

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

RECOBRIMENTO RADICULAR COM ENXERTO DE TECIDO CONJUNTIVO COM E SEM PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE ESMALTE: UM ESTUDO CLÍNICO PILOTO.

Trabalho submetido por
JORDAN PLÉCHOT
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2023

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

RECOBRIMENTO RADICULAR COM ENXERTO DE TECIDO CONJUNTIVO COM E SEM PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE ESMALTE: UM ESTUDO CLÍNICO PILOTO.

Trabalho submetido por
JORDAN PLÉCHOT
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
PROF. DOUTOR ALEXANDRE SANTOS

e coorientado por
MESTRE JOSÉ MARIA CARDOSO e PROF. DOUTORA MADALENA OOM

setembro de 2023

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Doutor Alexandre Santos** por ser o responsável pelo meu interesse na Periodontologia. Foi o primeiro a acreditar em mim, fornecendo-me a oportunidade de integrar a pós-graduação de Periodontologia. A sua exigência científica e organizacional motivou-me a querer fazer sempre melhor. Obrigado por toda a disponibilidade apoio para ultrapassar todas as dificuldades ao longo desta investigação. Aos meus coorientadores, **Prof. Doutora Madalena Oom** obrigado por todo o apoio laboratorial e toda a dedicação, foi um desafio para mim. Ao **Mestre José Maria Cardoso**, obrigado pela exigência clínica, por me cativar a gostar de Periodontologia e pelo seu discurso sempre orientado com referências bibliográficas. Ao **Prof. Doutor Ricardo Alves**, obrigado pela transmissão da paixão da que temos em comum, a Periodontologia teórica, prática e clínica. Ao **Prof. Doutor Gil Alcoforado**, uma pessoa generosa que nunca vou esquecer, obrigado pela orientação, apoio toda a disponibilidade para a realização da investigação. A **Prof. Doutora Sofia Aroca**, muito obrigado pelo convite no seu gabinete em Paris e pela toda a sua ajuda na realização da investigação. À **Egas Moniz School of Health & Science**, obrigado pelos cinco anos inesquecíveis. À empresa **Straumann**, muito obrigado pelo material disponibilizado e pela confiança para a realização da investigação.

Aos meus pais. Obrigado por terem tornado o meu sonho realidade e por me terem apoiado em todas as fases da minha vida. Amo-vos e ser-vos-ei sempre grato, muito obrigado. À **minha irmã mais nova, Estelle.** Queria agradecer-te pelo teu apoio como minha irmã mais nova ao longo destes 5 anos maravilhosos. Vi-te crescer, à distância e agora vais ser médica, tal como o teu irmão! Parabéns a ti, amo-te, estarei sempre ao teu lado. Ao resto da minha família, **avós, tios, tias, primos**, obrigado por todo o vosso apoio incondicional. Terei sempre boas recordações vossas!

À **Laura**, a minha namorada. Sinto que tive muita sorte em conhecer-te! Muito obrigado por todo o tempo que passámos juntos. O melhor ainda está para vir, amo-te com todo o meu coração. Muchas gracias Lisboa, Muchas gracias Lau.

Para o **Paco.** Devias saber que se me vou tornar dentista é graças a ti! Obrigado por todo o tempo que passámos em Soutons e Hossegor e por todos os teus conselhos. Ao meu primeiro mentor, **Jean-Baptiste Varea**, pelo seu excelente trabalho, pela partilha dos seus conhecimentos e pela sua motivação. Obrigado por acreditarem em mim ao dar este próximo passo. Vida longa ao OPAL DENTAL STUDIO PARIS. A todos os dentistas que pude observar na prática: **Bertrand Garcia, Thomas Guyader, Franck Renouard, Christelle Darnaud, Wally, Alexis Duroux.** Obrigado por toda a vossa ajuda.

E finalmente, a todos os meus amigos! Ao **Pacôme**, meu querido parceiro de clínica, 4 anos maravilhosos juntos e momentos inesquecíveis. Não vai acabar aqui, prometo! Para ti **Sacha**, o endo! Um encontro maravilhoso, um grande amigo e um futuro grande profissional. Ao **Fabien**, o “marsellais” (ou agora, o suíço), com o seu sotaque, o seu póquer e o seus “semeudi”. Ao primeiro encontro que tive em cinco anos, àquelas portas que derrubaste quando saíste para comer, àquela água a ferver que te esperava, às minhas pontes devastadoras e a todos os bons momentos que nunca esquecerei, obrigado por tudo, meu amigo, obrigado por tudo, **Alaa**. Aos meus companheiros de vida, **Juanlu e Guille**, dois pedaços de pessoas que amo com loucura. Muito obrigado por terem partilhado diariamente o meu ciclo universitário. Não acaba aqui, prometo-vos, continuaremos juntos durante muito tempo, 'osk'. **A todos os meus amigos franceses do Porto e de Lisboa e à “kiosk League”**, que partilharam estes cinco anos comigo, jo meu muito obrigado por todos os bons momentos que partilhámos! **Aos meus amigos portugueses e espanholes**, Catarina, Inês, Marta, Marta, Rui, Galinha, Angel, Blanca, Anita, Ruben. Muito obrigado por pela enorme partilha nestes 4 anos incríveis. E, finalmente, para o **Axel**, que vai continuar o estudo, muito obrigado pela tua coragem e parabéns pela tua dedicação e empenho nesta profissão, Hard Level!

RESUMO

Objetivos: O objetivo principal do estudo foi avaliar o impacto clínico e biomolecular das proteínas derivadas da matriz esmalte (PDME) na cicatrização das recessões gengivais de classificação 1 de Cairo (RT1), utilizando um enxerto de tecido conjuntivo com a técnica de retalho de avanço coronal ou a técnica de tunelização. Além disso, foram avaliados, quantificados e comparados três biomarcadores do fluido crevicular gengival; a interleucina 8 (IL-8), o fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), de modo a avaliar a cicatrização gengival aguda e os benefícios da utilização das proteínas derivadas do esmalte.

Materiais e Métodos: Entre setembro de 2022 e março 2023, foram realizadas 8 cirurgias de tratamento de recessões gengivais RT1. Foi feita uma seleção aleatória formando os seguintes grupos: grupo controlo 1 (CAF + STCG), grupo controlo 2 (TUN + SCTG), grupo teste 1 (CAF + SCTG + EMD) e grupo teste 2 (TUN + SCTG + EMD). Foram analisados parâmetros clínicos e biomoleculares antes das cirurgias e até 3 meses depois: redução de recessão gengival (RecRed), recobrimento radicular total (RCR), recobrimento radicular parcial (mRC). Através da recolha do fluído crevicular gengival (FCG), foi realizada a análise da interleucina 8 (IL-8), do fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Foram ainda analisadas a escala visual analógica (VAS), a pontuação da estética radicular (RES) e a satisfação dos doentes (PROMs).

Resultados: Foi verificado, relativamente aos grupos teste (com PDME), um recobrimento radicular médio e completo significativamente superior, bem como um aumento significativo na expressão de VEGF. Além disso, as variáveis adicionais revelaram que a técnica de tunelização apresentou uma aparência estética superior, uma menor morbidade para o paciente e menor sintomatologia pós-operatória.

Conclusão : Foi possível concluir que a utilização das PDME demonstrou contribuir para o processo angiogénico e de cicatrização. São necessários mais estudos, sendo fundamental aumentar o número de amostras para comparação de resultados estatísticos.

Palavras-chaves : recessão gengival, enxerto de tecido conjuntivo, emdogain, biomarcadores.

ABSTRACT

Objectives: The main objective of the study was to evaluate the clinical and biomolecular impact of enamel-derived proteins on the healing of Cairo classification 1 (RT1) gingival recessions using a connective tissue graft with the coronal advancement flap technique or the tunneling technique. In addition, three biomarkers of gingival crevicular fluid were evaluated, quantified and compared; interleukin 8 (IL-8), fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF), in order to assess acute gingival healing and the benefits of using enamel-derived proteins.

Materials and Methods: Between September 2022 and March 2023, 8 surgeries were performed to treat RT1 gingival recessions. A random selection was made forming the following groups: control group 1 (CAF + STCG), control group 2 (TUN + SCTG), test group 1 (CAF + SCTG + EMD) and test group 2 (TUN + SCTG + EMD). Clinical and biomolecular parameters were analysed before the surgeries and up to 3 months afterwards: reduction in gingival recession (RecRed), complete root coverage (RCR), partial root coverage (mRC). Interleukin 8 (IL-8), fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were analysed by collecting gingival crevicular fluid (FCG). The visual analogue scale (VAS), root aesthetic score (RES) and patient satisfaction (PROMs) were also analysed.

Results: A significantly higher average and complete root coverage was found compared to the test groups (with PDME), as well as a significant increase in VEGF expression. In addition, the additional variables revealed that the tunnelling technique has a superior aesthetic appearance, less morbidity for the patient and less post-operative symptoms.

Conclusion: It was possible to conclude that the use of PDME has been shown to contribute to the angiogenic and healing process. Further studies are needed, and it is essential to increase the number of samples in order to compare statistical results.

Keywords: gingival recession, connective tissue graft, emdogain, biomarkers.

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
A.	Introdução	17
1.	Definição de recessão gengival	17
2.	Fatores etiológicos das recessões gengivais	18
3.	Classificações das recessões gengivais.....	20
4.	Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte (PDME)	24
5.	Tratamento das recessões gengivais	30
6.	Cirurgias plásticas muco-gengivais	31
7.	Biomarcadores	40
B.	Questão clínica elaborada de acordo com os critérios PICOST	43
C.	Objetivos do estudo	44
D.	Hipóteses do estudo	44
II.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
A.	Materiais e Métodos	45
1.	Questão foco	45
2.	Desenho do estudo.....	45
3.	Participantes.....	46
4.	Tamanho da amostra.....	47
5.	Randomização	47
6.	Ocultação	47
7.	Grupos do estudo	48
8.	Cronograma do estudo.....	49
9.	Material para realizar as cirurgias	50
10.	Protocolo de análise biomolecular.....	51
11.	Intervenções, avaliações cirúrgicas e clínicas	54
12.	Cirurgias efectuadas nos vários grupo do estudo	61
B.	Variáveis em análise.....	64
1.	Apresentação e enumeração da variável primária	64
2.	Apresentação e enumeração da variável secundária.....	64
3.	Medições e observações adicionais	65

4.	Avaliação das complicações pós-operatórias	67
III.	RESULTADOS	69
A.	Análise descritiva do estudo	69
B.	Resultados da variável primária	70
1.	Redução de recessão gengival (RecRed).....	70
C.	Resultados das variáveis secundárias	72
1.	Resultados de percentagem de recobrimento radicular	72
2.	Análise dos biomarcadores	74
D.	Resultados das medições e observações adicionais.....	77
1.	Resultados da avaliação da dor pela escala visual analógica – <i>VAS</i>	77
2.	Resultados das variáveis do RES – <i>Root Esthetic Score</i>	79
3.	Resultados da satisfação do paciente – <i>PROMs</i>	81
E.	Resultados das complicações pós-operatórias.....	82
IV.	DISCUSSÃO	83
V.	CONCLUSÃO.....	89
VI.	LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS	91
VII.	BIBLIOGRAFIA	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação de recessão gengival de Miller, retirado do artigo de Miller PD Jr, 1985.	21
Figura 2 - Classificação de recessão gengival de Cairo, retirado de artigo de Cairo et al., 2011.	22
Figura 3 – Biotipo gengival, retirado do artigo de Rasperini et al., 2017.	22
Figura 4 – Fenótipo gengival, retirado do artigo de Jepsen et al., 2018.....	23
Figura 5 - Calibração do volume gengival, retirado de Wassall & Preshaw, 2016.....	49
Figura 6 - Cronograma do estudo.....	49
Figura 7 - Escala visual analógica (<i>VAS</i>).	65
Figura 8 - Linha representativa dos <i>PROMs</i>	67
Figura 9 - Escala visual analogica (<i>VAS</i>).	77
Figura 10 – Linha representativa dos <i>PROMs</i>	81

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação das raízes dos dentes com recessão gengival, adaptado do artigo de Jepsen et al., 2018.....	23
Tabela 2 - Classificação das cirurgias possíveis, adaptado de Stefanini et al., 2018. ...	37
Tabela 3 - Citocinas pró-inflamatórias analisadas no artigo de Dias et al, 2022.....	41
Tabela 4 - Fatores de crescimento analisados no artigo de Dias et al, 2022.	41
Tabela 5 - Tabela das variáveis do estudo.	43
Tabela 6 - Material necessário para a realização das cirurgias.....	50
Tabela 7 - Tabela utilizada para a avaliação do RES.	66
Tabela 8 - Complicações pós-operatórias.....	67
Tabela 9 – Análise descritiva do estudo.	69
Tabela 10 - Resultados da variável primária.	70
Tabela 11 - Resultados médios da variável primária nos diferentes grupos comparados, grupo controlo 1 (CAF+SCTG) vs grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME), grupo controlo 2 (TUN+SCTG) vs grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME).....	71
Tabela 12 - Resultados da variável secundária - recobrimento radicular.....	72
Tabela 13 - Resultados da variável secundaria recobrimento radicular nos diferentes grupos comparados.	73
Tabela 14 - Resultados da análise biomolecular da IL-8 em $\mu\text{g/ml}$	74
Tabela 15 – Valores médios da IL-8 no FGC, no grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME)	74
Tabela 16 - Resultados da análise biomolecular da IL-8, no grupo controlo 2 e no grupo teste 2.....	75
Tabela 17 - Resultados da análise biomolecular do <i>VEGF</i> , em $\mu\text{g/ml}$	76
Tabela 18 - Resultados da análise biomolecular do <i>VEGF</i> , no grupo controlo 1 e no grupo teste 1.....	76
Tabela 19 - Resultados da análise biomolecular do <i>VEGF</i> , no grupo controlo 2 e no grupo teste 2.....	77
Tabela 20 - Resultados da escala <i>VAS</i>	77
Tabela 21 - Tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados, <i>VAS</i>	79
Tabela 22 - Resultados da variável <i>RES</i>	79

Tabela 23 - Tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados <i>RES</i>	80
Tabela 24 - Resultados dos <i>PROMs</i>	81
Tabela 25 - Tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados. <i>PROMs</i>	82
Tabela 26 - Resultados das complicações pós-operatórias dos pacientes.	82

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 - Colocação dos Periopapers em centro-vestibular depois de isolar a área a ser examinada. Fotografia 2 - Periopapers colocados no Periotron para cálculo do volume recolhido.	51
Fotografia 3 - PBS (phosphate buffered saline). Fotografia 4 - Centrifugadora, 5 minutos, 5000 rotações por minutos.....	51
Fotografia 5 - Leitor de microplacas Tecan Infinte M Plex.....	52
Fotografia 6 - Diluição com a solução tampão da amostra com a ajuda da micropipeta.	52
Fotografia 7 - Configuração do leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX com 600 nm e depois 450 nm.....	53
Fotografia 8 - Análise fotográfica das recessões gengivais do primeiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. Fotografia 9 - Análise fotográfica das recessões gengivais do segundo quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. Fotografia 10 - Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. Fotografia 11 - Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. Fotografia 12 – Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica.	54
Fotografia 13 - Incisões horizontais e verticais da cirurgia de CAF com lamina de bisturi 15C para as recessões gengivais dos dentes 14 e 15. Fotografia 14 - Retalho da cirurgia CAF.	55
Fotografia 15 - Prefgel nas raízes expostas dos dentes 14 e 15. Fotografia 16 - Posicionamento do enxerto de tecido conjuntivo sobre as raízes expostas dos mesmos dentes. Fotografia 17 - Sutura do enxerto de tecido conjuntivo com sutura reabsorvível.	56
Fotografia 18 - Emdogain na superfície das raízes e no enxerto de tecido conjuntivo suturado e na zona do retalho. Fotografia 19 - Sutura com pontes simples com sutura 6/0 do retalho em cima do enxerto de tecido conjuntivo.....	56
Fotografia 20 - Sequência do ataque ácido+bond+resina fluída no palato. Fotografia 21 - Sutura final CAF+SCTG+PDME.	56
Fotografia 22 - Análise fotográfica e medição da recessão gengival.....	57

