



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



PATRICIA FURTADO GONÇALVES

Cirurgiã-Dentista

EFEITO DO CIMENTO DENTAL NA REGENERAÇÃO PERIODONTAL.

UM ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM CÃES.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Clínica Odontológica - Área de Periodontia.

PIRACICABA

2006

PATRICIA FURTADO GONÇALVES

Cirurgiã-Dentista

***EFEITO DO CEMENTO DENTAL NA REGENERAÇÃO PERIODONTAL.
UM ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM CÃES.***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Clínica Odontológica - Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr.

Co-Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr.

Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum

Prof. Dr. Sérgio de Toledo

Prof. Dr. Carlos Rossa Jr.

Prof. Dr. Giuseppe Alexandre Romito

PIRACICABA

2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário:Sueli Ferreira Julio de Oliveira– CRB-8ª. / 2380

G586e	<p>Gonçalves, Patricia Furtado. Efeito do cimento dental na regeneração periodontal: um es- histomorfométrico em cães. / Patricia Furtado Gonçalves. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006.</p> <p>Orientador: Francisco Humberto Nociti Jr., Márcio Zaffalon Casati. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Regeneração tecidual guiada. 2. Cães. 3. Cimento dentário. 4. Descontaminação. I. Nociti Jr, Francisco Humberto. II.Casati, Márcio Zaffalon. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.</p> <p>(sfjo/fop)</p>
-------	---

Título em inglês: The effect of root cementum on periodontal regeneration: a
histomorphometric study in dogs.

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): 1. Guided tissue regeneration. 2. Dogs. 3.
Dental cementun. 4. Decontamination.

Área de concentração: Periodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca examinadora: Antônio Wilson Sallum, Carlos Rossa Júnior, Francisco
Humberto Nociti Jr., Giuseppe Alexandre Romito, Sérgio de Toledo.

Data da defesa: 10/02/2006.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 10 de Fevereiro de 2006, considerou a candidata PATRICIA FURTADO GONÇALVES aprovada.

PROF. DR. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JÚNIOR

PROF. DR. GIUSEPPE ALEXANDRE ROMITO

PROF. DR. CARLOS ROSSA JÚNIOR

PROF. DR. SÉRGIO DE TOLEDO

PROF. DR. ANTONIO WILSON SALLUM

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, com muito carinho...

Aos meus amados pais, **Francisco** e **Eliana**, por estarem ao meu lado com dedicação, amor, carinho e confiança em toda minha trajetória. Sempre apoiaram todas as minhas decisões, me incentivando a buscar o melhor tanto na vida pessoal como profissional. A vocês, por tudo, minha eterna gratidão!

Aos meus irmãos queridos, **Ricardo**, **Marina** e **Bernardo**, meus maiores motivos de orgulho.

Aos meus avós tão queridos, **Laureano** e **Lala**, **Romero** e **Cândida**, meus eternos incentivadores.

E a toda a minha querida **família**.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus** em primeiro lugar, que sempre guiou meus passos, iluminando o meu caminho e me conduzindo para o bem. Agradeço-lhe pela minha vida, por tudo o que sou e alcancei até hoje. Agradeço-lhe por me acolher como filha amada e por me consolar em momentos difíceis, me dando a força necessária para seguir em frente, segundo a Sua vontade.

“Esforça-te, e tem bom ânimo; não pasmes, nem te espantes; porque o Senhor teu Deus é contigo, por onde quer que andares” (Josué 1:9)

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Francisco Humberto Nociti Junior**, pela amizade e inestimável contribuição na minha formação de pós-graduação. Com a sua convivência durante todos estes anos pude aprender muitíssimo. Agradeço-lhe por ter confiado em mim e me concedido à oportunidade de trabalhar contigo. Aprendi a admirá-lo como amigo, orientador e profissional. Como me orgulho de ser sua orientada!

Ao Prof. Dr. **Antonio Wilson Sallum**, pelo exemplo de profissionalismo, experiência e dedicação à carreira acadêmica. Do seu exemplo surgiu o meu amor pela docência e pela Periodontia.

Ao Prof. Dr. **Enilson Antônio Sallum**, pela amizade, exemplo de dedicação à pesquisa, pelo apoio, pelo incentivo e todas as oportunidades a mim concedidas durante a vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. **Márcio Zaffalon Casati**, pelo exemplo de profissionalismo jovem e, sobretudo, pela amizade e toda a atenção dispensada durante o curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. **Sérgio de Toledo**, pela grande contribuição em minha formação. A sua serenidade, enorme coração e bondade o fazem ser admirado por todos.

Ao Prof. Dr. **Antônio Fernando Martorelli de Lima** (*in memorian*), pela amizade e grande contribuição científica na minha formação durante a graduação e a pós-graduação. Saudades eternas.

À **Eliete Aparecida Ferreira Lima**, secretária da área de Periodontia, pela grande amizade, simplicidade, competência e pelos incomensuráveis auxílios prestados durante o curso de pós-graduação. Sem você nada seria possível.

À **Mariana Piovezan Fugolin**, técnica do laboratório de Periodontia, pela ajuda indispensável na execução da parte laboratorial deste trabalho e pelos momentos agradáveis de convivência no laboratório.

À Radiologia da FOP-Unicamp, na pessoa do Prof. **Dr. Francisco Haiter Neto**, pelo auxílio no processamento radiográfico deste trabalho.

Aos bioteristas **Wanderley** e **Fábio**, pelo indispensável cuidado e responsabilidade com os meus cães e pela convivência sempre agradável no biotério. À **Soraya** pelo grande auxílio com os animais e à **Dona Zuleica** (*in memorian*), pelo carinho e cuidado conosco no biotério. Saudades eternas...

Ao **Bruno** e à **Suzana**, pessoinhas indispensáveis na realização dessa tese. Pela disponibilidade e pelo esforço em fazer com que tudo acontecesse da melhor forma possível. Sobre tudo pela enorme amizade e companheirismo em todos os momentos.

Ao **João** e à **Poliana**, irmãozinhos queridos, por todas as experiências científicas e não científicas trocadas na pós-graduação, e, sobretudo pela imensa amizade de longa data...

À **Ângela**, amigona do peito, pelas conversas e pela amizade sincera. Você, tia Ló e tia Tatá foram minhas referências de família em Piracicaba!

Aos meus grandes amigos e colegas de turma, **Antonieta Côrtes, Renato Alves, Fernando Pinto, Luciana Machion, Robert Silva, Cristina Villar e Juliana Saldanha** companheiros de todas as horas, irmãos que a vida me deu e que cuidarei sempre com muito carinho, levando a nossa amizade aonde quer que eu vá. Somos parte de uma turma histórica, unida e participativa, que surpreendeu até a nós mesmos pela convivência sempre tão enriquecedora, tanto no âmbito científico como no pessoal. Crescemos e aprendemos juntos, e temos o orgulho de dizer que também fizemos crescer e aprender.

AGRADECIMENTOS

Ao Excelentíssimo Senhor Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz, magnífico reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp na pessoa do seu diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho e Diretor Associado, Prof. Dr. Mário Góes.

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalém, coordenador geral dos cursos de pós-graduação da FOP/Unicamp. Ao Prof. Dr. Roger William, coordenador do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/Unicamp.

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr., chefe do Departamento de Prótese e Periodontia. Ao Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, responsável pela área de Periodontia.

À FAPESP pelo apoio na forma de auxílio pesquisa e bolsa de doutorado para a execução deste trabalho.

A todos os professores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, responsáveis pela minha formação acadêmica na graduação, em especial ao Prof. Dr. Fausto Bérzin, pela minha iniciação científica.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Às minhas amigas-irmãs Fabiana Sicoli Tostes, Maria Betania Silva e Isabella Mello, Patrícia Chaves, Larissa Pelissari, Joseane Bernades e Karla Cristina pela grande amizade e agradável convívio durante minha vida. Mesmo que a distância nos separe, são pessoas que sei que posso contar em qualquer momento.

Aos amigos que ficaram da minha turma de graduação, e que compartilham comigo momentos tão especiais (mesmo que raros) até hoje.

A todas as moradoras e hóspedes da Travessa Dom Luiz de Bragança 373, e à própria casa em si, por ser meu lar tão querido desde 2001.

A todos os meus amigos conquistados em Piracicaba e que não caberiam nesta página, por terem compartilhado comigo tantos momentos agradáveis. Em especial à Vanessa e Roberto, Daiane e Douglas, Paola e Ale, Liana, Lóci, Regiane, Aline e Cristina, por terem segurado a minha barra em momentos difíceis e demonstrado o verdadeiro valor da amizade sincera.

À Liana Linhares Lima, por ser minha primeira orientada e por me possibilitar experimentar a relação de como ser amiga e orientadora. Aos demais amigos queridos da Periodontia, alunos das novas turmas de mestrado e doutorado, Bruno Benatti, Cléverson Silva, Daiane Peruzzo, Érica Peloso, Gabriela Cruz, Guilherme Zanatta, Marcelo Carvalho, Mariana Vogt, Sandro Bittencourt, Saulo Cabral, Fabrícia Suaid, Fernanda Ribeiro, Mauro Santamaría, Renato Casarin, Wagner Filho, Beatriz Bezerra, Thais Gonçalves, Roberta Tunes, Kamille Pontarolli e Daniela Feitosa. Obrigada pela amizade e companheirismo, tornando a convivência dentro da pós-graduação sempre melhor. Sentirei saudades...

À você, que eu possa ter esquecido, mas se julga meu amigo(a), e eu tenho certeza que é.

Meus sinceros agradecimentos...

**“É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.**

**Eu preferi na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.**

**Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver...”**

(Martin Luther King)

SUMÁRIO

CAPÍTULOS	Página
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1 Características gerais do cimento dental	04
2.2 Tipos de cimento	05
2.3 Contaminação do cimento dental	07
2.4 Padrões de remoção do cimento dental	12
2.5 Regeneração dos tecidos periodontais e do cimento dental	14
3. PROPOSIÇÃO	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Amostra	23
4.2 Anestesia	23
4.3 Cirurgia de exodontia	24
4.4 Colocação das ligaduras	27
4.5 Preparo pré-operatório	29
4.6 Cirurgia de tratamento dos defeitos	29
4.7 Controle pós-operatório	31
4.8 Processamento histológico	33
4.9 Avaliação histométrica	33
4.10 Análise Estatística	36
5. RESULTADOS	37
5.1 Observações Clínicas	37
5.2 Observações Histológicas	37
5.3 Resultados Histométricos	40
6. DISCUSSÃO	46
7. CONCLUSÃO	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9. ANEXO	60

RESUMO

Tendo sido demonstrada a possibilidade de preservação do cimento como forma alternativa de tratamento da doença periodontal, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do cimento dental na regeneração periodontal. Foram utilizados nove cães, sem raça definida, que receberam ligaduras de fio de algodão nos terceiros pré-molares inferiores, bilateralmente, para produzir lesões de bifurcação classe III. Após o levantamento de retalhos mucoperiosteais, os defeitos foram aleatoriamente escolhidos para receber um dos seguintes tratamentos: (A) remoção do tecido de granulação e uma cuidadosa raspagem e alisamento radicular, utilizando curetas e brocas, objetivando a remoção dos depósitos duros e moles e do cimento radicular, e polimento radicular com taças de borracha e pasta profilática; (B) somente a remoção do tecido de granulação e polimento radicular com taças de borracha e pasta profilática, objetivando a preservação do cimento radicular. Em ambos os grupos, os defeitos foram tratados com o princípio da Regeneração Tecidual Guiada (membranas reabsorvíveis - RESOLUT XT[®]) e os retalhos foram posicionados coronariamente e suturados. Após quatro meses os animais foram sacrificados para uma análise histomorfométrica. No grupo B, houve uma maior extensão ($3,59 \pm 1,67$ e $6,20 \pm 2,26$ mm para os grupos A e B, respectivamente; $p=0,004$) e espessura ($18,89 \pm 9,47$ e $52,29 \pm 22,48$ μm para os grupos A e B, respectivamente; $p=0,001$) de novo cimento, uma maior extensão de novo osso ($1,86 \pm 1,76$ e $4,62 \pm 3,01$ mm para os grupos A e B, respectivamente; $p=0,002$), além de uma maior extensão de regeneração periodontal, quando comparado ao grupo A ($p < 0,05$ – Wilcoxon). Observou-se ainda, no grupo B, uma menor formação de tecido epitelial/conjuntivo sobre a superfície radicular ($2,77 \pm 0,79$ e $1,10 \pm 1,48$ mm para os grupos A e B, respectivamente; $p=0,009$), além de uma maior porcentagem de preenchimento da área do defeito ($80,95 \pm 17,46$ e $94,50 \pm 10,27$

para os grupos A e B, respectivamente; $p < 0,05$), com uma maior proporção de novo osso e uma menor proporção de tecido epitelial/conjuntivo ($p < 0,05$). Dentro dos limites deste estudo, conclui-se que o cimento dental pode modular a regeneração periodontal.

ABSTRACT

The aim of the present study was to histometrically evaluate, in dogs, the effect of root cementum on periodontal regeneration. Nine mongrel dogs were used to obtain bilateral chronic class III furcation defects by placing cotton ligatures around both third mandibular premolars. The teeth were randomly assigned to receive one of the following treatments: (A) Scaling and root planning, by means of hand and rotatory instruments, in order to remove soft and hard deposits as well as all root cementum; (B) Removal of only soft microbial deposits, by polishing the root surface with rubber cups and polishing paste, aiming at maximum root cementum preservation. Both groups were treated with Guided Tissue Regeneration (GTR), with the use of resorbable polyglycolic-lactic-acid membranes (RESOLUT XT[®]) covering the buccal e lingual aspects of the furcation defect, and the flaps coronally positioned. Four months after the treatment, the animals were sacrificed and the histological sections obtained. Data analysis showed that a superior length (3.59 ± 1.67 vs. 6.20 ± 2.26 mm; $p=0.004$) and a thicker layer (18.89 ± 9.47 vs. $52.29 \pm 22.48\mu\text{m}$; $p=0.001$) of new cementum were observed for group B ($p<0.05$). Additionally, group B presented and a superior length of new bone (1.86 ± 1.76 vs. 4.62 ± 3.01 mm; $p= 0.002$) and less soft tissue along the root surface (2.77 ± 0.79 vs. 1.10 ± 1.48 mm; $p=0.009$), and a larger proportion of periodontal regeneration when compared to control ($p<0.05$). A larger area of new bone ($p=0.018$) and a smaller area of soft tissue ($p=0.024$) were also observed for group B ($p<0.05$ - Wilcoxon). Within the limits of this study, it can be concluded that root cementum may modulate periodontal regeneration.

1 - INTRODUÇÃO

A superfície radicular que foi exposta ao biofilme dental bacteriano parece ser biologicamente incompatível com os tecidos periodontais adjacentes. Além da presença do biofilme bacteriano (Christersson *et al*, 1991), essa incompatibilidade pode ser também atribuída ao cálculo subgingival (Mandel & Gaffer, 1986) e às bactérias aderidas à superfície deste cálculo (Friskopp & Hammarström, 1980).

A idéia de que superfícies de dentes humanos periodontalmente envolvidas exerciam efeitos citotóxicos sobre os tecidos foi proposta inicialmente por Hatfield & Baumhammers (1971). O fato foi corroborado por Morris (1972 e 1975), que observou a citotoxicidade de raízes dentais humanas periodontalmente comprometidas, implantadas em abdome de ratos. Aleo *et al* (1974 e 1975) demonstraram que a presença dos lipopolissacarídeos (LPS), endotoxinas derivadas da parede celular de bactérias gram-negativas, exerciam um efeito biológico inibitório do crescimento de fibroblastos gengivais *in vitro*. Investigações subseqüentes (Jones & O'Leary, 1978; Nishimine & O'Leary, 1979) sugeriram que os LPS eram absorvidos e penetravam no cimento, o que foi corroborado também por estudos que identificaram um carboidrato próprio dos LPS infiltrado profundamente no cimento (Fine *et al*, 1980).

