

Thais Lima Cherulli

**Matriz orgânica de osso medular bovino utilizada
como alternativa no tratamento das recessões
gingivais. Avaliação histológica em cães.**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do Título de Mestre
em Odontologia, Área de
Concentração em Reabilitação Oral.

Uberlândia, 2009

Thais Lima Cherulli

**Matriz orgânica de osso medular bovino utilizada
como alternativa no tratamento das recessões
gingivais. Avaliação histológica em cães.**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção
do Título de Mestre em Odontologia,
Área de concentração em Reabilitação
Oral.

Orientador: Prof. Dr. Denildo de Magalhães

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Denildo de Magalhães

Prof. Dra. Paula Dechichi

Prof. Dr. Eulazio Mikio Taga

Uberlândia

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C523m Cherulli, Lima Thaís, 1985
Matriz orgânica de osso medular bovino utilizada como alternativa no
Tratamento das recessões gengivais [manuscrito]: avaliação histológica em
Cães/Thaís Lima Cherulli. 2010
75f:il
Orientador: Denildo de Magalhães
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia
Programa de Pós-graduação em Odontologia
Inclui bibliografia.
1. Periodontia – Teses. I Magalhães, Denildo de. II. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em Odontologia
III. Título.

CDU:616.314.17-008.1

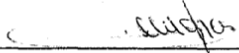
Elaborado pelo sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de Catalogação e Classificação

 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

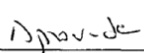
**RELATÓRIO DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE MESTRADO DA
CD THAIS LIMA CHERULLI DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA DESTA UNIVERSIDADE.**

Às quatorze horas do dia vinte e nove de julho do ano de dois mil e nove, reuniu-se a Comissão Julgadora indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia/UFU, para o julgamento da Dissertação de Mestrado apresentada pela candidata THAIS LIMA CHERULLI com o título: *Matriz orgânica de osso medular bovino utilizada no tratamento das recessões gengivais. Avaliação histológica em cães*. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição, cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Dissertações e Teses da Biblioteca desta Universidade. Acompanham este relatório os pareceres individuais dos membros da Comissão Julgadora.

Uberlândia 29 de julho 2009



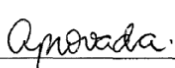
Prof. Dr. Denildo de Magalhães
Titulação: Doutor
Universidade Federal de Uberlândia - UFU



Aprovado/Reprovado



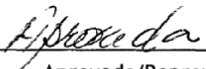
Prof. Dra. Karen Renata Nakamura Huiaki
Titulação: Doutora
Universidade Federal de Uberlândia - UFU



Aprovado/Reprovado



Prof. Dr. Eulázio Mikio Taga
Titulação: Doutor
Universidade de São Paulo - USP



Aprovado/Reprovado

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista à minha querida avó **Terezinha Lima** que hoje já não se encontra mais entre nós. Apesar de todas as dificuldades encontradas foi um exemplo de luta, de alegria e de vontade de viver.

“O dia mente a cor da noite
E o diamante a cor dos olhos
Os olhos mentem dia e noite a dor da gente ”

Enquanto houver você do outro lado
Aqui do outro eu consigo me orientar
A cena repete a cena se inverte
enchendo a minha alma d'aquilo que outrora eu deixei de acreditar

tua palavra, tua história
tua verdade fazendo escola
e tua ausência fazendo silêncio em todo lugar

metade de mim, agora é assim
de um lado a poesia o verbo a saudade
do outro a luta, a força e a coragem pra chegar ao fim
e o fim é belo, incerto depende de como você vê
o novo, o credo, a fé que você deposita em você e só

Só enquanto eu respirar
Vou me lembrar de você

Fernando Anitelli

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por sempre estar ao meu lado, dando-me forças e auxiliando-me nas conquistas.

Aos meus queridos pais **Vitor** e **Raquel** que sempre estiveram ao meu lado compartilhando sonhos e orientando caminhos. E faço dessa conquista um instrumento de gratidão e reconhecimento de tudo que recebi de vocês.

Ao meu irmão **Thiago** que divide comigo a felicidade de sermos filhos desse maravilhoso casal. Minha cunhada Lidiane pelo carinho e amizade.

A minha madrinha **Eugênia Lima** o meu muito obrigado por fazer parte da minha vida, pelos momentos de alegria e felicidade ao seu lado. Muita força e fé nessa fase da sua vida.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Denildo de Magalhães** que além de mestre é meu grande exemplo de conduta profissional. Ajudou-me a dar passos essenciais na minha caminhada, incentivando-me e participando das minhas conquistas além de contribuir imensamente para meu crescimento e amadurecimento. Obrigada pela credibilidade e confiança. O meu eterno agradecimento.

A **Profa.. Dra. Paula Dechichi** pelo acolhimento no momento que mais precisei, pelo incentivo, orientação e apoio incondicional na fase final do trabalho. Meu eterno respeito e admiração.

Ao amigo e Mestre **Gustavo Rabelo** pelo total apoio durante a fase experimental do trabalho, o meu reconhecimento total pela sempre contribuição. Sucesso no doutorado.

A **HD ensinios odontológicos** por gentilmente ceder os materiais necessários na fase de execução do experimento.

A Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia em nome do **Prof. Dr. Cirilo Antônio de Paula Lima** por toda atenção e apoio necessários na fase experimental do trabalho.

E a todos familiares e amigos que de uma forma ou de outra fizeram parte dessa conquista.

*“Tu te tornas eternamente responsável
por aquilo que cativas”*

Antoine de Saint Exupéry

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e Símbolos	01
Resumo.....	02
Abstract.....	03
1. Introdução	04
2. Revisão de Literatura.....	06
2.1. Periodonto	06
2.1.1 Periodonto de Proteção.....	06
2.1.2 Periodonto de Inserção.....	07
2.2. Mecanismo de Formação e Evolução da Recessão Gengival.....	08
2.3. Classificação das Recessões Gengivais.....	11
2.4. Tratamento das Recessões Gengivais.....	13
2.5. Técnicas Cirúrgicas para Recobrimento Radicular.....	14
2.5.1 Deslocamento do retalho.....	15
2.5.1.1 Retalho Reposicionado Lateralmente.....	15
2.5.1.2 Retalho Posicionado Coronalmente.....	16
2.5.2. Enxerto Autógeno de Tecido Mole	16
2.5.2.1 Enxerto De Mucosa Mastigatória	16
2.5.2.2 Enxerto de Tecido Conjuntivo Subepitelial	17
2.5.3. Regeneração Tecidual Guiada.....	20
2.6. Biomateriais Utilizados Como Substitutos do Enxerto Autógeno.....	24
2.6.1. Enxerto de Matriz Dérmica Acelular.....	24
2.6.2. Enxerto de Matriz Derivada de Esmalte	26
2.7. Enxerto de Matriz Orgânica de Osso Medular Bovino	28
3. Proposição.....	33
4. Material e Métodos.....	34
4.1. Seleção dos Animais.....	34
4.2. Procedimentos Cirúrgicos.....	34
4.2.1. Anestesia.....	34
4.2.2. Criação dos defeitos e Inserção do Biomaterial.....	35
4.2.3. Obtenção dos Espécimes.....	38

4.3. Processamento Histológico.....	40
5. Resultados.....	41
6. Discussão	45
7. Conclusão.....	50
Referências.....	51

Anexo

Parecer do comitê de ética em Pesquisa

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Kg	Quilograma
mm	Milímetros
HE	Hematoxilina e Eosina
µm	Micrômetro
RPL	Retalho Reposicionado Lateralmente
RPC	Retalho Reposicionado Coronalmente
EMM	Enxerto De Mucosa Mastigatória
ETCS	Enxerto de Tecido Conjuntivo Subepitelial
RTG	Regeneração Tecidual Guiada
RPG	Regeneração Periodontal Guiada
EMDA	Enxerto de Matriz Dérmica Acelular
MDA	Matriz Dérmica Acelular
EMDE	Enxerto de Matriz Derivada de Esmalte
PDME	Proteína Derivada da Matriz de Esmalte
MDE	Matriz Derivada de Esmalte
NCI	Nível Clínico de Inserção
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
%	Porcentagem
U	Unidades
DBM	Matriz Óssea Desmineralizada
DFDBA	Osso Alógeno Desmineralizado Seco e Congelado
FDBA	Osso Alógeno Seco e Congelado
BMP	Proteína Morfogenética Óssea
NCP	Proteínas não Colágenas
EDTA	Acido Etilenodiamino Tetracético
®	Marca Registrada

RESUMO

Biomateriais têm sido propostos como substitutos ao enxerto autógeno no tratamento de recessões gengivais. O objetivo deste estudo foi avaliar a matriz orgânica de osso medular bovino como enxerto em recobrimentos radiculares. Foram utilizados 3 cães machos em bom estado de saúde geral. Na tábua óssea vestibular das raízes mesiais dos 2^{os} pré-molares inferiores foram criados defeitos ósseos com 3 mm de largura por 5mm de altura. Em seguida, cada animal recebeu 2 enxertos: conjuntivo (autógeno) na raiz mesial do lado esquerdo, e matriz orgânica de osso medular bovino (xenógeno) na raiz mesial do lado direito. Após três meses, os animais foram anestesiados e foram removidos segmentos do processo alveolar contendo os pré-molares do lado direito e esquerdo. Estes segmentos foram fixados em formol, desmineralizados e processados para inclusão em parafina. Foram obtidos cortes seriados com 5 µm de espessura, em sentido vestibulo-lingual, que foram corados em HE e analisados ao microscópio de luz. Nos dois grupos experimentais (Conjuntivo e Matriz Óssea) observou-se crista óssea vestibular abaixo do nível normal. O periodonto de proteção apresentou características normais e em alguns casos foi observada proliferação discreta do epitélio juncional, em sentido apical. O conjuntivo subjacente mostrou-se rico em grossos feixes de fibras colágenas, em direções variadas, inseridos em cemento em toda extensão, indicando a formação de nova inserção na região do defeito ósseo. A superfície radicular apresentou regiões de reabsorção externa reparada por cemento celular, inclusive na região do periodonto de inserção. Também foi observado sinais de reabsorção da tábua óssea externa, inclusive com presença de osteoclastos em atividade. Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que a matriz orgânica de osso medular bovino permite a reparação tecidual podendo ser um biomaterial alternativo no tratamento das recessões gengivais.

Palavras-Chave: Matriz óssea bovina, Enxerto, Recessões Gengivais

ABSTRACT

Biomaterials have been proposed as substitutes for autogenous grafts in gingival recessions treatment. The aim of this study was to evaluate the organic matrix of bovine bone marrow graft in root coating procedure. Three male dogs were used and they're in good general health. On vestibular root at mesial side of second lower pre-molars a bone defect with 3 mm in width and 5mm in height were created. Then, each animal received 2 grafts: conjunctive (autogenous) in the left side and organic matrix of bovine bone marrow (xenogenic) in the right side. After three months, the animals were anesthetized and were removed segments of the alveolar process containing the pre-molars, soft and bone tissue. These segments were fixed in formalin, demineralized and processed for embedding in paraffin. Semi-serial sections were obtained with 5 µm thickness, in vestibular-lingual direction, which were stained with HE and examined under the microscope. In both experimental groups (conjunctive and bone matrix) was observed vestibular crest bone at a lower level and periodont showed normal characteristics, also, in some cases a proliferation of the junctional epithelium in apical direction was noted. The conjunctive presented numerous collagen fibers in various directions, inserted in cementum throughout extension, indicating the formation of a new insertion in the bone defect. The root surface showed areas of external resorption repaired by cellular cementum, including the insertion periodont. In addition, was observed signs of bone resorption of the external board, even with the presence of osteoclasts in activity. The results of this study suggest that the organic matrix of bovine bone marrow allows tissue repair and may be an alternative biomaterial in the treatment of gingival recessions.

Key-Words: Organic Matrix of Bovine Bone, Graft, Gingival Recessions.

INTRODUÇÃO

A recessão gengival estabelece um quadro de sensibilidade dentinária devido à exposição radicular, além de afetar a estética por causar desarmonia na proporção coroa raiz (Lima *et al.*, 2005).

Várias técnicas cirúrgicas mucogengivais são indicadas para tratamento de recessões gengivais permitindo o recobrimento radicular e solução dos problemas estéticos e de hipersensibilidade dentinária. Dentre essas técnicas estão o deslocamento do retalho (Bernimoulin *et al.*, 1975), enxertos autógenos de tecido mole (Langer & Langer, 1985), regeneração tecidual guiada (Tinti & Vicenzi, 1990) e a combinação dessas modalidades (Kimble *et al.*, 2004).

O enxerto autógeno é retirado do próprio indivíduo e, apesar de ser considerado o melhor material para enxertia, apresenta desvantagens como a mobilização de área doadora e quantidade limitada de enxerto, que muitas vezes é insuficiente (Nary & Lig, 2001). Decorrente de tais limitações, alguns biomateriais, como a proteína derivada da matriz de esmalte e a matriz dérmica acelular, têm sido propostos como substitutos do enxerto autógeno de tecido mole (Sallum *et al.*, 2003, 2004, 2006).

A matriz orgânica de osso tanto bovina medular quanto mista, quanto cortical é um enxerto xenógeno muito utilizado como substituto ósseo, apresentando grande aplicabilidade clínica. Este biomaterial tem sido indicado na regeneração de defeitos periodontais, recobrimento de fenestrações em implantodontia (Hall *et al.*, 1999), elevação do seio maxilar (Silva *et al.*, 2006), e em preenchimento de pequenos defeitos ósseos decorrentes de procedimentos cirúrgicos, traumas, infecções ou reabsorções que causam problemas estéticos e funcionais (Eppley *et al.*, 2005).

Apesar da utilização primária da matriz orgânica bovina estar relacionada à reconstrução óssea, é possível que este biomaterial, utilizado em recobrimento de raiz, possa estabelecer nova inserção conjuntiva, constituindo uma opção de tratamento da recessão gengival.

Esta hipótese fundamenta-se na constituição da matriz orgânica, que estabelece um arcabouço de colágeno o qual favorece a migração de células para reparo da região.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Periodonto

Segundo Ferraris e Munõz (2006), o periodonto é o conjunto de estruturas localizadas ao redor do elemento dentário, com objetivo de manter a integridade estrutural, funcional e estética na cavidade bucal, formado por componentes de revestimento e sustentação. Em condições de saúde, o periodonto de proteção é constituído por estruturas identificáveis ao exame clínico direto, as quais por sua vez recobrem o dente e a crista óssea marginal. Internamente é constituído por uma unidade estrutural responsável pela manutenção da ancoragem dos dentes aos maxilares.

