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator). You will be notified about a publication date by the Managing Editor.