Fotografia 23 – Micro lâmina de bisturi 69.	Fotografia 24 – Micro lâmina de bisturi no sulco gengival em apical.
Fotografia 25 – Micro lâmina iniciando a criação de um túnel em distal.	Fotografia 26 – Micro lâmina iniciando a criação de um túnel em mesial... 57
Fotografia 27 - Padrão com o cartão estéril da sutura para a medição do futuro enxerto de tecido conjuntivo do palato.	Fotografia 28 - Esponja hemostática na zona onde foi tirado o SCTG, e sutura com seda com um ponto cruzado. 57
Fotografia 29 - Início da sutura com fio de sutura 5/0.	Fotografia 30 - Resultado final da TUN+SCTG com suturas com dois pontos simples e um ponto de sutura com tração vertical. 58
Fotografia 31 - Zona do palato depois de uma semana de cicatrização.	Fotografia 32 - Zona das recessões gengivais dos dentes 14 e 15 depois de uma cirurgia CAF+SCTG+PDME depois de uma semana de cicatrização.
Fotografia 33 - Zona do palato depois de uma semana de cicatrização.	Fotografia 34 - Cicatrização a uma semana depois de uma cirurgia TUN+SCTG no dente 31..... 59
Fotografia 35 - Cicatrização do palato depois de duas semanas.	Fotografia 36 - Cicatrização da cirurgia CAF+SCTG+EMD depois de tirar a sutura aos 14 dias.
Fotografia 37 - Cicatrização do enxerto de tecido conjuntivo com a técnica TUN+SCTG depois de tirar a sutura.	Fotografia 38 - Cicatrização do palato após duas semanas. ... 59
Fotografia 39 - Cicatrização do palato após três semanas de cicatrização.	Fotografia 40 - Cicatrização da cirurgia CAF+SCTG+EMD depois de três semanas.
Fotografia 41 - Cicatrização da cirurgia TUN+SCTG três semanas depois..... 60	
Fotografia 42 - Situação inicial.	Fotografia 43 - Recolha do FCG com Periopapers.
Fotografia 44 - Medição da RG com chave em putty/light..... 61	
Fotografia 45 - Incisões da CAF.	Fotografia 46 - Retalho CAF split-full-split.
Fotografia 47 - Prefgel nas raízes dos dentes..... 61	
Fotografia 48 - SCTG.	Fotografia 49 - Sutura do enxerto.
Fotografia 50 - PDME no SCTG.	Fotografia 51 - Sutura do retalho. 61
Fotografia 52 - Cicatrização do palato 1 semana depois.	Fotografia 53 - Cicatrização do enxerto 1 semana depois. 61
Fotografia 54 - Cicatrização do palato 2 semanas depois.	Fotografia 55 - Cicatrização do enxerto 2 e 3 semanas depois.
Fotografia 56 - Cicatrização do enxerto, vista latero-vestibular. 61	
Fotografia 57 - Medição da RG.	Fotografia 58 - Medição da largura da recessão.

Fotografia 59 - Recolha do FCG com Periopapers.	62
Fotografia 60 - Incisões da CAF. Fotografia 61 - Retalho CAF split-full-split.....	62
Fotografia 62 - SCTG. Fotografia 63 - Sutura do enxerto.....	62
Fotografia 64 - Sutura do retalho. Fotografia 65 - Cicatrização do enxerto 1 semana depois. Fotografia 66 - Cicatrização do enxerto 2 semanas depois.	62
Fotografia 67 - Situação inicial. Fotografia 68 - Situação inicial.....	63
Fotografia 69 – Micro lâmina de bisturi vertical. Fotografia 70 – Micro lâmina de bisturi no lado esquerdo gengival. Fotografia 71 - Micro lâmina de bisturi no lado gengival direito.....	63
Fotografia 72 - Início da sutura do enxerto. Fotografia 73 - Sutura do enxerto com dois pontos simples e um ponto vertical. Fotografia 74 - Sutura do palato com esponja hemostática.	63
Fotografia 75 - Cicatrização do palato 3 meses depois. Fotografia 76 - Cicatrização do enxerto após 3 meses.	63

LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SIGLAS

RG – recessão gengival

LPD – Ligamento Periodontal

CAF – *Coronaly Advanced Flap* = retalho de avanço coronal

TUN - tunelização

SCTG – *subepithelial connective tissue graft* = enxerto de tecido conjuntivo

PDME – Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte

JMG – Junção Muco-Gengival

RecRed – *Recession Reduction* = redução de recessão

mCR / CRC –recobrimento radicular parcial / recobrimento radicular total

CRSD – *Classe of Root Surface Discrepancies* = Classificação da superfície da raiz

VAS – *Visual Analog Scale* = Escala Visual Analógica

RES – *Root Esthetic Score* = pontuação estética radicular

PROMs – Avaliação de satisfação dos pacientes

IL8 – *Interleukine 8* = Interleucina 8

VEGF – *Vascular Endothelial Growth Factor* = Fator de crescimento endotelial vascular

FGF-2 – *Fibroblast growth factor 2* – fator fibroblástico de crescimento 2

I. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A. Introdução

1. Definição de recessão gengival

De acordo com a Academia Americana de Periodontologia, a recessão gengival é definida como a exposição da raiz do dente causada pela migração da gengiva para uma posição apical à junção cimento-esmalte (Caton et al., 2017). Dependendo da gravidade da recessão, esta pode apresentar ou não perda óssea interproximal. Consiste numa condição relativamente comum que compromete a estética dentária e gengival, podendo causar hipersensibilidade dentária. Afeta mais de 50% da população, incluindo indivíduos saudáveis (Jepsen et al., 2017). Compreender a causa, estabelecer o prognóstico e escolher o tratamento mais indicado para este tipo de lesões continua a representar um desafio para os periodontologistas (Chan et al., 2015).

A noção de deslocamento não tem que ser percebida como uma migração básica do tecido gengival, onde a única consequência é uma modificação da posição da gengiva que conservaria a posteriori as suas dimensões. O termo de recessão gengival significa uma mudança da situação do rebordo gengival devido a perda da gengiva aderida, tendo como consequência a exposição de uma parte da superfície radicular do dente. A posição apical do sistema de inserção do dente em relação à junção amelo-cementaria (JAC), é um processo patológico que implica destruição tecidual (Aroca., Dridi., 2022).

Em todos os casos de recessão gengival, ocorre uma perda de inserção irreversível, que pode ser só de origem gengival se a perda de tecido for apenas ao nível da gengiva. Noutras situações pode ocorrer também perda do ligamento periodontal e perda óssea (Aroca., Dridi., 2022).

2. Fatores etiológicos das recessões gengivais

Numa primeira abordagem é crucial a identificação dos fatores etiológicos e as condições modificáveis associadas à recessão gengival (Imber & Kasaj, 2021). A sua etiologia é multifatorial, existindo vários fatores relacionados com a sua etiologia, além do processo inflamatório induzido pelo biofilme bacteriano. Os fatores que desencadeiam o seu desenvolvimento são classificados como fatores precipitantes, enquanto que os fatores que aumentam o risco para o seu desenvolvimento são classificados como fatores predisponentes (Vitor G. P., 2019).

a) Fatores precipitantes

Os fatores precipitantes são fatores externos, que não estão diretamente relacionados com o doente em si. Compreendem a indução por aceleração da inflamação gengival e a reabsorção alveolar. São considerados fatores precipitantes: a inflamação por placa bacteriana (Serino et al., 1994), trauma mecânico devido a uma escovagem inadequada (McCracken et al., 2009), trauma (piercings, fatores iatrogênicos).

Ocorrendo uma exposição da raiz do dente é frequente uma maior acumulação de placa bacteriana o que leva a uma inflamação da gengiva e conseqüentemente aumenta a progressão da recessão gengival (Susin et al., 2004). Frequentemente a presença de recessões gengivais dificulta o posicionamento da escova, comprometendo a remoção eficaz da placa bacteriana do local inflamado. O trauma mecânico é o resultado do uso da escova com forças inadequadas, deixando muitas vezes as superfícies das raízes dos dentes lisos (Yared et al., 2006).

O hábito tabágico pode também influenciar o processo de desenvolvimento da recessão gengival. A nicotina presente no tabaco é um vasoconstritor que diminui o fluxo sanguíneo para o tecido gengival, prejudicando a capacidade de cicatrização dos tecidos gengivais lesados. Uso de irritantes químicos como tabaco e cocaína influenciam a microflora sulcular dos doentes, afetando a resposta do hospedeiro, inibindo a síntese de fibroblastos (Mostafa D., 2021). O tabaco influencia a resposta imunológica, havendo uma maior susceptibilidade para infecções e retardando a cicatrização, nomeadamente em cirurgias de recessão gengival. Segundo alguns autores o risco de RG é maior, cerca de duas vezes, num paciente fumador do que num paciente não fumador (Marini et al., 2004).

Os piercings linguais e os piercings colocados nos freios podem provocar recessões gengivais linguais e palatinas devido aos impactos traumáticos repetidos na gengiva. A presença do piercing na boca pode causar trauma mecânico constante nos tecidos gengivais, o que pode levar à recessão gengival (Er, N., et al., 2000). O piercing também pode causar irritação constante nos tecidos gengivais, o que pode levar à inflamação e à recessão gengival. A perfuração da boca pode facilitar a entrada de bactérias e outros microrganismos que podem causar infecções e inflamação nos tecidos gengivais (Er, N., et al., 2000).

b) Fatores predisponentes

Os fatores predisponentes são as características anatómicas locais que favorecem o aparecimento das recessões gengivais. Incluem má posição dentária, deiscências, fenestrações e cortical óssea fina, inadequada quantidade de gengiva queratinizada, inadequada inserção de freios ou bridas, tratamento ortodôntico (Jati, A. S., Furquim, L. Z., & Consolaro, A., 2016).

A quantidade de gengiva queratinizada é um fator importante no desenvolvimento de recessões gengivais. Uma banda mínima de gengiva queratinizada tem mais tendência para o aparecimento das recessões gengivais. Uma banda de gengiva queratinizada (GK) de 2 milímetros à volta de cada dente contribui para a saúde gengival (Lang, N. P., & Löe, H., 1972).

A presença de freios labiais altos ou bridas provocam uma tração excessiva da gengiva e dificultam a escovagem o que favorece a acumulação de placa bacteriana e o aparecimento de recessão gengival. Pode ser corrigida cirurgicamente, criando uma inserção mais apical do freio (Mostafa, D., 2021).

O mau posicionamento dentário tem sido referido como um dos fatores que contribui para o desenvolvimento de recessões gengivais. A posição na qual o dente vai erupcionar na arcada dentária está diretamente associada à quantidade de gengiva em torno do mesmo. Por exemplo, os dentes que se encontram vestibularizados ou que tenham sofrido rotação têm maior probabilidade de apresentar recessões gengivais. A existência de deiscências e fenestrações aumentam significativamente a probabilidade de ocorrência de recessão gengival, especialmente em dentes mal posicionados (Mostafa, D.,

2021). Uma cortical óssea fina conduz a uma banda mínima de gengiva queratinizada, havendo uma maior probabilidade de recessão gengival (Mostafa, D., 2021).

O tratamento ortodôntico pode contribuir para fatores predisponentes das recessões gengivais, tais como deiscências, fenestrações e/ou corticais ósseas finas. Durante os movimentos dentários, os dentes podem ser deixados vestibularizados, o que provoca um tecido ósseo e gengival mais fino o que pode contribuir para o desenvolvimento de recessões gengivais. Durante o tratamento ortodôntico, as forças aplicadas nos dentes podem ser excessivas e podem causar uma sobrecarga nos tecidos de suporte dos dentes, incluindo a gengiva. Isso pode levar à reabsorção óssea e menor espessura dos tecidos gengivais, resultando em recessão gengival (Årtun J, Krogstad O., 1987). Por outro lado, a dificuldade em manter uma boa higiene oral durante o tratamento ortodôntico pode levar à acumulação de placa bacteriana e inflamação gengival, o que pode levar também à recessão gengival. Algumas pessoas podem ter uma anatomia dentária pré-existente que as torna mais suscetíveis a recessões gengivais durante o tratamento ortodôntico. O movimento de expansão rápida da mandíbula ou a movimentação rápida de dentes pode aumentar o risco de recessão gengival. A relação ortodontia-periodontologia é muito importante porque existem muitos pacientes pós ortodontia que precisam da periodontologia, existindo pacientes que previamente ao tratamento ortodôntico necessitam de tratamento periodontal. O quinto sextante é uma das localizações com maior propensão para a ocorrência de RG (Serino G, et al., 1994).

3. Classificações das recessões gengivais

Várias classificações têm sido apresentadas ao longo dos anos para classificar as recessões gengivais. **A classificação de Miller** é uma das classificações mais utilizadas. No entanto, mais recentemente, foi proposta **a classificação de Cairo**, em 2011. O objetivo desta classificação foi apresentar uma classificação mais focada para o tratamento, sendo dividida em três grupos. Em 2017, o Workshop Mundial da Classificação de Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares introduziu a avaliação do fenótipo gengival, da perda de inserção interproximal e as características da superfície radicular exposta na análise das recessões gengivais (Jepsen et al, 2018).

a) Classificação de Miller

Em 1985, Miller classificou as recessões gengivais em 4 grupos distintos. A classe 1 de Miller é uma recessão gengival sem perda óssea ou de tecidos interproximais. A classe 2 de Miller é uma recessão gengival sem perda óssea ou de tecidos interproximais, que ultrapassa a linha muco-gengival (LMG). Nas duas primeiras classes de recessões, o recobrimento completo é possível. As classes 3 e 4 são recessões gengivais que têm uma perda óssea interproximal. A classe 3 de Miller, foi descrita com perda óssea interdentária, ou uma extrusão do dente. O recobrimento radicular é apenas parcial, não sendo possível recobrimento radicular completo. Na classe 4 de Miller, há uma perda óssea interdentária e uma ausência da papila dentária. Se um dente estiver mal posicionado na arcada dentária, passa logo para a classe seguinte. O mal posicionamento dentário tem pior prognóstico. Por exemplo, um dente com recessão gengival sem perda óssea ou de tecido interproximal e que não ultrapassa a LMG, mas que está mal posicionado na arcada, passa automaticamente para a classe 2 de Miller (Miller PD Jr, 1985).



Figura 1 - Classificação de recessão gengival de Miller. A: classe 1 de Miller (sem perda óssea/tecidos/papila). B: classe 2 de Miller (sem perda óssea mas com a recessão que ultrapassa a LMG). C: classe 3 de Miller (perda óssea e recessão gengival até a LMG). D: classe 4 de Miller (perda óssea severa e perda da papila interdental), retirado do artigo de Miller PD Jr, 1985.

b) Classificação de Cairo

Em 2011, Cairo publicou uma nova classificação das recessões gengivais, quase três décadas depois da de Miller. A classe 1 de Cairo, RT1, é uma classificação onde a recessão gengival não tem perda óssea interproximal e a junção amelo cementaria (JAC) não está visível em mesial e em distal do dente. A classe 2 de Cairo, RT2, corresponde às recessões gengivais com perda óssea interproximal, sendo a perda de inserção interproximal inferior ou igual à perda de inserção vestibular. A classe 3 de Cairo, RT3, corresponde às recessões gengivais com perda óssea interproximal maior do que a perda de inserção vestibular (Cairo et al., 2011).