2.1.1. Periodonto de Proteção

Buscando identificar os tipos de mucosa que revestem a cavidade bucal Lindhe em 2005 relata a presença de 03 tipos específicos: mucosa alveolar caracterizada pela flacidez, baixa resistência e flexibilidade; mucosa especializada presente no dorso da língua e a mucosa mastigatória localizada no nível do colo dental e palato duro apresentando alta resistência aos estímulos mecânicos, químicos e térmicos. Apesar das suas características específicas, são mucosas que estão unidas não apresentando solução de continuidade.

Por sua vez, a mucosa mastigatória, como parte integrante do periodonto de proteção, é composta por estruturas que circundam a porção cervical dos dentes e processo alveolar, contribuindo para a formação das suas características clínicas e função, tais como coloração, textura, contorno, inserção, estabilidade e resistência.

Baseado em um enfoque mais amplo, o periodonto de proteção é constituído por uma massa de tecido conjuntivo revestido por epitélios. Sendo estes divididos em três tipos funcionais: o epitélio gengival ou vertente externa;

o epitélio do sulco gengival ou sulcular e o epitélio juncional ou epitélio de fixação. (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Ferraris e Munõz, 2006).

Voltado para a cavidade bucal está o epitélio gengival ou vertente externa, constituído por um tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado. Devido a sua constituição esse epitélio apresenta uma alta resistência aos estímulos que incidem nessa área, por exemplo, o atrito mecânico dos alimentos durante a mastigação.

Opondo-se ao epitélio externo e diretamente em contato com o dente estão presentes os epitélios do sulco gengival e apical a este o epitélio juncional, o qual é parte integrante do mecanismo de inserção epitelial sobre o dente. (Itoiz & Carranza, 1997; Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004).

Apresentando um aspecto triangular, o epitélio juncional limita-se na sua porção superior com a base do sulco gengival, possuindo uma espessura aproximada de 3 a 4 camadas de células. Limita-se na porção apical pela inserção conjuntiva, onde contém de 1 a 2 camadas de células. Este epitélio apresenta uma alta capacidade proliferativa de suas células, sendo constantemente renovadas por meio da camada basal deste a qual está localizada na sua porção apical próxima ao tecido conjuntivo subjacente (Lindhe, 2005).

O mecanismo de aderência do epitélio juncional ao esmalte dental se dá por meio de duas lâmina basal, eletrodensa e a eletrolúcida, não estando o mesmo em contato direto com o esmalte dentário. Além disso, a membrana celular das células epiteliais do epitélio juncional contém hemidesmossomos em direção ao esmalte (Lindhe, 2005).

Por sua vez os epitélios anteriormente citados revestem uma massa de tecido conjuntivo que constitui a parte interna do tecido gengival. Constituído principalmente de fibras colágenas, (cerca de 60% do volume do tecido conjuntivo), fibroblastos (cerca de 5%), e os vasos e nervos (cerca de 35%), que estão envolvidos em uma substância fundamental (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Lindhe, 2005 ; Ferraris e Munõz, 2006).

O tecido conjuntivo da mucosa é do tipo denso, possui grossos feixes de fibras colágenas denominadas de fibras gengivais determinando uma

inserção sobre o dente, a qual é conhecida como “inserção conjuntiva”. Estando estes orientados de modo a formar grupos divididos em: dentogengivais; dentoperiostais; circulares e as transeptais alvéolo-gengivais interpapilares. Além destas, também são observadas grupos de fibras menores ou secundárias, dispostas de maneira irregular na matriz fundamental amorfa. Essa grande quantidade de fibras confere ao periodonto de proteção consistência firme e resistência ao deslocamento e estabilidade (Lindhe, 2005).

2.1.2. Periodonto de Inserção

O cemento é um tecido avascular, mineralizado que recobre toda a superfície radicular. Devido à sua posição intermediária, formando a interface entre a dentina e o ligamento periodontal, o cemento é um componente do dente, mas pertence funcionalmente ao aparato de inserção, ou seja, ao periodonto. Uma das principais funções do cemento é ancorar as fibras colágenas do ligamento periodontal à superfície radicular, mas ainda apresenta uma importante função reparativa e adaptativa, exercendo um papel crucial na manutenção da relação oclusal e proteção à integridade da superfície radicular (Bosshardt & Selvig, 1997).

Como os outros tecidos mineralizados, o cemento, possui fibras colágenas embutidas em uma matriz orgânica. Sua porção mineral representa cerca de 50 a 60% de seu peso, constituída por fosfato de cálcio sob a forma de cristais de hidroxiapatita. Os componentes celulares são os cementoblastos, células que revestem a superfície do cemento e sintetizam sua matriz orgânica, e os cementócitos, que são cementoblastos que foram aprisionados na matriz do cemento durante sua formação (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Ferraris e Munõz, 2006).

Tradicionalmente, o cemento tem sido classificado em celular e acelular, dependendo da presença ou não de células (cementócitos) em sua estrutura.

O cemento acelular é encontrado nas porções coronárias e médias da raiz. Esse tipo de cemento é uma parte importante dos tecidos de inserção e

conecta o dente ao osso alveolar. Já o cimento celular, que contém os cementócitos é geralmente localizado no terço apical da raiz. Este último possui um papel de adaptação em resposta ao desgaste e movimento dos dentes. (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Lindhe, 2005; Ferraris e Munõz, 2006).

Cada dente é unido e separado do osso alveolar adjacente por uma estrutura denominada de ligamento periodontal. É um tecido conjuntivo frouxo atravessado por grossos feixes de fibra colágena do tipo I que se inserem no cimento e no osso alveolar. Apresenta uma espessura variável de 0,15 a 0,38 mm, sendo mais delgado no terço médio da raiz. Com a idade essa medida sofre diminuição progressiva em toda sua extensão (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Ferraris e Munõz, 2006).

Esse arranjo, é claro, resiste ao deslocamento dental esperado durante a função normal. É essencial à mobilidade do dente, sendo esta em grande parte, determinada pela largura, altura e qualidade do ligamento periodontal. Forma-se na medida em que o dente se desenvolve e irrompe na cavidade bucal. A forma estrutural não se esboça até que o dente entre em oclusão e seja aplicada a força funcional (Figueiredo; Parra, 2002).

Além de articular o dente com o osso, o ligamento, através dos seus receptores sensoriais proprioceptivos e dos seus mecanorreceptores, desempenha importante papel no posicionamento e na acomodação dos arcos dentários durante os movimentos funcionais do sistema estomatognático (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Ferraris e Munõz, 2006).

Assim como todo tecido conjuntivo, o ligamento periodontal é constituído de células (fibroblastos), responsáveis pela síntese, degradação e remodelação das fibras colágenas, bem como a síntese de substância fundamental amorfa. Estão presentes além dos fibroblastos, células ectomesenquimais indiferenciadas, restos epiteliais de Malassez, além de células de defesa, como macrófagos e mastócitos (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Ferraris e Munõz, 2006).

As fibrilas presentes na matriz extracelular são constituídas principalmente por colágeno tipo I. O agrupamento dessas fibrilas forma feixes

de fibras característicos do ligamento periodontal chamados de fibras principais. Segundo a orientação ou região da raiz onde se inserem, essas fibras são classificadas em cinco grupos: o horizontal ou de transição; o oblíquo; o da crista alveolar; o apical e o inter radicular. Além das fibras principais, existem as fibras secundárias, que não se entrelaçam e, portanto não formam grossos feixes e não apresentam orientações regulares (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Lindhe, 2005; Ferraris e Munõz, 2006).

Outra estrutura que compõe o periodonto de inserção é o osso alveolar, que segundo (Lindhe, 2005), é constituído por dois componentes: o osso alveolar propriamente dito e o processo alveolar.

O processo alveolar é a parte da maxila e da mandíbula que forma e sustenta os alvéolos dos dentes. Desenvolvem-se em conjunto com o desenvolvimento e erupção dos dentes e são gradativamente reabsorvidos com a perda dos dentes, pois a condição de sua existência é a presença da raiz dentária (Figueiredo; Parra, 2002).

O osso alveolar propriamente dito, também chamado de osso fusiforme, é contínuo com o processo alveolar e forma a delgada lâmina óssea que reveste o alvéolo dentário (Lindhe, 2005).

A principal característica desse tecido conjuntivo mineralizado é a quantidade de fibras de colágeno nele inseridas, que são as fibras de Sharpey. Estas fibras estão orientadas perpendicularmente à superfície, e conferem ao osso um aspecto fasciculado (Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Lindhe 2005; Ferraris e Munõz, 2006).

A rigidez e a dureza conferida ao tecido ósseo se devem a porção inorgânica representada por 60 % da matriz extracelular, sendo o restante constituído por água e componentes orgânicos, o que representa o grau de elasticidade e resistência às fraturas. Aproximadamente 90% da matriz orgânica é constituída por colágeno tipo I e o restante por substâncias não colágenas. As células que constituem o tecido ósseo são: os osteoblastos que sintetizam, secretam e mineralizam a matriz orgânica; os osteócitos, células aprisionadas no interior de lacunas, que constituem uma rede celular comunicando-se por canalículos e que mantêm a integridade da matriz; os

osteoclastos, células multinucleadas responsáveis pela reabsorção óssea; além de células osteoprogenitoras (Avery, 2001; Ten Cate, 2001; Katchiburian & Arana, 2004; Lindhe 2005; Ferraris e Munõz, 2006).

2.2. Mecanismo de Formação e Evolução da Recessão Gengival

Recessão Gengival é uma lesão periodontal caracterizada pelo posicionamento apical da margem gengival em relação à junção amelo-cementária e pela degradação do mecanismo de inserção gengival sobre o dente, acompanhada de reabsorção da crista óssea alveolar e necrose do tecido cementário, decorrente da atividade inflamatória no tecido conjuntivo gengival (Baker & Seymour, 1976).

Ao longo dos anos vários autores avaliaram as recessões gengivais e o mecanismo pelo qual estas ocorrem. Novaes *et al.*, 1975 demonstraram que a presença da placa bacteriana associada com fatores, tais como inadequada faixa de gengiva inserida, mal oclusão e deiscência óssea acarretarão a formação de recessões. Relatam ainda que a ação traumática da escovação independentemente da presença de placa bacteriana também induziria a atividade inflamatória predispondo a formação da recessão gengival.

O mecanismo de formação da recessão gengival se dá por meio de uma atividade inflamatória de longa duração que conduz à progressiva destruição do tecido conjuntivo, acompanhada de proliferação e espessamento tanto do epitélio externo quanto do epitélio interno. Na ocorrência desse espessamento observa-se evolutivamente o aumento dos cones interpapilares os quais em presença de limitada espessura de tecido conjuntivo podem eventualmente sofrer anastomose. A excessiva proximidade das duas lâminas basais, em dado momento, denota a presença de ínfima espessura de lâmina própria, sem condições de nutrir os epitélios, os quais mantêm sua fisiologia quanto à descamação celular superficial. Por sua vez, estas alterações determinam o aspecto gengival atrófico, perda tecidual e conseqüente exposição da superfície dental, ou seja, formação de recessões gengivais (Novaes *et al.*, 1975).

Análises histológicas da patogênese das retrações gengivais demonstraram que a presença de inflamação decorrente do acúmulo de placa e/ou da escovação traumática é o fator etiológico primário destas lesões (Novaes *et al.*, 1975). Dessa forma o controle de tal patologia parece ser a medida mais importante a fim de que se limite a progressão da recessão gengival, além disso, seu reconhecimento precoce e a instituição de um programa de controle de placa são necessários para reversão do problema (Powell *et al.*, 1982).

Outros fatores como a presença de deiscências ósseas alveolares, restaurações subgengivais, trauma de oclusão, inserção alta de freios e bridas, mau posicionamento dental, fatores iatrogênicos podem estar associados ao trauma de escovação e a doença periodontal, contribuindo para o desenvolvimento das retrações gengivais (Novaes *et al.*, 1975; Baker & Seymour, 1976; Loe *et al.*, 1992; Joshipura *et al.*, 1994;).

Existe uma associação entre a recessão gengival e a idade do paciente, havendo um aumento da ocorrência. Isso está associado muito mais ao fato das pessoas estarem expostas por mais tempo aos fatores irritantes do que a efeitos fisiológicos (Akapata *et al.*, 1979).

(Rustogi *et al.*, 1991) em um trabalho com crianças tailandesas encontraram que existe uma associação estatisticamente significativa entre a quantidade de cálculo e o nível de recessão gengival, concluindo que a prevenção da recessão deve ser conseguida pelo controle da formação da placa e do cálculo supragengival.

Esta lesão periodontal, é uma característica comum em populações com altos padrões de higiene oral, bem como em populações com higiene oral precária. Sendo que em populações com altos padrões de higiene oral, a perda de inserção e a retração do tecido marginal é predominante nas faces vestibulares (Loe *et al.* 1992, Serino *et al.* 1994), e nas populações que não são submetidas ao tratamento periodontal apresentam todas as superfícies dentárias afetadas pela recessão gengival (Loe *et al.* 1978,1992), sugerindo a existência de dois tipos de retração gengival, um associado a fatores mecânicos e outro associado à doença periodontal. Além disso, sugerem haver

uma distribuição diferente entre os vários tipos de dentes, sendo que a recessão nos pré-molares poderia estar vinculada primeiramente à força da escovação e nos molares à placa e cálculo. (Joshipura *et al.* 1994).

2.3. Classificação das Recessões Gengivais

(Sullivans e Atkins, 1968), classificaram as recessões gengivais em quatro categorias morfológicas: estreitas e rasas; largas e rasas; estreitas e profundas; largas e profundas. Esta classificação não faz referência à parte óssea interproximal e aos tecidos moles dos dentes vizinhos às recessões gengivais localizadas. Os autores consideravam que quanto menor as dimensões das recessões mais favoráveis seriam seus resultados, ou seja, recessões largas e profundas apresentaria uma menor previsibilidade de obter o recobrimento radicular. No entanto, esta classificação não apresentava um nível de previsibilidade satisfatório, pois em muitas situações eram obtidos resultados favoráveis em locais onde essa classificação se estabelecia como improvável.

Buscando uma maior confiabilidade e previsibilidade para os recobrimentos radiculares, (Miller, 1985) descreveu uma classificação baseada na quantidade de tecidos periodontais interproximais, osso e posição da gengiva marginal. Condição que lhe possibilitou a definição dos níveis de previsibilidade quanto ao sucesso dos recobrimentos radiculares. Portanto, foi adotada uma divisão em quatro classes:

Classe I: A recessão não ultrapassa a junção mucogengival e não há perda de tecidos interproximais.

Classe II: A recessão estende-se até ou além da junção mucogengival, sem perda óssea ou tecido mole interproximal.

Classe III: Recessão do tecido marginal estendendo-se até ou além da junção mucogengival, com perda óssea ou tecido mole apical à junção cimento-esmalte, porém coronária à extensão apical do tecido marginal.