A raspagem e alisamento radicular, com o objetivo de remover cálculo e depósitos bacterianos sobre a superfície radicular, assim como o cimento contaminado pelas bactérias e seus produtos (Aleo *et al*, 1975; Jones & O'Leary, 1978), é a forma de terapia mecânica mais comumente empregada em periodontia. Tem sido utilizada para descontaminação radicular, não somente no tratamento de doenças periodontais, como também empregada na manutenção da saúde do periodonto após a terapia e na prevenção da doença recorrente (Lindhe & Nyman, 1984). Os efeitos clínicos da raspagem e alisamento radicular estão, de uma forma geral, bem documentados e, em

combinação com uma boa higiene oral, resultam na diminuição da profundidade de sondagem das bolsas e na estabilização das medidas do nível clínico de inserção, particularmente em bolsas periodontais profundas (Kaldahl *et al*, 1994).

Entretanto, uma visão oposta, de que os LPS estavam somente depositados na superfície, e não ligados ao cimento, foi defendida por Daly *et al* (1980) e Nakib *et al* (1982), que demonstraram que os LPS eram fracamente aderidos e poderiam ser removidos facilmente com uma simples escovação ou polimento dental. A localização quase exclusiva dos LPS na superfície, e não no interior do cimento das raízes comprometidas periodontalmente, foi revelada por Moore (1986) e confirmada imunohistoquimicamente por Hughes & Smales (1986), que também negaram uma provável infiltração sub-superficial dos LPS no cimento, utilizando marcadores de anticorpos relacionados aos LPS. Em uma investigação subsequente utilizando microscopia eletrônica de varredura, Hughes *et al* (1988) mostraram que a maior parte dos LPS estava associada às bactérias, e não ao cimento.

Todos estes estudos apontam para o fato de que a significância clínica do LPS ligado ao cimento havia sido superestimada, e que, além disso, um alisamento radicular muito intenso não mais se justificaria para remover este LPS sobre o cimento ou qualquer outra substância citotóxica presente, das quais o LPS é o marcador mais representativo (Smart *et al*, 1990).

Com isso em mente, Nyman *et al*, em 1986 e 1988, confirmaram que a biocompatibilização da superfície radicular pode ser obtida apenas com o polimento da superfície radicular com taça de borracha e pasta profilática, e concluíram que a remoção intencional do cimento, com o objetivo de eliminar endotoxinas, não se justifica do ponto de vista de melhora dos parâmetros clínicos e histológicos.

Interessantes foram os achados de Schüpbach *et al* (1993), que encontraram que a regeneração periodontal (com arquitetura e função completamente restauradas) somente ocorreu em partes da superfície radicular onde havia algum cimento remanescente após a instrumentação, demonstrando um possível papel do cimento no processo de cura periodontal. Entretanto, ainda não existem dados que elucidem a importância da preservação do cimento dental na natureza e na quantidade dos tecidos formados após a terapia, particularmente utilizando técnicas regenerativas.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – Características gerais do cimento dental

O cimento é um tecido avascular e mineralizado que recobre toda a superfície radicular. Devido à sua posição intermediária, formando a interface entre a dentina e o ligamento periodontal, o cimento é um componente do dente, mas pertence funcionalmente ao aparato de inserção, ou seja, ao periodonto. Uma das principais funções do cimento 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 protegendo a integridade da superfície radicular (Bosshardt & Selvig, 1997).

Anteriormente, o conhecimento sobre o desenvolvimento e a estrutura geral do periodonto estava limitado a informações morfológicas. Entretanto, na última década, houve um grande progresso no campo da biologia molecular e celular, o que veio a fornecer um melhor entendimento dos eventos que ocorrem durante o desenvolvimento e regeneração dos tecidos periodontais, incluindo o cimento dental.

O cimento dental é um tecido único em vários aspectos: é avascular e não inervado, não sofre remodelação contínua como o osso, mas continua a crescer em espessura ao longo do tempo (Bosshardt & Selvig, 1997). No nível molecular, o cimento parece ter seu desenvolvimento controlado por vários fatores reguladores em comum com os do osso alveolar (McNeil *et al*, 1998, Saygin *et al*, 2000).

Existem evidências histológicas de que o cimento é essencial para a maturação do periodonto, tanto durante o desenvolvimento quanto na regeneração periodontal (Saygin *et al*, 2000). Estudos recentes têm contribuído para o entendimento dos fatores moleculares envolvidos na regeneração do cimento dental (McNeil & Somerman, 1993), mas a cementogênese continua sendo

pouco entendida em sua base biológica e celular.

2.2 – Tipos de cimento

Tradicionalmente, o cimento tem sido classificado em celular e acelular, dependendo da presença ou não de células (cementócitos) em sua estrutura. Outra classificação diz respeito à presença ou ausência de fibras colágenas intrínsecas ou extrínsecas em seu interior, formadas por cementoblastos ou fibroblastos, respectivamente (Jones, 1981; Schroeder, 1986). Com relação a estes aspectos, três tipos principais de cimento têm sido descritos em humanos.

O cimento acelular afibrilar cobre pequenas porções do esmalte dental, se estendendo sobre a junção cimento-esmalte. A localização deste tipo de cimento varia de dente para dente e ao longo da junção cimento-esmalte do mesmo dente (Schroeder & Scherle, 1988). Seus principais componentes estruturais são as glicosaminoglicanas (Schroeder, 1986) e sua significância funcional é desconhecida. A ausência de fibras colágenas indica que esta variedade de cimento não tem função de inserção.

O cimento celular de fibras intrínsecas contém cementócitos embebidos em uma matriz colágena rica em fibras. Estas fibras intrínsecas estão orientadas paralelamente à superfície radicular e têm um curso circular ao redor da raiz (Schroeder, 1986). Uma rápida deposição de matriz pelos cementoblastos, que ocorre no espaço entre as células derivadas da bainha epitelial de Hertwig e a superfície dentinária parece ser responsável pela incorporação de alguns cementoblastos, que se tornam os cementócitos aprisionados na matriz mineralizada (Bosshardt & Schroeder, 1991). O cimento celular de fibras intrínsecas é encontrado na região de bifurcação, na porção apical das raízes, em lacunas de reabsorção, em irregularidades e fendas de fratura radicular, o que evidencia uma importante função adaptativa, embora não tenha função direta de

inserção. Somente este tipo de cimento é capaz de reparar áreas de reabsorção da superfície radicular num tempo razoável, devido à sua capacidade de deposição muito mais rápida que qualquer outro tipo de cimento (Bosshardt & Schroeder, 1991).

O cimento acelular de fibras extrínsecas é encontrado nas porções cervical e média da raiz, cobrindo cerca de 40 a 70% da superfície radicular. Em dentes anteriores, pode cobrir também parte da porção apical, já que sua extensão em direção apical aumenta de dentes posteriores para anteriores. Sua função é de inserção, ancorando as fibras do ligamento periodontal à raiz. Sua estrutura consiste de uma densa rede de fibras colágenas curtas implantadas na matriz dentinária (glicosaminoglicanas) e orientadas perpendicularmente à superfície radicular (Schroeder, 1986). Quando estas fibras se tornam alongadas e contínuas com as fibras principais do ligamento periodontal, são denominadas de fibras de Sharpey (Schroeder, 1986). Embora o cimento acelular de fibras extrínsecas seja um tecido em crescimento constante, linhas aposicionais de crescimento podem ser identificadas, em associação com uma mudança abrupta na direção das fibras de Sharpey (Cho & Garant, 2000). Este tipo de cimento apresenta um nível de crescimento mais rápido nas superfícies distais ($4,3\mu\text{m}/\text{ano}$) que nas mesiais ($1,4\mu\text{m}/\text{ano}$) das raízes (Dastmalchi *et al*, 1990), o que sugere seu potencial de adaptação às demandas funcionais, como a resultante oclusal anterior e inclinação mesial. Em humanos, as fibras extrínsecas transpassam e se mesclam às fibras intrínsecas do cimento celular, formando uma rede densa de fibras extrínsecas e intrínsecas; este tipo de cimento é referido como cimento celular estratificado misto (Schroeder, 1986).

2.3 – Contaminação do cimento dental

Várias alterações patológicas ocorrem na superfície dental exposta ao ambiente da bolsa periodontal, em contato com as bactérias e seus produtos. A preocupação com a exposição do cimento às endotoxinas bacterianas, das quais o LPS é o representante mais estudado, formou a base biológica para a realização de uma extensiva raspagem e alisamento radicular, com o objetivo de remover a parte contaminada do cimento, além do biofilme e cálculo dental (Adelson *et al*, 1980; Aleo *et al*, 1974 and 1975; Bravman *et al*, 1979; Cogen *et al*, 1983; Karring *et al*, 1980; Maidwell-Smith *et al*, 1987; Wilson *et al*, 1986).

Aleo *et al* (1975) utilizaram fibroblastos gengivais humanos para estudar *in vitro* a adesão destas células à superfície radicular contaminada. Os autores verificaram que a porção contaminada de dentes extraídos com doença periodontal teve pouca ou nenhuma adesão de fibroblastos, enquanto que na porção remanescente não contaminada as células aderiram normalmente. A remoção mecânica do cimento contaminado (com raspagem e alisamento radicular) também resultou na adesão normal de fibroblastos à superfície radicular. Os autores concluíram que, extrapolando estes dados para uma situação *in vivo*, o sucesso clínico do tratamento periodontal dependeria de uma completa remoção das toxinas associadas ao cimento contaminado ou da remoção do próprio cimento.

Daly *et al* (1982) investigaram histologicamente a presença e localização dos lipopolissacarídeos bacterianos (LPS) no cimento de 36 dentes com doença periodontal, comparados a dois dentes controle saudáveis. Os dentes foram descalcificados e cortes seriados foram corados para a detecção de LPS. Os resultados indicaram a presença destas endotoxinas bacterianas penetrando cerca de 10 µm no cimento, embora houvesse a presença de depósitos bacterianos até próximo à junção cimento-dentinária. Os autores sugeriram que todo o cimento

deveria ser removido durante a raspagem, para se obter uma superfície livre de contaminação.

Adriaens *et al* (1988) encontraram bactérias cultiváveis presentes na dentina (87% das amostras) e na polpa (59% das amostras) de dentes com doença periodontal e livres de lesões cáries. Num estudo ultraestrutural subsequente (Adriaens *et al*, 1988), utilizando microscopia de luz e eletrônica de varredura para analisar 21 dentes humanos com doença periodontal avançada, o mesmo grupo de autores encontrou bactérias presentes no cimento, nos túbulos dentinários e até na polpa dental. Em dentes que foram instrumentados, observou-se a presença de bactérias no cimento dental remanescente. Os autores concluíram que estas bactérias poderiam servir como fonte de recolonização de sítios tratados periodontalmente, e, baseados nisto, propuseram a utilização de agentes químicos em associação à terapia mecânica.

Por outro lado, a extensão da contaminação do cimento dental tem sido bastante contestada, sendo motivo de muitas investigações na década de 80.

Jones & O'Leary (1978) testaram *in vivo* a efetividade da raspagem em remover endotoxinas bacterianas da superfície radicular de dentes periodontalmente comprometidos. As 48 superfícies instrumentadas continham, em média, somente 1ng a mais de endotoxinas que as superfícies de dentes saudáveis não-erupcionados, o que levou os autores a concluir que a raspagem foi capaz de produzir uma superfície radicular semelhante à de dentes saudáveis, quase totalmente livres de endotoxinas detectáveis.

Hughes & Smales (1986) descreveram o uso de um método imunohistoquímico para analisar a distribuição de endotoxinas no cimento radicular, em dentes expostos ao ambiente da bolsa periodontal. O grupo teste foi constituído por dentes humanos extraídos comprometidos por doença periodontal avançada, enquanto o grupo controle foi composto dentes extraídos por outras razões. Remanescentes de placa e cálculo foram removidos cuidadosamente da superfície radicular

com curetas, sem a intenção de remoção do cimento. Todos os dentes comprometidos periodontalmente apresentaram reação positiva na superfície do cimento, indicando a presença de endotoxinas sobre a superfície cementária; os dentes do grupo controle não demonstraram nenhuma reação. Nas áreas mais profundas do cimento, não houve qualquer reação, sugerindo que a remoção exagerada de cimento pode não ser necessária para a obtenção de uma superfície radicular livre de endotoxinas.

Moore *et al* (1986) analisaram a distribuição do lipopolissacarídeo (LPS) na superfície de dentes com doença periodontal, e verificaram que uma simples lavagem com água por 1 minuto foi capaz de remover 39% do LPS e a escovação por 1 minuto removeu 60% do LPS. Os achados de que 99% do LPS poderiam ser removidos com procedimentos conservadores levaram os autores a sugerir que a descontaminação da superfície radicular poderia ser atingida por outros métodos que não a tradicional raspagem e alisamento radicular.

Checchi & Pelliccione (1988) compararam instrumentos manuais e ultra-sônicos na remoção de endotoxinas da superfície radicular, em um estudo *in vitro*, utilizando dentes comprometidos periodontalmente, dentes com periodonto saudável, usados como controle, e alguns dos dentes com doença periodontal sem tratamento servindo como controle negativo. Após a imersão em cultura de fibroblastos, observou-se que ambos os métodos foram eficazes na remoção de endotoxinas da superfície radicular. Foram encontrados fibroblastos re-inseridos às raízes previamente doentes, após o mínimo de instrumentação com um aparelho ultra-sônico, removendo as endotoxinas sem remoção de cimento ou dentina e sem significativa alteração da superfície radicular. Os autores concluíram que a instrumentação radicular deve ser racionalizada e que a remoção intencional de cimento é desnecessária, como já haviam afirmado Moore *et al* (1986).

Cheetham *et al* (1988) investigaram, através de análise LAL (limulus amoebocyte lysate) e cromatografia a quantidade residual de lipopolissacarídeos (LPS) após a instrumentação radicular *in vitro*. Uma abordagem conservadora foi utilizada, consistindo de apenas 15 movimentos de raspagem por superfície, evitando sobreposição, em 18 dentes unirradiculares com doença periodontal. A raspagem removeu quantidades variáveis de LPS e na maioria dos casos (72%) houve menos que 0,24ng de LPS residual por dente. Estes achados levaram os autores a defender a teoria de que uma raspagem excessiva talvez não seja necessária para remover endotoxinas.

Fukasawa & Nishimura (1994) realizaram um estudo *in vitro* investigando a eficácia de uma curetagem superficial do cimento na promoção de adesão celular em superfícies radiculares de dentes humanos. Foram utilizados 10 dentes com doença periodontal, dos quais cinco foram levemente instrumentados para a remoção apenas do cimento superficial, enquanto os outros cinco não foram instrumentados. Os resultados mostraram que houve adesão de fibroblastos gengivais sobre as superfícies curetadas, mas o mesmo não ocorreu nas superfícies não instrumentadas. Os autores concluíram que a remoção superficial do cimento foi efetiva para promover adesão celular em superfícies previamente expostas à doença periodontal.

Okte *et al* (1999), num estudo *in vitro*, localizaram o LPS em apenas cinco dos 30 dentes com doença periodontal analisados, e a endotoxina estava localizada apenas superficialmente. Nenhum dos dentes apresentou LPS penetrando profundamente no cimento. Da mesma forma, Nakib *et al* (1982), estudando a penetração da endotoxina da *E. Coli* no cimento de dentes saudáveis e com doença periodontal, encontraram que as endotoxinas não penetram no interior do cimento, mas aderem fracamente à superfície radicular, podendo ser removidas com uma simples escovação por 1 minuto.