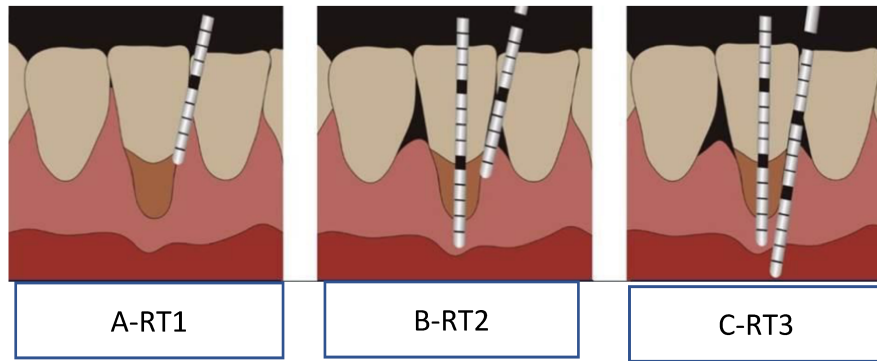


Figura 2 - Classificação de recessão gengival de Cairo. A: recessão gengival RT1 (sem perda óssea interproximal). B: recessão gengival RT2 (perda óssea interproximal igual ou inferior a perda de inserção vestibular). C: recessão gengival RT3 (perda óssea interproximal superior a perda de inserção vestibular), retirado de artigo de Cairo et al., 2011.

c) Classificação do fenótipo gengival

Em 2017, Rasperini, preconizou um sistema para avaliar e classificar o biotipo gengival. Os autores propuseram a divisão em quatro grupos; biotipo fino, biotipo médio, biotipo espesso e biotipo muito espesso. A medição faz-se com três sondas especiais, tendo as mesmas a ponta de uma cor específica. A primeira sonda tem a ponta branca, a segunda verde e a terceira azul. Quando se vê as três sondas através do sulco gengival, o biotipo é fino. Ao contrário, quando não se vê as cores das sondas através do sulco gengival, o biotipo gengival é médio, espesso ou muito espesso (Rasperini et al., 2017).

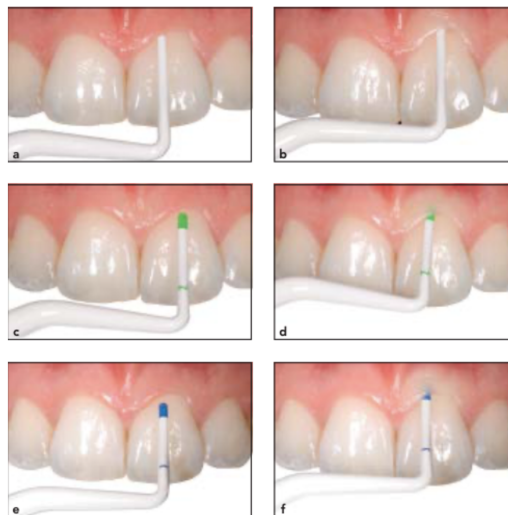


Figura 3 – A: fotografia da sonda branca no dente, B: fotografia da sonda branca inserida no sulco gengival, C: fotografia da sonda verde no dente, D: fotografia da sonda verde inserida no sulco gengival, E: fotografia da sonda azul no dente, F: fotografia da sonda azul inserida no sulco gengival. No sulco gengival, a sonda branca não é visível e as duas outras cores são visíveis. O biotipo gengival é médio, retirado do artigo de Rasperini et al., 2017.

Em 2017, no Workshop Mundial sobre a Classificação de Doenças e Condições Periodontais e Periimplantares foi sugerida a adoção do termo “fenótipo periodontal” para descrever a combinação do fenótipo gengival e da espessura óssea vestibular, em vez da utilização do termo biotipo gengival. O fenótipo indica uma dimensão que pode mudar ao longo do tempo dependendo de fatores ambientais e das intervenções clínicas. O fenótipo pode ser modificado, não o genótipo. O fenótipo periodontal é determinado pelo fenótipo gengival (espessura gengival, presença do tecido queratinizado) e morfotipo ósseo (espessura da tábua óssea vestibular) (Jepsen et al., 2018).

O fenótipo gengival pode ser avaliado usando uma sonda periodontal para medir a espessura gengival, observando a transparência da sonda periodontal através do tecido gengival após ser inserida no sulco gengival. Sonda visível: fenótipo fino (≤ 1 mm), sonda não visível: fenótipo espesso (> 1 mm) (Jepsen et al., 2018).



Figura 4 – Fotografia de uma sonda periodontal inserida no sulco gengival. A sonda é visível através do sulco gengival; o fenótipo gengival é fino (< 1 mm), retirado do artigo de Jepsen et al., 2018.

d) Classificação da superfície da raiz

Durante o mesmo Workshop mundial os autores definiram classificações para as raízes dos dentes com recessão gengival e para as lesões cervicais associadas. Os dois critérios da classificação são a JAC e a abrasão radicular, criando uma concavidade da superfície da raiz (Jepsen et al., 2018).

Tabela 1 - Classificação das raízes dos dentes com recessão gengival. Classe A: JAC visível. Classe B: JAC não visível. Abrasão radicular +: presença de concavidade na superfície da raiz. Abrasão radicular -: ausência de concavidade da superfície da raiz, adaptado do artigo de Jepsen et al., 2018.

JAC	Abrasão radicular	descrição
Classe A	-	JAC visível sem abrasão radicular
Classe A	+	JAC visível com abrasão radicular
Classe B	-	JAC não visível sem abrasão radicular
Classe B	+	JAC não visível com abrasão radicular

4. Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte (PDME)

Os primeiros autores que descobriram que as PDME poderiam ser utilizadas como um agente biológico capaz de regenerar o periodonto foram Lars Hammarström, Sven Lindskog e Leif Blomloff, em 1995 (Hammarström et al., 1991, 1992, 1995).

O grupo Sueco baseou-se no estudo de 1981, onde relataram que certas proteínas específicas do esmalte depositavam-se na superfície das raízes dos dentes em desenvolvimento antes da formação do cimento, desempenhando um possível papel na cimentogênese (Lindskog et al., 1981).

Posteriormente, vários autores demonstraram que as PDME são proteínas secretadas pelo epitélio da raiz (bainha epitelial de *Hertwig*), sendo capazes de promover a regeneração periodontal (Gestrelus et al. 1997^{a,b}, Hammarström et al. 1997, Heijl 1997, Zetterstrom et al. 1997).

a) Origem e composição das PDME

As PDME apresentam a sua única formulação comercializada e denominada de Emdogain®, produzida pela Biora (Malmo, Suécia). A companhia Biora foi incorporada pela Straumann Biologic Division desde 1 de Abril de 2004. Inicialmente, o Emdogain® era comercializado numa formulação diferente da atual, apresentando-se com as PDME isoladas e uma solução de alginato de propilenoglicol (PGA), que tinham de ser misturados antes de aplicar. Hoje em dia, a formulação está comercializada sobre a forma de gel de Emdogain® (Esposito et al., 2009).

As PDME são frações purificadas derivadas das camadas de esmalte de dentes de porcos em desenvolvimento. Os principais componentes das PDME são as amelogeninas que são uma família de proteínas hidrofóbicas. As amelogeninas representam mais de 90% do conteúdo total de proteínas derivadas de diferentes variantes, todas controladas a partir da expressão de um único gene (Lyngstadaas et al. 2009). Essas proteínas dispõem-se em agregados supramoleculares que formam uma matriz extracelular insolúvel e apresentam a capacidade de controlar a organização ultraestrutural dos cristais de esmalte em desenvolvimento (Lyngstadaas et al. 2009). Para além das amelogeninas também estão presentes em menor quantidade: enamulina, ameloblastina que são proteínas também importantes para a regeneração periodontal (Lyngstadaas et al. 2009).

b) Características das PDME

Foi demonstrado que as PDME exercem uma influência significativa no comportamento celular, como adesão celular, proliferação, diferenciação bem como a expressão de fatores de transcrição, fatores de crescimento, citocinas, constituintes da matriz extracelular e outras moléculas envolvidas na regulação da remodelação óssea (Bosshardt, 2008). Além disso, foi demonstrado que as PDME desempenham um papel significativo na cicatrização de feridas, favorecendo a regeneração dos tecidos moles e a atividade angiogénica (Miron et al. 2014b).

c) Evidência *in vitro* das PDME

Existem vários estudos na literatura que evidenciam a capacidade de regeneração das PDME.

Num estudo realizado em humanos, observou-se que as PDME promoveram a diferenciação das células do ligamento periodontal humano, resultando na criação de suporte para a regeneração periodontal (Lossdorfer et al., 2007).

Num outro estudo realizado em sangue humano, *in vitro*, foi demonstrado que as PDME provocaram a diminuição da libertação de citocinas pró-inflamatórias induzidas por lipopolissacarídeos ou Polietileno glicol no sangue humano, sugerindo que as mesmas possuem um potencial anti-inflamatório (Myhre et al., 2006).

Além disso, num estudo ao nível dos osteoblastos primários murinos (células da regeneração óssea), as PDME prolongaram o crescimento dos osteoblastos, conforme evidenciado pela expressão aumentada de colágeno 1, IL-6 e a prostaglandina sintase 2 (PGSH-2) (Jiang et al., 2001).

A proliferação e migração de células são parte essencial na cicatrização de feridas cirúrgicas (Campos et al., 2007). Na cirurgia de recessão gengival, a cicatrização da zona intervencionada é uma fase fundamental do procedimento cirúrgico. Ardakani et al (2019), desenvolveu um estudo *in vitro*, com o objetivo de comparar o efeito das PDME com o efeito do plasma rico em fatores de crescimento (PRGF) e com o efeito das fibrinas ricas em plaquetas (PRF) no processo da proliferação de fibroblastos gengivais humanos. Foram criadas feridas artificiais em culturas de fibroblastos e foram aplicadas ou as PDME ou PRGF ou PRF. A análise estatística demonstrou a existência de um estímulo

no encerramento das feridas para todos os grupos (PRGF, PRF e PDME), sem diferenças estatisticamente significativas (Ardakani et al., 2019).

Palioto et al, em 2004, publicou um estudo sobre a influência das PDME nos fibroblastos do ligamento periodontal. Comparou as PDME com um fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-1) e os dois em simultâneo. O IGF-1 é um potente modulador da regeneração periodontal, estimulando a proliferação celular, diferenciação, síntese de colágeno tipo I e proteínas não colagénicas. Os resultados mostraram que as PDME, o IGF-I e a combinação de ambos, estimularam a proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal, não afetando a adesão, migração e expressão do colágeno tipo I dessas células (Palioto, D. B., et al., 2004).

Um estudo recente investigou os efeitos das PDME na viabilidade, proliferação e adesão de fibroblastos periodontais em superfícies radiculares extraídas, afetadas por periodontite. A proliferação de células do ligamento periodontal (LPD) pareceu aumentar após a exposição as PDME. A análise por microscopia eletrônica mostrou um aumento da adesão celular à dentina de dentes extraídos, após a aplicação das PDME (Davenport, D. R., et al., 2003).

Os resultados apresentados nos estudos anteriores demonstraram que a expressão génica, a produção de proteínas, a proliferação e a diferenciação de diferentes células podem ser afetadas e muitas das vezes aumentadas pelas PDME. Em particular, as células do ligamento periodontal parecem diferenciar-se com o desenvolvimento dos cementoblastos. Também foi demonstrado que as PDME podem estimular a atividade angiogénica (Yuan, K., Chen, C. L., & Lin, M. T., 2003).

d) Evidência em estudos animais das PDME

O primeiro estudo animal com as PDME foi realizado em cirurgias de recessões gengivais com um retalho de avanço coronal (CAF) isolado ou em combinação com as PDME. Após um período de cicatrização de 8 semanas, a avaliação histológica revelou a formação de cemento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar em todos os defeitos tratados com as PDME. Em amostras controlo (sem as PDME), os defeitos apresentaram a formação de um epitélio longo de união na superfície exposta da raiz, e apenas foi observada uma regeneração periodontal muito limitada (Hammarström et al., 1997).

Em dois estudos com macacos, defeitos de recessões gengivais e defeitos intraósseos foram criados cirurgicamente e expostos à infecção por placa bacteriana. O tratamento periodontal inicial consistiu inicialmente numa fase higiénica e depois numa aplicação de clorexidina tópica. Os defeitos foram tratados com uma das seguintes terapias: (a) regeneração tecidual guiada (RTG), (b) PDME, (c) PDME+GTR ou (d) desbridamento cirúrgico aberto (grupo controlo). Estudos histológicos revelaram cicatrizes em defeitos do grupo controlo, caracterizados por um epitélio longo de união e uma regeneração periodontal limitada. O tratamento com RTG, PDME ou PDME+GTR resultou num cemento que incorpora as fibras de colágeno e o osso alveolar (Sculean et al., 1999), (Sculean et al., 2000).

Num estudo realizado por Al-Hezaimi, em 2012, o objetivo foi de avaliar histologicamente a alteração da espessura dos tecidos gengivais. Foram criados dois grupos, tendo sido aplicadas as PDME no grupo de estudo, enquanto que no grupo controlo não. Para isso foram criados defeitos do tipo deiscência em dentes de cães da raça *Beagle*. Os autores observaram que os defeitos tratados apenas com as PDME mostraram nova formação de cemento. Na análise histomorfológica, os resultados demonstraram que a espessura média do tecido gengival foi superior (com diferenças estatisticamente significativas) no grupo tratado com as PDME em comparação com o grupo controlo. Sendo assim, os resultados deste estudo sustentam a ideia de que as PDME têm um efeito positivo no aumento da espessura do tecido gengival (Al-Hezaimi et al., 2012).

Relativamente à cicatrização e ao seu comportamento celular em animais, Maymon-Gil et al., desenvolveram um estudo sobre os efeitos das PDME na cicatrização de feridas cirúrgicas em mucosas de ratos. Os resultados histológicos e imuno-histoquímicos demonstraram que as PDME não tiveram efeito sobre a cicatrização da ferida, no entanto, nos dias 5 e 9, o tratamento com as PDME apresentou maior contagem de células proliferativas e aumentou significativamente o número de vasos sanguíneos e o conteúdo de colágeno. Além disso, a análise da expressão genética revelou que o tratamento com as PDME resultou em níveis mais altos de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) de fatores críticos na cicatrização de feridas tais como: interleucina 1 β (IL-1 β), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). As EMD induzem a expressão de RNAm da IL-1 β e metaloproteinase 1 (MMP-1), moléculas associadas com a

reepitelização, e inibiu a proliferação de queratinócitos. Desta forma, o estudo apresentou evidências *in vivo* que ilustraram que as PDME promovem vários eventos biológicos, como angiogênese, fibroplasia e formação de matriz extracelular, que por sua vez melhoram a cicatrização de tecidos moles (Maymon-Gil et al., 2016).

Os estudos *in vitro* e *in vivo* citados, realizados em animais, são representativos dos efeitos benéficos das PDME.

e) Evidência nos humanos das PDME

Estudos histológicos em humanos sugeriram que as PDME foram detetáveis na superfície exposta da raiz do dente ao fim de 2 a 4 semanas após a cirurgia periodontal. Em estudos em que os dentes foram extraídos para análise histológica, observou-se que as PDME ainda estiveram presentes nas superfícies ao fim de algumas semanas após a intervenção cirúrgica. Este resultado parece ser um período de tempo suficientemente longo para permitir a recolonização das células do ligamento periodontal, fazendo com que ocorra regeneração periodontal e inibindo o crescimento e a proliferação das células epiteliais (Sculean et al., 2002).

A avaliação histológica de biópsias humanas de defeitos de recessão gengival, foi realizada a fim de analisar a regeneração periodontal. Verificou-se que a aplicação das PDME durante uma cirurgia de CAF, resultou numa maior formação de cimento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar. Contudo, o tratamento com CAF e um enxerto conjuntivo ou CAF isolado, foi caracterizado por um epitélio juncional longo e até mesmo sinais de reabsorção radicular. Os resultados deste estudo revelaram um recobrimento radicular de 100% em 89,5% dos casos com CAF+PDME e 79% com SCTG (McGuire & Cochran., 2003).

Um ensaio clínico controlado randomizado, comparando o tratamento de recessões classe I e II de Miller com a técnica de recobrimento radicular CAF, mostrou que após um período de cicatrização de 2 anos, 53% dos pacientes tratados com CAF+PDME mantiveram um recobrimento radicular completo em comparação com 23% dos recobrimentos radiculares CAF sozinhos, no grupo controlo (Sculean et al., 2007).