Classe IV: A recessão estende-se além da junção mucogengival, existe perda óssea interdentária que se estende a um nível apical em relação à recessão do tecido marginal.

2.4. Tratamento das Recessões Gengivais

A seleção do procedimento cirúrgico para o tratamento da recessão gengival pode ser determinada pela configuração do defeito, previsibilidade da técnica cirúrgica, expectativas estéticas do paciente e disponibilidade do tecido doador. Além da estética e previsibilidade, ao se fazer a escolha do procedimento, os objetivos devem ser o restabelecimento da função, forma, textura, cor e contorno dos tecidos, bem como o potencial de regeneração de um novo aparato de proteção e sustentação para os dentes (Wang *et al.*, 2001).

Em Periodontia o termo regeneração refere-se à restauração completa dos tecidos danificados, em que uma nova inserção (formação de novo cimento, novo osso alveolar e novo ligamento periodontal) deve ser interposta nos locais onde houve perda restabelecendo a função e orientação das fibras gengivais na lâmina própria. Além disso, refere-se à formação de inserção do epitélio juncional ao dente (Wikesjo & Selving, 1999).

Buscando tais objetivos, várias técnicas cirúrgicas são indicadas para o tratamento das retrações gengivais apresentando bons resultados quanto ao recobrimento radicular, resolução dos problemas estéticos e de hipersensibilidade dentinária. Dentre essas técnicas destaca-se: deslocamento do retalho (Bernimoulin *et al.*, 1975), enxertos autógenos de tecido mole (Langer & Langer, 1985), regeneração tecidual guiada (Tinti & Vicenzi, 1990) e combinação dessas técnicas (Kimble *et al.*, 2004). De modo geral todas essas técnicas apresentam em comum a necessidade da existência de uma camada

de tecido conjuntivo entre o revestimento epitelial e o leito cirúrgico. Condições que podem ser obtida através de uma espessura adequada de tecido conjuntivo do próprio retalho ou pela interposição de conjuntivo proveniente de áreas doadoras.

Recentemente, biomateriais têm sido propostos como substitutos do tecido conjuntivo, proporcionando ao paciente a possibilidade de recobrimentos de áreas mais extensas, apenas uma área cirúrgica, melhor conforto pós-operatório e menor morbidade. Dentre os biomateriais empregados para essa finalidade temos, por exemplo, a proteína derivada da matriz de esmalte e a matriz dérmica acelular (Sallum *et al*, 2003,2004,2006).

2.5. Técnicas Cirúrgicas para Recobrimento Radicular

Observa-se na literatura atual uma significativa variedade de técnicas e variações de técnicas cirúrgicas, atendendo as necessidades dos recobrimentos radiculares. Assim sendo destaca-se abaixo as mais empregadas atualmente.

2.5.1 Deslocamento do retalho

2.5.1.1 Retalho Reposicionado Lateralmente (RPL)

Foram as primeiras tentativas cirúrgicas para o recobrimento das recessões gengivais a serem realizadas. Descrita inicialmente por (Grupe & Warren em 1956), a técnica consiste na confecção de retalho total de uma área adjacente à recessão e seu posterior deslocamento lateral, possibilitando o recobrimento da superfície radicular exposta. Embora existam boas perspectivas para técnica, é necessário reconhecer alguns possíveis problemas no que se referem à área doadora, tais como: a insuficiência de tecido gengival, a possibilidade de recessão na margem gengival, presença de fenestrações ou deiscências do tecido ósseo, além de dificuldade de sua realização em recessões múltiplas.

Posteriormente a técnica foi modificada, onde o retalho a ser deslocado não incluía os tecidos marginais, condição que passou a evitar danos à margem gengival da região doadora, reduzindo assim a incidência de recessões nestas (Grupe, 1966). Outra alteração foi a substituição de um retalho mucoperióstico por um retalho de espessura parcial (mucoso) para evitar exposição de deiscências na região doadora (Pfeifer & Heller, 1971). Desse modo, sua principal aplicação está voltada para áreas de recessões estreitas, localizada não muito profunda e sem perda óssea interproximal.

2.5.1.2 Retalho Posicionado Coronalmente (RPC)

Uma das técnicas mais utilizadas no recobrimento das recessões e pode ser executada em uma única etapa quando há quantidade suficiente de mucosa queratinizada na porção apical da recessão. Sumner em 1969 foi um dos primeiros autores a descrever essa técnica que consiste basicamente na confecção de um retalho mucoperióstico pediculado e deslocado para coronal, obtendo assim o recobrindo da área da recessão.

Em se considerando a importância fundamental da mucosa queratinizada localizada apicalmente a recessão, resultados mais previsíveis foram obtidos para essa técnica quanto previamente a sua execução era criada ou aumentada essa faixa. Sendo assim, apesar dos resultados significativos, a técnica se limita nos casos de ausência de gengiva queratinizada, perda de tecidos interdentais para estabilização do retalho, na presença de cáries radiculares ou restaurações profundas e fundo de vestibulo raso (Bernimoulin *et al.*, 1975).

2.5.2. Enxerto Autógeno de Tecido Mole

2.5.2.1 Enxerto De Mucosa Mastigatória (EMM)

O enxerto gengival livre foi originalmente projetado por (Bjorn 1963) e com o objetivo inicial de corrigir os problemas mucogengivais (aumento da

profundidade de vestíbulo, eliminação de freios e bridas e aumento da faixa de gengiva queratinizada), e posteriormente permitir o recobrimento das raízes expostas.

Para (Lindhe, 2005), o enxerto autógeno gengival livre é usado para criar uma zona ampliada de gengiva inserida, e é também indicado para cobrir raízes descobertas. Inicialmente a técnica consiste na eliminação de bolsa periodontal (caso haja necessidade), o preparo da área receptora, a obtenção do enxerto na área doadora, a transferência e imobilização do enxerto. Afirma que o epitélio sofre degeneração e descamação com necrose completa ocorrendo em algumas áreas a substituição por novo epitélio proveniente das margens da área receptora.

Considerando que os enxertos gengivais são utilizados freqüentemente, para aumentar a quantidade de gengiva inserida e impedir a progressão das recessões gengivais, não há resultados previsíveis quanto ao recobrimento radicular. Quando os enxertos foram associados ao condicionamento ácido da superfície radicular os resultados do recobrimento radicular foram mais previsíveis (Miller, 1985).

2.5.2.2 Enxerto de Tecido Conjuntivo Subepitelial (ETCS)

Também denominado de enxerto mucoso, (Edel em 1974) foi o primeiro a propor o uso dessa técnica com a finalidade de aumentar a quantidade de tecido queratinizado para melhoria dos resultados estéticos. Posteriormente, Langer & Langer em 1985 popularizaram a técnica com uma publicação sobre o emprego do tecido conjuntivo subepitelial para o recobrimento de raízes expostas. O enxerto constituído apenas por tecido conjuntivo é retirado do palato, e posicionado sobre a superfície radicular e recoberto pelo retalho deslocado coronariamente ou lateralmente ou ainda adaptado no interior de um retalho de espessura parcial (“envelope”). Por sua vez, esta última técnica apresentou principalmente melhores resultados quanto à estética por não produzir uma discrepância na coloração dos tecidos (Wennstrom, 1996).

Segundo Nelson, 1987, o enxerto de tecido conjuntivo é um procedimento operatório delicado que requer atenção e técnica cuidadosa. O enxerto deverá ter aproximadamente de 1.5 mm a 2.0 mm de espessura, a papila interdental deve ser mantida íntegra possibilitando o correto posicionamento e estabilização do retalho sobre a raiz avascular a ser recoberta.

(Levine 1991), relatou que o enxerto de tecido conjuntivo é um procedimento cirúrgico gengival estético usado para recobrir recessões únicas ou múltiplas, destinado a dentes anteriores ou até pré-molares. Sendo esta técnica indicada quando a área atenda aos seguintes requisitos, ou seja, dimensões adequadas de mucosa queratinizada e do enxerto, não apresente recessões adjacentes, não venha a causar envolvimento estéticos futuros.

Apesar do posicionamento coronal do retalho sobre tecido conjuntivo enxertado ser a técnica cirúrgica mais utilizada para o tratamento de recessões gengivais, tanto em dentes naturais quanto em implantes, apresenta como grande fator de inviabilização, o desconforto relatado pela maioria dos pacientes, ocasionado pela remoção de tecido da área doadora, geralmente a região palatina (Del Pizzo, 2002).

Do ponto de vista histológico, embora esse tipo de enxerto seja efetivo no recobrimento radicular, o processo de reparo nas áreas envolvidas pode apresentar a formação de um epitélio juncional longo. Baseado nesses aspectos, na década de 80 estudos sugeriram o condicionamento ácido da superfície radicular com intuito de promover a maior extensão possível de uma nova inserção conjuntiva em detrimento do epitélio juncional (Woodyard *et al*, 1984; Gottlow *et al*, 1986).

A ocorrência desse fato, apesar de ideal, só será possível caso a superfície radicular se torne novamente biocompatível. Assim sendo, a capacidade de adesão celular, crescimento e proliferação de fibras durante a cicatrização periodontal estará diretamente relacionada à capacidade de descontaminação dessas áreas, pois quando contaminadas por produtos bacterianos tóxicos, apresentam perda de colágeno e alterações na composição e na densidade mineral, dificultando ou inviabilizando o

recobrimento radicular. A fim de potencializar o processo de descontaminação radicular, tradicionalmente destaca-se os procedimentos de raspagem dental. Mas recentemente tem sido preconizado o uso de ataque ácido, o qual contribui para a remoção do “smear layer” levando a exposição das fibrilas colágenas do tipo I, as quais atuam quimiotaxicamente sobre os fibroblastos e unem-se as novas fibrilas formadas. Além disso, proporciona uma maior estabilidade física para o coágulo e o tecido conjuntivo sobre a raiz (Dean & Blankenship, 1997). Embora estudos discordem desses achados (Gottlow *et al.*, 1986), outros ratificam esta informação indicando-a como terapia de resultados extremamente positivos (Laslo *et al.*, 1983; Polson & Frederik, 1984; Labahn *et al.*, 1992).

Pasquinelli (1995) observou a formação de novo osso (4 mm) e nova inserção conjuntiva (4,4mm) após a realização de enxerto gengival livre para recobrimento de uma retração Classe III de Miller, de 6 mm de extensão. Neste relato de caso, o autor sugere que a utilização deste enxerto espesso de tecido conjuntivo e epitelial poderia agir como uma barreira impossibilitando uma migração epitelial, permitindo uma diferenciação celular e posterior formação de novo cemento com fibras inseridas e novo osso.

Mais recentemente, Bruno & Bowers (2000) avaliaram histologicamente um dente humano cuja extração havia sido indicada durante tratamento ortodôntico. Um ano após a cirurgia de enxerto subepitelial, os autores observaram que na porção mais apical da superfície radicular exposta ocorreu regeneração periodontal (com formação de novo osso, cemento, e ligamento periodontal) enquanto a maior extensão do defeito havia sido coberta por uma nova inserção de tecido conjuntivo.

Resultado diferente foi observado por Majzoub *et al* (2001) também em uma análise histológica de dentes humanos. Inicialmente o paciente apresentava recessões gengivais bilaterais nos primeiros pré-molares superiores (3 e 2,5mm) que foram tratados com enxerto de tecido conjuntivo subepitelial. Um ano após o procedimento, os sítios tratados apresentaram 83% e 100% de recobrimento, porém foram indicados para extração também por motivos ortodônticos. A avaliação histológica mostrou que a cicatrização

ocorreu predominantemente através da formação de um epitélio juncional longo, com a presença de um tecido semelhante ao cimento na porção mais apical do defeito.

Acredita-se que a presença do tecido conjuntivo presente no enxerto, desenvolva importante papel no direcionamento da expressão epitelial, sendo capaz de induzir a queratinização das células epiteliais que migram do tecido adjacente não queratinizado. Este fato ocorre porque as características do tecido conjuntivo se mantêm idênticas à da região doadora, ou seja, como o enxerto é removido de uma região onde o tecido conjuntivo suporta um epitélio queratinizado (palato, região retromolar ou rebordo edêntulo), sua função permanece a mesma na região receptora e, assim, culmina na queratinização das células que repovoarem sua superfície (Lindhe *et al.*, 2005).

2.5.3. Regeneração Tecidual Guiada (RTG)

Procedimentos convencionais como raspagem e alisamento radicular, curetagem, gengivectomia, cirurgias a retalhos e cirurgia óssea agem de maneira positiva nos defeitos anatômicos produzidos pela doença periodontal, reduzindo a profundidade de sondagem tanto à custa da promoção de um ganho de inserção clínico como também devido à retração dos tecidos gengivais. Durante vários anos, essas mudanças favoráveis foram interpretadas como verdadeira regeneração periodontal (Rosling *et al.*, 1976; Caton *et al.*, 1982). Entretanto, Caton *et al.* (1980), utilizando o modelo experimental em primatas, observaram que os procedimentos convencionais resultavam na formação de um epitélio juncional longo, sem a formação de nova inserção conjuntiva, mostrando a capacidade do epitélio em ocupar rapidamente a área da ferida, impedindo a regeneração periodontal.

Segundo Lindhe *et al.* (1982), a cicatrização através da formação do epitélio juncional longo não compromete a estabilidade dos resultados obtidos com a terapia cirúrgica. Entretanto, em longo prazo, a presença de uma barreira epitelial tem sido vista como uma seqüela indesejável resultante dos eventos de cura periodontal, na medida em que parece impedir a formação de

um novo aparato de inserção sobre a superfície radicular, além de não representar regeneração periodontal verdadeira (Cortellini, 1993).

Parashis *et al.* (1998), descrevem que um novo ligamento periodontal e um novo osso podem ser obtidos com uma repopulação seletiva com células do ligamento periodontal ou endósteo, resultando no desenvolvimento de uma modalidade de tratamento regenerativo denominado Regeneração Tecidual Guiada. A técnica de RTG requer a colocação de uma membrana ou barreira para cobrir o defeito ósseo, para que o tecido gengival (epitélio e tecido conjuntivo) não consiga alcançar a superfície radicular durante a cicatrização.

São encontradas, na literatura, diversas técnicas cirúrgicas efetivas visando o recobrimento radicular, utilizando: membranas não absorvíveis (Tinti *et al.* 1992; Tinti, Vincenzi e Cocchetto, 1994; Pini Prato *et al.*, 1996), membranas absorvíveis de ácido polilático (Pini Prato *et al.*, 1995; Casati *et al.*, 2000; Amarante *et al.*, 2000; Paolantonio, 2002) membranas absorvíveis de colágeno (Shieh *et al.*, 1997; Zahedi, Bozon e Brunel, 1998; Wang *et al.*, 2001), matriz dérmica alógena (Paolantonio *et al.*, 2002, Novaes *et al.*, 2001) e membranas absorvíveis associadas a outros biomateriais (Kimblel *et al.*, 2004 e Trabulsi *et al.*, 2004).