Carey & Daly (2001) avaliaram macroscopicamente e ultraestruturalmente o efeito da

descontaminação subgengival de superfícies radiculares *in vivo* com a utilização de pincéis “micro-brush”. Vinte e seis pacientes adultos, com 30 dentes indicados para extração por motivos periodontais, com pelo menos 30% de perda óssea, foram utilizados. Em cada dente, um sítio proximal foi descontaminado com a utilização do “micro-brush” por 2 minutos, enquanto o outro sítio proximal serviu como controle não tratado. Os dentes foram em seguida extraídos e corados com eritrosina a 2%. As superfícies coradas foram analisadas com microscopia eletrônica de varredura. As superfícies não tratadas exibiram-se 100% coradas, enquanto que as superfícies descontaminadas tiveram 16,1% de sua superfície corada. A análise microscópica revelou que as superfícies descontaminadas exibiram apenas “ilhas” de bactérias. Os autores concluíram que a descontaminação subgengival com microbrush foi efetiva na remoção de biofilme da superfície radicular de dentes periodontalmente comprometidos.

Cadosch *et al* (2003), investigando *in vitro* a associação entre o número de movimentos de raspagem e a redução de endotoxinas na superfície radicular, encontraram que após 9,3 movimentos de raspagem, em média, os níveis de endotoxinas atingiam um nível mínimo, compatível com níveis encontrados na saúde periodontal. Os autores comentaram que, após a remoção do cálculo, não seria necessário realizar uma raspagem adicional para a remoção do cimento ou da dentina.

Outras modalidades terapêuticas também foram investigadas quanto ao padrão de remoção de endotoxinas da superfície radicular. A irradiação *in vitro* com laser de neodímio (Liu *et al*, 2002) não foi capaz de eliminar endotoxinas extraídas do cimento de dentes com doença periodontal, mas a aplicação de tetraciclina (Shapira *et al*, 1996) parece neutralizar parcialmente estas endotoxinas.

Lindhe & Nyman (1984) sugerem que o determinante crítico da terapia periodontal não é a escolha da modalidade de tratamento, mas a descontaminação da superfície radicular e o padrão de

higiene bucal do paciente. Está devidamente estabelecido que a inflamação e infecção periodontais podem ser controladas por métodos cirúrgicos ou não cirúrgicos e a manutenção da saúde dos tecidos periodontais pode ser sustentada em longo prazo com um bom controle de biofilme diário pelo paciente e manutenção profissional periódica pelo dentista ou higienista (Kaldahl *et al*, 1994).

2.4 – Padrões de remoção do cimento dental

A raspagem e alisamento radicular com curetas, com instrumentos sônicos e ultra-sônicos são os procedimentos mais freqüentemente utilizados para o tratamento da doença periodontal. Entretanto, vários autores têm demonstrado que estes procedimentos resultam em padrões pouco previsíveis de remoção de cimento dental e, inclusive, de depósitos de cálculo sobre a superfície radicular.

O’Leary & Kafrawy (1983) realizaram um estudo *in vivo* com o objetivo de determinar se a remoção total do cimento dental poderia ser alcançada clinicamente. Neste estudo, 36 dentes com periodontite (perda de inserção de no mínimo 6mm), indicados para extração, foram instrumentados com 50 movimentos de raspagem, utilizando 3 diferentes tipos de curetas. Em seguida, os dentes foram extraídos e preparados para análise histológica. Dois dentes foram excluídos da amostra devido à orientação inadequada dos cortes. Nenhum dos demais 34 dentes teve o cimento totalmente removido da superfície radicular, e não houve diferenças aparentes quanto ao padrão de remoção entre os diferentes tipos de curetas. Grandes quantidades de cimento residual foram encontradas nas regiões mais apicais. Os autores concluíram que a remoção total do cimento durante a raspagem não é um objetivo clínico real. Estes achados foram sustentados por Coldiron *et al* (1990), que encontraram fragmentos de cimento mesmo após 70 movimentos de raspagem *in vitro*, em dentes com periodonto saudável. Num estudo subsequente com metodologia semelhante,

o mesmo grupo de autores (Kepic *et al*, 1990) verificou que nem mesmo a remoção total do cálculo das superfícies radiculares de dentes com doença periodontal foi possível, seja com instrumentos ultra-sônicos ou manuais. Anteriormente, foi demonstrado que depósitos de cálculo residual permaneciam sobre as superfícies instrumentadas com ultrassom ou curetas mesmo após a abertura de um retalho total para melhor acesso (Hunter *et al*, 1984).

Os efeitos da raspagem e alisamento radicular e da remoção de tecido dental sobre a polpa também tem sido objeto de investigação por alguns autores.

Wallace & Bissada (1990) avaliaram clinicamente a sensibilidade dental após terapia periodontal, utilizando testes térmico (frio e jato de ar) e elétrico. Os autores verificaram que a terapia periodontal, especialmente a terapia cirúrgica associada à retração gengival no pós-operatório, está associada a maiores níveis de sensibilidade dental.

Bergerholtz & Lindhe (1978), estudando o efeito da periodontite induzida por ligaduras sobre a polpa dental de macacos, encontraram alterações histológicas inflamatórias leves na polpa de 57% dos dentes com doença periodontal. Dentes submetidos à raspagem e alisamento radicular previamente ao acúmulo de biofilme não exibiram agravamento ou aumento da incidência das reações inflamatórias na polpa. Os autores concluíram que nem a destruição periodontal nem a raspagem são capazes de causar alterações pulpares severas, apesar de existirem reações inflamatórias de caráter leve.

Ryan *et al* (1984) estudaram histologicamente, em modelo felino (gatos), a resposta pulpar à raspagem e à aplicação de ácido cítrico sobre a superfície radicular. Os autores encontraram, após a raspagem, reações pulpares inflamatórias de leve a moderada em um período curto de avaliação (4 e 21 dias), e reação leve ou inexistente em um período longo de avaliação (83 dias). A aplicação subsequente de ácido cítrico resultou, em 28% dos casos, em abscesso ou necrose pulpar após 83

dias.

Na tentativa de estabelecer abordagens mais conservadoras de descontaminação radicular, evitando a remoção intencional excessiva do cimento, Kocher *et al* (2001) desenvolveram pontas sônicas revestidas de teflon, capazes de remover placa sem remover substância dental, com o objetivo de realizar um “polimento” subgingival. Os autores demonstraram a efetividade clínica destas pontas no retratamento de bolsas periodontais já instrumentadas com curetas, onde a remoção adicional de substância dental parece ser crítica, sugerindo a escolha das mesmas para utilização na terapia de manutenção, em bolsas residuais.

Anteriormente, Smart *et al* (1990) já haviam investigado, *in vitro*, o efeito de um regime conservador de descontaminação radicular com ultra-som na remoção de LPS de dentes com doença periodontal. Foram utilizados 20 dentes unirradiculares extraídos, que foram descontaminados com uma ponta de ultrassom (Cavitron TF-10), com pressão leve (50g) e sem sobre-instrumentar a mesma superfície (0,8 segundos/mm²). Os níveis de LPS encontrados após esta abordagem (menos que 2,5 ng por superfície) foram comparáveis àqueles encontrados em dentes saudáveis. Os autores concluíram que uma instrumentação excessiva não é necessária para remover endotoxinas da superfície radicular, e propuseram a utilização de um regime mais conservador de descontaminação radicular.

2.5 – Regeneração dos tecidos periodontais e do cimento dental

O princípio biológico da regeneração tecidual guiada foi proposto visando a regeneração periodontal (formação de novo cimento, novo osso e novo ligamento periodontal). Este princípio baseia-se na capacidade dos diferentes tecidos periodontais em promover a regeneração, e foi estabelecido ao longo de uma série de estudos que avaliaram a participação destes tecidos no

processo de cura (Nyman *et al*, 1980; Karring *et al*, 1980). Sua base racional surgiu dos postulados de Melcher (1976), o qual estabeleceu que as células capazes de neoformar as estruturas de sustentação dental eram as células do ligamento periodontal. Ainda não existem dados consistentes sobre o papel do cimento na regeneração dos tecidos periodontais.

Embora a extensão da injúria e a quantidade de tecido perdido sejam fatores determinantes importantes, um tecido danificado irá cicatrizar por regeneração ou reparo dependendo de dois fatores cruciais: a disponibilidade dos tipos celulares adequados e a presença ou ausência de fatores sinalizadores necessários para o recrutamento e estimulação destas células. No caso da regeneração do cimento dental, as células requeridas são os cementoblastos, entretanto, a origem dos cementoblastos e os fatores que regulam seu recrutamento e diferenciação ainda não estão completamente entendidos. Modelos *in vivo* para avaliar o padrão de expressão de moléculas específicas durante a cementogênese e estudos *in vitro* sobre os efeitos de componentes do cimento em diferentes tipos celulares periodontais tem sido desenvolvidos para melhor investigar como os componentes do cimento poderiam regular a regeneração deste tecido (Saygin *et al*, 2000). Estes estudos podem gerar informações úteis para o desenvolvimento de novas técnicas e abordagens na terapia periodontal regenerativa.

Nos últimos anos, muito se tem pesquisado sobre o mecanismo de regeneração e reparação tecidual. Uma das estratégias tem sido a identificação de fatores que interferem nesse processo e na modulação da resposta tecidual seja por meio da adição de células, materiais e fatores de crescimento (Giannobile, 1996).

Os fatores de crescimento desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e crescimento dos tecidos, além de participarem na dinâmica do remodelamento (McCauley &

Somerman, 1998). Dentre esses fatores estão o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF-I e -II), Fator de Crescimento Transformador (TGF- α e - β), Fator de Crescimento dos Fibroblastos (FGF ácido e básico), Fator de Crescimento Epidermal (EGF), entre outros (McCauley & Somerman, 1998). Tais fatores são proteínas sinalizadoras sintetizadas com o objetivo de modular a cicatrização normal de uma forma ordenada, estimulando e regulando o processo de cicatrização tecidual. São produzidos por uma grande variedade de células e podem estimular a quimiotaxia, proliferação e função secretora tanto de maneira autócrina (estimulando a célula responsável pela sua síntese) quanto parácrina (estimulando células próximas às células responsáveis pela sua síntese) (McCauley & Somerman, 1998). Devido a esta capacidade de regular o processo de cura, a sua utilização pode ter alguma implicação clínica (Koveker, 2000).

Com o objetivo de esclarecer alguns eventos biológicos que ocorrem durante a regeneração periodontal, Ivanovski *et al* (2000), investigaram imunohistoquimicamente a expressão de componentes da matriz extracelular associadas à regeneração tecidual guiada. Para isso, foram utilizados defeitos periodontais criados cirurgicamente nos segundos pré-molares inferiores de quatro cães, tratados com raspagem e alisamento radiculares e com o uso de membranas não-reabsorvíveis. Após um período de cicatrização de quatro semanas, os autores encontraram colágeno do tipo I localizado principalmente no osso neoformado, enquanto que o colágeno tipo III era mais abundante nos tecidos moles preenchendo o defeito. Proteoglicanas (decorina e biglicana) não foram encontradas na matriz extracelular, mas exibiram intensa marcação intracelular próxima ao cimento em regeneração e também no osso. A marcação para BMP-2 e BMP-4 foi fraca no osso, mas forte na matriz extracelular dos tecidos moles regenerados. Osteopontina (OPN) e sialoproteína óssea (BSP) foram fortemente localizadas no osso e no cimento em regeneração. Osteocalcina

(OCN) foi localizada no cimento maduro, no cimento em regeneração e fortemente associada aos cementoblastos, embora tenha apresentado marcação fraca no osso em regeneração comparada a do osso maduro. Os autores concluíram que a distribuição de OCN, OPN e BSP, em particular, indicam a presença de atividade osteogênica e cementogênica, essencial para a regeneração periodontal. Segundo os autores, o padrão de imunolocalização heterogênea observada nos tecidos neoformados após RTG evidencia a dificuldade em manipular populações celulares diversas, de maneira coordenada, para atingir regeneração periodontal, de modo previsível.

Amar *et al* (1997), num estudo imunohistoquímico, investigaram as moléculas associadas com tecidos formados após RTG em macacos *Rhesus*, comparados a tecidos controles sem RTG. Os autores encontraram marcação para osteonectina na matriz extracelular dos tecidos neoformados, particularmente no tecido conjuntivo adjacente ao novo osso e nas fibras conjuntivas. Uma intensa marcação para sialoproteína óssea também foi encontrada no tecido conjuntivo adjacente ao novo osso no grupo teste e não no controle, e a proteína de adesão do cimento (CAP) foi localizada nos tecidos após RTG, mas não no controle. Os autores concluíram que os tecidos formados sob condições de RTG contém células e macromoléculas normalmente associadas com a formação de osso e cimento. Num estudo bastante semelhante em cães, Matsuura *et al* (1995) encontraram que a fibronectina e a vitronectina estavam associadas nas fases precoces do reparo, e que a regeneração periodontal estava associada com componentes da matriz específicos para os diferentes tipos de tecido periodontal, com marcação para osteopontina e sialoproteína óssea na fase de formação de tecidos mineralizados.

Numa revisão sobre a cicatrização periodontal e a regeneração do cimento dental, Grzesik & Narayanan (2002) chamaram a atenção para a matriz extracelular do cimento, cuja composição é similar a matriz de outros tecidos mineralizados, mas com características fisiológicas únicas. A

matriz do cimento dental contém moléculas não detectáveis em outros tecidos, que influenciam a atividade de vários tipos celulares. A matriz orgânica do cimento é composta primariamente de colágeno (90% de colágeno tipo I e 5% de colágeno tipo III). Duas proteínas não colagenosas (osteopontina e sialoproteína óssea), constituintes da matriz, parecem exercer um papel importante na diferenciação de células progenitoras em cementoblastos (Saygin *et al*, 2001). Outros fatores de crescimento com habilidade de promover proliferação e diferenciação de células cementoprogenitoras, como BMP-2, -3 e -4, PDGF- β , TGF- β e IGF-I, também estão presentes na matriz do cimento. Muitos destes componentes também estão presentes no osso, entretanto alguns autores descreveram moléculas que parecem ser exclusivas do cimento dental. Uma delas é uma molécula semelhante à IGF-I, porém com maior peso molecular, denominada fator de crescimento do cimento (CGF) (Ikezawa *et al*, 1997). Arzate *et al* (1992) descreveram a proteína de adesão do cimento (CAP), uma proteína colagenosa. Anticorpos para a CAP marcam somente o cimento, e não outros componentes do periodonto ou outros tecidos investigados. Recentemente, Hara *et al* (2005) desenvolveram um anticorpo monoclonal para a junção cimento-ligamento periodontal associado à regeneração periodontal, denominado anti-TAPmAb, e examinaram suas características imunohistoquímicas e antigênicas. Este anticorpo foi encontrado com marcação positiva na junção cimento-ligamento periodontal e na pré-dentina humana, mas negativa em todos os outros tecidos humanos e animais examinados. Em lesões cimento-ossificantes, o anti-TAPmAb foi encontrado na periferia do cimento e tecidos semelhantes a cimento, mas não no osso. Estas moléculas específicas do cimento podem ser úteis no estudo da cementogênese e regeneração do cimento dental.

Estudos histológicos em modelo animal têm demonstrado diferentes níveis de formação de novo cimento dental, dependendo da modalidade terapêutica empregada.

Num estudo detalhando aspectos estruturais e ultraestruturais dos tecidos periodontais formados após RTG em cães, utilizando microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão, os autores observaram que regeneração periodontal (formação de novo cemento, ligamento periodontal com fibras colágenas funcionalmente orientadas e formação de novo osso) ocorreu somente em partes da superfície radicular onde havia cemento remanescente após a raspagem dental. Nova inserção ocorreu sobre áreas de novo cemento e de dentina periférica (Schüpbach *et al*, 1993).