No tratamento de defeitos de recessão gengival com CAF, as PDME promoveram a formação de cimento, LPD e osso aumentando significativamente a espessura do tecido queratinizado e modificando o fenótipo gengival. A aplicação das PDME, parece fornecer melhores resultados a longo prazo comparativamente às cirurgias CAF isoladas (Sculean et al., 2007).

Em 2011, num estudo clínico randomizado, foi comparado a aplicação de um enxerto de tecido conjuntivo (“*subepithelial connective tissue graft*” (SCTG)) em pacientes com recessão gengival com ou sem as PDME. O estudo observou que ambos os tratamentos levaram a bons resultados clínicos e estéticos mas que no grupo tratado com as PDME houve maior recobrimento radicular, maior recobrimento radicular completo e maior nível de inserção clínico comparado com o grupo controlo, porém sem diferenças estatisticamente significativas. O recobrimento radicular completo foi obtido em 62% dos locais de teste (com as PDME) em comparação com 47% no grupo controlo (sem as PDME). Os autores concluíram que o uso adicional das PDME é justificado como uma tentativa de obter regeneração periodontal, mas sem grande efeito no benefício clínico do recobrimento radicular. Para além disso, as vantagens clínicas do uso das PDME em associação com enxerto de tecido conjuntivo foram também a atenuação da dor e do desconforto pós-cirúrgicos dos pacientes (Rasperini et al., 2011).

Em 2016, a revisão sistemática de Barrozo et al., incluiu 8 artigos experimentais. Constataram que apesar da ausência de uma diferença global significativa entre o tratamento com CAF + PDME e CAF isolado, a adição das PDME parecem aumentar a probabilidade de recobrimento completo da raiz e aumento a probabilidade de obter novo cimento, novas células do PDL e resultados estéticos satisfatórios (Barrozo et al., 2016).

Num outro estudo, foi avaliado o nível clínico e biológico de cirurgias CAF isoladas ou associadas as PDME, observou-se que o uso das PDME em cirurgias de recessão gengivais resultou numa média de recobrimento radicular completo significativamente maior, ocorrendo também um aumento significativo na expressão de VEGF. Foi sugerido que as PDME podem contribuir para o processo angiogénico e cicatricial. O recobrimento radicular médio foi significativamente maior no grupo teste (com as PDME) em comparação com o grupo de controlo, 86% vs. 66% respetivamente (Alexandra Dias et al., 2021).

5. Tratamento das recessões gengivais

a) Tratamento não cirúrgico das recessões gengivais

Os tratamentos não cirúrgicos compreendem: monitorização e prevenção, uso de agentes dessensibilizantes, vernizes e agentes de união à dentina. É o tratamento inicial das recessões gengivais e é utilizado nas recessões com pouca profundidade (Patel, M., Nixon, P. J., & Chan, M. F. W. Y., 2011).

Geralmente envolve uma combinação de técnicas para reduzir a sensibilidade dentária, prevenir a progressão da recessão gengival e melhorar a aparência estética. Incluem uma profilaxia e uma destartarização com a remoção de placa bacteriana e tártaro, que pode ajudar a prevenir a progressão da recessão gengival e melhorar a saúde oral. Depois da destartarização é geralmente feito um polimento. As instruções para uma correta escovagem e para o uso de fio dentário podem também ajudar a prevenir a acumulação de placa e reduzir a inflamação gengival (Patel, M., Nixon, P. J., & Chan, M. F. W. Y., 2011).

A aplicação tópica de vernizes de flúor, na superfície da raiz exposta, pode ajudar a reduzir a sensibilidade dentária, prevenir a cárie dentária/ radicular, e finalmente diminuir a acumulação da placa bacteriana prevenindo a progressão da recessão gengival (Patel, M., Nixon, P. J., & Chan, M. F. W. Y., 2011).

É importante lembrar que o tratamento não cirúrgico das recessões gengivais é mais eficaz quando combinado com uma boa higiene oral e visitas regulares ao médico-dentista. O tratamento não cirúrgico das recessões gengivais só será benéfico com as recessões gengivais mais estreitas e as menos profundas e com uma abordagem o mais precoce possível (Olusile et al., 2008).

b) Tratamento cirúrgico das recessões gengivais

O objetivo principal do tratamento cirúrgico é o recobrimento da raiz exposta, reduzindo a sensibilidade dentária e aumentando a estética. Existem várias técnicas cirúrgicas disponíveis para tratar as recessões gengivais. A mais conhecida sendo a técnica de eleição, *gold standard*, é o retalho de avanço coronal com um enxerto de tecido conjuntivo (Chambrone et al., 2019).

Pode-se combinar o tratamento cirúrgico dos defeitos de recessão gengival com biomateriais. O enxerto de tecido conjuntivo, é considerado autógeno, ou seja é do próprio doente (Langer & Langer., 1985). Contudo, existem diferentes opções se a recolha do palato não for possível (ou se o paciente não for receptivo a uma cirurgia no palato). Há diferentes opções de substitutos aos enxertos autógenos de tecido conjuntivo do palato. O material alógeno, é retirado de doadores de bancos de tecidos, onde são removidos os elementos celulares para obtenção de uma matriz de colágeno e elastina (Harris, R, J., 1998). Os materiais xenógenos são materiais de origem diferente do ser humano, geralmente de origem bovina (Sanz et al., 2009).

Existem materiais sintéticos para ajudar no procedimento de recobrimento radicular. São materiais artificiais, de colágeno mas que não têm origem humana ou animal (Wilson, T. G., Jr, McGuire, M. K., & Nunn, M. E., 2005). Num estudo onde compararam o recobrimento radicular associado a um substituto dérmico derivado de fibroblastos humanos vivos com o recobrimento radicular associado a um enxerto de tecido conjuntivo, em recessões gengivais de classe I e II de Miller, os autores concluíram que o substituto dérmico derivado de fibroblastos humanos pode oferecer potencial como substituto do enxerto de tecido conjuntivo em recessões gengivais de classe I ou de classe II de Miller (Wilson, T. G., Jr, McGuire, M. K., & Nunn, M. E., 2005).

6. Cirurgias plásticas muco-gengivais

a) A técnica de retalho de avanço coronal (CAF)

(1) Definição e evolução

A técnica de retalho de avanço coronal (“*coronal advanced flap*” (CAF)) é uma técnica cirúrgica utilizada em periodontologia para correção de recessões gengivais. O CAF foi introduzido pela primeira vez por Norberg, em 1926, como um procedimento cirúrgico estético para recobrimento radicular. Em 1958, Patur e Glickman publicaram um estudo onde relataram que o avanço coronal de um retalho não era eficaz de recobrir a raiz exposta (Patur & Glickman, 1958). A técnica foi discutida por vários autores como por exemplo Tenenbaum et al. 1980, Allen & Miller 1989, Wennstrom & Zucchelli 1996, sem grandes resultados clínicos (De Sanctis & Zucchelli, 2007).

A técnica descrita por Allen e Miller em 1989, consistia em duas incisões oblíquas, partindo do ângulo da linha mesial e distal do dente afetado e direcionadas apicalmente

na mucosa alveolar. O retalho era elevado com uma abordagem de espessura parcial para proteger o osso subjacente. Após o desbridamento radicular, o retalho foi avançado coronalmente e fixado com suturas interrompidas (De Sanctis & Zucchelli, 2007).

Zucchelli e de Sanctis em 2000 introduziram uma modificação deste procedimento para tratar múltiplos defeitos de recessão. Uma abordagem *split-full-split* foi usada para elevar o retalho em diferentes espessuras, permitindo manter a espessura máxima do tecido mole acima da exposição da raiz. A mobilização coronal do retalho foi realizada por meio de uma incisão superficial eliminando a inserção do músculo labial residente na espessura do retalho (De Sanctis & Zucchelli, 2007).

Desde então, a técnica de CAF tem passado por diversas evoluções. Os principais avanços incluem a melhoria da técnica de sutura, sendo um aspeto importante da CAF. Num estudo realizado em cabeças de cadáveres humanos frescos foi avaliada o impacto da estabilidade do retalho marginal através de técnicas de sutura específicas. Foram realizados 56 CAF. A estabilidade do retalho marginal foi conseguida após um protocolo de sutura: *simple interrupted, single sling or sling and tag* (SAT). Uma maior estabilidade do retalho marginal, com diferença estatisticamente significativa, foi observada para a sutura SAT em comparação com a sutura simples interrompida ($p < 0,001$) (Tavelli et al., 2019).

(2) Indicação e objetivos da cirurgia de retalho de avanço coronal

A técnica cirúrgica CAF deve ter em consideração as características do dente e as especificidades da recessão gengival para obtenção de certos objetivos. Em 2018, Stefanini, classificou as indicações para as diferentes cirurgias possíveis, numa tabela com aspetos específicos de avaliação. Esses aspetos consistiam em: quantidade de tecido gengival queratinizado, espessura do tecido gengival, posição na arcada dentária, perda de nível de inserção clínica interdental e presença de lesões cervicais não cariosas. Se um dente apresenta uma lesão cervical não cariiosa, não tem perda de tecido interdentário mas com perda de nível de inserção clínica interdental, a cirurgia CAF+SCTG estará indicada. Se um dente apresenta uma lesão cervical não cariiosa, sem perda de nível de inserção clínica interdental e que se encontra mal posicionado na arcada dentária e que o paciente não quer retificar a situação com ortodontia, a cirurgia adequada é o retalho de avanço coronal com enxerto de tecido conjuntivo. Um dente sem lesão cervical não cariiosa, sem

perda de nível de inserção clínica interdental, bem posicionado na arcada dentária mas com uma faixa de tecido queratinizado inferior ou igual a 1mm estará indicada uma cirurgia de CAF+SCTG. Ao contrário, um dente sem lesão cervical não cariada, sem perda de nível de inserção clínica interdental, bem posicionado na arcada dentária e com uma faixa de tecido queratinizado superior a 2mm, estará indicada uma cirurgia de CAF sem enxerto. Além disso, um dente sem lesão cervical não cariada, sem perda de nível de inserção clínica interdental, bem posicionado na arcada dentária, com uma faixa de tecido queratinizado entre 1e 2mm, e com uma espessura gengival inferior a 1mm estará indicada a uma cirurgia de CAF+SCTG. Um dente sem lesão cervical não cariada, sem perda de nível de inserção clínica interdental, bem posicionado na arcada dentária, com uma faixa de tecido queratinizado entre 1e 2mm mas com uma espessura gengival superior ou igual a 1mm estará indicada unicamente uma cirurgia de CAF (Stefanini et al., 2018).

Um dos principais objetivos da cirurgia de retalho de avanço coronal é o recobrimento radicular, que ocorre quando a gengiva é reposicionada ao nível da JAC do dente. Outra razão pela qual a cirurgia de CAF pode ser realizada é para reduzir a sensibilidade dentária, que muitas vezes ocorre quando a raiz do dente está exposta. Ao recobrir a raiz do dente com gengiva, a cirurgia pode ajudar a reduzir ou eliminar a sensibilidade dentária. As recessões gengivais podem tornar a higiene oral mais difícil, pois nas áreas expostas da raiz frequentemente é difícil a realização de um correto controlo de placa bacteriana. Ao recobrir a raiz exposta, a cirurgia de retalho de avanço coronal pode ajudar a melhorar a higiene oral e reduzir a evolução da recessão gengival (Santamaria et al., 2021).

b) A técnica de tunelização
(1) Definição e evolução

Esta técnica foi inicialmente introduzida por Raetzke em 1985, que inseriu um enxerto de tecido conjuntivo subepitelial num envelope de espessura parcial, para recobrir defeitos de recessão isolados sem suturar (Raetzke PB., 1985). Esta técnica foi posteriormente utilizada por Allen em 1994 para tratar múltiplos defeitos de recessão adjacentes com algumas modificações, incluindo a mobilização da papila e a sutura do enxerto (Allen A. L., 1994).

Em 1999, Zabalegui utilizou o termo “técnica do túnel” para descrever a preparação deste leito receptor de múltiplas recessões gengivais, e dando ênfase à importância de unir os envelopes adjacentes para estabelecer um plano contínuo sob a espessura parcial (Zabalegui et al., 1999).

A técnica de tunelização (TUN), é uma abordagem cirúrgica minimamente invasiva para o tratamento de RG. Um túnel é criado na gengiva adjacente à área de recessão, sem a necessidade de descargas ou incisões gengivais. É criado usando instrumentos e lâminas especialmente desenhados para esta técnica (deslocadores e elevadores de papilas). Em seguida, o enxerto de tecido conjuntivo é colocado por dentro do espaço criado. Uma das principais vantagens da técnica de tunelização é a redução da necessidade de incisões na gengiva, o que pode resultar em menos desconforto pós-operatório e uma recuperação mais rápida (Zabalegui et al., 1999).

No entanto, a TUN constitui um procedimento sensível uma vez que são realizadas incisões intrassulculares, podendo causar vários danos ao nível do epitélio do sulco e comprometer o processo de cicatrização e, por sua vez, o sucesso da cirurgia. Existem também algumas dificuldades técnicas em não danificar ou perfurar os tecidos constituintes do túnel (Rubio et al., 2019).

Existem várias modificações que foram introduzidas ao longo do tempo. Azzi et al, demonstraram uma modificação da técnica em 2002. Os autores preconizaram a criação de um túnel muco periosteal-mucoso através de incisões sulculares, incluindo os tecidos papilares. Usaram um enxerto de tecido conjuntivo para aumentar a espessura dos tecidos e posicionaram o retalho coronalmente com suturas horizontais em colchoeiro

que foram ancoradas no bordo incisal da área de contato (Zuhr et al., 2007) (Azzi et al., 2002).

Em 2007, novas melhorias foram adicionadas. As modificações envolveram a conversão do retalho de espessura total em retalho de espessura parcial. Essa variação garante uma melhor nutrição vascular do enxerto a partir do tecido conjuntivo remanescente do periósteo e do retalho externo. A preparação da mucosa é realizada com instrumentos de tunelização desenvolvidos pelo autor, que minimizam o risco de perfurações. Além disso, o uso de uma abordagem micro-cirúrgica, que inclui lâminas microcirúrgicas para garantir um acesso atraumático e material de sutura 6-0 ou 7-0, reduzem o trauma cirúrgico. Essas modificações podem facilitar essa abordagem sensível à técnica e podem levar a uma ampla utilização da técnica do túnel modificado na cirurgia plástica periodontal (Zuhr et al., 2007).

De modo a evitar as complicações associadas às técnicas cirúrgicas clássicas utilizadas no recobrimento radicular, foi introduzida a técnica VISTA (*Vestibular Incision Subperiosteal Tunnel Access*) (Zadeh, 2011). Esta técnica consiste numa nova abordagem, minimamente invasiva que implica a realização de uma incisão vestibular de espessura total, seguindo-se a elevação de um túnel subperiósteo, permitindo assim a reposição coronal da margem gengival de todos os dentes envolvidos (Zadeh, 2011). Um novo método de estabilização da margem gengival é também introduzido através da técnica de sutura com ancoragem coronal (Zadeh, 2011).

Em 2022, Barootchi e Tavelli, publicaram uma nova técnica cirúrgica que combina CAF e TUN, designando-a de TCAF. A indicação da TCAF é para as recessões gengival RT2 com um defeito de papila. O retalho de avanço coronal (CAF) e a técnica do túnel (TUN) são as abordagens cirúrgicas mais realizadas para o tratamento de recessões gengivais. No entanto, estas duas abordagens têm sido consideradas como substitutas uma da outra, e os médicos são frequentemente confrontados com a escolha de realizar apenas uma durante os procedimentos de recobrimento radicular. O objetivo do TCAF é realizar um desenho cirúrgico no qual os benefícios do CAF e do TUN sejam combinados (Barootchi & Tavelli, 2022).

(2) Indicação e objetivos da cirurgia de tunelização

A técnica de tunelização é uma técnica onde não há incisões horizontais e verticais como a técnica de CAF (Zabalegui, 1999).