No estudo que serviu de base para a aplicação clínica da regeneração tecidual guiada, Gottlow *et al.* (1984) trataram defeitos ósseos do tipo deiscência em três macacos com a associação do retalho posicionado coronariamente e um filtro Millipore no grupo teste. A análise histológica após três meses de cicatrização demonstrou que as raízes recobertas pelo filtro exibiram maior extensão de nova inserção do que as raízes não cobertas. Os autores concluíram que o uso da barreira entre o retalho e a superfície radicular favoreceu a repopularização da área de cura pelas células do ligamento periodontal, não encontrando correlação entre formação do cemento e regeneração óssea.

Pitaru *et al.* (1988) avaliaram a eficácia de membranas de colágeno em prevenir a migração apical do epitélio juncional em defeitos do tipo deiscência em cães. Superfícies radiculares desnudas de caninos superiores

receberam a barreira, enquanto os dentes contralaterais serviram de controle. Os animais foram sacrificados 10 dias após a cirurgia, procedendo-se ao exame histológico e histométrico. Concluiu-se que as membranas de colágeno preveniram, parcialmente, a migração apical do epitélio e foram colonizadas por células do tecido conjuntivo, sendo incorporadas ao mesmo.

Ao compararem o tratamento de RTG realizado com membranas de politetrafluoretileno expandido (GORE-TEX®), ao tratamento convencional com RPC, Gottlow *et al* (1990) observaram os seguintes resultados histológicos: a) uma extensão de novo cemento com fibras inseridas de 1,7mm para o grupo controle e de 3,4mm para o grupo teste (RTG), representando 36,9% e 74,3% da extensão do defeito, respectivamente; b) formação de novo osso similar em ambos os grupos, em média de 1,4mm (30% da extensão do defeito); c) reabsorção radicular em um dente controle, no qual a porção apical do epitélio juncional não coincidiu com a porção coronária do novo cemento.

Shieh *et al.* (1997) utilizaram membrana de colágeno tipo I (BIOMEND®) para tratar 10 pacientes com média de idade de 40,7 anos, com recessões classe I ou II de Miller e profundidade $>$ ou $=$ 2mm. A técnica utilizada constitui-se de incisões trapezoidais (0,5mm mesial e distal às papilas dos dentes envolvidos), retalho mucoperiósteo até a crista óssea e, a partir deste ponto, retalho de espessura parcial, que se estende além da mucosa alveolar. Realizaram plastia papilar, promovendo um leito sangrante. A membrana posicionada e estabilizada na junção cemento-esmalte e o retalho coronal, possibilitou o recobrimento dessa e da ferida cirúrgica. Os pacientes receberam acompanhamento no pós-operatório nos períodos correspondentes a 1, 2 e 4 semanas, 3 e 6 meses. Resultados estatisticamente significativos ($p<0,05$) foram observados em relação à redução da extensão da recessão ($1,66\pm0,25$ mm) e quanto ao ganho ($p<0,05$) do nível clínico de inserção ($1,34\pm0,47$ mm). Obtiveram média de recobrimento radicular de $51,6\pm6,8\%$ e aumento da faixa de mucosa queratinizada de $0,9\pm0,32$ mm, após 6 meses.

Zahedi, Bozon e Brunel (1998) trataram 15 pacientes, com média de idade de 46,7 anos, que apresentavam recessões classe I de Miller com média de profundidade inicial de $3,7\pm1,4$ mm. Utilizaram membrana colágeno tipo I m

(PAROGUIDE®) para recobrimento radicular. Relataram um ganho do nível clínico de inserção de $3,5 \pm 1,4$ mm ($p < 0,001$), redução da profundidade da recessão de $2,9 \pm 1,1$ mm e média de cobertura radicular de 82,2% ($p < 0,001$) em um período de acompanhamento de 2 anos.

Sallum *et al.* (1998) avaliaram histometricamente a utilização da membrana de ácido polilático em defeitos tipo deiscência em cães, observando, em média, uma nova inserção de $2,79 \pm 0,74$ mm no grupo teste, onde se utilizou as membranas reabsorvíveis, e de $1,47 \pm 0,20$ mm no grupo controle, tratado pela técnica do retalho posicionado coronariamente. A extensão epitelial (epitélio sulcular e juncional) no grupo teste foi de $1,65 \pm 0,37$ mm e no controle foi de $2,64 \pm 0,83$ mm. As membranas resultaram em nova inserção estatisticamente maior e uma extensão epitelial significativamente menor, quando comparada à técnica convencional. Não foram observadas diferenças significativas quanto à formação de novo osso.

Em 2004, Griffin & Cheung apresentaram dois relatos de caso nos quais recessões gengivais de 2,0 a 2,5 mm de altura foram tratadas com uma dupla camada de esponja de colágeno contendo o PRP. As esponjas de colágeno foram recortadas de acordo com as medidas dos defeitos e então foram embebidas no PRP antes da adição da trombina bovina (1000 U) e do cloreto de cálcio a 10%. Os autores observaram completo recobrimento radicular seis meses após o procedimento cirúrgico e relataram que em um dos casos houve um ganho de 1,5 mm de tecido queratinizado.

Trabulsi *et al.* (2004) realizaram um estudo com 26 pacientes, 14 mulheres e 12 homens, com idade entre 20 a 65 anos, apresentando recessão classe I ou II de Miller (1985). Foram divididos em grupo-teste: matriz derivada de esmalte (Emdogain®, Straumann®) associada à membrana de colágeno tipo I (Biomend®) e grupo controle, somente a membrana de colágeno. Em ambos os grupos, as membranas foram recobertas com retalho posicionado coronalmente. O objetivo desse estudo foi avaliar se a adição do enxerto de matriz derivada de esmalte proporcionava um benefício adicional nesse tipo de terapia. Os resultados demonstraram que ambos os tratamentos reduziram a recessão. Após 6 meses ($P < 0.05$), sendo a porcentagem de cobertura de 75%

para o grupo controle e 63% para o grupo-teste. A cobertura total da recessão foi relatada em um paciente do grupo-teste e cinco do grupo controle. Dessa maneira, os autores concluíram que o acréscimo da matriz derivada de esmalte não trouxe benefícios adicionais ao resultado clínico final.

2.6. Biomateriais Utilizados Como Substitutos Do Enxerto Autógeno

Devido ao desconforto causado ao paciente por um procedimento cirúrgico adicional na obtenção do enxerto autógeno, e principalmente pela quantidade limitada de material para o enxerto, tem sido pesquisado técnicas e materiais que possam ser utilizados com sucesso no tratamento das recessões gengivais.

2.6.1 Enxerto de Matriz Dérmica Acelular (EMDA)

Desenvolvida como alternativa para o enxerto autógeno a matriz dérmica acelular foi a princípio empregada com sucesso em vítimas de queimaduras de terceiro grau desde 1992. Mais recentemente, a partir de 1994 esse biomaterial (AlloDerm®, Life Cell, The Woodlands, TX) passou a ser aplicada em cirurgias mucogengivais (Aucher *et al.*, 1998). Biomaterial de origem alógena é proveniente da pele humana de cadáveres, a qual é processada para remoção da epiderme e das células da derme, e posteriormente liofilizada. Este processo permite a não indução de reações inflamatórias específicas em resposta ao enxerto local. Como resultado tem-se uma matriz dérmica intacta composta por colágeno tipo IV e VII, elastina e laminina (Dezagun *et al.*, 2001).

O EMDA reúne como vantagens: utilização em áreas extensas de retrações com apenas um ato cirúrgico; menor tempo de execução cirúrgica; bons resultados estéticos; não imunogênico; não é necessária a sua remoção; fácil manuseio; ajuste simples; adaptação e sutura do enxerto semelhante ao utilizado para tecido conjuntivo autógeno; pode ser utilizado para uma

variedade de procedimentos cirúrgicos; estocável por mais de um ano; disponível em diversos tamanhos (Silverstein *et al.*, 1999). Entre as desvantagens incluem: maior tempo de cicatrização e custo adicional do material. (Henderson, 1999)

A matriz dérmica acelular serve como arcabouço para formação de uma arquitetura tecidual normal, agindo como um molde para a RTG. A derme acelularizada ao ser transplantada cria um espaço vazio que é ocupado por fibroblastos e outras células do hospedeiro. Fibroblastos e capilares invadem estes espaços através da interface leito receptor-enxerto e tendem a proliferar em direção à intimidade do tecido. Novas fibras de colágeno são produzidas e substituem as fibras existentes do enxerto, que vão sendo gradualmente reabsorvidas (Dubin *et al.*, 2000).

Harris (1999) comparou os resultados do recobrimento radicular utilizando dois procedimentos distintos: EMDA e o enxerto de tecido conjuntivo com retalho posicionado coronariamente. Quantidades similares de recobrimento foram obtidas nos dois tipos de tratamento, não havendo diferença estatística significativa (96,2% para o controle e 95,8% para o teste). O autor encontrou diferenças estatísticas significativas para redução da profundidade de sondagem (1,2mm para o enxerto conjuntivo e 0,7mm para o EMDA) e aumento de tecido queratinizado (2,0mm para o enxerto conjuntivo e 1,2mm para o EMDA). Clinicamente estas diferenças não foram consideradas importantes pelo autor já que em todos os casos foram obtidas estética e função adequadas, sulcos saudáveis, sem sangramento à sondagem.

O estudo de Lucszyszyn (2002) avaliou a cicatrização periodontal com 4, 8 e 12 semanas após o uso do EMDA em defeitos de deiscência óssea em cães. No período de 4 semanas, foi possível observar nítida diferença entre o tecido conjuntivo gengival e o material de enxerto, com a penetração de alguns vasos para o interior da Matriz Dérmica Acelular (MDA). Com 8 semanas, essas diferenças estruturais eram menos evidentes, mas foi encontrada maior quantidade de vasos infiltrando-se na área. Isto pode ser explicado pela invasão de células, principalmente de fibroblastos provenientes do retalho e/ou periósteo, responsáveis pela maior deposição de colágeno e

conseqüentemente de fibras que penetraram por entre a estrutura da MDA. Após 12 semanas, o enxerto de MDA estava completamente incorporado ao tecido conjuntivo gengival, mostrando características histológicas semelhantes às de um tecido conjuntivo normal, apenas com alguns remanescentes da MDA visíveis por entre o tecido conjuntivo.

Richardson & Maynard (2002) examinaram o reparo com 16 semanas após a colocação de matriz dérmica acelular sobre um canino superior não restaurável e encontraram que a matriz estava separada da raiz pelo tecido fibroso. A porção coronal do enxerto não foi revascularizada, nenhum cemento novo foi formado, mas o deslocamento do epitélio juncional foi visualizado. A porção apical da matriz pareceu estar reabsorvida e reposicionada pelo tecido conjuntivo.

O estudo de maior tempo de acompanhamento referente ao EMDA foi publicado por Harris (2004) no qual foram comparados o EMDA e o ETCS, a curto (12,3 a 13,2 semanas em média) e longo prazos (48,1 a 49,2 meses em média). Foi verificado que com o tempo há um colapso progressivo do recobrimento obtido com o EMDA. Entre 12 semanas e 48 meses a média de recobrimento radicular passou de 93,4% para 65,8%, a média de retração passou de 0,2mm para 1,1mm. Estas mudanças foram estatisticamente significativas. O tratamento com EMDA não pôde ser considerado estável quando comparado ao ETCS. Ao comparar o recobrimento obtido com o ETCS a curto e longo prazo, as médias passaram de 96,6% para 97,0% e a média das retrações mudou de forma não detectável. Estas mudanças não foram estatisticamente significativas.

2.6.2 Enxerto de Matriz Derivada de Esmalte (EMDE)

Uma proteína derivada da matriz de esmalte (PDME) comercialmente conhecida como Emdogain® (Biora AB, Malmo, Sweden) vem se mostrando uma alternativa efetiva na formação de novo aparato de inserção periodontal. É um biomaterial absorvível composto predominantemente pela proteína amelogenina, extraídas de germes dentais de suínos durante a fase

de odontogênese. As PDME atuam como barreira, criando condições favoráveis para a formação de cimento e conseqüentemente de novo osso e novo ligamento periodontal (Heijl, 1998).

Com o objetivo de verificar a influência da matriz derivada de esmalte (MDE), sobre as células do ligamento periodontal de pré-molares humanos, Gestrelus *et al* 1997, demonstraram que a MDE aumenta a proliferação de células do ligamento periodontal, mas não de células epiteliais. Além disso, a MDE aumenta a produção de proteínas pelas células do ligamento periodontal e promove a formação de nódulos minerais por estas. Na cicatrização de defeitos periodontais, uma das maiores dificuldades é promover a proliferação de células do ligamento periodontal e, ao mesmo tempo, limitar a repopulação da ferida por células de tecido gengival e epitelial.

Hammarstöm *et al.* (1997) estudaram o efeito da aplicação das PDME em defeitos tipo deiscência criados cirurgicamente em macacos. Os defeitos de aproximadamente 6,0 mm ápico-cervical foram criados usando brocas para a remoção do osso alveolar, na face vestibular, assim como o ligamento periodontal e cimento radicular. Diversas preparações contendo as proteínas derivadas da matriz do esmalte associados a diferentes veículos foram aplicadas sobre os defeitos antes do reposicionamento dos retalhos. Após um período pós-operatório de oito semanas com rigoroso controle de biofilme, os animais foram sacrificados e segmentos em bloco contendo os dentes, osso e tecidos moles foram processados para análise histológica. Os sítios tratados com MDE associados ao alginato de propileno glicol como veículo foram os que melhor responderam. Houve regeneração do osso alveolar, cimento do tipo acelular e ligamento periodontal correspondentes a aproximadamente 80% do defeito inicial. A não utilização das MDE ou quando associadas a outros veículos falharam em produzir regeneração periodontal.

Sallum *et al* (2003) avaliaram histometricamente aplicação da proteína derivada da matriz do esmalte (ENDOGAIN®) em retrações gengivais criadas cirurgicamente nos caninos superiores de cinco cães. Os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significantes quando o grupo teste

foi comparado ao grupo controle no qual foi usado apenas o retalho posicionado coronariamente.