Blömlöf *et al* (1987) realizaram um estudo em macacos, com o objetivo de comparar o reparo periodontal e a quantidade de nova inserção com ou sem a remoção do cemento dental. Os autores utilizaram o modelo de indução de periodontite experimental utilizando ligaduras de elástico ortodôntico por seis meses, que foram capazes de produzir lesões severas de bifurcação nos segundo pré-molares, primeiros e segundos molares inferiores. A formação de novo osso e novo cemento foi avaliada através de marcação com tetraciclina. Nova inserção não foi observada após a raspagem com instrumentos manuais ou ultra-sônicos, que resultou na formação de epitélio juncional longo; entretanto, a limpeza da superfície radicular com dois detergentes (cloreto de cetilpiridíneo e N-lauril-sarcosina), sem a realização de raspagem e alisamento radicular, resultou numa quantidade significativa de nova inserção.

Nyman *et al* (1986) realizaram um estudo em cães, com o objetivo de investigar se a descontaminação da superfície radicular deveria incluir a remoção do cemento dental para se obter saúde periodontal. Para isso, foram utilizados cinco cães, que receberam ligaduras de fio de algodão nos segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores, por quatro meses, até que a perda óssea atingisse metade do comprimento radicular. Dois meses após a remoção das ligaduras, num desenho de boca dividida, os animais receberam raspagem e alisamento radicular com curetas e

brocas e acesso cirúrgico de um lado da mandíbula, enquanto o outro lado recebeu apenas polimento dental com taças de borracha e pasta profilática, após o acesso cirúrgico. Os animais foram mantidos com um rigoroso controle de placa, e dois meses após o tratamento foram sacrificados para avaliação histométrica. Os dados histométricos mostraram que o resultado da cicatrização foi similar nos dois grupos, com a formação de epitélio juncional longo adjacente a um tecido conjuntivo não inflamado. Nas partes mais apicais dos defeitos houve a formação de nova inserção, independente do tipo de tratamento. Os autores sugeriram que a remoção do cimento dental com o objetivo de eliminar endotoxinas da superfície radicular não é necessária para a obtenção de saúde periodontal.

Num estudo clínico subsequente em humanos, com o mesmo objetivo, Nyman *et al* (1988) incluíram 11 pacientes adultos com doença periodontal de moderada a avançada. Num desenho de boca dividida, quadrantes teste foram raspados com curetas e brocas com acesso cirúrgico e quadrantes controle foram tratados apenas com polimento dental com taças de borracha e pasta profilática. Os depósitos de cálculo no grupo teste foram destacados com o uso de curetas não afiadas, com o cuidado de não remover o cimento dental. Os pacientes foram mantidos sob um rígido controle de placa, inicialmente incluindo profilaxia profissional a cada 15 dias, por 3 meses e re-chamadas a cada 3 meses para controle de placa a partir de então, até o fim do estudo (24 meses). Os resultados mostraram que o mesmo grau de melhora da saúde periodontal foi atingido após os dois tipos de tratamento. Uma baixa frequência de sítios com sangramento a sondagem e uma alta frequência de sítios com bolsas rasas foram alcançadas em todos os quadrantes. Entre o exame inicial (baseline) e os exames subsequentes (6, 12 e 24 meses) houve ganho no nível clínico de inserção para ambos os grupos. Este ganho foi mais pronunciado nas bolsas inicialmente mais profundas e similar para as duas modalidades de tratamento. Os autores concluíram que a remoção

intencional excessiva do cimento dental, com o objetivo de eliminar endotoxinas, parece não estar justificada.

3 - PROPOSIÇÃO

Este estudo se propôs a verificar, histometricamente em cães, o efeito do cimento dental na regeneração periodontal, em lesões de bifurcação classe III tratadas pelo princípio da regeneração tecidual guiada (RTG).

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Amostra

Foram selecionados 09 cães adultos, machos, sem raça definida, com aproximadamente 2 anos de idade, pesando em média 25kg, com dentição completa e bom estado de saúde periodontal previamente à realização do estudo. Os animais foram submetidos a tratamento profilático, incluindo vacinação, dieta e higiene.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos no biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp, sob as mesmas condições ambientais, em baias individuais, tratados com ração e água “*ad libitum*”.

Todos os procedimentos foram executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Unicamp - Bioterismo da Unicamp (CEMIB) sob protocolo 468-2 (Anexo).

4.2 - Anestesia

Todas as cirurgias foram realizadas sob anestesia geral por meio de injeção intravenosa de uma solução de 2,5% de tiopental sódico (Tiopental[®]- Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brasil), na dose de 1mL/kg, posteriormente a uma sedação com cloridrato de dihidrotiazina (Rompun[®]- Bayer do Brasil SA, São Paulo, Brasil), intramuscular, na dose de 1,5 mL/10 kg de peso corpóreo. A área cirúrgica foi localmente anestesiada com Lidocaína 2% (DFL Indústria e Comércio LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), contendo epinefrina (1:100.000), com o objetivo de reduzir a hemorragia e assegurar um efeito anestésico local adequado. 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 geral.

4.3 - Cirurgia de Exodontia

Duas semanas antes do procedimento cirúrgico os animais foram sedados com cloridrato de dihidrotiazina, intramuscular (Rompun[®] - Bayer do Brasil S.A, São Paulo), na dose de 1,5 mL/10 kg de peso corpóreo, com o objetivo de remover cálculo supragengival e biofilme dental bacteriano. Após este período, foi realizada a cirurgia de exodontia, onde os segundos e quartos pré-molares inferiores (P2 e P4) de cada cão foram extraídos bilateralmente, criando-se um espaço mesio-distal edêntulo para o P3. Para isso, foi realizada uma incisão intrasulcular com lâmina de bisturi número 15, estendendo-se da mesial do primeiro molar até a mesial do primeiro pré-molar; um retalho de espessura total foi elevado e os pré-molares (P2 e P4) foram seccionados através da bifurcação de suas raízes com auxílio de brocas para odontoseção em alta rotação (Carbide FG nº 703 - SS White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e irrigação contínua com soro fisiológico estéril. As raízes mesial e distal foram luxadas e removidas separadamente (Becker *et al*, 1995), os alvéolos foram curetados e os tecidos reposicionados e suturados com fio reabsorvível catgut simples 4.0 (**Figura 1**). Nesta fase, foram realizadas radiografias periapicais, para certificar a integridade das cristas ósseas e a ausência de restos radiculares.

Após o procedimento cirúrgico, foi administrada uma dose única de Pentabiótico para animais de pequeno porte, uma associação de penicilina e estreptomicina (0,1mL/kg), via intramuscular (Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, Laboratório Wyeth – WhiteHall Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Um antiinflamatório não-esteroidal (Flunixin Meglumine - Banamine[®] 10mg/mL, Ind. Quim. e Farm Schering-Plough S/A Veterinária, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), na dosagem de

1mL/10kg, foi administrado por 3 dias consecutivos, via subcutânea, com o objetivo de controlar a dor e o edema pós-operatório. Durante um período de 15 dias, iniciando-se 12 horas após a cirurgia, os animais receberam dieta pastosa – ração em lata (BomGuy, Dumilho SA Ind. e Com., Espírito Santo, Brasil), para prevenir qualquer trauma sobre a área operada e sobre as suturas.

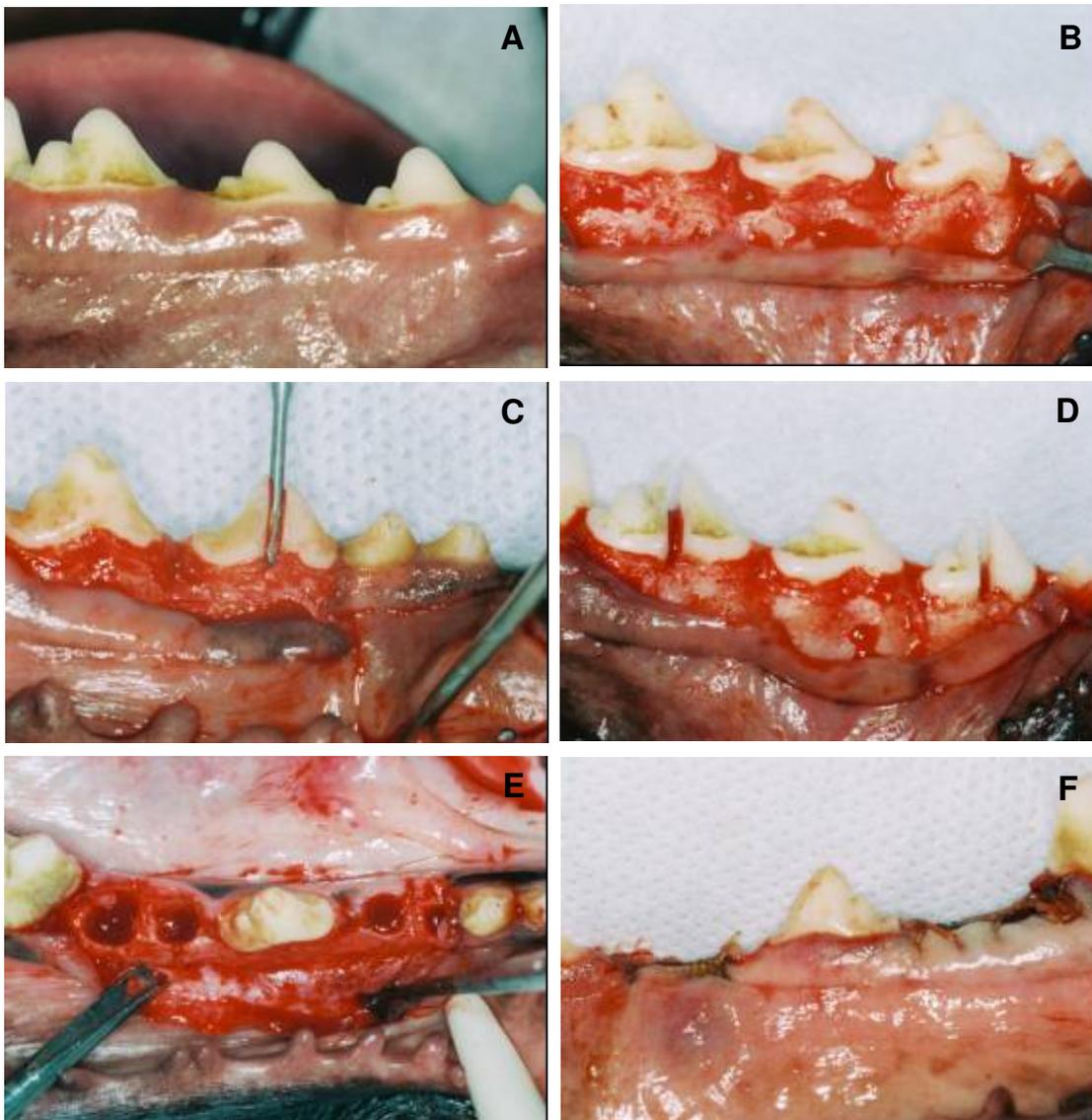


Figura 1 – Ilustração clínica das principais etapas do procedimento cirúrgico de exodontia. **A:** Aspecto inicial dos pré-molares inferiores do cão. **B:** Retalho de espessura total rebatido, após a realização das incisões intrasulculares, com exposição da tábua óssea. **C:** Odontosecção com broca Carbide 701 até a região da furca, com separação das raízes mesiais e distais. **D:** Aspecto clínico dos pré-molares seccionados (P2 e P4). **E:** Aspecto oclusal dos alvéolos após a extração do P2 e P4. Verificar a preservação da espessura e altura do osso alveolar. **F:** P3 isolado, com o retalho reposicionado e suturado.

4.4 - Colocação das ligaduras

Dois meses após a extração dos dentes, os animais foram sedados com cloridrato de dihidrotiazina, intramuscular (Rompun[®] - Bayer do Brasil S.A, São Paulo), na dose de 1,5 mL/10 kg de peso corpóreo, para a colocação das ligaduras. Um fio de algodão (Linha 10, Corrente Ind. e Com, SP, Brasil) foi amarrado ao redor do P3, no nível do sulco gengival, para acumular biofilme dental (**Figura 2**). Radiografias do P3 foram tomadas com um aparelho de Raios-X (Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e películas radiográficas convencionais (Ektaspeed, Kodak, São José dos Campos, SP, Brasil) utilizando a mesma kilovoltagem (70kv) e miliamperagem (10mA) com o objetivo de realizar o controle radiográfico da evolução da doença. A partir da colocação das ligaduras, os animais foram monitorados clínica e radiograficamente a cada mês, sob sedação, com sondagem e radiografias periapicais do P3, bilateralmente, até que a perda óssea produzisse uma lesão de furca grau III, atingindo cerca de metade do comprimento radicular (**Figura 3**).

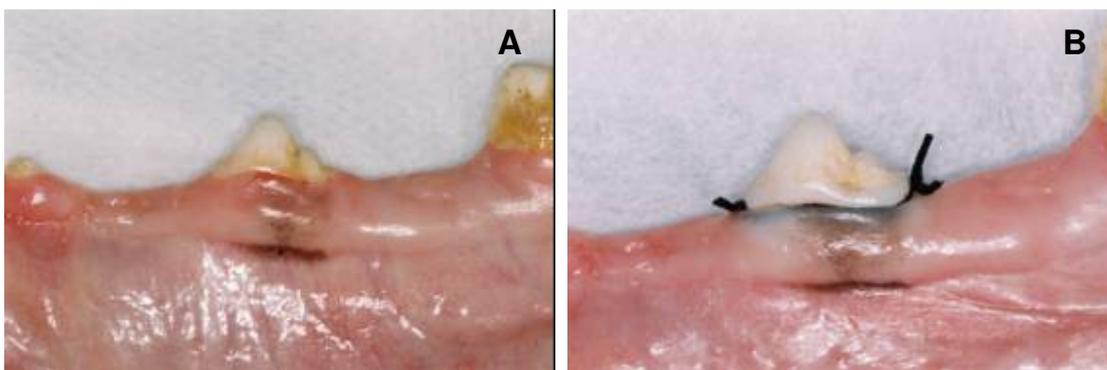


Figura 2 – Ilustração da colocação da ligadura. **A:** Aspecto clínico do P3 imediatamente antes da colocação da ligadura, dois meses após a exodontia do P2 e P4. **B:** Ligadura de fio de algodão amarrada ao redor do P3, no nível do sulco gengival.