A técnica de tunelização tem indicação em casos de recessão gengival unitária com uma banda de gengiva queratinizada superior a 2mm. Nos casos de recessões gengivais múltiplas, a TUN está indicada quando a banda de GK é inferior a 2mm. As RG estreitas e pouca profundas e as GR estreitas e profundas têm a indicação de técnica de tunelização. A avaliação da papilas anatómicas será importante para a decisão da técnica cirúrgica. As papilas sem volume gengival têm maior indicação para cirurgia recorrendo à TUN. O volume da porção cervical é um ponto importante na ponderação da decisão da técnica cirúrgica. No caso de uma porção cervical pronunciada, a tensão cervical do retalho será significativa, sendo a cirurgia preferencialmente realizada recorrendo à técnica de tunelização (Zuhr et al., 2007) .

A técnica TUN apresenta como vantagens uma excelente adaptação ao leito recetor, resultados altamente estéticos, uma vascularização alta pelo retalho, harmonia da cor e textura gengival. Por outro lado, a principal desvantagem é a dificuldade da técnica, nomeadamente, em estabilizar o enxerto e a correta medida do mesmo (Khuller, 2009).

c) Escolha das técnicas cirúrgicas

Devido à crescente exigência estética atual, o tratamento das recessões gengivais tornou-se uma importante questão terapêutica e estética para a prática contemporânea. Embora a eficácia do uso de SCTG para obtenção de um recobrimento total da exposição da superfície radicular esteja bem fundamentada na literatura, este não pode ser o único objetivo do tratamento. Os profissionais devem usar as suas habilidades de maneira a corresponder à procura pela estética esperada pelos seus pacientes (Rasperini et al., 2011).

Ainda que o SCTG seja considerado o tratamento *gold standard* para áreas únicas e múltiplas de recessão, uma abordagem mais simples e menos invasiva, como a CAF, pode produzir um resultado igualmente aceitável. Cada situação clínica deve ser avaliada para determinar a abordagem cirúrgica mais adequada, de forma a atingir a estética esperada pelo paciente. Assim, para alcançar o melhor sucesso clínico e estético, uma avaliação cuidadosa dos parâmetros anatómicos, como a quantidade de tecido queratinizado, o fenótipo

de recobrimento radicular completo. Os resultados relatados pelos pacientes também favoreceram a microcirurgia com: uma melhor estética, satisfação do paciente e redução da sintomatologia.

d) Evidência científica das técnicas cirúrgicas escolhidas

Ainda que as técnicas de CAF e TUN apresentem indicações específicas, de acordo com a evidência científica apresentada, concluiu-se que ambas apresentam bons resultados clínicos a nível de redução da recessão, recobrimento radicular completo, parcial, assim como a nível da escala *VAS*. Existe uma carência de literatura no que diz respeito à comparação clínica e biológica das técnicas CAF e TUN, com e sem as PDME (Chambrone & Tatakis, 2015).

O estudo de Zuhr (2014), demonstrou que a técnica TUN+SCTG é mais eficiente, ao fim de dois anos comparativamente à técnica CAF+EMD. O recobrimento radicular foi de 98,4% para defeitos tratados com TUN e 71,8% para CAF. O recobrimento radicular completo foi observado em 78,6% (TUN) e 21,4% (CAF) dos casos. Uma das limitações do estudo é a dimensão reduzida da amostra (Zuhr et al., 2014).

Uma revisão sistemática publicada em 2015, analisou 41 estudos clínicos randomizados que avaliaram o recobrimento radicular com CAF. Os resultados indicaram que a CAF é uma técnica efetiva para o tratamento de recessões gengivais, com taxas de sucesso de 90% a 100%. Os estudos demonstraram que a técnica oferece resultados estéticos satisfatórios, diminui a sensibilidade dentária e beneficia a saúde periodontal (Chambrone & Tatakis, 2015).

Num estudo realizado em 2016 por Nart et al, foi avaliada a técnica TUN+SCTG em 15 pacientes. O recobrimento radicular parcial foi de quase 83% com um aumento de 2,5mm de tecido queratinizado na zona das recessões gengivais. Além disso, os resultados estéticos foram avaliados pelos pacientes e foram excelentes resultados, 9.07 +/- 1.03 sobre 10 (Nart & Valles, 2016).

Em 2018 foi elaborada uma revisão sistemática e meta-análise que mostrou evidência científica sobre a eficácia dos tratamentos CAF e TUN. O recobrimento radicular médio geral do TUN para recessões gengivais localizadas foi de $82,75 \pm 19,7\%$, enquanto o

recobrimento radicular médio do TUN para múltiplos defeitos foi de $87,87 \pm 16,45\%$. O recobrimento radicular completo dos TUN foi menor em recessões gengivais localizadas em comparação com múltiplas: $47,15\%$ versus $57,46\%$, respectivamente. O estudo indica que há um número significativamente maior de recessões gengivais que obtiveram um completo recobrimento radicular quando tratados com CAF + SCTG versus TUN + SCTG (Tavelli et al., 2018).

Uma revisão sistemática e meta-análise publicada em 2019, por Dai et al, avaliaram a efetividade da CAF no recobrimento radicular de dentes com defeitos cervicais de classe I e II de Miller. CAF+SCTG resultou numa melhor eficácia a longo prazo do que o CAF sozinho em termos de recobrimento radicular completo ($0,69$, $p = 0,0006$) e largura de tecido queratinizado (KTW) ($-0,63$ mm, $p = 0,04$). Para CAF+PDME, a meta-análise não mostrou diferença significativa entre os resultados de curto e longo prazo do recobrimento radicular completo ($1,26$, $p = 0,21$) (Dai et al., 2019).

Além disso, a CAF também é considerada uma técnica segura. A revisão sistemática publicada em 2018 por Chambrone et al, avaliaram a segurança de diferentes técnicas cirúrgicas de recobrimento radicular. CAF+SCTG apresentou um recobrimento radicular médio de 64.7% até 99.3% enquanto CAF+PDME apresentou 70.5% até 95.1% . Houve evidência para as GR únicas, de maior redução de profundidade da recessão para EMD + CAF quando comparado ao CAF isolado (curto/médio prazo; $P = 0,005$, diferença média: $0,32$ mm). Concluíram que a CAF apresenta baixos níveis de complicações e efeitos colaterais e indicaram que as opções mais adequadas para recobrimento completo de GR única em termos de resultados clínicos e relação custo-benefício é primeiro a opção CAF+SCTG e depois CAF+PDME (Chambrone et al., 2019).

Num estudo multicêntrico randomizado e controlado, publicado 2023, os autores compararam CAF+SCTG com TUN+SCTG. Aos 6 meses o recobrimento radicular completo foi observado em $80,9\%$ dos dentes tratados com TUN+SCTG enquanto $79,5\%$ com CAF+SCTG. O aumento do tecido queratinizado foi significativamente maior no TUN+SCTG ($1,4 \pm 1,4$ mm) em comparação ao CAF+SCTG ($0,4 \pm 0,7$ mm). A duração da cirurgia foi significativamente menor no TUN+SCTG ($44,5$ minutos de média) contra $63,9$ minutos de média para a cirurgia CAF+SCTG. Durante a cicatrização inicial (1–4 semanas), a JAC foi descoberta significativamente mais frequentemente em TUN+SCTG

versus CAF+SCTG. Foram registados melhores resultados estéticos com a ajuda do *Root Esthetic Score* (RES) nas CAF+SCTG, mas nenhuma diferença estatisticamente significativas entre os grupos ($8,8 \pm 1,5$ vs $8,8 \pm 1,8$). Ao nível da satisfação do paciente com a escala *PROMs*, pacientes tratados com TUN+SCTG relataram significativamente menos dor do que CAF+SCTG durante a intervenção cirúrgica. Os pacientes tratados com TUN+SCTG relataram menos dor em comparação com os CAF+SCTG, apenas com diferenças estatisticamente significativas no relato de “pior dor” nos dias 1, 10 e 11. A conclusão do estudo foi que as duas técnicas cirúrgicas CAF+SCTG e TUN+SCTG são similares ao nível dos variáveis avaliadas mas a cirurgia TUN+SCTG resultou num aumento significativamente de tecido queratinizado, em menor morbidade do paciente e em menor duração da cirurgia (González-Febles et al., 2023).

7. Biomarcadores

a) Biomarcadores envolvidos nas recessões gengivais

A potencial importância diagnóstica do fluido crevicular gengival foi reconhecida há mais de seis décadas e as investigações sobre a dinâmica da produção do fluido crevicular gengival começaram com os relatórios de Brill e colaboradores na década de 1950 (Brill & Krasse, 2009). O FCG contém uma variedade de biomarcadores que podem ser utilizados para avaliar o estado de saúde periodontal do indivíduo (Gupta, S., Chhina, S., & Arora, S. A., 2018).

Num estudo piloto de investigação foram analisadas em dois grupos diferentes (grupo controlo sem as PDME, grupo teste com as PDME) as principais proteínas relacionadas com a inflamação periodontal, a fim de verificar a potencial associação com a cicatrização após cirurgia plástica periodontal. As proteínas avaliadas foram : interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8, fator de crescimento de fibroblastos (FGF), proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa e beta (MIP-1 α e β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) , TNF-alfa (TNF- α) e VEGF (Dias et al., 2022).

Entre as principais citocinas pró-inflamatórias analisadas, observou-se :

Tabela 3 - Citocinas pró-inflamatórias analisadas no artigo de Dias et al, 2022.

IL-1 β	um nível significativamente maior de IL-1 β ($p = 0,03$) e IL-6 ($p = 0,05$) após 7 dias em ambos os grupos ($p = 0,03$), sendo essa diferença significativa apenas para o grupo teste após 14 dias (Dias et al., 2022).
TNF- α e MIP-1 α	Os níveis de TNF- α e MIP-1 α foram significativamente maiores após 7 dias, em ambos os grupos, e sem significância estatística após 14 dias (Dias et al., 2022).
MIP-1 β	MIP-1 β também teve maior expressão após 7 dias no grupo teste ($p = 0,02$) e no grupo controle (Dias et al., 2022).
IL-8	IL-8, teve expressão significativamente maior apenas no grupo controle ($p = 0,01$) após 7 dias, não havendo diferença entre os grupos teste e controle após 14 dias (Dias et al., 2022).

Relativamente aos fatores de crescimento analisados observou-se :

Tabela 4 - Fatores de crescimento analisados no artigo de Dias et al, 2022.

FGF	O FGF foi significativamente reduzido no grupo controle após 7 dias ($p = 0,02$) (Dias et al., 2022).
PDGF	O PDGF não apresentou diferenças estatísticas (Dias et al., 2022).
VEGF	Os níveis de VEGF foram maiores no grupo teste ($p = 0,02$), somente após 14 dias (Dias et al., 2022).

Em alguns estudos têm sido usadas PDME em associação a procedimentos de cirurgia de recobrimento radicular em associação com SCTG. O objetivo dessa associação assenta no pressuposto que as PDME poderão ter um efeito benéfico na cicatrização. Contudo, a evidência é limitada, com poucos estudos a mostrarem que as PDME podem ter um efeito benéfico a nível de fatores de crescimento e um efeito depressor ao nível de citocinas pró-inflamatórias.

Os biomarcadores escolhidos para a análise científica foram : FGF-2, IL-8 e VEGF. No estudo *split-mouth* de Dias et al., 2022, foram comparados os 3

biomarcadores anteriormente descritos em dois grupos; CAF+SCTG (grupo controle) com CAF+SCTG+PDME (grupo teste) (Dias et al., 2022). A IL-8, elevou-se em ambos os grupos após 7 dias, CAF+SCTG : 258pg/L vs 125pg/L no CAF+SCTG+PDME, sendo esse aumento significativo apenas no grupo controle. A presença das PDME não impediu a expressão da IL-8 (Dias et al., 2022). Relativamente ao FGF, o grupo teste apresentou valores estáveis durante 2 semanas, enquanto o grupo controle teve uma queda significativa após 7 dias, passou de 48pg/L a 39,8pg/L e uma redução não significativa após 14 dias, de 39,8pg/L a 36,3pg/L (Dias et al., 2022). Finalmente o último biomarcador VEGF apresentou resultados semelhantes, com um nível significativamente maior de VEGF para o grupo teste após 14 dias da cirurgia, 37,2pg/L vs 31,6 pg/L (Dias et al., 2022).

B. Questão clínica elaborada de acordo com os critérios PICOST

P (*Population*) – pacientes portadores de recessões gengivais de classe RT1.

I (*Intervention*) – Quatro técnicas de cirurgia plástica periodontal: retalho de avanço coronal com enxerto de tecido conjuntivo (CAF+SCTG) ou com proteínas derivadas de esmalte (CAF+SCTG+PDME) ou técnica de cirurgia plástica periodontal de tunelização com enxerto de tecido conjuntivo (TUN+SCTG) ou com proteínas derivadas de esmalte (TUN+SCTG+PDME).

Grupo controlo 1 – CAF+SCTG

Grupo teste 1 – CAF+SCTG+EMD

Grupo controlo 2 – TUN+SCTG

Grupo teste 2 – TUN+SCTG+EMD.

C (*Comparison*) – grupo controlo 1 vs grupo teste 1. Grupo controlo 2 vs grupo teste 2.

O (*Outcome*) –

Tabela 5 - Tabela das variáveis do estudo.

A variável primária :	Redução da recessão gengival (RRG).
As variáveis secundárias são :	Recobrimento radicular parcial e total (RRP, RRT),
	Cicatrização dos tecidos moles com o “ <i>Root Coverage Esthetics Score</i> ” (RES),
	Escala da avaliação da satisfação estética do paciente (PROMs),
	Escala Visual Analoga (VAS).
	Análise a quantificação dos três biomarcadores (IL-8, FGF-2, VEGF) com técnica ELISA.

S (*Study design*) – Estudo clínico piloto randomizado e controlado.

T (*Timeframe*) – três meses.

C. Objetivos do estudo

O objetivo principal do estudo foi avaliar o impacto clínico e biomolecular das proteínas derivadas do esmalte na cicatrização das recessões gengivais RT1, utilizando um enxerto de tecido conjuntivo com a técnica de retalho de avanço coronal ou a técnica de tunelização.

D. Hipóteses do estudo

1) Avaliação da Redução da Recessão Gengival (RecRed), variável primária :

H1.0 (Hipótese nula) – Não existem diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e o grupo teste 1 (CAF+SCTG+EMD).

H1.1 (Hipótese alternativa) – Existem diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e o grupo teste 1 (CAF+SCTG+EMD).

H2.0 (Hipótese nula) – Não existem diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+EMD).

H2.1 (Hipótese alternativa) – Existem diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+EMD).

2) Avaliação das variáveis secundárias :

H3.0 (Hipótese nula) – Não existem diferenças nas variáveis secundárias entre o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e o grupo teste 1 (CAF+SCTG+EMD).

H3.1 (Hipótese alternativa) – Existem diferenças nas variáveis secundárias entre o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e o grupo teste 1 (CAF+SCTG+EMD).

H4.0 (Hipótese nula) – Não existem diferenças nas variáveis secundárias entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+EMD).

H4.1 (Hipótese alternativa) – Existem diferenças nas variáveis secundárias entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+EMD).

II. MATERIAIS E MÉTODOS

A. Materiais e Métodos

1. Questão foco

No recobrimento radicular de recessões gengivais RT1 de Cairo, existem vantagens da adição das proteínas derivadas do esmalte ao enxerto de tecido conjuntivo em comparação com o recobrimento radicular com o enxerto de tecido conjuntivo isoladamente, em termos de redução de recessão gengival?

2. Desenho do estudo

O estudo foi um ensaio clínico randomizado controlado com quatro grupos com randomização balanceada (1:1), realizado entre Setembro 2022 e junho 2023 na Clínica Dentária universitária Egas Moniz School of Health & Science (Portugal), por um clínico, investigador principal (JP).

A aprovação ética foi concedida pela Comissão de Ética da Egas Moniz School of Health & Science em 2023. O número da aprovação da comissão de ética foi PT-297/22, foi aprovado pela comissão científica a 27/04/2023.

O estudo foi elaborado de acordo com as diretrizes do CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*).