Ainda estudando a ação do ENDOGAIN®, Sallum *et al.* (2004) confirmaram histometricamente o potencial regenerativo da MDE. Defeitos tipo-deiscência foram criados nas raízes mesiais dos terceiros e quartos pré-molares mandibulares de sete cães. Após três meses de cronificação, os defeitos foram aleatoriamente tratados por instrumentação periodontal (grupo controle) MDE, RTG (usando barreiras reabsorvíveis), e MDE associadas às barreiras. Após os quatro meses de cicatrização os animais foram sacrificados e os blocos mandibulares contendo os dentes submetidos à análise histométrica. Houve maior formação de cimento nos sítios que receberam MDE e a associação MDE-barreiras, sem diferenças entre si, em relação ao grupo controle. Os autores concluíram que não existe benefício na técnica associada em relação ao uso isolado de cada abordagem regenerativa.

2.7 Enxerto de Matriz Orgânica de Osso Medular Bovino

Dentre os atuais biomateriais a Matriz Orgânica de osso bovino têm sido comumente empregada na prática clínica Periodontal e Implantes Dentais, como substituto do material autógeno (Eppeley *et al* 2005). Tornando assim possível o preenchimento e/ou correção de defeitos ósseos, otimizando os aspectos biológicos, fisiológicos e estéticos das áreas envolvidas (Hall *et al* 1999, Eppeley *et al* 2005, Silva *et al* 2006).

Quanto aos seus mecanismos de atuação, esse biomaterial possui propriedades osteocondutoras, funcionando como arcabouço para a neoformação óssea. Além disso, proporciona uma menor morbidade para o paciente, redução do tempo operatório e dos custos, sendo de fácil acesso e quantidade ilimitada (Silva *et al* 2006). Além disso, este biomaterial formulado como matriz orgânica pode ser disponibilizado na forma de bloco ou partícula, associados ou não a proteínas osteogênicas (Fonseca 1997, Le Guéhennec *et al* 2004).

Extraída de ossos longos de bovino com idade entre 12 e 15 meses. A matriz óssea orgânica é a resultante do material que foi processado, ou seja,

inicialmente submetido a uma rigorosa lavagem para eliminação de resíduos de sangue, gordura e impurezas, em seguida é desmineralizado pela ação de ácido clorídrico. O produto resultante desta etapa será recortado ou particulado e finalmente liofilizado. Testes buscando avaliar esse biomaterial relatam que este induz a formação óssea, apresentando alta vascularização e celularidade. Do ponto de vista imunológico não induz o aparecimento de células linfocitárias, sendo absorvido num intervalo de 90 dias quando aplicado em subcutâneo de ratos, o que fundamenta sua aplicação em humanos (Taga 1996).

O uso de matriz óssea desmineralizada para o reparo de defeitos ósseos foi primeiramente descrito por Senn em 1889. Entretanto, experimentos utilizando osso desmineralizado em diversos modelos animais, foram realizados por Urist em 1965. O enxerto ósseo foi depositado em músculo de camundongos, ratos, coelhos, cães e humanos, obtendo resultados impressionantes; a matriz óssea obtida pela descalcificação óssea foi invadida por novos vasos sanguíneos e reabsorvida rapidamente, enquanto que novo osso era produzido e havia proliferação de células osteoprogenitoras. Isso ocorreu mesmo no tecido muscular, assim, essa matriz óssea tinha a propriedade de induzir a diferenciação de células indiferenciadas em células osteoprogenitoras com a formação de novo osso. O autor concluiu que haveria alguma substância na matriz óssea desmineralizada que induziria células indiferenciadas a se diferenciarem em células osteoprogenitoras ou condroprogenitoras. Posteriormente essa substância foi isolada e denominada *Bone Morphogenetic Protein* (BMP)- Proteína óssea morfogenética.

Trabalhando também com a matriz óssea desmineralizada Reddi, Ruggins, em 1972, idealizaram um protocolo de obtenção deste material diferente daquele estabelecido por Urist. Ambos os protocolos utilizam ácido hidrocloreídrico, entretanto Reddi, Ruggins utiliza como solvente orgânico o álcool absoluto e o éter dietil anidro enquanto que o de Urist utiliza o metanol e o clorofórmio; entre outras diferenças.

Mellonig, Bowers, Bailey em 1981, compararam o potencial de formação óssea utilizando coágulo, osso autógeno, osso alógeno (FDBA) e

osso alógeno desmineralizado (DFDBA). Foram confeccionados seis defeitos de 2,5mm de diâmetro nas calvárias de 35 cobaias. Os materiais foram introduzidos em câmaras de nylon não reabsorvíveis e colocados nos defeitos. Uma câmara vazia serviu como controle e um defeito em cada animal foi deixado vazio. Os animais foram mortos após: 3,7,14,21,28,35 e 42 dias. O potencial osteogênico foi significativamente maior no grupo DFDBA.

Objetivando comparar o potencial osteogênico de duas diferentes preparações de osso desmineralizado Marinak *et al* em 1989, implantaram estes materiais em subcutâneo de ratos. Trinta e dois ratos foram divididos de acordo com os grupos: Grupo I- Osso desmineralizado humano de acordo com o protocolo Reddi, Grupo II- Osso desmineralizado humano de acordo com o protocolo Urist, Grupo III- Osso humano somente liofilizado e Grupo IV- hidroxiapatita. Um mesmo volume de material era utilizado em todos os grupos. Cada animal recebia o mesmo material em quatro regiões ventrais. As regiões que receberam os implantes foram coletadas em duas, quatro e seis semanas. Foi realizada análise histométrica após seis semanas visando quantificar a neo formação óssea. Nos grupos III e IV não foram verificadas formação óssea. Houve significante maior formação óssea do grupo I em relação ao grupo II levando a conclusão de que o preparo do protocolo de Reddi apresenta vantagem em relação ao protocolo de Urist.

Becker *et al* em 1995, avaliaram o poder de osteoindução do DFDBA. Foram utilizados oito camundongos desprovidos de timo que receberam 25 mg de osso desmineralizado (DFDBA) em cada um dos músculos quadríceps e dois animais serviram como controle. Um deles recebeu 10 mg de hBMP/NCP + 25mg de (DFDBA) e outro 25 mg de matriz desativada. Após 21 dias os animais foram sacrificados, os membros foram radiografados e os músculos removidos para análise histomorfométrica. Ao exame radiográfico só foram observados pequenos ossículos no animal que recebeu osso + hBMP/NCP sem formação óssea nos demais grupos. A avaliação histométrica determinou a porcentagem de osso neoformado e não vital. Nos animais que receberam DFDBA houve predominância de osso não vital (78,4%-92,5%) com pequena quantidade de osso neoformado (7,7%-

21,6%). Não houve formação óssea no animal implantado com matriz desativada e o animal que recebeu osso + hBMP/NCP apresentou 96% de osso neoformado. Assim os autores concluíram que o DFDBA propicia indução de formação óssea insignificante clinicamente questionando sua propriedade de osteoindução.

Em 1997, Taga *et al*, avaliaram o potencial do Osseobond® (matriz óssea bovina desmineralizada) no reparo de defeitos ósseos em crânio de cobaias. Foram feitos dois defeitos de 8mm de diâmetro com trefina, na calvária de 12 animais. Um dos defeitos era preenchido com partículas de Osseobond® aglutinadas com o sangue do animal e o outro era preenchido somente com coágulo. Os animais foram sacrificados após 1, 3 e 6 meses. Os defeitos que continham apenas coágulo apresentavam-se totalmente abertos contendo tecido conjuntivo fibroso. Nos defeitos preenchidos com a matriz óssea bovina desmineralizada já não apresentava partículas do biomaterial após três meses. Após seis meses o espaço já estava completamente preenchido por tecido ósseo. Os autores concluem com este estudo que a matriz liofilizada bovina tem a capacidade de estimular a formação de novo tecido ósseo em defeitos que não se reparam espontaneamente.

Em 2003, Carneiro avaliou o reparo após a implantação de matriz de osso medular bovino desmineralizado, com duas granulações (macro e microgranular), em fêmur de coelhos. Além dos dois materiais alguns defeitos foram preenchidos apenas com coágulo sanguíneo para controle. Após 30, 90 e 180 dias os animais foram sacrificados. Os diferentes tamanhos não apresentaram diferença entre si na evolução do processo de reparo.

Apesar da existência de trabalhos utilizando a matriz óssea bovina desmineralizada em defeitos ósseos, não existe nenhum trabalho utilizando este biomaterial com a finalidade de recobrir raízes expostas.

Um novo material foi desenvolvido no Departamento de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru –USP- a matriz orgânica de osso medular bovino em forma de blocos, preparada segundo procedimento de

Urist; Mikulski; Boyd, de 1975 para eliminação de radicais antigênicos matriciais.

Desta forma considera-se pertinente avaliar o uso deste material em recessões gengivais criadas cirurgicamente em cães, no sentido de viabilizar sua posterior utilização na prática clínica.

3. PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi avaliar histologicamente a aplicabilidade da matriz orgânica de osso medular bovino para os recobrimentos radiculares de recessões gengivais em cães.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Seleção dos animais

Foram utilizados três (3) cães machos em idade adulta, pesando em média 15 kg, em bom estado de saúde geral com dentição completa e saúde periodontal satisfatória. Os animais foram tratados com ração e água *ad libitum* e monitorados diariamente até o final do experimento.

Todos os procedimentos foram executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia - Protocolo 087/08.

Após a chegada dos cães ao Biotério da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, os mesmos foram mantidos em baias separadas, as quais foram limpas diariamente. Os cães foram devidamente vacinados e submetidos às mesmas condições ambientais e alimentares, além de monitorados diariamente até o final de todo o experimento.

4.2. Procedimentos Cirúrgicos:

4.2.1. Anestesia

Antes da cirurgia, os animais foram pesados e, de acordo, com seu peso corpóreo, receberam via intramuscular, uma injeção de sulfato de atropina (Sulfato de Atropina 0,50mg®, Hipolabor, São Paulo, SP, Brasil) e 1,5mg/10 kg de cloridrato de dihidrotiazina (Rompum®, Bayer do Brasil AS, São Paulo, Sp, Brasil). Em seguida, os animais foram submetidos à anestesia geral, através de uma injeção intravenosa de uma solução de 2,5% de tiopental sódio (Tiopental®, Cristália produtos químicos e farmacêuticos Ltda, Itapira, São Paulo, SP, Brasil), na dose de 1ml/kg. A via intravenosa foi mantida com soro fisiológico durante o ato cirúrgico, possibilitando a hidratação do animal e a administração de doses de manutenção do anestésico. A área cirúrgica foi localmente anestesiada com lidocaína 2% (Merrel Lepetit Farmacêutica Ltda.,

Santo Amaro, SP, Brasil), contendo epinefrina (1: 50.000) com o objetivo de reduzir o sangramento e assegurar um efeito anestésico adequado.

4.2.2. Criação dos defeitos e inserção do biomaterial:

A anestesia local foi aplicada através da técnica infiltrativa, utilizando-se Lidocaína 2%, com o propósito de conseguir vasoconstrição e favorecer a hemostasia durante o ato cirúrgico. Com o auxílio de um bisturi da Bard Parker e lâmina 15C da Norton, realizou-se um retalho de espessura total na superfície vestibular com a extensão de mesial do 2º pré-molar inferior à distal do 2º pré-molar inferior. Após o descolamento do retalho e com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada, demarcou-se os pontos para a criação dos defeitos ósseos com as seguintes dimensões: 3mm no sentido méso-distal e 5mm no sentido ápico-oclusal, a partir da junção cimento-esmalte, nas raízes mesiais dos dentes envolvidos, simulando o defeito do tipo classe I de Miller, em que a altura das cristas ósseas é mantida e a recessão não ultrapassa a união muco-gengival, o que garante uma boa previsibilidade no recobrimento radicular. Os pontos foram unidos através de osteotomia realizada com o auxílio de um micro cinzel para osso tipo Ochsenbein, formando o defeito ósseo do tipo deiscência (Figura 1A).

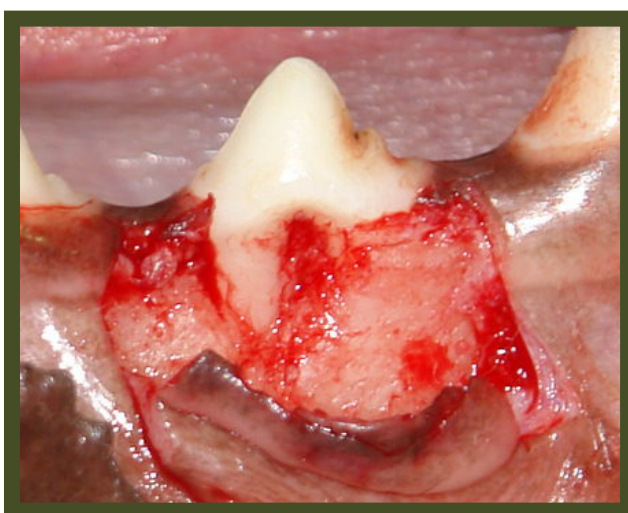


Figura 1A. Defeito confeccionado na raiz mesial

Posteriormente realizou-se o debridamento mecânico da superfície radicular com o auxílio de brocas de raspagem, descontaminação química utilizando ácido cítrico com tetraciclina a 3%.

Logo após a criação das recessões, foi efetuado o procedimento de recobrimento radicular (retalho reposicionado coronalmente). As medidas de referência foram àquelas previamente delimitadas na superfície radicular, sendo 5mm do limite apical até limite coronário (junção amelo-cementária) (Figura 1B).

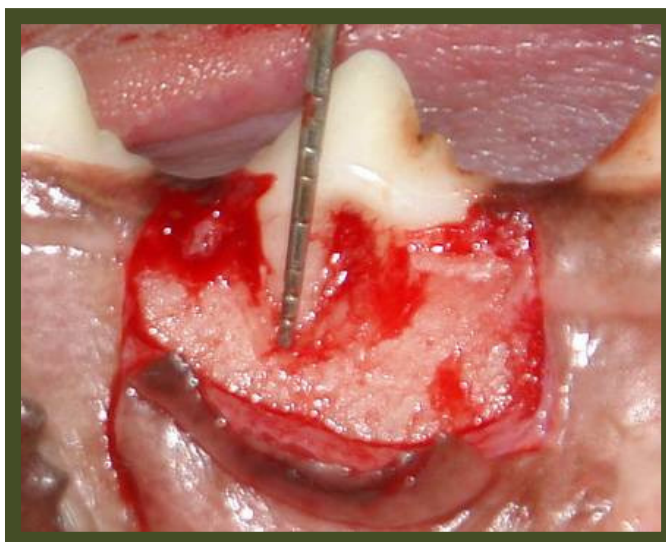


Figura 1B. Simulação do defeito Classe I de Miller (altura 5 mm)

Os tratamentos propostos foram:

- *Grupo teste matriz* – GT (raiz mesial do lado direito) – recobrimento radicular (retalho reposicionado coronalmente) utilizando a matriz orgânica de osso medular bovino liofilizado.
- *Grupo teste conjuntivo* – GTC (raiz mesial lado esquerdo) – recobrimento radicular (retalho reposicionado coronalmente) utilizando enxerto autógeno de tecido conjuntivo conforme técnica convencional, retirado da região palatina de molares do mesmo lado.