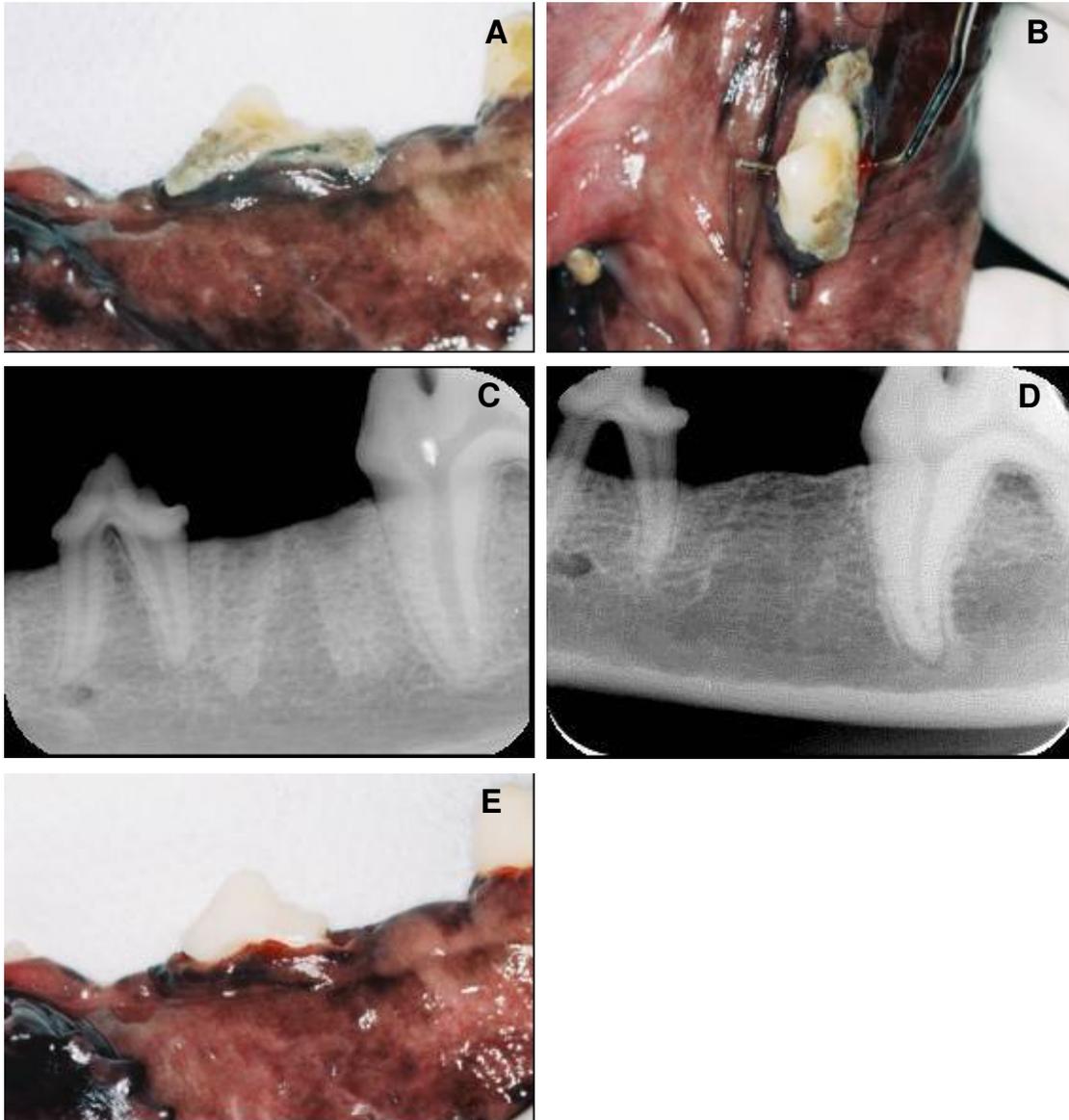


Figura 3 – Ilustração clínica e radiográfica da lesão de furca III produzida. **A:** Aspecto clínico do P3 após 5 meses com a ligadura. Verificar o grande acúmulo de biofilme dental bacteriano e o grau de inflamação dos tecidos periodontais. **B:** Aspecto clínico do P3 à sondagem com sonda de Nabers, demonstrando a presença de sangramento e uma lesão de furca de lado a lado (grau III). **C:** Aspecto radiográfico do P3 imediatamente antes da colocação da ligadura. Verificar o aspecto normal do osso alveolar na região de furca. **D:** Aspecto radiográfico do P3 após 5 meses com a ligadura. Observar a perda óssea de cerca de metade do comprimento das raízes e o aspecto radiolúcido na região de furca. **E:** Aspecto clínico do P3 após a remoção da ligadura, do biofilme e cálculo supragengival, preparando os tecidos para a cirurgia de tratamento dos defeitos.

4.5 – Preparo pré-operatório

Produzida a lesão de furca III desejada (cerca de 5 meses), os animais foram novamente sedados, as ligaduras foram removidas (**Figura 3E**), foi realizada nova remoção de cálculo supragengival (com ultrassom) e do biofilme dental bacteriano (profilaxia com taças de borracha e escova de Robson, utilizando pasta profilática) e um regime de controle de placa supragengival foi instituído, consistindo de escovação diária e aplicação tópica de digluconato de clorexidina 0,12%, em forma de spray, por duas semanas. Este controle pré-operatório teve o objetivo de reduzir ao máximo a inflamação dos tecidos, preparando-os para a cirurgia de tratamento.

4.6 – Cirurgia de tratamento dos defeitos

Após o período de controle do biofilme dental, foram realizadas as cirurgias de tratamento dos defeitos de furca III obtidos (**Figura 4**), também sob anestesia geral e local. Incisões supracrestais, verticais e sulculares foram realizadas, foram levantados retalhos de espessura total por vestibular e lingual e confeccionados sulcos de referência apical na superfície radicular de ambas as raízes do P3, com o auxílio de uma ponta Morse (no nível da crista óssea alveolar). Neste estudo foi utilizado o desenho em bloco aleatório, em que cada animal recebeu ambos os tratamentos. Desta maneira, em cada cão, os terceiros pré-molares inferiores (direito ou esquerdo) foram aleatoriamente escolhidos (sorteio) para receber uma das seguintes abordagens de tratamento:

(A) Após o levantamento de retalhos mucoperiosteais por vestibular e lingual, o defeito foi instrumentado, incluindo a remoção do tecido de granulação e uma cuidadosa raspagem e alisamento radicular, utilizando curetas e pontas diamantadas de granulação fina em baixa

rotação, e em seguida polidas com taças de borracha e pasta para polimento, objetivando a **remoção** dos depósitos duros e moles e do cimento radicular;

(B) Levantados os retalhos mucoperiosteais por vestibular e lingual, os defeitos foram instrumentados, incluindo **somente** a remoção do tecido de granulação e polimento radicular com escovas, taças e pontas interdentais de borracha e pasta profilática, objetivando a remoção somente dos depósitos moles sobre as raízes e **preservando** o cimento radicular. Os depósitos de cálculo existentes foram cuidadosamente destacados com curetas não afiadas, sem a realização do movimento de raspagem.

Após os diferentes tipos de abordagem da superfície radicular exposta à doença (A ou B), todos os defeitos foram tratados com o princípio da RTG, utilizando membranas reabsorvíveis de um copolímero de ácido glicólico-lático (Resolut XT[®], Regenerative Material, Gore-tex, Gore Associates, Arizona, USA) por vestibular e por lingual dos defeitos de classe III. Duas membranas foram recortadas e adaptadas em cada defeito, com tamanho suficiente para cobrir a área vestibular e lingual do defeito de classe III e se estendendo sobre o osso adjacente, cerca de 2 a 3 mm, sendo suturadas com fios reabsorvíveis (Gore Resolut suture[®], Gore-tex, Gore Associates, Arizona, USA) ao redor do P3. Em todos os sítios, os retalhos foram posicionados coronariamente e suturados (com suturas suspensórias e interrompidas) com fio de PTFE-e (Gore-Tex sutures, WL, Gore, Flagstaff, AZ, EUA).

Após o procedimento cirúrgico, os animais novamente receberam uma dose de 0,1mL/kg de penicilina e estreptomicina (Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte, Laboratório Wyeth – WhiteHall Ltda, São Paulo, SP, Brasil), via intramuscular. Uma segunda dose de reforço, com quatro dias de

pós-operatório, foi aplicada com o objetivo de minimizar o risco de infecção da área cirúrgica. Um analgésico (Dipirona sódica – Dipirona veterinária® 5mg/mL, Ind. Quim. e Farm Schering-Plough S/A Veterinária, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), na dosagem de 1mL/10kg, foi administrado por 2 dias consecutivos, via intramuscular, com o objetivo de controlar a dor no pós-operatório.

4.7 – Controle pós-operatório

As suturas foram removidas com 14 dias e o controle de biofilme no pós-operatório foi realizado com aplicação tópica diária de gel de clorexidina a 1%, por duas semanas. Após este período, um regime de controle químico-mecânico do biofilme foi realizado, consistindo de profilaxia com taças de borracha e pasta profilática a cada duas semanas e aplicação diária de uma solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, na forma de spray.

Após a cirurgia de tratamento, até o final do experimento, os cães foram alimentados com uma dieta macia (ração em lata) (BomGuy, Dumilho SA Ind. e Com., Espírito Santo, Brasil). Quatro meses após a cirurgia de tratamento dos defeitos, os animais foram sacrificados por aprofundamento da anestesia geral.

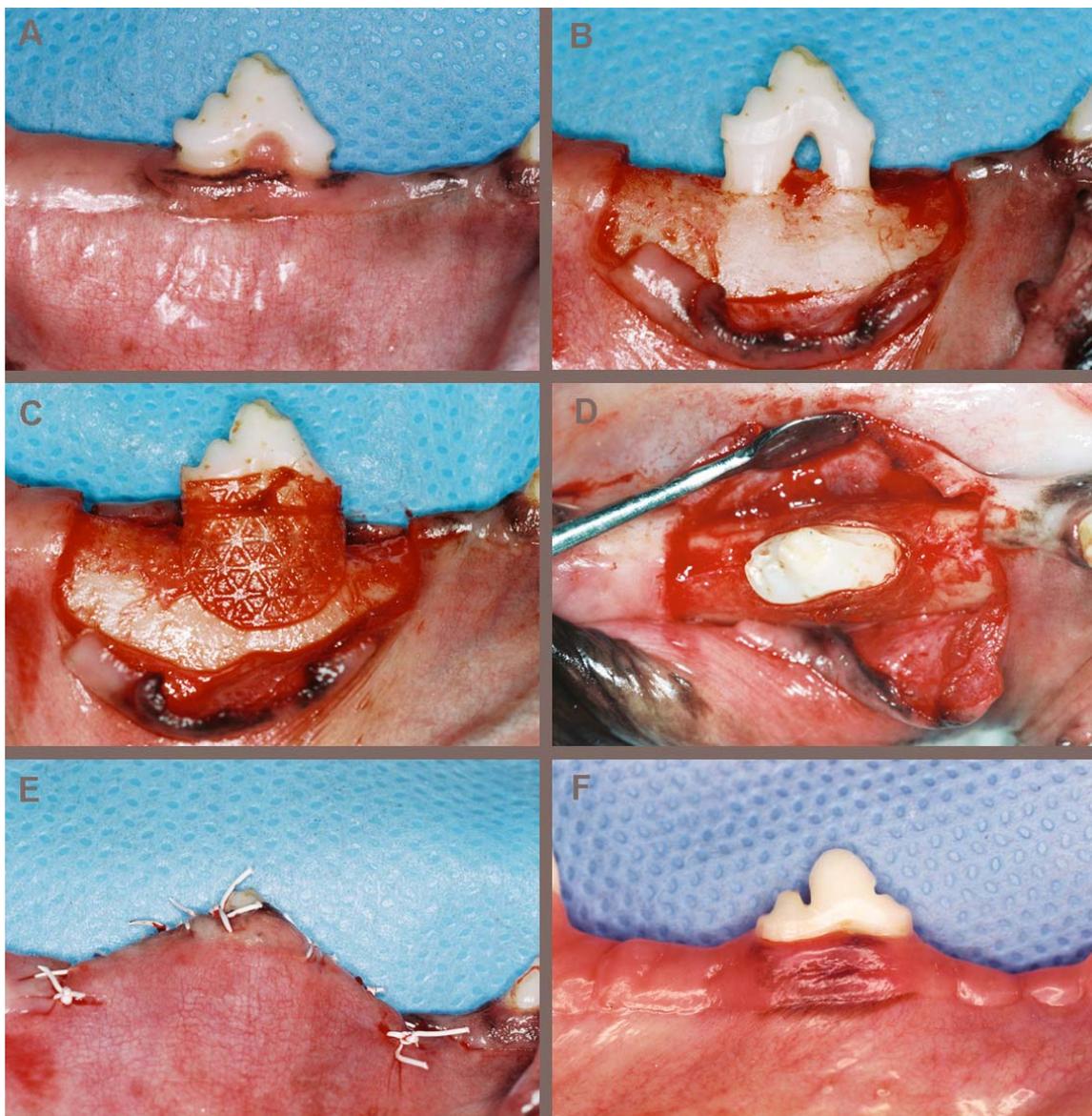


Figura 4 – Cirurgia de tratamento dos defeitos. **A:** Aspecto inicial do P3, após o preparo pré-operatório; **B:** Retalho de espessura total rebatido e tecido de granulação removido; **C:** Membranas posicionadas e suturadas após o tratamento da superfície radicular (A ou B); **D:** Aspecto oclusal, com as membranas recobrindo o defeito por vestibular e lingual; **E:** Retalho posicionado coronariamente e suturado; **F:** Aspecto pós-operatório do P3, após quatro meses.

4.8 - Processamento histológico

Secções em bloco, contendo os dentes (P3) e o osso circundante, foram removidas e fixadas em uma solução de formol a 4% (pH 7.4) por 48 horas. Os blocos foram lavados em água destilada e desmineralizados numa solução contendo partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20% (solução de Morse) sob constante agitação, renovada a cada 48 horas, durante cerca de 5 meses. Os espécimes desmineralizados foram então lavados em água corrente, desidratados em álcool, diafanizados em xilol e embebidos em parafina.

Foram obtidas secções seriadas de 7µm de espessura, no sentido mesio-distal, da região de interesse (bifurcação) dos espécimes codificados por um examinador cego. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina, pela técnica de rotina.

4.9 – Avaliação histométrica

A avaliação histométrica foi realizada em imagens digitalizadas dos cortes histológicos selecionados, obtidas com uma câmera digital (Sony DXC-960MD, Sony Corporation, Japan) acoplada a um microscópio (Olympus BH Microscope, Olympus Optical Co. Ltd. Japan), utilizando a objetiva de 5X. As mensurações foram feitas utilizando um sistema computadorizado de análise de imagens (Image Pro Plus 3.0, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland). Foram obtidas médias para cada parâmetro histométrico em cada animal, após medir dez cortes por dente, selecionados da porção mais central do defeito e distanciados igualmente entre si.

MEDIDAS LINEARES

As medidas lineares (em mm) foram obtidas nas raízes mesial e distal, em toda a extensão do defeito (**Figura 5**):

- 1) *Extensão total do defeito (ETD)*: extensão total da superfície radicular compreendida entre os dois sulcos de referência apical, nas raízes mesial e distal.
- 2) *Extensão não preenchida do defeito (ENP)*: porção da ETD sem contato com os tecidos neoformados, correspondente à recessão gengival.
- 3) *Novo cimento (NC)*: extensão linear (mm) da superfície radicular coberta por novo cimento.
- 4) *Regeneração Periodontal (RP)*: extensão linear da superfície radicular coberta por NC adjacente ao osso alveolar neoformado, com fibras colágenas orientadas funcionalmente.
- 5) *Extensão de epitélio/conjuntivo (EEC)*: extensão linear da superfície radicular coberta por epitélio ou tecido conjuntivo, correspondente ao epitélio juncional longo ou adaptação conjuntiva.
- 6) *Espessura do Novo Cimento (ENC)*: espessura (μm) do Novo Cimento, medida num ponto localizado $1500\mu\text{m}$ coronal ao sulco de referência apical.

MEDIDAS DE ÁREA

O limite apical do defeito foi definido por uma linha conectando os dois sulcos de referência apical, nas raízes mesial e distal (**Figura 5**). As medidas de área (em mm^2) obtidas foram:

- 1) *Área total do defeito (ATD)*: área limitada pelo limite apical do defeito e a superfície radicular.
- 2) *Área não preenchida (ANP)*: porção da ATD não preenchida por tecidos, correspondente à

recessão gengival.

3) *Área Preenchida (AP)*: porção da *ATD* preenchida por tecidos (epitélio, tecido conjuntivo e novo osso).

4) *Área de novo osso (NO)*: porção da *AP* ocupada por novo osso.

5) *Área de epitélio/tecido conjuntivo (AEC)*: porção da *AP* ocupada por epitélio e tecido conjuntivo.