Este estudo foi apoiado pela Egas Moniz School of Health & Science (CiiEM; Centro de Investigação Interdisciplinar Egas Moniz) e pela empresa Straumann no que diz respeito ao uso das proteínas derivadas da matriz de esmalte (PrefGel® e Emdogain®).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de *Helsinki* de 1975, revista em 2013. A investigação foi apenas iniciada quando emitido um parecer positivo por parte da comissão de ética e o consentimento informado autorizado e assinado pelos pacientes.

3. Participantes

Os participantes da investigação foram os pacientes da clínica Dentária Egas Moniz, que cumpriram os critérios de inclusão, não apresentando nenhum dos critérios de exclusão, e que tenham lido, compreendido e assinado o consentimento informado. Todos os pacientes eram elegíveis para participar se tivessem 18 anos ou mais, em que, por razão estéticas e/ou funcionais decidiram tratar as recessões gengivais. A técnica empregue no tratamento de recobrimento radicular foi decidida em relação ao dente envolvido e a quantidade de tecido queratinizado presente. Apenas foram incluídas recessões gengivais RT1, de acordo com a classificação de Cairo em 2011.

a) Critérios de inclusão

1. Pacientes > 18 anos de idade;
2. Género: masculino ou feminino;
3. Presença de pelo menos uma recessão gengival;
4. Recessão gengival de classificação RT1 segundo Cairo, 2011;
5. Presença de no mínimo 1 milímetro de gengiva aderida;
6. Problema estético e/ou funcional.

b) Critérios de exclusão

1. Presença de gengivite, periodontite não controlada, lesão endo-perio;
2. História prévia de enxerto de tecido na zona a tratar;
3. Fumadores de > 10 cigarros por dia;
4. Gravidez;
5. Desordem psicológica (emocional e/ou depressivo);
6. Irradiação (radioterapia) nos maxilares nos últimos 5 anos;
7. Terapia antibiótica sistêmica nos últimos 6 meses;
8. Uso crônico de medicamentos anti-inflamatórios nos últimos 6 meses;
9. Toma de bifosfonatos;
10. Lesão cervical cariiosa não tratada;
11. Hábitos alcoólicos e/ou de drogas causando problemas sistêmicos;
12. Índice de placa/ Índice gengival > 15%;
13. Juncão amelo-cimentária (JAC) não visível;

14. Existência de patologia sistémica que contra indique a realização de um procedimento cirúrgico;
15. Existência de patologia sistémica que afete a resposta imuno-inflamatória ou capacidade de cicatrização.

Antes da cirurgia, foram registadas as seguintes variáveis relacionadas com o paciente: idade, género, nível de escolaridade, motivo da cirurgia, hábitos tabágicos. Nenhum paciente apresentava perda óssea inter-proximal nas recessões gengivais, sendo necessário apresentar um controlo de placa bacteriana $< 15\%$, e sem hemorragia à sondagem.

4. Tamanho da amostra

O estudo foi um estudo ainda piloto onde se incluíram os pacientes nos quais foi possível realizar o tratamento e realizar as análises necessárias no período do estudo: setembro 2022-junho 2023. O objetivo do estudo foi de aferir as diferentes técnicas de avaliação para investigações futuras e aferir qual o tamanho da amostra que será necessário para serem retiradas conclusões em termos estatísticos.

5. Randomização

Na consulta de seleção, cada participante foi registado por ordem crescente (paciente 1 até paciente 8). Os doentes foram distribuídos aleatoriamente na proporção de 1:1 para o grupo controlo 1 (CAF+SCTG), o grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) ou para o grupo controlo 2 (TUN+SCTG), ou o grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME), usando uma ferramenta de randomização online (<https://www.randomizer.org/>). A sequência dos grupos foi preenchida, *a priori*, por um investigador não envolvido no estudo (PH).

6. Ocultação

Tanto os participantes; orientador, coorientadores e ajuda externa, não tinham conhecimento de qual era o grupo de estudo alocado. Apenas o clínico que fez todas as cirurgias (J.P) tinha conhecimento dos grupos de estudo. Um investigador não envolvido (P.H) examinou e registrou as complicações pós-cirúrgicas, bem como os desfechos clínicos de interesse sem conhecer os grupos de estudo e da sua alocação. Sendo assim, o estudo foi um estudo mascarado.

7. Grupos do estudo

Na parte clínica do estudo, foram realizadas 8 cirurgias plásticas periodontais para correção de recessões gengivais, realizadas na clínica dentária Egas Moniz. As cirurgias foram divididas em quatro grupos:

Grupo controlo 1 - 1 recessão gengival, que foi submetido ao procedimento cirúrgico: CAF+SCTG.

Grupo controlo 2 - 4 recessões gengivais, que foram submetidos ao procedimento cirúrgico: TUN+SCTG.

Grupo teste 1 - 2 recessões gengivais, que foram submetidos ao procedimento cirúrgico: CAF+SCTG+PDME.

Grupo teste 2 - 1 recessão gengival, que foi submetido ao procedimento cirúrgico: TUN+SCTG+PDME.

Para a análise bioquímica, serão realizadas recolhas do fluido crevicular gengival (FCG) através de Periopapers®. O FCG é um fluido biológico que preenche o espaço entre o tecido gengival e o dente. A colheita desse fluido foi realizada por meio de uma técnica não invasiva e relativamente simples, conhecida como *Periopapers*®.

A recolha foi feita com o auxílio de um papel de filtro estéril, uma pinça e um instrumento como uma sonda periodontal. O profissional de saúde introduziu cuidadosamente o papel de filtro no sulco gengival (espaço entre o dente e a gengiva) e deixa-o em contato com a gengiva por um período de 30 segundos. Durante esse período, o fluido crevicular foi absorvido pelo *Periopapers*® (Gustafsson, 1992). Após a colheita, o papel de filtro foi colocado no *Periotron 8000* para a calibração do volume do FCG retirado. Foi repetido duas vezes este procedimento para evitar um erro. Os ímãs do *Periotron 8000* foram lavados com papel e álcool e secado com papel entre cada calibração (Wassall & Preshaw, 2016).

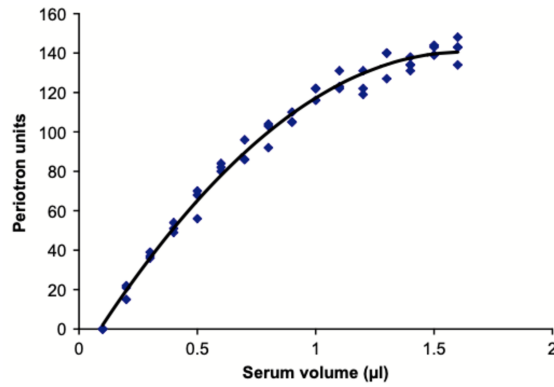


Figura 5 - Calibração do volume gengival retirado no Periopapers® com a ajuda do *Periotron* 8000 tirado de (Wassall & Preshaw, 2016).

Foi colocado num tubo de ensaio para a congelação, no congelador (-80°C), até análise (Gustafsson, 1992).

8. Cronograma do estudo

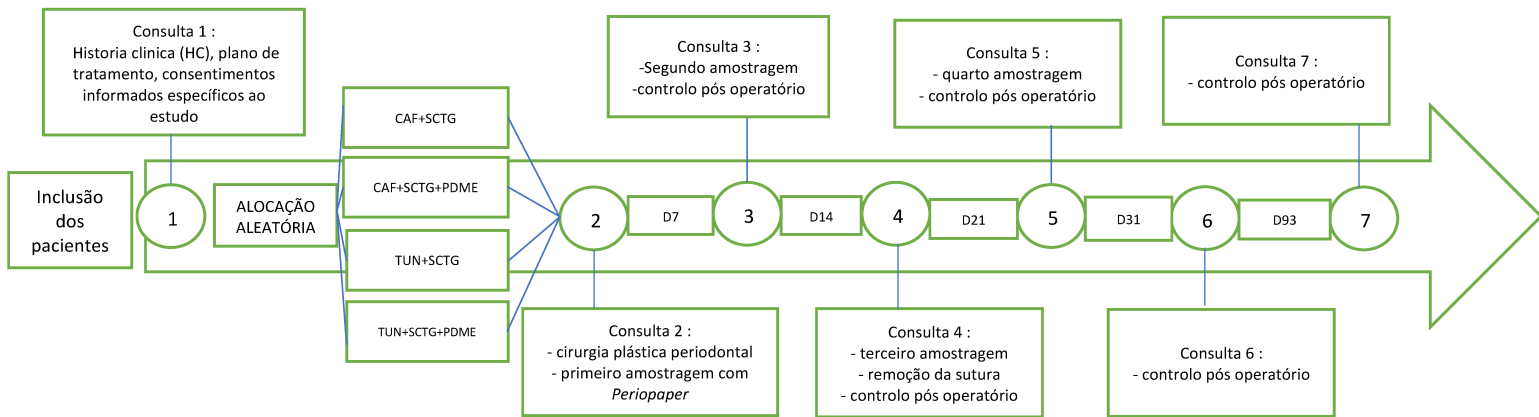


Figura 6 - Cronograma do estudo.

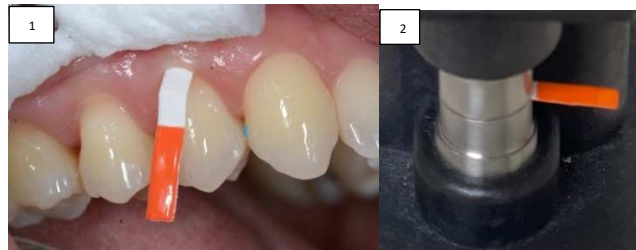
9. Material para realizar as cirurgias

Tabela 6 - Material necessário para a realização das cirurgias.

Para as cirurgias de retalho de avanço coronal, foi usado o seguinte material:	Para as cirurgias de tunelização, foi usado o seguinte material:
<ul style="list-style-type: none">- sonda periodontal CP15,- carpul,- anestesia articaina 2% com vasoconstrictores,-cabo de bisturi, bisturi,-laminas; 15 e 15C,- pinça,- álcool, soro fisiológico, iodo,- cureta 1/2, cureta mini five,- suturas reabsorvível, REF 11101519 SURGICRYL PGA,-sutura não reabsorvível, REF 606353,- sutura não reabsorvível 4/0, REF 8151519 SILK,- tesoura,- descolador P24G	<ul style="list-style-type: none">- sonda periodontal CP15,- carpul,- anestesia articaina 2% com vasoconstrictores,- cabo de microbisturi,- microlâmina 69 MJK,-pinça,- sutura não reabsorvível, REF 606353,- sutura : não reabsorvível 4/0, REF 8151519 SILK,- tesoura,- tunelizadores,- descolador P24G.

10. Protocolo de análise biomolecular

Na parte biomolecular do estudo foram avaliados três biomarcadores diferentes do FCG que foram: a interleucina 8 (IL-8), o fator de crescimento fibroblasto 2 (FGF-2) e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). Antes da cirurgia, 7 dias depois, 14 dias depois e 21 dias depois foram recolhidos, com *Periopapers*®, amostras de FCG, na zona central da recessão gengival, para a análise.



Fotografia 1 - Colocação dos *Periopapers* em centro-vestibular depois de isolar a área a ser examinada. **Fotografia 2** - *Periopapers* colocados no *Periotron* para cálculo do volume recolhido.

Os biomarcadores da inflamação periodontal avaliados foram a interleucina 8 (IL-8), o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF2) e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). Estes foram analisados no fluido crevicular gengival para caracterizar a cicatrização num estágio inicial (até 21 dias) através de um teste ELISA de acordo com as instruções do fabricante. O fluido crevicular gengival recolhido nas recessões gengivais, foi quantificado no *Periotron* 8010, cujo valor pode ser convertido num volume de fluido crevicular gengival.

A conversão dos valores em unidades de *Periotron* para volume foi conseguida com recurso a uma curva de calibração realizada com soro de cavalo (FIG).



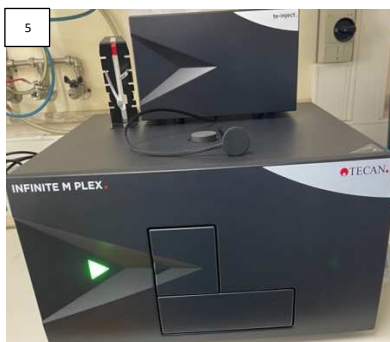
Fotografia 3 - PBS (*phosphate buffered saline*). **Fotografia 4** - Centrifugadora, 5 minutos, 5000 rotações por minutos.

No dia da análise foram adicionados 160 microlitros de PBS (*phosphate buffered saline*) a cada amostra, incubado 5 minutos em gelo e centrifugado com o *Periopaper* preso na tampa do tubo para permitir uma boa extração do FGC do *Periopaper*. A centrifugação foi realizada a uma temperatura de 4°C com 5000 rotações por minutos

(rpm), durante 5 minutos. O sobrenadante foi separado e parte foi conservado a -80°C para análise dos marcadores em dias diferentes.

a) Análise da interleucina 8 (IL-8):

As análises foram realizadas utilizando o kit ELISA de acordo com as instruções do fabricante. Antes de começar o estudo foram diluídas com igual volume de tampão de amostra (incluído no kit ELISA de análise IL-8).



Fotografia 5 - Leitor de microplacas Tecan Infinte M Plex.

A quantificação, em duplicado, foi obtida por referência a curvas de calibração. A leitura da fluorescência foi realizada no leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX.

b) Análise do fator de crescimento fibroblástico numero 2 (FGF-2) :

As análises foram realizadas utilizando o kit ELISA de acordo com as instruções do fabricante. A análise do biomarcador FGF-2 foi uma análise colorimétrica.



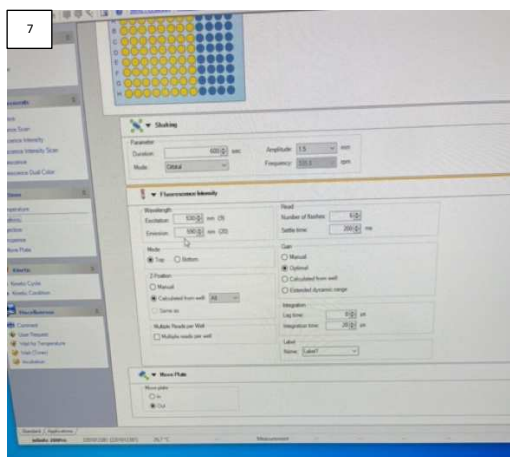
Fotografia 6 - Diluição com a solução tampão da amostra com a ajuda da micropipeta.

As amostras ($20\ \mu\text{l}$) foram diluídas com $30\ \mu\text{l}$ de tampão de amostra (incluído no kit ELISA de análise FGF-2).

A primeira leitura provisória da absorvância foi feita a 600 nm. Após um período estendido de 20 min, devido a baixa concentração detectada, foram adicionados 100 µl de solução STOP, e realizada a leitura final a 450 nm no leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX (fotografia 5).

c) Análise dos fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) :

As análises foram realizadas utilizando o kit ELISA de acordo com as instruções do fabricante. A análise do biomarcador VEGF foi colorimétrica. As amostras (20 µl) foram diluídas com 30 µl de tampão de amostra (incluído no kit ELISA de análise VEGF).



Fotografia 7 - Configuração do leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX com 600 nm e depois 450 nm.

A primeira leitura provisória da absorvância foi feita a 600 nm com o leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX.