- *Grupo sem tratamento* – GST (Raiz distal de ambos os lados) – (retalho reposicionado coronariamente) sem utilização de enxerto e sem criação de defeito.

Cada animal recebeu 2 enxertos: autógeno na raiz mesial do lado esquerdo (Figura 3), e xenógeno (Figura 2) na raiz mesial do lado direito. Foi realizada a sutura com fio de sutura reabsorvível de vicryl 5-0 (Ethicon® - Johnson & Johnson, São Paulo). A raiz distal do lado direito e esquerdo não recebeu nenhum enxerto, apenas sofreu o deslocamento do retalho e posterior reposicionamento.

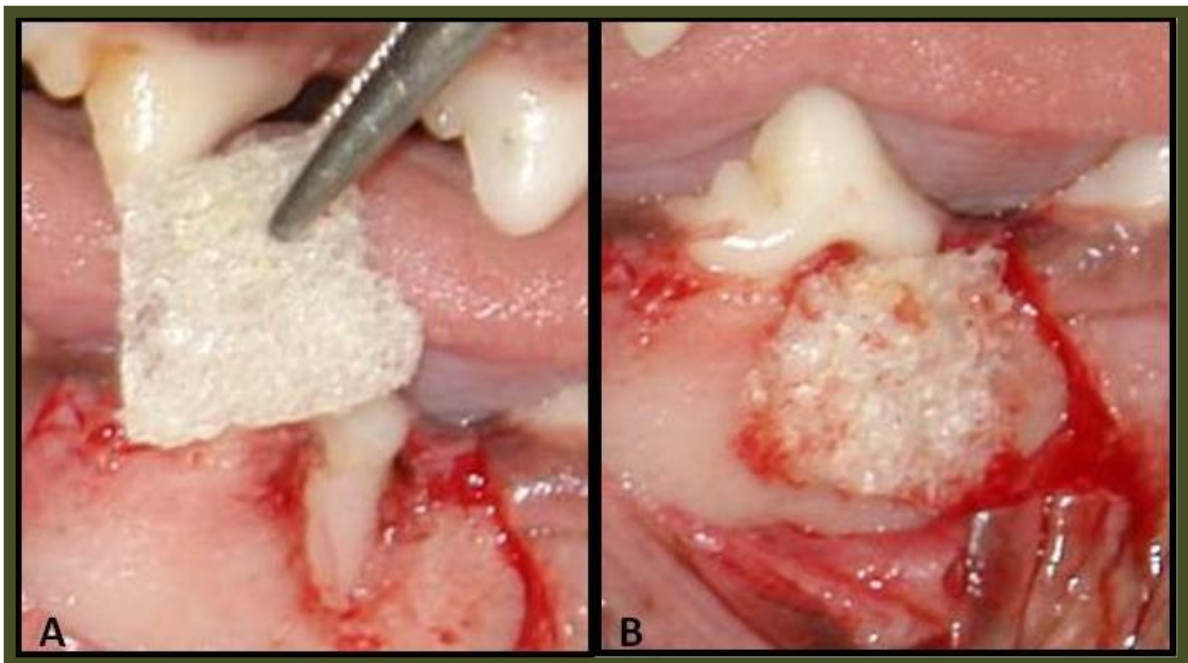


Figura 2 - (A) Matriz orgânica de osso medular bovino liofilizado. (B) Posicionamento da Matriz sobre o defeito



Figura 3 – (A) Enxerto de tecido conjuntivo. (B) Posicionamento do enxerto sobre o defeito.

Imediatamente após os procedimentos cirúrgicos e quatro dias depois, os cães receberam uma dose de antibiótico de uso veterinário de Penicilina/Estreptomicina (Pentabiótico Veterinário - laboratórios WYETH Ltda., São Paulo). A alimentação dos animais foi obtida com dieta pastosa durante três semanas, retornando à dieta normal após esse período.

4.2.3. Obtenção dos espécimes

Decorridos três meses do procedimento cirúrgico de tratamento das recessões gengivais (Figura 4), os animais foram anestesiados e os dentes em estudo foram removidos juntamente com o processo alveolar e tecido mole na superfície vestibular (Figura 5).



Figura 4 - Avaliação clínica após 90 dias da colocação do enxerto



Figura 5 – Remoção do bloco para análise histológica

4.3. Processamento histológico do material

Os blocos foram fixados (formol 10%), desmineralizados em solução de EDTA a 10%, pH 7,4 por aproximadamente 4 meses, as raízes mesial e distal foram separadas, e processados para inclusão em parafina pela técnica de rotina. Foram obtidos cortes no sentido vestibulo-lingual com espessura de 5 µm que foram corados em Hematoxilina e Eosina (HE) e analisados ao microscópio de luz. As lâminas foram avaliadas por dois operadores calibrados para análise qualitativa, procedendo a avaliação dos tecidos encontrados. Para ilustração, imagens histológicas foram capturadas em microscópio binocular Olympus BX 40 acoplado a câmera Olympus OLY 200 ligada a computador PC através de placa Digitalizadora Data Translation 3153, utilizando o Programa HL Image 97++.

5. RESULTADOS

Grupo sem tratamento – (Raiz distal de ambos os lados)

A análise histológica do grupo controle mostrou periodonto de proteção com características histológicas normais apresentando epitélio juncional estratificado, epitélio do sulco estratificado não queratinizado e epitélio gengival paraqueratinizado. O conjuntivo subjacente mostrou-se rico em grossos feixes de fibras colágenas em direções variadas, típico do ligamento gengival. Entre estas fibras observaram-se muitas células, principalmente fibroblastos, e microcirculação bem desenvolvida. Subjacente ao epitélio juncional observou-se presença de células inflamatórias.

A raiz apresentou superfície íntegra com dentina radicular revestida por cemento acelular no terço cervical e médio. Os outros componentes do periodonto de inserção, osso alveolar e ligamento periodontal apresentaram características histológicas normais.

Grupo teste matriz – (Raiz mesial do lado direito) e **Grupo teste conjuntivo** – (Raiz mesial lado esquerdo)

Nos dois grupos experimentais o periodonto de proteção mostrou características normais com presença de células inflamatórias subjacentes ao epitélio juncional. Em um caso observou-se pequena proliferação em sentido apical do epitélio juncional, recobrindo cerca de 15% da superfície radicular (Figura 6A).

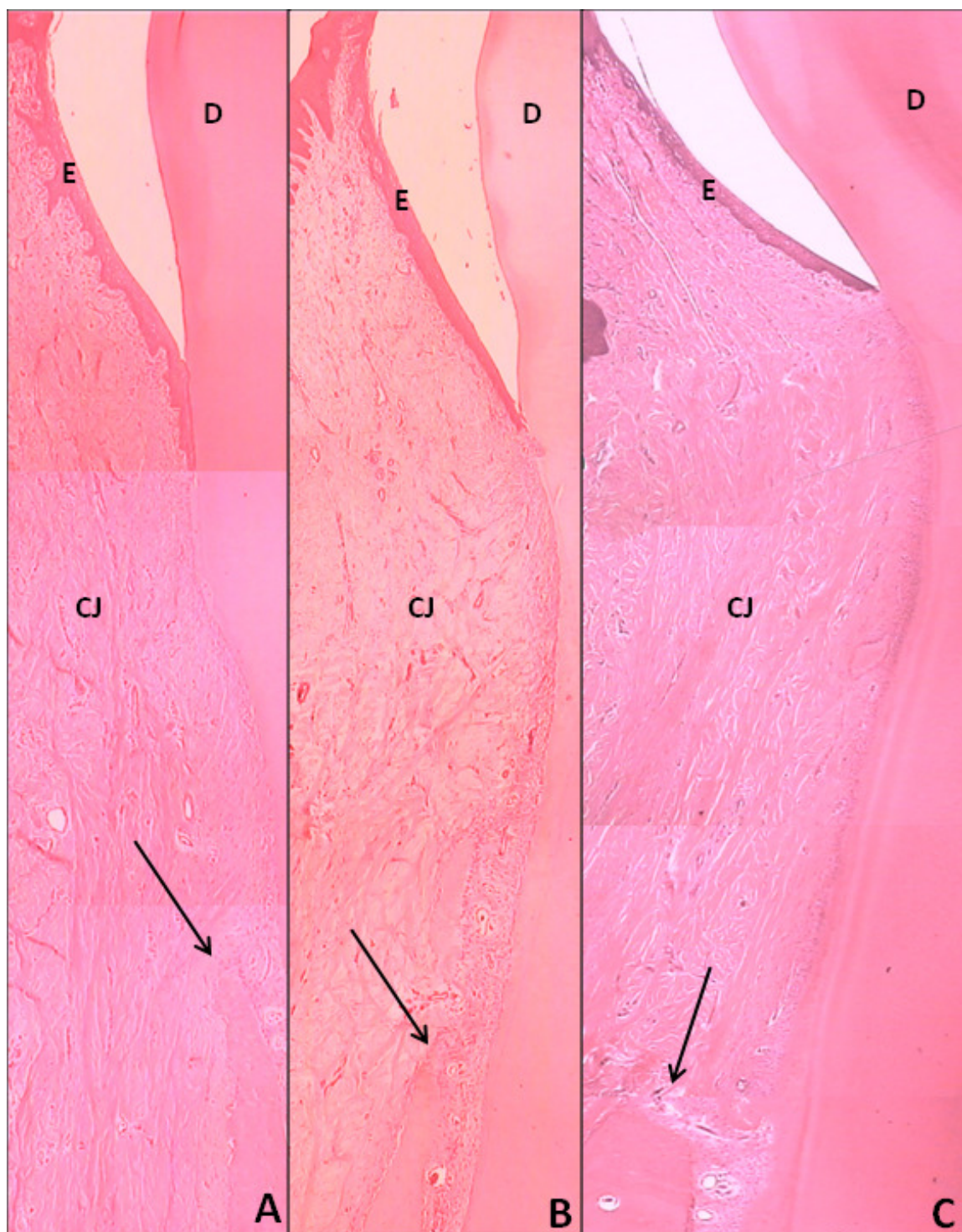


Figura 6 – Imagem Panorâmica com ampliação de 4X. Grupo Teste Conjuntivo:
 A – Cachorro I, B – Cachorro II, C – Cachorro III, D - Dentina, E – Epitélio, CJ – Conjuntivo,
 Seta – Crista óssea.

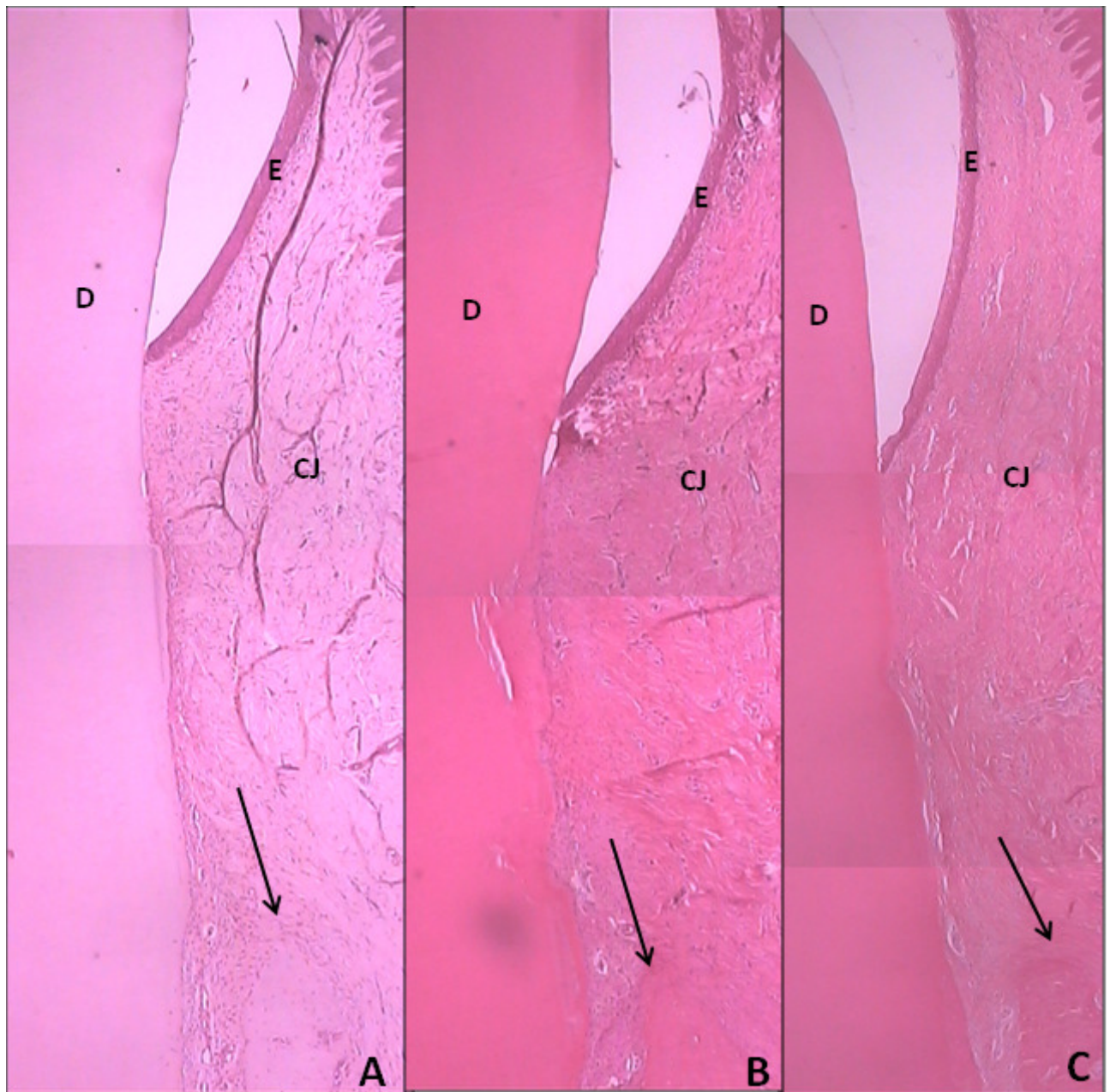


Figura 7 – Imagem Panorâmica com ampliação de 4X. Grupo Teste Matriz:
 A – Cachorro I, B – Cachorro II, C – Cachorro III, D - Dentina, E – Epitélio, CJ – Conjuntivo, Seta –
 Crista óssea.