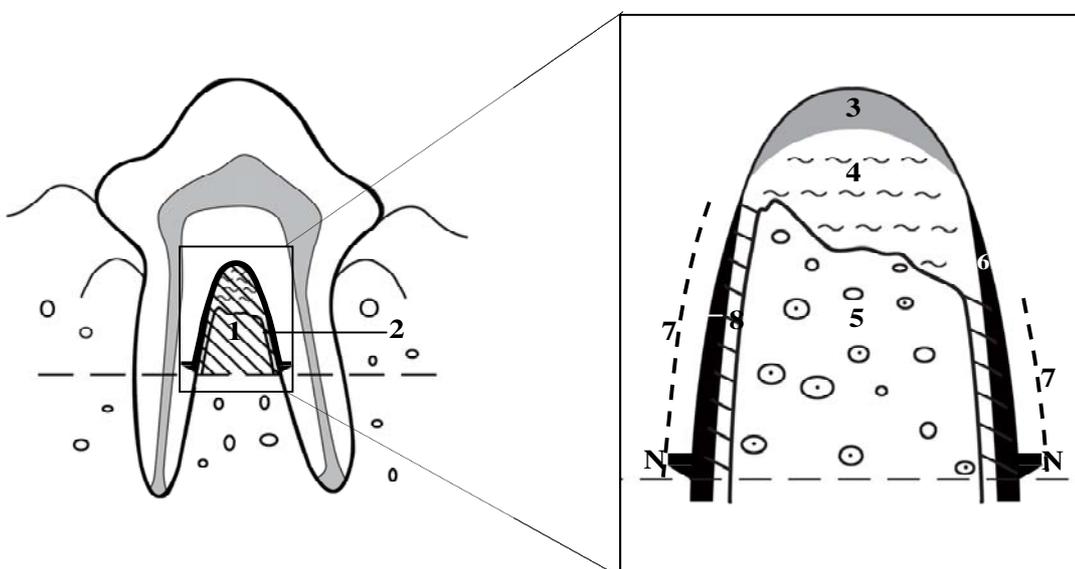


Figura 5 - Representação gráfica das medidas histométricas:

- 1 - Área total do defeito (*ATD*)
- 2 - Extensão total do defeito (*ETD*)
- 3 - Área não preenchida (*ANP*)
- 4 - Área de epitélio/tecido conjuntivo (*AEC*)
- 5 - Área de novo osso (*NO*)
- 6 - Extensão de novo cemento (*NC*)
- 7 - Regeneração Periodontal (*RP*)
- 8 - Espessura do novo cemento (*ENC*)
- N - Sulco de referência apical (“notch”)

4.10 - Análise Estatística

Foram obtidas médias para cada parâmetro histométrico ($n=9$) em cada grupo experimental. Os resultados dos dois tipos de tratamento foram comparados utilizando o teste não paramétrico de Wilcoxon, com um nível de significância de 5%.

5 - RESULTADOS

5.1- Observações Clínicas

Durante todo o período de cicatrização, não ocorreu supuração ou formação de abscessos. Em alguns casos houve retração gengival (cerca de 2mm), com exposição da parte coronal da membrana; nestes casos (3 e 2 nos grupos A e B, respectivamente) o controle pós operatório do biofilme foi realizado com a aplicação diária de clorexidina gel a 1% e não houve maiores complicações. No dia do sacrifício os tecidos moles estavam completamente cicatrizados, sem sinais clínicos de inflamação (**Ver Figura 4F**).

5.2- Observações Histológicas

A análise histomorfológica mostrou que a região do defeito estava ocupada por epitélio, tecido conjuntivo, ligamento periodontal, cimento e osso. Diferentes estágios de maturação óssea e organização dos tecidos periodontais foram observados nos defeitos cicatrizados. Com frequência, houve formação óssea incompleta e grandes espaços medulares estavam presentes no osso neoformado. A presença de fibras colágenas funcionalmente orientadas sempre estava associada à presença de novo osso adjacente a novo cimento. O novo cimento formado era do tipo celular, de fibras intrínsecas e extrínsecas, independente do tipo de tratamento (A ou B).

Nos dentes do grupo B, frequentemente observou-se uma camada mais espessa e uniforme de novo cimento depositada sobre o cimento preexistente (**Figura 6**). Em contraste, quando não havia cimento preexistente (grupo A), a camada de novo cimento era mais fina e irregular, depositada diretamente sobre a superfície da dentina. Lacunas de reabsorção puderam ser encontradas associadas a estas irregularidades da superfície radicular (**Figura 7**).

Aproximadamente 55% dos defeitos do grupo B (n=5) e 22% dos defeitos do grupo A (n=2) apresentaram preenchimento completo, e nestes casos houve a formação de novo cemento sobre toda a extensão da superfície radicular na região do defeito.

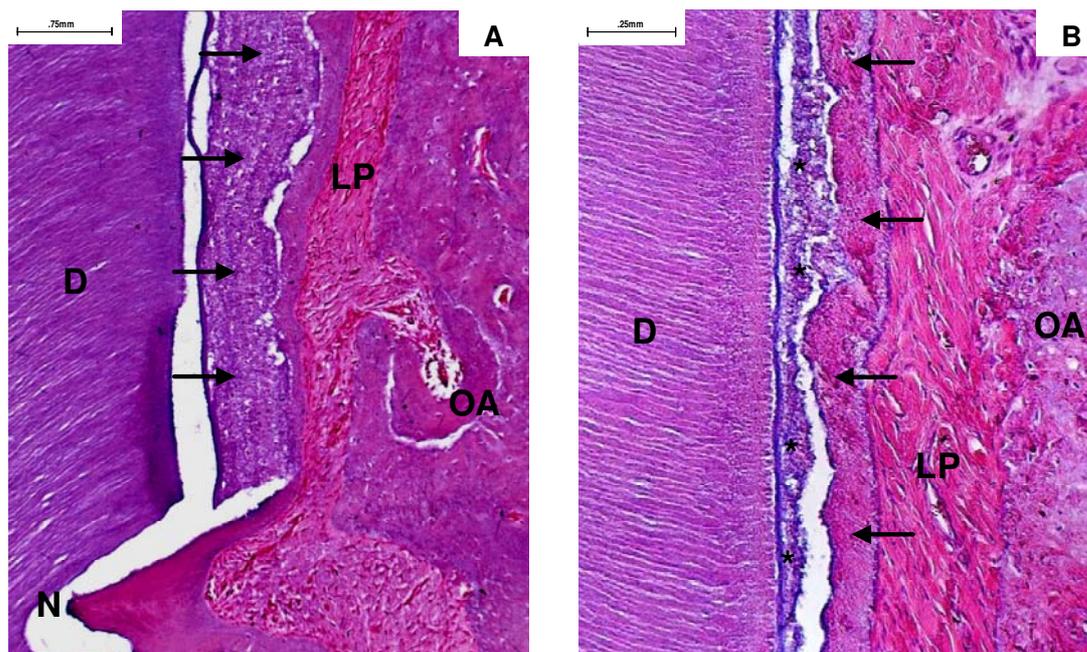


Figura 6 – Fotomicrografias ilustrativas dos achados histológicos no Grupo B, onde o cemento foi preservado. **A:** Aspecto histológico da região apical do defeito, próximo ao “notch”(N), onde pode-se observar uma espessa camada de cemento remanescente (setas); **B:** Detalhe da superfície radicular na região média do defeito, onde se observa uma camada espessa e contínua de novo cemento celular (setas) formada sobre o cemento remanescente (*). O ligamento periodontal (LP) contém vasos e fibras colágenas inseridas em novo cemento e novo osso (OA). Cortes mesio-distais, coloração H&E, aumento original - 50x (em A) e 100x (em B). Barra=0,75mm em A e 0,25mm em B. D=dentina, LP=ligamento periodontal, OA=osso alveolar, N=“notch”.

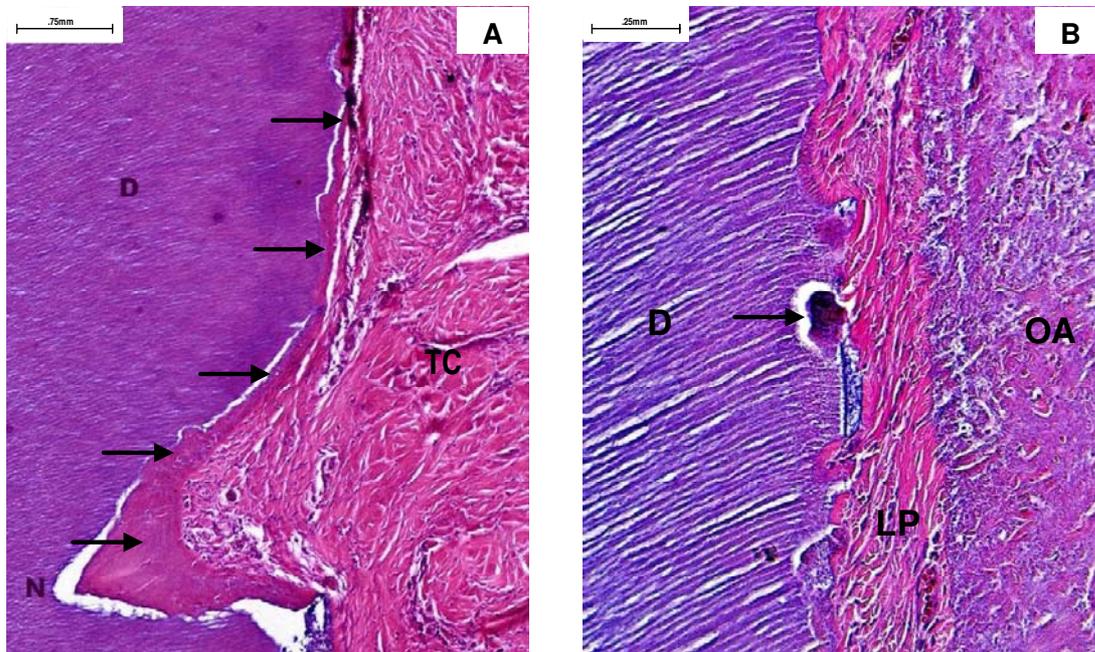


Figura 7 – Fotomicrografias ilustrativas dos achados histológicos no Grupo A, onde o cimento foi removido. **A:** Aspecto histológico da região apical do defeito, próximo ao “notch”(N), onde pode-se observar uma fina camada de novo cimento (setas); **B:** Detalhe da superfície radicular em outra região do defeito, onde se observa o aspecto irregular da superfície radicular. Uma lacuna de reabsorção contendo uma célula gigante multinucleada (seta) pode ser observada. Cortes mesio-distais, coloração H&E, aumento original - 50x (em A) e 100x (em B). Barra=0,75mm em A e 0,25mm em B. D=dentina, LP=ligamento periodontal, TC=tecido conjuntivo, OA=osso alveolar, N=“notch“.

5.3 - Resultados Histométricos

A análise dos dados não mostrou diferenças significativas entre os grupos quanto à área total do defeito (*ATD*) ($11,81 \pm 1,98$ e $11,28 \pm 3,97 \text{mm}^2$, para os grupos A e B; respectivamente, $p > 0,05$) e quanto à extensão total do defeito (*ETD*) ($7,36 \pm 1,47$ e $7,77 \pm 1,31 \text{mm}$, para os grupos A e B, respectivamente; $p > 0,05$).

No grupo B, observou-se uma maior extensão de novo cemento ($3,59 \pm 1,67$ e $6,20 \pm 2,26 \text{mm}$ para os grupos A e B, respectivamente; $p = 0,004$), uma maior extensão de novo osso ($1,86 \pm 1,76$ e $4,62 \pm 3,01 \text{mm}$; $p = 0,002$), além de uma menor formação de tecido epitelial/conjuntivo sobre a superfície radicular ($2,77 \pm 0,79$ e $1,10 \pm 1,48 \text{mm}$; $p = 0,009$). Observou-se, ainda, uma maior extensão de Regeneração Periodontal (novo cemento adjacente a novo osso alveolar, com fibras colágenas orientadas funcionalmente) no grupo B, quando comparado ao grupo A (**Tabela 1**). Além disso, houve uma maior espessura de novo cemento no grupo B ($18,89 \pm 9,47$ e $52,29 \pm 22,48 \mu\text{m}$ para os grupos A e B, respectivamente; $p = 0,001$). A distribuição proporcional dos diferentes padrões de cicatrização sobre a superfície radicular está apresentada no **Gráfico 1**. O grupo B apresentou uma maior proporção de Regeneração Periodontal e uma menor proporção de Adaptação epitelial/conjuntiva quando comparado ao grupo A ($p < 0,05$).

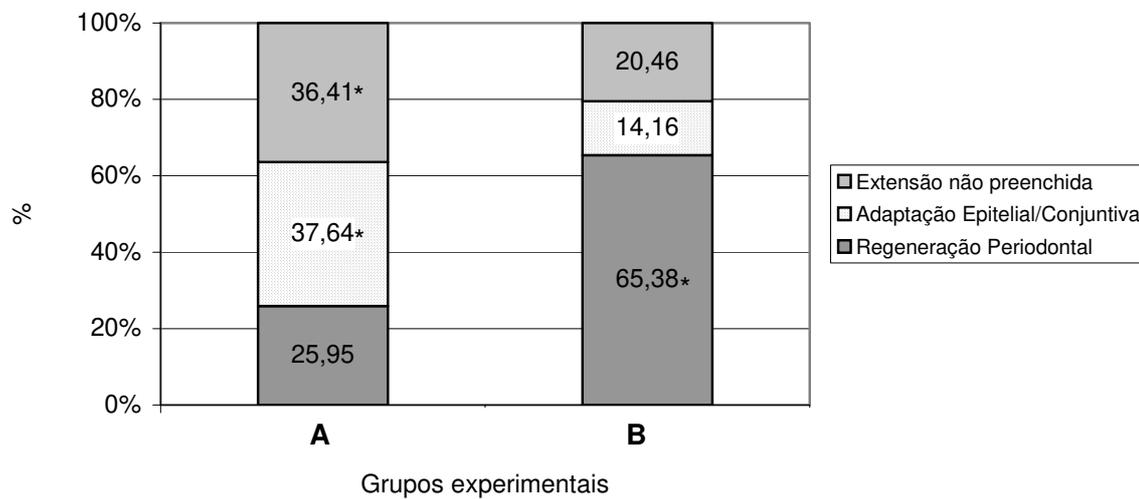
Comparando os dois grupos experimentais em relação às medidas de área, observou-se uma maior área de novo osso (*NO*) e uma menor área de epitélio/tecido conjuntivo (*AEC*) no grupo B (**Tabela 2**). Finalmente, uma maior porcentagem de preenchimento do defeito também foi encontrada no grupo B ($80,95 \pm 17,46$ e $94,50 \pm 10,27$ para os grupos A e B, respectivamente; $p < 0,05$), com uma maior proporção de novo osso e uma menor proporção de tecido epitelial/conjuntivo ($p < 0,05$) (**Gráfico 2**). Os resultados histométricos estão ilustrados na **Figura 8**.

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos parâmetros lineares nos grupos A e B.

	Grupo A (n=9)	Grupo B (n=9)	Valor de p
Extensão total do defeito (<i>ETD</i>) (mm)	7,36±1,47 (7,32-9,64)	7,77±1,31 (7,35-9,69)	0,50
Extensão não preenchida (<i>ENP</i>) (mm)	2,67±1,25 (0,99-4,39)	1,58±1,98 (0,00-4,46)	0,023*
Extensão de novo cimento (<i>NC</i>) (mm)	3,59±1,67 (0,91-5,91)	6,20±2,26 (3,25-9,69)	0,008*
Regeneração periodontal (<i>R</i>) (mm)	1,91±1,80 (0,00-5,21)	5,08±3,36 (0,46-9,69)	0,004*
Extensão epitélio/conjuntivo (<i>ECT</i>) (mm)	2,77±0,79 (1,36-3,62)	1,10±1,48 (0,00-3,47)	0,020*
Espessura do novo cimento (<i>ENC</i>) (µm)	18,89±9,47 (11,23-30,75)	52,29±22,48 (32,88-94,05)	0,001*

* Estatisticamente significante, $p < 0,05$ (teste Wilcoxon).