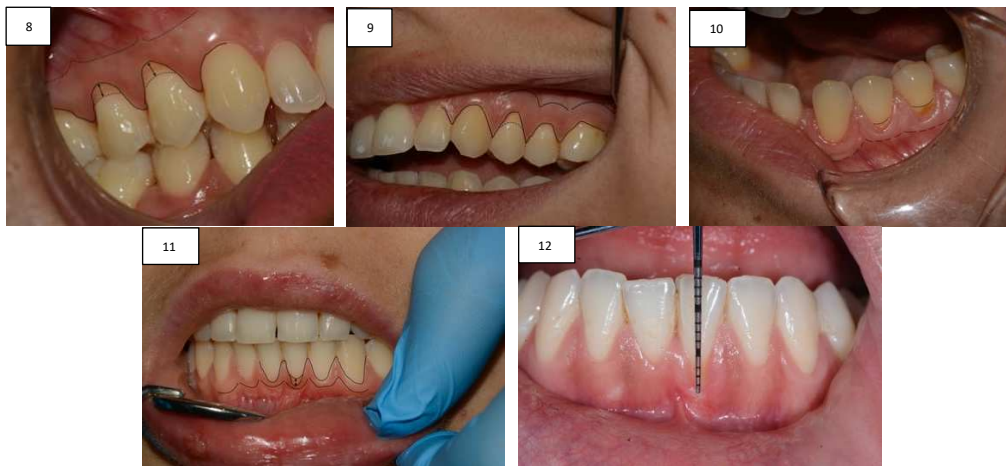
Devido aos baixos valores, o período de incubação foi estendido, foram adicionados 100 µl de solução STOP, e realizada a leitura final a 450 nm no leitor de microplacas Tecan Infinte M PLEX.

As três análises foram realizadas em duplicado. A quantificação foi obtida por referência a curvas de calibração ajustadas por regressão logística 4p de acordo com sugestão do fabricante, após correção para as diluições efetuadas. Os valores são apresentados em µg de marcador/ml de fluido crevicular.

11. Intervenções, avaliações cirúrgicas e clínicas

a) 1ª Consulta, avaliação inicial pré-cirúrgica

Durante a primeira consulta foi explicado o estudo e as consultas necessárias ao paciente. As recessões gengivais foram examinadas como foi ilustrado na figura 3. Foi feito um registro fotográfico. Foi também lido, explicado e assinado o consentimento informado específico da investigação em causa e o procedimento cirúrgico foi agendado para a pós-graduação de periodontologia clínica internacional da Egas Moniz School of Health & Science.



Fotografia 8 - Análise fotográfica das recessões gengivais do primeiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. **Fotografia 9** - Análise fotográfica das recessões gengivais do segundo quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. **Fotografia 10** - Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. **Fotografia 11** - Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica. **Fotografia 12** - Análise fotográfica das recessões gengivais do terceiro quadrante durante a consulta pré-cirúrgica.

b) 2ª Consulta (Dia 0), cirurgia de recessão gengival, primeira recolha da amostra e protocolos pós-operatórios

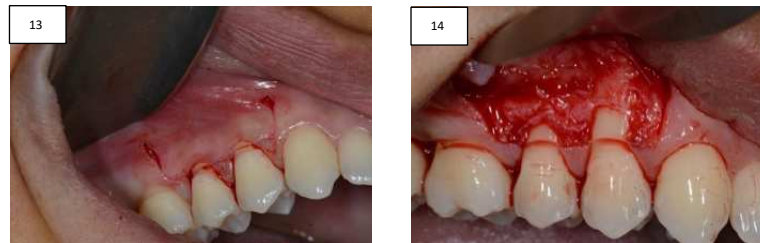
A segunda consulta foi a consulta da realização da cirurgia e o primeiro da recolha da amostra. Segundo a técnica utilizada, a cirurgia será realizada com instrumentos diferentes.

Antes da cirurgia foi feita a respectiva desinfeção extra oral dos pacientes com iodopovidona e a desinfeção intra oral com bochecho de clorhexidina 0,12%. Posteriormente foi recolhido uma amostra de FCG com o uso de *Periopapers*. Foi isolada a zona com rolos de algodão e seca com ar. O *Periopaper* foi introduzido no sulco gengival em centro vestibular da recessão gengival, sem fazer muita força, até ser sentida uma resistência, e aguardaram-se 30 segundos. O *Periopaper* foi colocado no *Periotron*

para o cálculo do volume de FCG recolhido. As amostras foram congelados a -80°C para a posterior análise.

A terceira parte foi a realização da cirurgia das recessões gengivais. O primeiro ato foi a anestesia com articaina 2% com vasoconstritor (articaine 200).

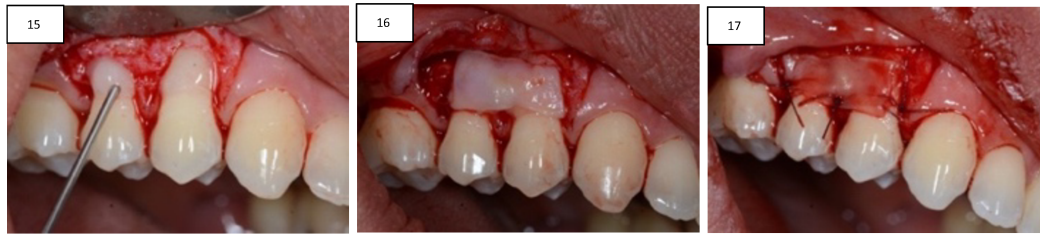
Se for um caso de cirurgia CAF, depois da anestesia foram realizadas as incisões com uma lamina de bisturi 15C. Depois, foi descolado o retalho, segundo o método de (De Sanctis & Zucchelli, 2007), em espessura parcial e total (*split-full-split*). A espessura total foi realizada 3mm apicalmente às recessões gengivais. O retalho foi descolado além da linha muco-gengival.



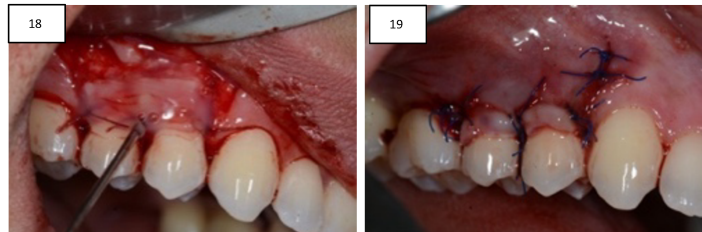
Fotografia 13 - Incisões horizontais e verticais da cirurgia de CAF com lamina de bisturi 15C para as recessões gengivais dos dentes 14 e 15. **Fotografia 14** - Retalho da cirurgia CAF.

A etapa seguinte foi a recolha do enxerto de tecido conjuntivo (SCTG) da zona do palato. A técnica escolhida foi a técnica com a desepitelialização com uma broca esférica em boca (Couso-Queiruga et al., 2023). Foi realizada a anestesia em palatino na zona da entre o primeiro molar superior e o incisivo lateral superior. Foram calculadas as medidas do enxerto de tecido conjuntivo com a sonda CP15. As incisões em espessura parcial foram realizadas no palato. Esponjas hemostáticas foram colocadas na zona do palato para evitar hemorragia. O enxerto de tecido conjuntivo foi posicionado na zona das raízes para observar se as medições estavam corretas.

As superfícies das raízes foram preparadas com *PrefGel* (STRAUMANN) durante dois minutos e depois um lavagem com soro fisiológico. No caso de cirurgias CAF+SCTG+PDME. O enxerto foi suturado com fio reabsorvível e nos casos de CAF+SCTG+PDME, previamente foram colocadas as PDME em contacto com a raiz. As papilas anatómicas foram previamente desepitelizadas com bisturi ou com o uso de uma tesoura cirúrgica.



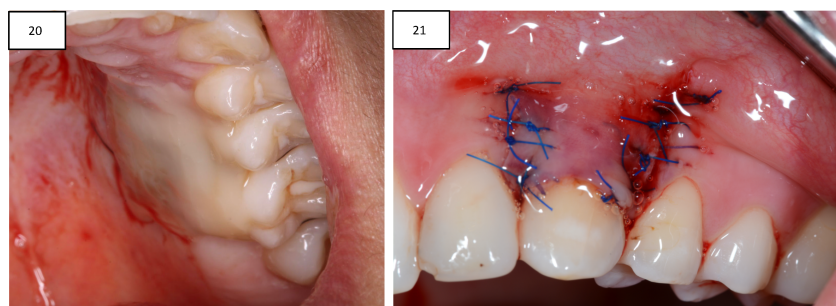
Fotografia 15 - Prefgel nas raízes expostas dos dentes 14 e 15. **Fotografia 16** - Posicionamento do enxerto de tecido conjuntivo sobre as raízes expostas dos mesmos dentes. **Fotografia 17** - Sutura do enxerto de tecido conjuntivo com sutura reabsorvível.



Fotografia 18 - Emdogain na superfície das raízes e no enxerto de tecido conjuntivo suturado e na zona do retalho. **Fotografia 19** - Sutura com pontos simples com sutura 6/0 do retalho em cima do enxerto de tecido conjuntivo.

A última etapa foi a sutura do retalho, reposicionado coronalmente. No palato foram dados pontos cruzados. O retalho foi posicionado na sua posição definitiva e suturado com pontos simples horizontais nas descargas. As papilas cirúrgicas foram suturadas em cima das papilas anatómicas desepitelizadas com ponto de colchoeiro horizontal. A sequência do ataque ácido, *bond* e resina fluida foi realizada na zona do palato para evitar hemorragia e maior conforto do paciente.

As PDME que sobravam foram adicionadas nas descargas verticais e nas papilas cirúrgicas. Foram feitas fotografias a cada passo das cirurgias.



Fotografia 20 - Sequência do ataque ácido+*bond*+resina fluída no palato. **Fotografia 21** - Sutura final CAF+SCTG+PDME.

Caso seja um caso selecionado para cirurgia com técnica de tunelização então foi feita a mesma segundo a técnica de Zabalegui, 1999.



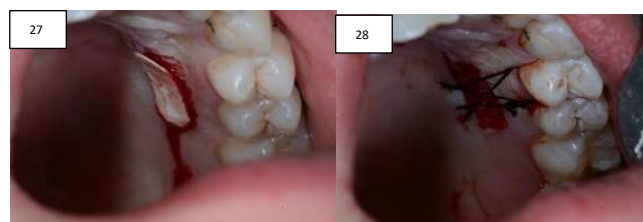
Fotografia 22 - Análise fotográfica e medição da recessão gengival.

O primeiro passo foi a anestesia com articaina 2% com vasoconstrictor. O segundo passo foi uma incisão intra-sulcular com uma lamina de microbisturi, nas três direções sem descolar as papilas anatómicas. Além disso foram usados também os tunelizadores para a criação de um túnel.



Fotografia 23 - Micro lâmina de bisturi 69. **Fotografia 24** - Micro lâmina de bisturi no sulco gengival em apical. **Fotografia 25** - Micro lâmina iniciando a criação de um túnel em distal. **Fotografia 26** - Micro lâmina iniciando a criação de um túnel em mesial.

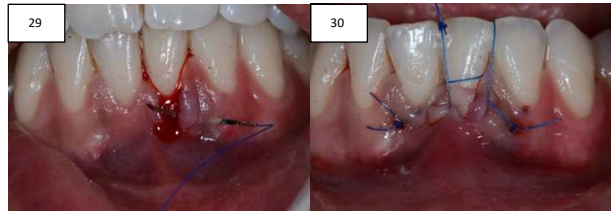
A etapa seguinte foi a recolha do enxerto de tecido conjuntivo (SCTG) da zona do palato, que foi semelhante entre as diferentes técnicas, tendo sido já descrita em cima.



Fotografia 27 - Padrão com o cartão estéril da sutura para a medição do futuro enxerto de tecido conjuntivo do palato. **Fotografia 28** - Esponja hemostática na zona onde foi tirado o SCTG, e sutura com seda com um ponto cruzado.

A última etapa consistiu na sutura do palato e nas suturas do enxerto na zona da recessão gengival. A zona do palato foi suturada com pontos cruzados. No caso de ser um grupo em que se aplicavam as proteínas derivadas da matriz do esmalte, estas eram aplicadas antes da introdução do enxerto. O enxerto foi colocado no túnel criado com

ajuda da sutura e estabilizado através de dois pontos simples, em cada uma das extremidades. Dois pontos verticais foram feitos para reposicionar o enxerto para coronal.



Fotografia 29 - Início da sutura com fio de sutura 5/0. **Fotografia 30** - Resultado final da TUN+SCTG com suturas com dois pontos simples e um ponto de sutura com tração vertical.

Foi efetuado o seguinte protocolo relativamente a medicação:

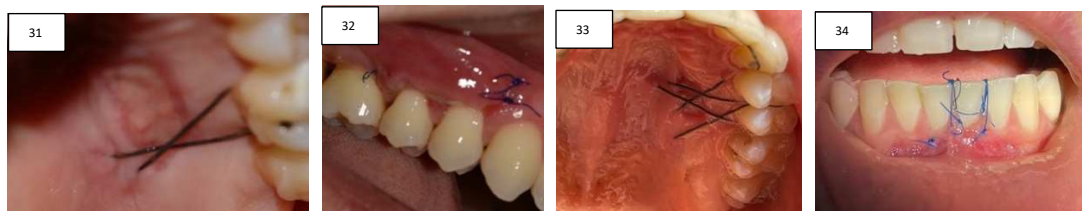
- antibióticos (2g de amoxicilina+ácido clavulânico seis horas depois da cirurgia e depois de doze em doze horas durante 5 dias seguintes).
- anti-inflamatórios, (ibuprofeno; 1 comprimido seis horas depois da cirurgia e depois de doze em doze horas, caso seja necessário).
- paracetamol em SOS, para as dores pontuais.

Para limitar o risco de infeção do palato e da zona da recessão gengival foi importante prescrever um tratamento anti-microbiano local com clorhexidina 0,12% em bochecho durante 3 semanas, 1 minuto, três vezes ao dia. O gel de clorhexidina foi também importante para desinfetar a zona da recessão e do palato, durante 3 semanas, 2 vezes ao dia.

Além disso, os cuidados pós operatório incluíram: não escovar a zona intervencionada durante 4 semanas. Foi aconselhado evitar movimentos com o lábio na zona operada para evitar as tensões excessivas das suturas. Durante a primeira semana não foi aconselhado fazer exercício físico. Por fim, foi aconselhado uma dieta líquida e fria no dia da cirurgia, passando a semissólida no dia seguinte à cirurgia.

c) 3ª Consulta (Dia 7), avaliação da cicatrização e segunda recolha da amostra

Foram realizadas fotografias da zona do enxerto de tecido conjuntivo e do palato para conseguir um importante *follow-up* da cicatrização. Uma segunda recolha do FCG foi realizada com *Periopapers* para a futura pesquisa dos três biomarcadores nas localizações das antigas recessões gengivais. Foi explicado ao paciente os cuidados a ter durante a segunda semana de cicatrização.



Fotografia 31- Zona do palato depois de uma semana de cicatrização. **Fotografia 32** - Zona das recessões gengivais dos dentes 14 e 15 depois de uma cirurgia CAF+ SCTG+PDME depois de uma semana de cicatrização. **Fotografia 33** - Zona do palato depois de uma semana de cicatrização. **Fotografia 34** - Cicatrização a uma semana depois de uma cirurgia TUN+SCTG no dente 31.

d) 4ª Consulta (Dia 14), avaliação da cicatrização, remoção da sutura e terceira recolha da amostra

A quarta consulta foi a consulta de remoção das suturas da zona da recessão. Foi feito novamente um registo fotográfico da zona do enxerto de tecido conjuntivo e do palato para avaliação da cicatrização. Uma terceira recolha de FCG foi realizada com *Periopapers* para a futura pesquisa dos três biomarcadores nas localizações das antigas recessões gengivais. Foi explicado ao paciente os cuidados a ter após a remoção da sutura.



Fotografia 35 - Cicatrização do palato depois de duas semanas. **Fotografia 36** - Cicatrização da cirurgia CAF+SCTG+EMD depois de tirar a sutura aos 14 dias. **Fotografia 37** - Cicatrização do enxerto de tecido conjuntivo com a técnica TUN+SCTG depois de tirar a sutura. **Fotografia 38** - Cicatrização do palato após duas semanas.

e) 5ª Consulta (Dia 21), avaliação da cicatrização e quarta recolha da amostra

Na quinta consulta foram feitas fotografias da zona do enxerto de tecido conjuntivo e do palato para avaliação da cicatrização. Uma quarta recolha do fluido crevicular gengival foi realizada com *Periopapers* para a pesquisa dos três biomarcadores nas localizações das antigas recessões gengivais. Foi explicado ao paciente os cuidados a ter dia o fim do mês.