Em ambos os grupos, a crista óssea vestibular estava abaixo do nível normal, devido ao defeito ósseo induzido. A superfície radicular apresentou regiões de reabsorção externa reparada por cimento celular, inclusive na região do periodonto de inserção. O conjuntivo subjacente mostrou-se rico em grossos feixes de fibras colágenas em direções variadas, inseridos em cimento, típico do ligamento gengival. As fibras do conjuntivo mostraram-se inseridas em toda extensão do cimento indicando a formação de uma nova inserção na região do defeito ósseo.

Também se observou sinais de reabsorção da tabua óssea externa, inclusive com presença de osteoclastos em atividade.

Em um espécime do grupo enxerto de conjuntivo foi observado uma região de reabsorção dental externa ativa, com presença de clastos.

6. DISCUSSÃO

A evolução das periodontopatias inflamatórias tem como consequência a formação da bolsa periodontal ou recessão gengival. Entretanto, a terapia será considerada como sucesso caso ocorra formação de uma inserção por meio de novo cimento, ligamento e/ou osso alveolar (Wikesjö & Selving, 1999). No que se refere à recessão gengival é de vital importância a formação de nova inserção, a qual promoverá a estabilidade biológica necessária à manutenção da margem gengival em sua nova posição.

No presente estudo, o defeito ósseo realizado para exposição radicular, simulou recessão classe I de Miller, que tem alto grau de previsibilidade. Também foi realizada descontaminação da superfície radicular, bem como obtenção de volume adequado de enxerto, fatores estes que interferem no sucesso do tratamento (Wang, 2001).

A técnica de posicionamento coronal do retalho com interposição do enxerto foi escolhida por ser esta amplamente utilizada e constituir um procedimento cirúrgico gengival estético, sendo indicado para tratamento de recessões únicas ou múltiplas (Langer & Langer, 1985). Entretanto, essa técnica implica no uso de segunda área cirúrgica como doadora, ocasionando restrições tais como: volume de material a ser obtido, aumento da complexidade do ato cirúrgico, duas áreas cirúrgicas, morbidade para o paciente (Del Pizzo, 2002).

O desenvolvimento de biomateriais utilizados como alternativa de substituição dos enxertos autógenos em cirurgias de recobrimento radicular tem como objetivo estimular a formação de uma nova inserção conjuntiva, com a vantagem de não mobilizar áreas doadoras.

A matriz orgânica bovina é um enxerto xenógeno muito utilizado como substituto ósseo, apresentando grande aplicabilidade clínica (Hall *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2006; Eppeley *et al.*, 2005). A matéria prima para sua produção é abundante, além de serem seguros em relação à transmissibilidade de doenças (Sogal & Tofe, 1999; Wenz *et al.*, 2001), pois o processamento industrial elimina os riscos de resposta imunogênica e transmissão de doenças

como a encefalopatia espongiforme bovina (Marx *et al.*, 1986, Wenz *et al.*, 2001).

A matriz orgânica de osso medular bovino utilizada no estudo é um biomaterial constituído basicamente de colágeno tipo I e apesar de sua utilização primária estar relacionada à reconstrução óssea, comportou-se de modo semelhante aos estudos realizados com a Matriz Dérmica Acelular constituída basicamente por colágeno tipo (IV e VII), elastina e laminina. Esta funciona como um arcabouço, promovendo a condução de células que posteriormente é substituído por novo tecido conjuntivo com conseqüente formação de nova inserção. Este fato pode ser justificado pela capacidade da matriz orgânica de osso medular bovino em forma de bloco atuar também como um arcabouço para a condução das células (Dezagun *et al.*, 2001).

A formação de nova inserção em detrimento à formação óssea pode ser justificado pelos estudos de (Rocha *et al.*, 2002), em que, apesar do colágeno do tipo I estar presente nos biomateriais utilizados e ser capaz de promover a migração osteoblástica, a manutenção de espaço é uma condição importante para que ocorra regeneração óssea. Em defeitos do tipo deiscência, utilizados neste estudo, pode ocorrer o colapso do material sobre a superfície radicular, devido ao íntimo contato provocado pelo retalho. Tal situação dificulta a formação e estabilização do coágulo, fazendo com que não ocorra, ou mesmo, ocorra uma mínima formação óssea (O'Brien *et al.*, 1995), possibilitando a migração de fibroblastos e formação de nova inserção.

Outro fator relevante para a não formação óssea talvez seja a ausência de BMPs, decorrente do processamento do material com agentes capazes de retirar BMPs e fatores de crescimento da matriz óssea, dificultando a osteogênese (Schwarz *et al.*, 1991) . A ocorrência de reação imunológica inativando as BMPs porventura existentes também poderiam bloquear a neoformação óssea (Urist *et al.*, 1985).

(Killey *et al.*, 1970) analisando a resposta celular ao osso bovino misto, isto é, contendo tanto a porção mineral como a orgânica, denominado Kiel bone (B. Braun®, Melsungem, Alemanha), implantado na calvária de coelhos, observaram que o aparecimento de células gigantes e a absorção do material

estavam associados a uma infiltração linfoplasmocitária, que poderia ter impedido a osteogênese. No entanto, no presente estudo, não foram observados linfócitos ou plasmócitos em quantidade que indicasse reação imunológica ao material no período analisado. Fato que confirma a biocompatibilidade do material uma vez que a matriz orgânica de osso medular bovino composta de colágeno é caracterizada por produzir uma baixa resposta imunológica (Hyder, Singh e Adam, 1992), quimiotaxia para os fibroblastos (Postlethwaite, Seyer e Kang, 1978) e capacidade de suportar o crescimento celular (Rosa *et al.*, 2003).

Biocompatibilidade é a capacidade do material de manter sua função em meio ao tecido receptor e desencadear resposta tecidual favorável (Williams, 1987). O material enxertado provocou resposta tissular favorável (invasão tecidual e angiogênese), foi rapidamente reabsorvido (não apresentava componentes do biomaterial), e ao final de 90 dias observou-se a presença de um conjuntivo rico em grossos feixes de fibras colágenas em direções variadas típico do ligamento gengival. Estes achados foram similares aos resultados de Taga (1999), que em estudo com matriz orgânica de origem bovina em subcutâneo de ratos não observou células linfocitárias, bem como resíduos do biomaterial em 90 dias, o que fundamenta sua aplicação em humanos.

A análise histológica mostrou áreas de reabsorção radicular superficial, possivelmente resultante da exposição radicular provocada pela remoção do cimento da superfície da raiz, o que deve estar associado à complexa combinação entre as variações biológicas e fatores mecânicos (Santos *et al.*, 2007). A reabsorção dos tecidos dentários mineralizados tem início quando o cimento é danificado mecanicamente, ou seja, a camada de cementoblasto é removida expondo a superfície de dentina radicular mineralizada, em decorrência de um processo inflamatório. Os cementoblastos não apresentam receptores para os mediadores químicos indutores de reabsorção óssea e, assim não comandam unidade de reabsorção e sim funcionam como “protetores da integridade da raiz dentária”. Desta forma a superfície radicular desprotegida pela ausência dos cementoblastos, pode ser

ocupada por osteoblastos advindos do osso vizinho e estes organizarem as unidades osteomodeladoras dando início à reabsorção radicular ((Brezniak e Wesserstein 1993; Consolaro, 2002).

No que se refere ao processo de reabsorção radicular a literatura relata haver uma correlação entre a intensidade do trauma e o nível de progressão da reabsorção radicular inflamatória (Consolaro, 2005). Desta maneira uma injúria física indireta causada pela função fisiológica ou por pequenos traumas como a concussão, por exemplo, pode resultar em reabsorção inflamatória externa de superfície transitória (Neville, 2004), devendo a mesma quando cessado o estímulo ser reparada por cemento. No presente estudo, as áreas de reabsorção externa mostraram-se reparadas por cemento celular, indicando que a reabsorção provavelmente foi causada por injúria mecânica e química, inerentes ao procedimento cirúrgico. Somente esse tipo de cemento é capaz de reparar áreas de reabsorção da superfície radicular em um tempo razoável, devido a sua capacidade de deposição muito mais rápida que qualquer outro tipo de cemento (Bosshardt e Schroeder em 1991). O cemento celular de fibras intrínsecas é encontrado em lacunas de reabsorção, em irregularidades e fendas de fraturas radicular o que evidencia uma importante função adaptativa (Bosshardt e Schroeder em 1991).

A formação da nova camada de cemento celular, apesar de irregular, expressou capacidade regenerativa da área permitindo que houvesse inserção de um novo conjunto de fibras. Fato que proporcionou por consequência uma estabilidade pra o tecido gengival em sua nova posição. Vale ainda ressaltar que neste caso não houve a necessidade do uso de uma segunda área cirúrgica, o que em uma situação clínica, se torna mais aceitável para o paciente.

Nas condições experimentais, o comportamento biológico da matriz orgânica de osso medular bovino aplicada no recobrimento radicular apresentou perspectivas favoráveis para o tratamento das recessões gengivais. Apesar de não ser objeto do estudo a que se ressaltar que além da compatibilidade biológica e formação de nova inserção conjuntiva foi observado

a possível estabilidade clínica aos tecidos de revestimento, visto a presença de grossos feixes de fibras colágenas na composição gengival.

Os resultados favoráveis obtidos é um indicativo da viabilidade do biomaterial testado. Entretanto, acreditamos que novas avaliações sejam necessárias para melhor compreensão das suas características e comportamento do material, como por exemplo, estudos imuno-histoquímicos. Tornando-o assim aplicável as necessidades odontológicas.

7. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que a matriz orgânica de osso medular bovino permite a reparação tecidual podendo ser um biomaterial alternativo no tratamento das recessões gengivais.

REFERÊNCIAS

Amarante ES, Leknes KN, Skavland J, Lie T. Coronally positioned flap procedures with or without a bioabsorbable membrane in the treatment of human gingival recession. **J Periodontol** 2000; v. 71, n. 6, p. 989-998.

Akapata ES, Jackson D. The prevalence and gingival recession in children and young adults in Lagos, Nigéria. **J Periodontol** 1979; V.50, n.2, p.79-83.

Aucher BM. *et al.* Augmentation of facial soft-tissue defects with alloderm dermal graft. **Ann Plast Surg** 1998; v. 41, p. 503-507.

Avery JK. **Fundamentos de Histologia e Embriologia Bucal. Uma abordagem clínica.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Backer DL, Seymour GJ. The possible pathogenesis of gingival recession. A histological study of induced recession in the rat. **J Clin Periodontol** 1976; Copenhagen, v.3, p.208-219.

Becker W. *et al.* Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. **J Periodont** 1995; v.66,n.9,p.822-8.

Bernimoulin JP, Luscher B, Muhlemann HR. Coronally repositioned periodontal flap : clinical evaluation after one year. **J clin Periodont** 1975; Copenhagen, v.2, n.1, p.1-13.

Bjorn H. Free transplantation of gingival autogenously. **Swed Dent J** 1963, Jonkoping, v.22, p.684-689,

Bosshardt DD, Schroeder HE. Establishment of acellular extrinsic fiber

cementum on human teeth. A light and electron microscopic study. **Cell and tissue research** 1991;263(2):325-36

Bosshardt DD, Selvig KA. Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root. **Periodontol** 2000 1997; 13: 41-75.

Brezniak N, Wasserstein A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 1. Literature review. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993; v.103,n.2,p.62-66.

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..

Carneiro E. Análise microscópica descritiva do efeito do tamanho das partículas de matriz de osso medular bovino desmineralizado na reparação de defeito ósseo em fêmures de coelhos. Bauru 2003. 72p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru- Universidade de São Paulo.

Casati MZ, Sallum EA, Cafesse 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(2): 238-248.

Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery.II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. **J Clin Periodontol** 1980; 7: 224-231.

Caton J, Proye M, Polson A. Maintenance of healed periodontal pockets after a single episode of rootplaning. **J Periodontol** 1982; 53:420-424

Consolaro A. In: Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. Dental Press Ed 2005;p.615.

Consolaro A. Reabsorções Dentárias na movimentação ortodôntica. In: Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. Dental Press Ed 2002; cap12,p.259-289.

Cortellini P, Clauser C, Pini Prato G. Histologic assessment of new attachment following the treatment of human buccal recession by means of guided tissue regeneration procedures. **J Periodontol** 1993; 64: 387-391.

Dean JW, Blankenship JA. Migration of gingival fibroblasts on fibronectin and laminin. **J. Periodontol** 1997; v. 68, p.750-757.

Del Pizzo, M. *et al.* The connective tissue graft: a comparative clinical evaluation of wound healing at the palatal donor site. A preliminary study. **J Clin Periodontol** 2002; v. 29, p. 848-854.

Dezagun EZ. *et al.* Long-term outcome of xenogenic dermal matrix implantation in immunocompetent rats. **J Surg Res** 2001; v. 96, p. 96-106.

Dubin MG. *et al.* Allograft dermal implant (Alloderm) in a previously irradiated field. **Laryngoscope** 2000; v. 110, p. 934-937.

Edel A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinized gingiva. **J Clin Periodontol** 1974; Copenhagen, v.1, p.185.

Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton NW. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. **J Craniofac Surg** 2005; 16(6):981-989.

Ferraris MEG, Muñoz AC. **Histologia e embriologia bucodental**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Figueiredo MC, Parra SLN. Aspectos normais da membrana periodontal e osso alveolar. 2002. Disponível em: URL: <http://www.odontologia.com.br/>

Fonseca RJ. **Oral and maxillofacial trauma**. Philadelphia: WB Saunders, second edition. 1997.

Gestrelus S *et al*. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. **J Clin Periodontol** 1997, v.24, n.9, p. 685-692.

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.

Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. Treatment of localized gingival recessions with coronally displaced flap and citric acid. An experimental study in the dog. **J Clin Periodontol** 1986; 13: 57-43.

Gottlow J, Nyman S, Karring T. Guided tissue regeneration following treatment of recession-type defects in the monkey. **J Periodontol** 1990; 61:680-685.

Griffin TJ, Cheung WS. Treatment of gingival recession with a platelet concentrate graft : A report of two cases. **Int J Periodontics Restorative Dent** 2004; 24: 589-595.

Grupe HE. Modified technique for sliding flap operation. **J Periodontol** 1966; Chicaco, v.37, p.491.

Grupe HE, Warren RF. Repair of gingival defects by a sliding flap operation. **J. Periodontol** 1956; Chicago, v.49, p.92-95.

Hall EE, Maffer RM, Hermann JS, Melloning JT, Cochran DL. Comparison of bioactive glass desmineralized freeze-dried bone allograft in the treatment intra

bony defects around implants in the canine mandible. **J Periodontol** 1999; 70(5): 526-35.

Hammarström L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol** 1997; v. 24, p. 669-677.

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 a; 70:813-821.