Gráfico 1 – Proporção (%) dos diferentes padrões de cicatrização ocorridos ao longo da superfície radicular dos defeitos, nos grupos A e B.



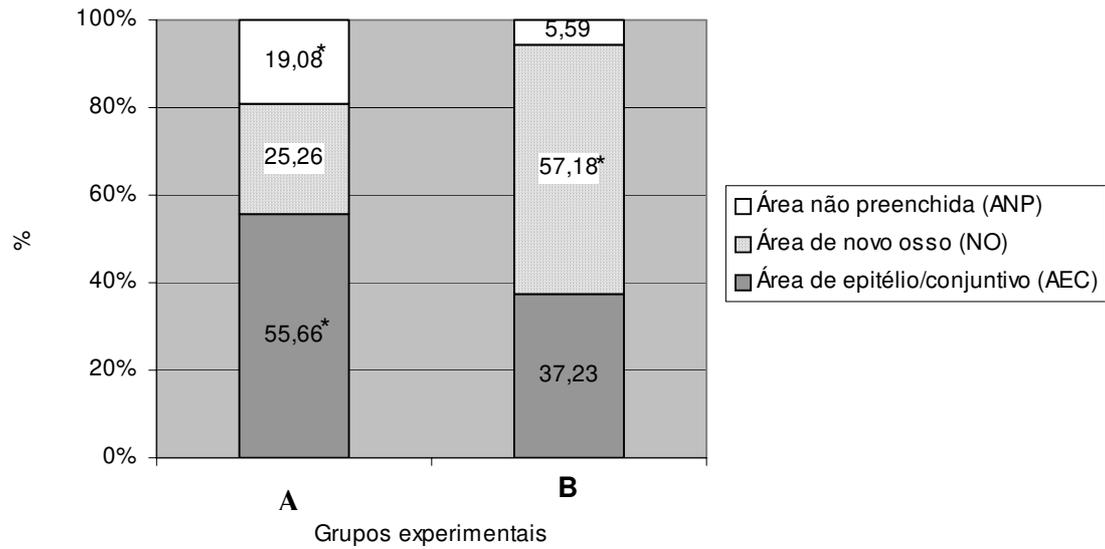
* Estatisticamente significante, $p < 0,05$ (teste Wilcoxon).

Tabela 2 – Média e desvio padrão (mm²) dos parâmetros de área nos grupos A e B.

	Grupo A (n=9)	Grupo B (n=9)	Valor de p
Área total do defeito (<i>ATD</i>)	11,81±3,81 (8,57-16,54)	11,28±3,97 (8,67-18,00)	0,43
Área não preenchida (<i>ANP</i>)	2,25±1,98 (0,00-5,08)	0,63±1,00 (0,00-2,48)	0,008*
Área preenchida (<i>AP</i>)	9,56±4,70 (4,07-16,54)	10,65±4,19 (5,38-18,00)	0,43
Área de epitélio/conjuntivo (<i>AEC</i>)	6,57±1,06 (5,35-7,98)	4,20±0,74 (3,23-5,78)	0,008*
Área de novo osso (<i>NO</i>)	2,98±0,99 (1,57-4,74)	6,45±0,80 (5,26-6,94)	0,004*

* Estatisticamente significante, p<0,05 (teste Wilcoxon).

Gráfico 2 – Proporção (%) de Área não preenchida (ANP), Área de novo osso (NO) e Área de epitélio/conjuntivo (AEC) dentro da área total do defeito (ATD) nos grupos A e B.



* Estatisticamente significativa, $p < 0,05$ (teste Wilcoxon).

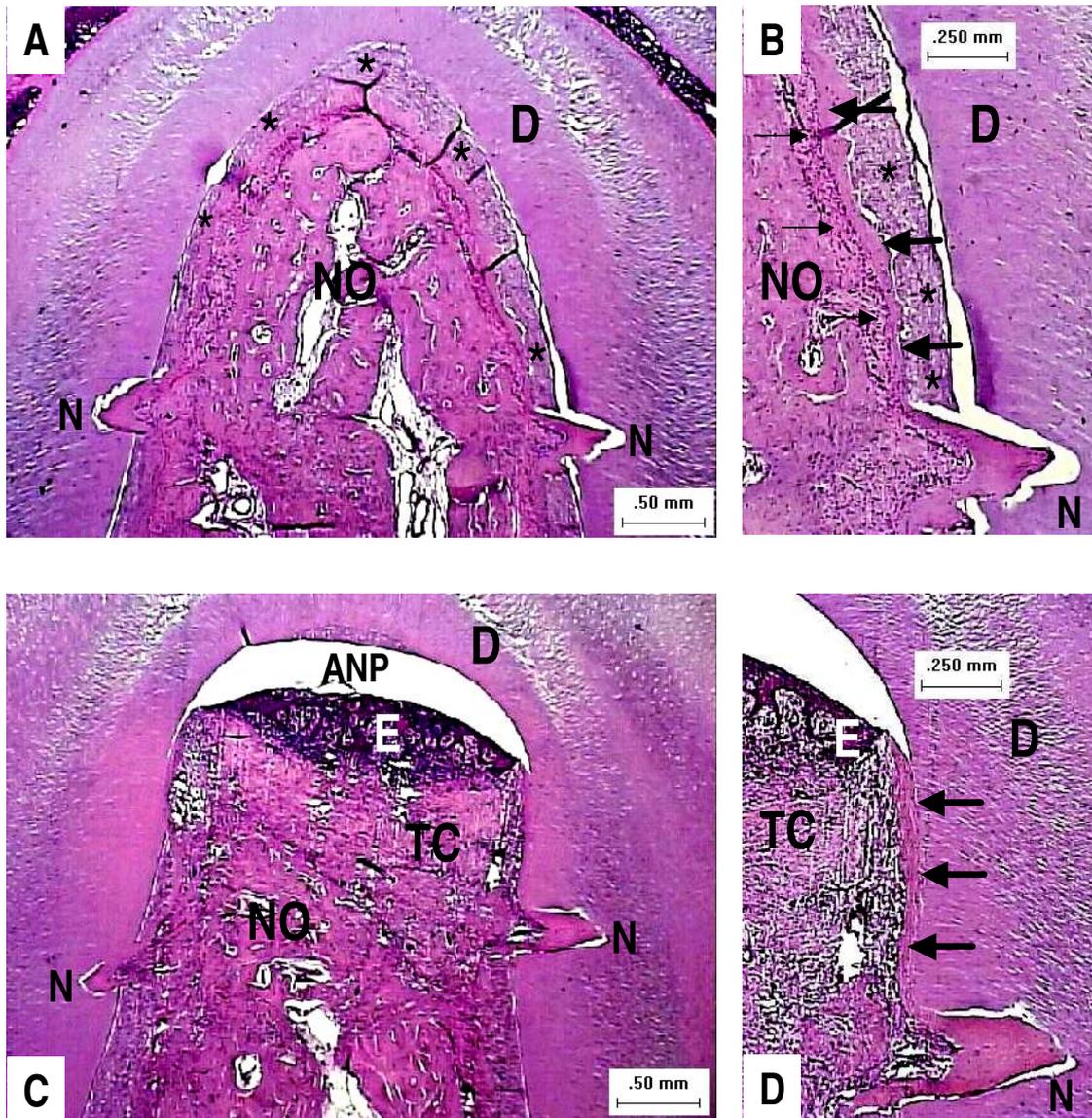


Figura 8 – Fotomicrografias ilustrativas dos resultados histométricos. **A:** Grupo Teste – Observe que a área total do defeito está preenchida em sua maioria por novo osso (NO), que se desenvolveu em continuidade com o osso preexistente. Note que a extensão total do defeito, superfície radicular compreendida entre os dois “notches” (N), está recoberta com cimento preexistente (*). **B:** Maior aumento de **A**, mostrando regeneração periodontal, i.e., camada de novo cimento (setas largas) recobrendo o cimento preexistente (*), com fibras do ligamento periodontal (setas finas) entre o novo cimento e novo osso (NO). **C:** Grupo Controle – Observe que o defeito não está completamente preenchido (ANP – área não preenchida). Na área preenchida, além de novo osso (NO), pode-se observar a formação de epitélio (E) e tecido conjuntivo (TC). A formação de novo cimento (setas) está restrita à parte mais apical do defeito. **D:** Maior aumento de **C**, detalhando a adaptação conjuntiva (setas) sobre o novo cimento, este depositado sobre a superfície da dentina (D). O epitélio (E) pode ser observado na parte coronária do defeito. Cortes mesio-distais, coloração H&E, aumento original - 12.5x (A e C) e 50x (B e D). Barra=0,5mm em A e C e 0,25mm em B e D.

6 – DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que os defeitos de furca classe III bilaterais produzidos cronicamente (pela colocação de ligaduras) partiram de condições iniciais semelhantes, quanto ao tamanho dos defeitos, entre os grupos A e B. Este fato é de particular importância, já que o tamanho do defeito pode influenciar a resposta à terapia regenerativa (Giannobile *et al*, 1998), e nos permite atribuir o resultado do tratamento à variável do estudo, ou seja, à presença ou não do cimento dental previamente exposto à doença. Outro fato importante que assegura maior confiabilidade nos presentes resultados é a observação de que o tratamento A (raspagem e alisamento radicular, realizada com instrumentos manuais e rotatórios) foi capaz de remover todo o cimento dental preexistente. Estudos prévios demonstraram que existe pouca confiabilidade na remoção total do cimento dental após a raspagem com instrumentos manuais (O’Leary & Kafrawy, 1983, Coldiron *et al*, 1990); entretanto, no presente estudo, a instrumentação manual associada à utilização de instrumentos rotatórios parece ter possibilitado que o cimento dental fosse removido na sua totalidade. Ao contrário, no grupo B, onde não foi realizada a raspagem e alisamento, mas somente o polimento da superfície radicular, o cimento preexistente foi totalmente preservado.

No presente estudo, os resultados suportam os achados de estudos anteriores (Nyman *et al*, 1986 e 1988), que demonstraram que a remoção do cimento dental não era um pré-requisito necessário para a resolução da inflamação, mas que a remoção dos depósitos bacterianos sobre a superfície radicular, esta sim, era essencial para atingir saúde periodontal após a terapia. Adicionalmente, o presente estudo indica um achado inédito na literatura – que a presença do cimento pode modular a regeneração periodontal *in vivo*.

Várias alterações têm sido descritas no cimento dental após a sua exposição à doença periodontal, como áreas de desmineralização e hipermineralização, perda progressiva de proteínas,

perda da matriz colágena (Selvig *et al*, 1966), absorção de endotoxinas e de outros mediadores inflamatórios (Aleo *et al*, 1974), formação de lacunas de reabsorção e invasão de bactérias no cimento e na dentina radicular (Adriaens, 1988). O modelo experimental utilizado no presente estudo (indução de periodontite pela colocação de ligaduras), diferentemente de modelos de produção de defeitos “agudos” (produzidos cirurgicamente), nos permitiu estudar a influência do cimento dental previamente exposto ao biofilme dental bacteriano, e, provavelmente, exposto às alterações patológicas já descritas acima. Essas mudanças constituíram a base biológica para a remoção do cimento dental durante a terapia mecânica, entretanto, a questionada significância clínica da contaminação do cimento (Blömlöf *et al*, 1987; Cheetham *et al*, 1988), juntamente com a baixa previsibilidade da sua remoção durante a raspagem (O’Leary & Kafrawy, 1983) suportam a abordagem terapêutica mais conservadora avaliada no presente estudo.

Em razão da dificuldade e até impossibilidade em se avaliar clinicamente os parâmetros utilizados no presente estudo, bem como por razões éticas, é que avaliações histológicas utilizando modelos animais são necessárias, além de eliminar algumas variáveis e padronizar uma metodologia adequada. Os cães são freqüentemente utilizados como modelo para estudos histológicos de regeneração periodontal, principalmente devido ao tamanho e simplicidade da anatomia radicular. O tipo de defeito utilizado no presente estudo (defeito de furca III) foi escolhido por não apresentar possibilidade de fechamento espontâneo e por representar um desafio quando tratado com técnicas regenerativas (Giannobile *et al*, 1998; Rossa *et al*, 2000). Outro fator importante que foi levado em consideração para a escolha deste tipo de defeito foi a maior extensão de superfície radicular em contato com o sítio em cicatrização, e, portanto, uma maior fonte do tecido a ser estudado (cimento dental). O defeito de furca III facilita, ainda, a análise histométrica dos tecidos neoformados, que estarão delimitados sob a região de furca e os sulcos de referência apical

em cortes no sentido mesio-distal.

Atualmente, não há evidências científicas que expliquem diretamente os mecanismos pelos quais a preservação do cimento dental poderia modular a regeneração periodontal. Entretanto, a diminuição da perda de estrutura dental, a diminuição da ocorrência de hipersensibilidade dentinária (Wallace & Bissada, 1990) e reabsorção radicular (Lindskog *et al*, 1985) podem ser consideradas vantagens clínicas importantes, que justificam a preservação do cimento dental. Considerando que o cimento é a superfície onde a inserção das fibras do ligamento periodontal deverá ocorrer, e considerando ainda que o cimento superficial é altamente quimiotático para cementoblastos (Nishimura *et al*, 1989) e que a matriz do cimento é uma rica fonte de fatores de crescimento, que influenciam vários tipos celulares periodontais (Grzesik & Narayanan, 2002), a sua presença poderia favorecer a formação de novo cimento, o que de fato pudemos observar no presente estudo.

Estudos recentes têm demonstrado que fatores bioativos presentes na dentina podem exercer atividade pró-inflamatória quando liberados no microambiente em cicatrização (Silva *et al*, 2004 a, b e c, Lara *et al*, 2003), assim, a presença do cimento dental poderia ainda servir como uma “barreira” de proteção contra essa interação indesejável.

Finalmente, a recente disponibilização de culturas de cementoblastos animais e humanos (D’Errico *et al*, 2000; Saito *et al*, 2005) tem nos possibilitado estudar o papel destas células na modulação dos processos de cicatrização periodontal. Estudos *in vitro* mostraram que os cementoblastos expressam genes associados com mineralização (como sialoproteína óssea e osteocalcina), promovem a formação de nódulos minerais e respondem a fatores de crescimento e hormônios osteotrópicos (Giannobile *et al*, 2001, Saygin *et al*, 2000a e 2000b). Adicionalmente, estudos *in vivo* mostraram que os cementoblastos têm uma grande habilidade em induzir mineralização em defeitos periodontais do tipo fenestração, quando transplantados via esponja de

colágeno (Zhao *et al*, 2004, Jin *et al*, 2004).

Em suma, podemos especular que a presença do cimento dental poderia favorecer a regeneração periodontal de três maneiras, associadas ou não: 1) como fonte de fatores de crescimento presentes em sua matriz; 2) como uma “barreira” evitando a interação indesejável das proteínas da matriz dentinária com o sítio em cicatrização; 3) através da modulação via cementoblastos.