Harris RJ. Successful root coverage : A human histologic evaluation a case. **Int J Periodontics Restorative Dent** 1999 b; 19: 439- 447.

Harris RJ. Gingival augmentation with an acellular dermal matrix: human histologic evaluation of a case--placement of the graft on periosteum. **Int J Periodontics Restorative Dent**. 2004 Aug; 24(4): 378-85.

Heijl L. Periodontal regenerative potential using enamel matrix proteins (Emdogain). **J. of the S.D.A** 1998; v. 14, p. 53-62.

Henderson RD, Drisko CH, Greenwell H. Root coverage using Alloderm acellular dermal graft material. **J Contemp Dent Pract** 1999 Nov 15; 1(1): 24-30.

Hyder P, Sing G, Adam S. Humoral responses to type I collagen after surgical curettage procedures employing bovine collagen implants. **Biomaterials** 1992, v.13, p.693-96.

Itoiz MA, Carranza FAJr. A gengiva. In: Carranza FAJr, Newman MG. **Periodontia Clínica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.p. 12-31.

Joshiyura KJ. *et al.* Gingival recession: intra oral distribution and associated factors. **J Periodontol** 1994; Chicago, v.65, p.864-871.

Katchburian E, Arana V. **Histologia e Embriologia Oral**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Killey HC, Kramer IR, Wright HC. The response of the rabbit to implants of processed bovine bone (Kiel bone) and the effects of varying the relationship between implant and host bone. **Arch Oral Biol** 1970;15(1): 33-45.

Kimble KM, Eber RM, Soehren S, Shyr Y, Wang HL. Treatment of gingival recession using a collagen membrane with or without the use of demineralized freeze-dried bone allograft for space maintenance. **J Periodontol** 2004; 75: 210-220.

Labahn R. *et al.* Root dentin morphology after different modes of citric acid and tetracycline hydrochloride conditioning. **J. Periodontol** 1992; v. 63, p. 303-309.

Langer B, Langer L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. **J Periodontol** 1985; Chicago, v.56, p. 715-20.

Laslo DJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. **J. Periodontol** 1983; v. 54, p. 210-220.

Le Guéhenne L, Layrolle P, Daculsi G. A review of Bioceramics and Fibrin Sealant. **European Cells and Materials** 2004;8:1-11

Levine RA. Covering desnuded maxillary root surfaces with the subpithelial connective tissue graft. **Compend. Contin. Educ. Dent** 1991; v.12, n.8, p.568-72.

Lima LM, Chiarelli FM, Bourguignon Filho AM, Feitosa ACR, Dias E, Sendyk W. Utilização da matriz dérmica acelular (AlloDerm®) para tratamento de recessões gengivais. **Rev Port Estomatol Méd Dent Cir Maxilofac** 2005;46(3):165-9.

Lindhe J, Ericsson I. The effect of elimination of jiggling forces on periodontally exposed teeth in the dog. **J Periodontol** 1982; 53(9): 562-7.

Lindhe J. *et al.* A anatomia do periodonto. In: Lindhe J, **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2005; p.3-48.

Loe H. *et al.* The natural history of periodontal disease in man: The rate of periodontal destruction before 40 years of age. **J Periodontol** 1978; p.607-620.

Loe H. *et al.* The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, and extent of gingival recession. **J Periodontol** 1992; Chicago, v.63, p.489-495.

Lucszyszin SM. **Análise histomorfológica do processo de incorporação do enxerto de matriz dérmica acelular em cirurgias de recobrimento radicular** 2002; 90 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

Majzoub Z, Landi L, Grusovin MG, Cordioli G. Histology of connective tissue graft. A case report. **J Periodontol** 2001; 72: 1607- 1615.

Marinak K. *et al.* The osteogenic potential of two human demineralized bone preparations using a xenogeneic model. **J. Periodont** 1989; v.60,n.1,p.12-8.

Marx RE, Saunders TR. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca, RJ.; Davis, W. H. **Reconstructive Preprosthetic Oral and Maxilofacial Surg** 1896; p.347-428. Philadelphia, Saunders

Mellonig JT, Bowers GM, Bailey RC. Comparison of bone graft materials. Part I. New bone formation with autografts and allograftsm determined by Strontium – 85. **J. Periodont** 1981; v.56,n.6,p.291-6.

Miller PDJr. A classification of marginal tissue recession. **Int J. Periodont Rest Dent** 1985; 5:9.

Nary FH, Lig JP. Atrofia severa da maxila. In: Dinato Jc, Polido WD. **Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese**. Sao Paulo: Artes Médicas 2001; p.343-72.

Nelson SW. The subpedicle connective tissue graft: a bilaminar reconstructive procedure for the coverage of denuded root surfaces. **J. Periodontol** 1987; v.44, p.248.

Neville BW. *et al.* Patologia Oral e Maxilo facial.2 ed.Rio de Janeiro:Guanabara Koogan 2004; p705

Novaes AB. *et. al.* The development of the periodontal cleft. A clinical and histopathologic study. **J Periodontol** 1975; v.4, p.701-709.

Novaes AB, Grisi DC, Molina GO. *et al.* 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; v. 72, n. 11, p. 1477-1484.

O'brien WD. *et al.* Guided tissue regeneration using a biodegradable barriers membrane for new attachment: a clinical, histologic, and histometric study in dogs. **Int. J. Periodontics Restorative Dent**.1995, v.15, p.447-61.

Paolantonio M. Treatment of gingival recessions by combined periodontal regenerative technique, guided tissue regeneration, and subpedicle connective tissue graft. A comparative clinical study. **J Periodontol** 2002; 73: 53-62.

Paolantonio M; Dolci M; Esposito P; D'Archivio D; Lisanti L; Di Luccio A; Perinetti G. 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(11): 1299-1307.

Parashis A, Andronikaki FA, Tsiklakis K. Comparison of 2 regenerative procedures-guided tissue regeneration and demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects: a clinical and radiographic study. **J Periodontol** 1998; v. 751-758.

Pasquinelli KL. The histology of new attachment utilizing a thick autogenous soft tissue graft in area of deep recession: A case report. **Int J Periodontics & Restorative Dentistry** 1995; 15: 248-257.

Pfeifer JA, Heller R. Histologic evaluation of full and partial thickness repositioned flaps : a pilot study. **J Periodontol** 1971; 42: 331-333.

Pini Prato G, Clauser C, Magnani C, Cortellini P. Resorbable membranes in the treatment of human buccal recession. A nine-case report. **Inter J Periodont Rest** 1995; 15: 259-268.

Pini Prato G; Clauser C; Cortellini P; Tinti C; Vincenzi G; Pagliaro U. Guided tissue regeneration versus mucogingival surgery in the treatment of human buccal gingival recession. A 4-year follow-up study. **J Periodontol** 1996; 67(11):1216-1223.

Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Grosskopf A, Noff M. Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine. **J Periodontol** 1988; 59: 380-386.

Polson AM, Frederick GT. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. **J. Periodontol** 1984; v. 55, p. 443-446.

Postlethwaite AE, Seyer JM., Kang AH. Chemotatic attraction of human fibroblast for type I, II and III collagens and collagen derived peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1978, v.75, p. 871-75.

Powell RN, McEniery TM. A longitudinal study of isolated gingival recession in the mandibular central incisor region of children aged 6-8 years. **J Clin Periodontol** 1982; v.9, p.357-364.

Reddi AH, Huggins C. Biochemical sequences in the transformations of normal fibroblasts in adolescent rats. **Proc. nat. Acad. Sci. USA** 1972; v.69,n.6,p.1601-5.

Richardson CR, Maynard Junior JG. Acellular dermal graft: a human histologic case report. **Int. J. Periodontics Rest. Dent** 2002; v. 22, p. 21-29.

Rocha LB, Goissis G, Rossi, MA. Biocompatibility of anionic collagen matrix as scaffold for bone healing. **Biomaterials**.2002, v.23, p.449-56.

Rosa FP. *et al.* Tissue response to polyanionic collagen: elastin matrices implanted in rat calvaria. **Biomaterials**.2003, v.24, n.2, p.207-12.

Rosling B, Nyman S, Lindhe J. The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. **J Clin Periodontol** 1976; 3(1):38-53.

Rustogi KN *et al.* The association between sub gingival calculus deposits and the extent of gingival recession an a sample of Thai children and teenagers. **J. Cin Periodontol** 1991; v.3, suppl. B, p. B6- B9.

Sallum EA, Sallum AW, Nociti Jr FH, Marcantonio RAC, Toledo S. New attachment achived by guided tissue regeneration using a bioabsorbable polylacti acid membrane in dogs. **Int J Periodontic Restor Dent Carol Stream** 1998; 18:502-510.

Sallum EA, Casati MZ, Caffesse RG, Funis LP, Nociti Jr FH, Sallum AW. Coronally positioned flap with and without enamel matrix protein derivative for the treatment of gingival recession. **Am J Dent** 2003; 16:287-91.

Sallum EA, Pimentel SP, Saldanha JB, Nogueira-Filho GR, Casati MZ, Nociti FH, Sallum AW. Enamel matrix derivative and guided tissue regeneration in the treatment of dehiscence-type defects: a histomorphometric study in dogs. **J Periodontol** 2004; 75(10):1357-63.

Sallum EA, Nogueira-Filho GR, Casati MZ, Pimentel SP, Saldanha JB, Nociti Jr FH. Coronally positioned flap with and without acellular dermal matrix graft in gingival recession: A histometric study. **Am J Dent** 2006; 19:128-132.

Santos SH, Morosolli ARC. Considerações sobre as reabsorções radiculares externas. **Sotau R Virtual Odontol** 2007; 1:2-7.

Schwarz N, Schlag G, Th urnher M, Eschberger J, Dinges HP, Redl H. Fresh autogeneic, frozen allogeneic, and decalcifi ed allogeneic bone grafts in dogs. **J Bone Joint Surg Br** 1991;73(5): 787-90.

Senn N. On the healing of aseptic cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. **Amer. J. med. Sci** 1889; v.98, p.219.

Serino G, Wennstrom JL, Lindhe J, Eneroth L. The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with high standard of oral hygiene **Journal of Clinical Periodontology** 1994; 21, 57-63.

Shieh AT, Wang HL, O'neal R, Glickman GN, Macneil RL. Development and clinical evaluation of a root coverage procedure using a collagen barrier membrane. **J Periodontol** 1997; 68(8): 770-778.

Silva FM, Albergaria-Barbosa JR, Mazzonetto R. Clinical Evaluation of Association of Bovine Organic Osseous Matrix and Bovine Bone Morphogenetic Protein Versus Autogenous Bone Graft in Sinus Floor Augmentation. **J Oral Maxillofac Surg** 2006; 64:931-935.

Silverstein LH, Gornstein RA, Callan DP. The similarities between an acellular dermal allograft and a palatal graft for tissue augmentation: a clinical case. **Dent Today** 1999 Mar; 18(3): 76-9.

Sogal A & Tofe AJ. Risk assessment of bovine spongiform encephalopathy transmission through bone graft material derived from bovine bone used for dental applications. **J Periodontol** 1999;70(9): 1053-63.

Sullivan HC, Atkins JH. Free autogenous gingival grafts III. Utilization of grafts in the treatment of gingival recession. **Periodontics** 1968; v.6, n.4, p.1522-60.

Sumner CF. Surgical repair of recession on the maxillary cuspid: incisally repositioning the gingival tissues. **J. Periodont** 1969; Chicago, v.40, n.2, p.119-121.

Taga EM, Mulatinho J. **Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica**. Manual.1999; 3 ed.

Taga EM. **Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica**. BCI 1996; 3(1):13-20.

Taga R. Reparo de defeito perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **Rev. Bras. Implant** 1997; v.3 n.1 p.13-20.

Ten Cate AR. **Histologia bucal – Desenvolvimento, estrutura e função**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Tinti C, Vicenzi G. Treatment of gingival recession by guided tissue regeneration technique with Gore-tex membrane. **Clinical Variation. Quintessence Int.** 1990; v6, 465-8.

Tinti C, Vincenzi G, Cortellini P, Pini Prato G, Clauser C. Guided tissue regeneration in the treatment of human periodontal recession. A 12-case report. **J Periodontol** 1992; 63: 554-560.

Tinti C, Vincenzi G, Cocchetto R. Expanded polytetrafluorethylene titanium reinforced membranes for regeneration of mucogingival recession defects. A 12-case report. **J Periodontol** 1994; 65: 1088-1094.

Trabulsi M, Oh TJ, Eber R, Weber D, Wang HL. Effect of enamel matrix derivative on collagen guided tissue regeneration-based root coverage procedure. **J Periodontol** 2004; 75: 1446-1457

Urist MR. Bone: formation by autoinduction. **Science** 1965; v.150,n.3698,p.893-9.

Urist MR, Nillsson OS, Hudak R, Huo YK, Rasmussen J, Hirota W, Lietze A. Immunologic evidence of a bone morphogenetic protein in the milieu interieur. **Ann Biol Clin (Paris)** 1985; 43(5): 755-66.

Wang HL, Bunyaratavej P, Labadie M, Shyr Y, Macneil RL. Comparison of 2 clinical techniques for treatment of gingival recession. **J Periodontol** 2001; 72(10): 1301-1311.

Wang J, Glimcher MJ. Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone defects: I. Differences in the cellular response to demineralized bone matrix implanted in calvarial defects and subcutaneous sites. **Calssif. Tiss. Int.** 1999; v.65,n.2,p.156-65.

Wennstrom JL. Mucogengival therapy. **Ann Periodontol** 1996; Chicago, v.1, n.1, p.671-701.

Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the Risk of Transmitting Bovine Spongiform Encephalopathy through Bone Grafts Derived from Bovine Bone, **Biomaterials** 2001;22(12): 1599–1606.

Wikesjo UM, Selving KA. Periodontal wound healing and regeneration. **Periodontology** 2000 1999; v. 19, p. 21-39.

Williams DF. Definitions in Biomaterials. Oxford: Elsevier 1987.

Woodyard SG, Snyder AJ, Henley G, O`Neal RB. A histometric evaluation of the effect of citric acid preparation upon healing of coronally positioned flaps in nonhuman primates. **J Periodontol** 1984; 55:203-212.

Zahedi S, Bozon C, Brunel G. A 2-year clinical evaluation of a diphenylphosphorylazide cross linked collagen membrane for the treatment of buccal gingival recession. **J Periodontol** 1998; 69: 975-981.



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4531/4173; e-mail: ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº087/08 DO COMITÊ DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O

Projeto Pesquisa: "Avaliação da biocompatibilidade da matriz orgânica de osso medula liofilizado em mandíbula de cães".

Pesquisador Responsável: Denildo de Magalhães

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 26 de novembro de 2008.

Prof. Dr. Alcino Eduardo Bonella
Coordenadora do CEUA/UFU