Os resultados do presente estudo não deverão ser interpretados de modo a dizer que a raspagem e alisamento radicular não deverão ser realizados previamente à aplicação do princípio da regeneração tecidual guiada. A remoção dos depósitos duros sobre a superfície radicular, por razões práticas, sempre envolverá a remoção de parte do cimento dental. Entretanto, os presentes resultados suportam a visão de que a remoção intencional e excessiva do cimento, com o objetivo de eliminar endotoxinas, não se justifica, em especial quando uma técnica regenerativa (como a RTG) é utilizada. Todavia, estudos adicionais são necessários para investigar o papel do cimento na regeneração periodontal, em termos de mecanismos envolvidos no processo regenerativo. Estudos clínicos também são essenciais para estabelecer a previsibilidade desta abordagem conservadora de tratamento, em longo prazo.

7 - CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, conclui-se que o cimento dental pode modular a regeneração periodontal obtida em defeitos de furca III em cães, tratados com RTG.

8 - REFERÊNCIAS:

Adelson LJ, Hanks CT, Ramfjord SJ, Caffesse RG. Cytotoxicity of periodontally diseased root surfaces. *J Periodontol* 1980; 51:700–704.

Adriaens PA, DeBoever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentine of periodontally diseased teeth in humans. *J Periodontol* 1988; 59:222-230.

Adriaens PA, Edwards CA, De Boever JA, Loesche WJ. Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol* 1988; 59: 493-503.

Aleo JJ, de Renzis FA, Farber PA, Varboncoeur AP. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J. Periodontol* 1974; 45: 672-675.

Aleo JJ, de Renzis FA, Farber PA. *In vitro* attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces. *J. Periodontol* 1975; 46:639-645.

Amar S, Chung KM, Nam SH, Karatzas S, Myokai F, Van Dyke TE. Markers of bone and cementum formation accumulate in tissues regenerated in periodontal defects treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontal Res* 1997; 32(1 Pt 2): 148-58.

Arzate H, Olson SW, Page RC, Gown AM, Narayanan AS. Production of a monoclonal antibody to an attachment protein derived from human cementum. *FASEB J* 1992; 6(11): 2990-5.

Bergenholtz G, Lindhe J. Effect of experimentally induced marginal periodontitis and periodontal scaling on the dental pulp. *J Clin Periodontol* 1978 Feb;5(1):59-73

Blömlöf L, Lindskog S, Appelgren R, Jonsson B, Weintraub A, Hammarström L. New attachment in monkeys with experimental periodontitis with and without the removal of the cementum. *J Clin*

[†] De acordo com as normas da Unicamp/FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Periodontol 1987; 16:27-32.

Blömlöf L, Lindskog S, Appelgren R, Jonsson B, Weintraub A, Hammarstrom L. New attachment in monkeys with experimental periodontitis with and without removal of the cementum. *J Periodontol* 1994; 65(7): 731-3.

Bosshardt DD, Schröder HE. Establishment of acellular extrinsic fiber cementum on human teeth. A light- and electron-microscopic study. *Cell Tissue Res* 1991; 263(2): 325-36.

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

Bravman RJ, Everhart DL, Stahl SS. A cementum-bound antigen: its reaction with serum antibody and localization, in situ. *J Periodontol* 1979; 50(12):656-60.

Brown WA. Resorption of permanent teeth. *Br J Orthod* 1982; 9(4):212-20

Cadosch J, Zimmermann U, Ruppert M, Guindy J, Case D, Zappa U. Root surface debridement and endotoxin removal. *J Periodontal Res* 2003; 38(3):229-36.

Carey HM, Daly CG. Subgingival debridement of root surfaces with a micro-brush: macroscopic and ultrastructural assessment. *J Clin Periodontol* 2001;28(9):820-7.

Checchi L, Pelliccioni GA. Hand versus ultrasonic instrumentation in the removal of endotoxins from root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1988; 59(6):398-402.

Cheetham WA, Wilson M, Kieser JB. Root surface debridement. An *in vitro* assessment. *J Clin Periodontol* 1988 15: 288–292.

Cho MI, Garant PR. Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation. *J Periodontal Res* 1988; 23(4): 268-76.

Christersson LA, Zambon JJ, Genco RJ. Dental bacterial plaques. Nature and role in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991; 18:441-446.

Cogen RB, Garrison DC, Weatherford TW. Effect of various root surface treatments on the viability and attachment of human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1983; 54(5): 277-82.

Coldiron NB, Yukna RA, Weir J, Caudill RF. A quantitative study of cementum removal with hand curettes. *J Periodontol* 1990; 61:293-299.

Daly CG, Kieser JB, Corbet E, Seymour GJ. Cementum involved in periodontal disease: a review of its features and clinical management. *J Dentistry* 1979; 7:185-193.

Daly CG, Seymour GJ, Kieser JB, Courbet EF. Histological assessment of periodontally involved cementum. *J Clin Periodontol* 1982; 9:266-274.

Daly CG, Seymour GJ, Kieser JB. Bacterial endotoxin: a role in chronic inflammatory periodontal disease? *J Oral Pathology* 1980; 9:1-15.

Dastmalchi R, Polson A, Bouwsma O, Proskin H. Cementum thickness and mesial drift. *J Clin Periodontol* 1990; 17(10): 709-13.

Denton GB. The discovery of cementum. *J Dent Res* 1939; 18: 239-242.

D'Errico JA, Berry JE, Ouyang H, Strayhorn CL, Windle JJ, Somerman MJ. Employing a transgenic animal model to obtain cementoblasts *in vitro*. *J Periodontol* 2000 71:63-72.

Fine DH, Morris ML, Tabak L, Cole JD. Preliminary characterization of material eluted from the roots of periodontally diseased teeth. *J Periodontal Res* 1980; 15:10-19.

Friskopp J, Hammaström L. A comparative, scanning electron microscope study of supragingival and subgingival calculus. *J Periodontol* 1980; 51:553-562.

Fukazawa E, Nishimura K. Superficial cemental curettage: its efficacy in promoting improved cellular attachment on human root surfaces previously damaged by periodontitis. *J Periodontol* 1994; 65(2):168-76.

Giannobile WV, Lee CS, Tomala MP, Tejada KM, Zhu Z. Platelet-derived growth factor (PDGF)

gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 2001 72:815-23.

Giannobile WV, Ryan S, Shih MS, Su DL, Kaplan PL, Chan TC. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *J Periodontol* 1998 Feb; 69(2): 129-37.

Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996;19 (1 Suppl):23S-37S.

Grzesik WJ, Narayanan AS. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13:474-84.

Hara R, Wato M, Tanaka A. Marker of cemento-periodontal ligament junction associated with periodontal regeneration. *J Periodontal Res* 2005; 40(3): 231-8.

Hatfield CG, Baumhammers A. Citotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Archives Oral Biology* 1971; 61:465-468.

Hughes FJ, Auger DW, Smales FC. Investigation of the distribution of cementum associated lipopolysaccharides in periodontal disease by scanning electron microscope. Histochemistry. *J Periodontal Res* 1988; 23:100-106.

Hughes FJ, Smales FC. Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J Periodontal Res* 1986; 21:660-667.

Hunter RK, O'Leary TJ, Kafrawy AH. The effectiveness of hand versus ultrasonic instrumentation in open flap root planing. *J Periodontol* 1984; 55(12):697-703.

Ikezawa K, Hart CE, Williams DC, Narayanan AS. Characterization of cementum derived growth factor as an insulin-like growth factor-I like molecule. *Connect Tissue Res* 1997; 36(4): 309-19.

Ivanovski S, Li H, Daley T, Bartold PM. An immunohistochemical study of matrix molecules associated with barrier membrane-mediated periodontal wound healing. *J Periodontal Res* 2000;

35(3):115-26.

Jin QM, Zhao M, Economides AN, Somerman MJ, Giannobile WV. Noggin gene delivery inhibits cementoblast-induced mineralization. *Connect Tissue Res* 2004; 45:50-9.

Jones SJ. Cement. In: Osborn JW, ed. Dental anatomy and embryology. Boston: Blackwell Scientific, 1981.

Jones W, O'Leary TJ. The effectiveness of *in vivo* root planing in removing bacterial endotoxin from the root of periodontally involved teeth. *J Periodontol* 1978; 49:337-342.

Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol* 1994; 65(7):731-3.

Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7(2):96-105.

Karring T, NymanS, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980; 7(2): 96-105.

Kepic TJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. Total calculus removal: an attainable objective? *J Periodontol* 1990; 61:16-20.

Kocher T, Rosin M, Langenbeck N, Bernhardt O. Subgingival polishing with a teflon-coated sonic scaler insert in comparison to conventional instruments as assessed on extracted teeth (II). Subgingival roughness. *J Clin Periodontol* 2001;28(8):723-9.

Koveker GB. Growth factors in clinical practice. *Int J Clin Pract* 2000; 54(9): 590-3.

Lara VS, Figueiredo F, da Silva TA, Cunha FQ. Dentin-induced *in vivo* inflammatory response and *in vitro* activation of murine macrophages. *J Dent Res* 2003; 82:460-5.

Lindhe J, Nyman S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11(8): 504-14.

- Lindskog S, Pierce AM, Blömlöf L, Hammarstrom L. The role of the necrotic periodontal membrane in cementum resorption and ankylosis. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1:96-101.
- Liu CM, Shyu YC, Pei SC, Lan WH, Hou LT. In vitro effect of laser irradiation on cementum-bound endotoxin isolated from periodontally diseased roots. *J Periodontol* 2002; 73(11): 1260-6.
- MacNeil RL, D'Errico JA, Ouyang H, Berry J, Strayhorn C, Somerman MJ. Isolation of murine cementoblasts: unique cells or uniquely-positioned osteoblasts? *Eur J Oral Sci* 1998; 106(suppl 1): 350–356.
- MacNeil RL, Somerman MJ. Molecular factors regulating development and regeneration of cementum. *J Periodontal Res* 1993; 28(6 Pt 2):550-9.
- Maidwell-Smith M, Wilson M, Kieser JB. Lipopolysaccharide (endotoxin) from individual periodontally involved teeth. *J Clin Periodontol* 1987; 14(8): 453-6.
- Mandel ID, Gaffar A. Calculus revisited. A review. *J Clin Periodontol* 1986; 13:249-257.
- Matsuura M, Herr Y, Han KY, Lin WL, Genco RJ, Cho MI. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *J Periodontol* 1995; 66(7):579-93.
- Mc Cauley MK, Somerman MJ. Biologic modifiers in periodontal regeneration. *Dent Clin North Am* 1998; (2):361-87.
- Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976; 47(5):256-60. Review. No abstract available.
- Moore J, Wilson M, Kieser JB. The distribution of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in relation of periodontally involved root surfaces. *J Clin Periodontol* 1986; 13:748-751.
- Morris ML. The implantation of human dentin and cementum and freshly devitalized autogenous bone into the subcutaneous tissues of the rat. *J Periodontol* 1975;46(5):284-8

Morris ML. The subcutaneous implantation of periodontally diseased roots. *J Periodontol* 1972;43(12):737-47

Nakib NM, Bissada NF, Simmelink JW, Goldstine SN. Endotoxin penetration into root cementum of periodontally healthy and diseased human teeth. *J Periodontol* 1982; 53:368-378.

Nishimine D, O'Leary TJ. Hand instrumentation versus ultrasonics in the removal of endotoxins from root surface. *J Periodontol* 1979;50:345-349.

Nishimura K, Hayashi M, Matsuda K, Shigeyama Y, Yamasaki A, Yamaoka A. The chemoattractive potency of periodontal ligament, cementum and dentin for human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 1989; 24:146-8.

Nyman S, Karring T, Lindhe J, Planten S. Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7(5):394-401.

Nyman S, Sarhed G, Ericsson I, Gottlow J, Karring T. The role of "diseased" root cementum for healing following treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res* 1986; 21: 496-503.

Nyman S, Westfelt E, Sarhed G, Karring T. Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease. A clinical study. *J Clin Periodontol* 1988; 15:464-468.

O'Leary TJ, Kafrawy AH. Total cementum removal: a realistic objective? *J Periodontol* 1983; 54:221-226.

Okte E, Unsal B, Bal B, Erdemli E, Akbay A. Histological assessment of root cementum at periodontally healthy and diseased human teeth. *J Oral Sci* 1999; 41(4): 177-80.

Rossa C Jr, Marcantonio E Jr, Cirelli JA, Marcantonio RA, Spolidorio LC, Fogo JC. Regeneration of Class III furcation defects with basic fibroblast growth factor (b-FGF) associated with GTR. A descriptive and histometric study in dogs. *J Periodontol* 2000;71(5):775-84.

Ryan PC, Newcomb GM, Seymour GJ, Powell RN. The pulpal response to citric acid in cats. *J Clin*

Periodontol 1984 Nov; 11(10): 633-43

Saito M, Handa K, Kiyono T, Hattori S, Yokoi T, Tsubakimoto T, Harada H, Noguchi T, Toyada M, Sato S, Teranaka T. Immortalization of cementoblast progenitor cells with Bmi-1 and TERT. *J Bone Miner Res* 2005; 20:50-7.

Saygin NE, Giannobile WV, Somerman MJ. Molecular and cell biology of cementum. *Periodontol* 2000 2000; 24: 73-98.

Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobile WV, Somerman MJ. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *J Periodontol* 2000; 71:1591-600.

Schroeder HE, Scherle WF. Cemento-enamel junction – revisited. *J Periodontal Res* 1988; 23: 53–59.

Schroeder HE. Handbook of microscopic anatomy. Vol. 5. The periodontium. Berlin: Springer, 1986: 23–119.

Schupbach P, Gaberthuel T, Lutz F, Guggenheim B. Periodontal repair or regeneration: structures of different types of new attachment. *J Periodontal Res* 1993; Jul;28(4):281-93

Selvig KA. Ultrastructural changes in cementum and adjacent connective tissue in periodontal disease. *Acta Odontol Scand* 1966; 24: 459–600.

Shapira L, Houry Y, Barak V, Halabi A, Soskolne WA, Stabholz A. Human monocyte response to cementum extracts from periodontally diseased teeth: effect of conditioning with tetracycline. *J Periodontol* 1996;67(7):682-7.

Silva TA, Lara VS, Rosa AL, Cunha FQ. Cytokine and chemokine response of bone cells after dentin challenge *in vitro*. *Oral Dis* 2004; 10: 258–264.

Silva TA, Lara VS, Silva JS, Garlet GP, Butler WT, Cunha FQ. Dentin Sialoprotein and Phosphoprotein Induce Neutrophil Recruitment: A Mechanism Dependent on IL-1 β , TNF- α , and CXC Chemokines. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:532–541.

Silva TA, Rosa AL, Lara VS. Dentin matrix proteins and soluble factors: intrinsic regulatory signals for healing and resorption of dental and periodontal tissues? *Oral Dis* 2004; 10:63-74.

Smart GJ, Wilson M, Davies EH, Kieser JB. The assessment of ultrasonic root surface debridement determination residual endotoxin levels. *J Clin Periodontol* 1990; 17:174-178.

Wallace JA, Bissada NF. Pulpal and root sensitivity rated to periodontal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69(6): 743-7

Wilson M, Moore J, Kieser JB. Identity of limulus amoebocyte lysate-active root surface materials from periodontally involved teeth. *J Clin Periodontol* 1986; 13(8): 743-7.

Zhao M, Jin Q, Berry JE, Nociti FH Jr, Giannobile WV, Somerman MJ. Cementoblast delivery for periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 2004; 75:154-61.

9 - ANEXO

Certificado do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Unicamp.



Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 468-2, sobre "A Importância do Cimento Remanescente no Processo de Cura Periodontal de Lesões de Furca III após Regeneração Tecidual Guiada: um Estudo Histomorfométrico em Cães", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 21 de Março de 2003.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 468-2, entitled "The Role of Remaining Root Cementum on the Healing Process of Class III Furcation Lesions after Guided Tissue Regeneration: an Histomorphometric Study i Dogs", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on March 21, 2003.

Campinas, 21 de Março de 2003.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente
CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária Executiva
CEEA/IB/UNICAMP