Fotografia 39 - Cicatrização do palato após três semanas de cicatrização. **Fotografia 40** - Cicatrização da cirurgia CAF+SCTG+EMD depois de três semanas. **Fotografia 41** - Cicatrização da cirurgia TUN+SCTG três semanas depois.

f) 6ª Consulta (1 mês), avaliação da cicatrização

A sexta consulta foi feita um mês depois da cirurgia. Foi realizado o registro fotográfico para a observação da cicatrização dos tecidos moles na zona cirúrgica e na zona do palato de onde foi retirado o enxerto de tecido conjuntivo.

g) 7ª Consulta (3 meses), avaliação da cicatrização

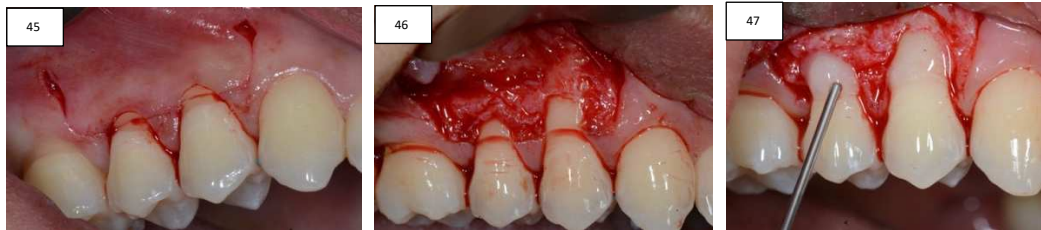
A última consulta foi três meses depois da cirurgia. Nesta consulta foi avaliada a cicatrização dos tecidos moles na zona da cirurgia e na zona do palato. Foi feito o registro fotográfico na zona do palato e nas zonas das recessões gengivais.

12. Cirurgias efectuadas nos vários grupo do estudo

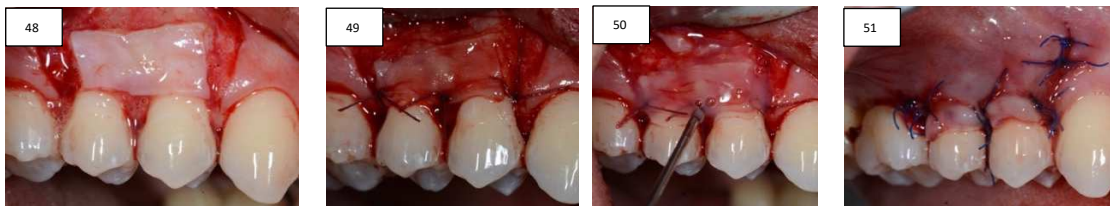
a) GRUPO TESTE 1 CAF+SCTG+PDME:



Fotografia 42 - Situação inicial. **Fotografia 43** - Recolha do FCG com *Periopapers*. **Fotografia 44** - Medição da RG com chave em *putty/light*.



Fotografia 45 - Incisões da CAF. **Fotografia 46** - Retalho CAF split-full-split. **Fotografia 47** - Prefgel nas raízes dos dentes.



Fotografia 48 - SCTG. **Fotografia 49** - Sutura do enxerto. **Fotografia 50** - PDME no SCTG. **Fotografia 51** - Sutura do retalho.



Fotografia 52 - Cicatrização do palato 1 semana depois. **Fotografia 53** - Cicatrização do enxerto 1 semana depois.



Fotografia 54 - Cicatrização do palato 2 semanas depois. **Fotografia 55** - Cicatrização do enxerto 2 e 3 semanas depois. **Fotografia 56** - Cicatrização do enxerto, vista latero-vestibular.

b) GRUPO CONTROLO 1 CAF+SCTG:



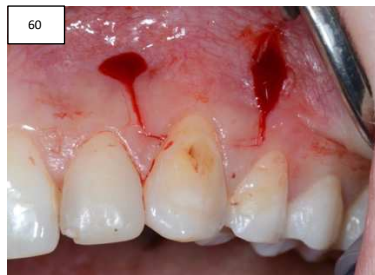
Fotografia 57 - Medição da RG.



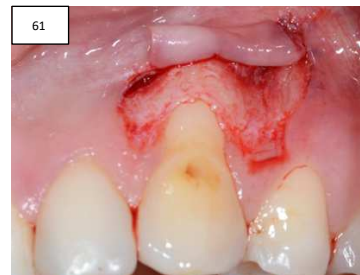
Fotografia 58 - Medição da largura da recessão.



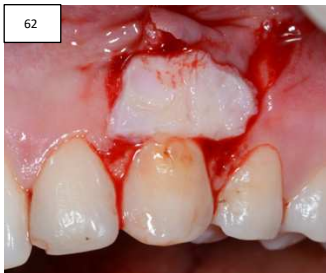
Fotografia 59 - Recolha do FCG com Periopapers.



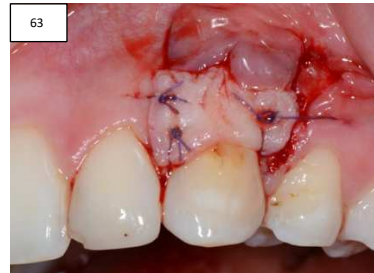
Fotografia 60 - Incisões da CAF.



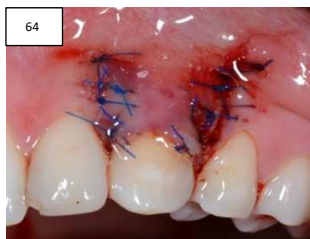
Fotografia 61 - Retalho CAF *split-full-split*.



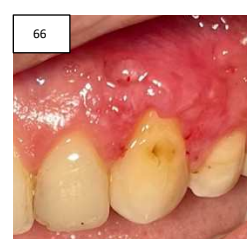
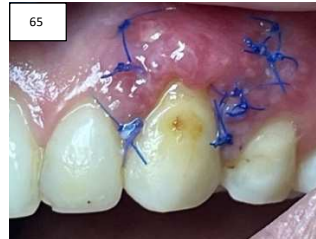
Fotografia 62 - SCTG.



Fotografia 63 - Sutura do enxerto.



Fotografia 64 - Sutura do retalho. **Fotografia 65** - Cicatrização do enxerto 1 semana depois. **Fotografia 66** - Cicatrização do enxerto 2 semanas depois.



c) GRUPO CONTROLO 2 TUN+SCTG:



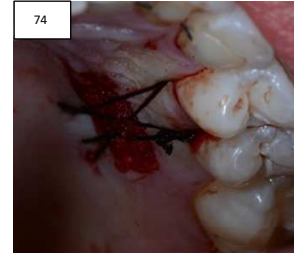
Fotografia 67 - Situação inicial.



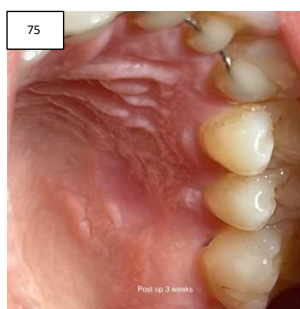
Fotografia 68 - Situação inicial.



Fotografia 69 - Micro lâmina de bisturi vertical. Fotografia 70 - Micro lâmina de bisturi no lado esquerdo gengival. Fotografia 71 - Micro lâmina de bisturi no lado gengival direito.



Fotografia 72 - Início da sutura do enxerto. Fotografia 73 - Sutura do enxerto com dois pontos simples e um ponto vertical. Fotografia 74 - Sutura do palato com esponja hemostática.



Fotografia 75 - Cicatrização do palato 3 meses depois. Fotografia 76 - Cicatrização do enxerto após 3 meses.

B. Variáveis em análise

1. Apresentação e enumeração da variável primária

a) Redução da recessão gengival

A variável principal da investigação foi a redução da recessão gengival (RecRed). Baseia-se no cálculo das recessões gengivais antes e depois da cirurgia. A RecRed foi medida com uma sonda CP15. As referências da RecRed foram o zenith da margem gengival e a JAC. Ou seja, se no início a GR foi de 3mm e que depois de uma semana de cicatrização, já não havia recessão gengival, a RecRed foi de 3mm. A avaliação da RecRed foi realizada por um investigador não envolvido no estudo (P.H).

2. Apresentação e enumeração da variável secundária

a) Recobrimento radicular parcial/total

O recobrimento radicular parcial/total corresponde ao recobrimento da raiz do dente depois da cirurgia. Foi calculado em %. O recobrimento de 100% corresponde a um recobrimento até a JAC do dente. A avaliação do recobrimento radicular foi realizada por um investigador não envolvido no estudo (P.H).

b) Análise dos biomarcadores

Os principais biomarcadores da inflamação periodontal avaliados foram a interleucina 8 (IL-8), o fator de crescimento fibroblasto 2 (FGF-2) e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). Foram recolhidos através do fluido crevicular gengival para caracterizar a cicatrização num estágio inicial (até 21 dias). O teste kit ELISA, feito no laboratório, de acordo com as instruções do comercial, permite quantificá-los. A avaliação e quantificação dos biomarcadores foi realizada pelo investigador principal do estudo (J.P), com ajuda.

3. Medições e observações adicionais

a) Avaliação da dor pela escala visual analógica – VAS

Foi entregue a todos os pacientes o formulário com a Escala Visual Analógica (VAS) para ser preenchido durante os 7 dias de pós-operatório após a cirurgia de recobrimento radicular. A VAS, consiste numa medida unidimensional, feita através de uma linha horizontal com 10 centímetros de comprimento. A nível das extremidades dessa linha, foram colocadas as descrições “sem dor” e na outra extremidade “dor máxima”. Foi solicitado a cada paciente, que marcasse uma cruz ou um traço perpendicular à linha no ponto que representasse a intensidade da sua dor. Houve avaliações de dois sítios diferentes: o local da recessão gengival e a zona do palato onde foi removido o enxerto.

Posteriormente, efetuou-se a medição em centímetros da distância entre o início da linha (que corresponde a zero) e o local assinalado pelo paciente, obtendo-se uma classificação numérica do valor da VAS.

-----RECESSÃO GENGIVAL----- -----PALATO-----

Sem Dor _____ Dor Máxima	Sem Dor _____ Dor Máxima
--------------------------	--------------------------

Figura 7 - escala visual analógica (VAS).

b) Avaliação das variáveis do RES – Root Esthetic Score

A segunda avaliação e medição adicional consistiu na avaliação das variáveis do RES-Root Esthetic Score (Cairo et al, 2009). Foi uma escala em 10 pontos. Foi realizada por um investigador não envolvido no estudo (P.H) durante a consulta de 3 meses depois a cirurgia.

Está avaliação foi dividida em duas partes : 60% diz respeito ao nível da margem gengival. Os restantes 40% foram repartidos para: o contorno gengival, a textura, o alinhamento da LMG e da cor. Foi acordado 0 pontos se há um aumento da recessão gengival/perda da papila.

Os seis pontos do nível da margem gengival foram divididos em : 0 pontos quando houve uma ausência de recobrimento radicular / 3 pontos no recobrimento parcial / 6 pontos no recobrimento total.

Os 4 pontos restantes foram repartidos em:

-Contorno gengival : 0 ponto se foi irregular, 1 ponto se foi adequado, ou seja ao nível da JAC.

-Textura : 0 ponto se houve a presença de cicatriz/queloide, 1 ponto se não houve cicatriz.

-Alinhamento da LMG : 0 ponto se a LMG não foi alinhada com os dentes adjacentes, 1 ponto se foi alinhada.

-Cor : 0 se a cor foi discrepante, 1 ponto se a cor se integrou com a cor dos tecidos circundantes.

Tabela 7 - tabela utilizada para a avaliação do RES.

Paciente n°	Cirurgia	Dente envolvido	GM	MTC	STT	MGJ	GC	PUNTAÇÃO TOTAL
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
Média da pontuação :								

GM= margem gengival, MTC= contorno gengival, STT= textura gengival, MGJ= alinhamento da LMG, GC= cor gengival.

c) Avaliação da satisfação do paciente – *PROMs*

A terceira avaliação e medição adicional consistiram na avaliação da satisfação do paciente – *PROMs*. Foram feitas perguntas diretamente ao doente relativamente à satisfação dos tratamentos efetuados. As perguntas foram:

Encontra-se satisfeito(a) com o resultado final do tratamento efetuado?

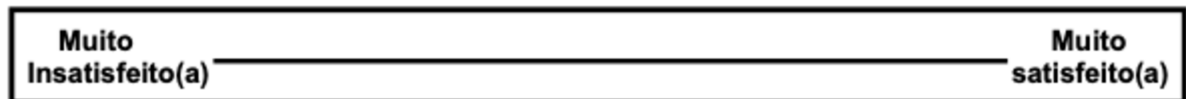


Figura 8 - linha representativa dos *PROMs*.

“Se não está nada satisfeito”, assinalar uma cruz próxima da extremidade com a classificação “Muito insatisfeito”

“Se está moderadamente satisfeito” assinalar uma cruz na **zona central** da linha

“Se está completamente satisfeito” assinalar uma cruz próxima da extremidade com a classificação “Muito satisfeito”

Submeter-se ia novamente à técnica realizada? SIM _____ NÃO _____

Recomendaria este procedimento? SIM _____ NÃO _____

4. Avaliação das complicações pós-operatórias

Em qualquer procedimento cirúrgico, podem ocorrer complicações pós-operatórias. Algumas das possíveis complicações foram :

Tabela 8 - complicações pós-operatórias

dor / desconforto / sensibilidade pós cirúrgica	Foram avaliados através da VAS, e dos <i>PROMs</i>
Edema / hemorragia / infeção	Foram avaliados através do registro fotográfico ao longo das consultas
Falha do enxerto / fracasso, recidiva da GR	Foram avaliados através das variáveis em análise ao longo das consultas

Recobrimento radicular com enxerto de tecido conjuntivo com e sem proteínas derivadas da matriz de esmalte: um estudo clínico.

III. RESULTADOS

A. Análise descritiva do estudo

Observamos que 100% das cirurgias foram cirurgias realizadas em pacientes de sexo feminino de raça caucasiana. A média da idade dos pacientes foi de 28 anos com um desvio padrão de 15 anos. Os dois motivos das cirurgias foram a sensibilidade e a estética. 50% foram cirurgia na arcada superior e 50% na arcada inferior. 37,5% foram dentes no primeiro e quarto quadrante e 62,5% foram no segundo e terceiro quadrante. 37,5% dos dentes envolvidos foram incisivos centrais inferiores, 12,5% foram caninos superiores 50% foram pré-molares (50% superiores, 50% inferiores) (tabela 9).

Tabela 9 – análise descritiva do estudo.

Pacientes	Cirurgias	Idade	Raça	Sexo	Dente	Arcada	Lado	Motivo
1	CAF+SCTG	23	C	F	13	superior	direito	Estético
2	TUN+SCTG	24	C	F	34	inferior	esquerdo	sensibilidade
3	TUN+SCTG	24	C	F	35	inferior	esquerdo	sensibilidade
4	TUN+SCTG	22	C	F	31	inferior	esquerdo	Estético
5	TUN+SCTG+PDME	20	C	F	31	inferior	esquerdo	estetico
6	CAF+SCTG+PDME	43	C	F	14	superior	direito	sensibilidade
7	CAF+SCTG+PDME	43	C	F	15	superior	direito	sensibilidade
8	TUN+SCTG	25	C	F	31	inferior	esquerdo	Estético

C= raça caucasiana, F= feminino.

B. Resultados da variável primária

1. Redução de recessão gengival (RecRed)

Relativamente a variável primária, a redução de recessão gengival (RecRed) os resultados foram iguais no grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) depois da cirurgia. Depois de 7 dias e até os 14 dias, os resultados já foram diferentes, 0mm de redução de recessão gengival no grupo controlo 1 contra 2mm de RecRed no grupo teste 1. Os resultados foram iguais depois de 14 dias (1mm), e depois de 21 dias, os resultados da RecRed foram de 1mm nos dois grupos. Ao fim de três meses, os resultados estavam iguais nos dois grupos 1 (tabela 10).

Tabela 10 - resultados da variável primária.

Pacientes	Cirurgias	RecRed (mm)				
		DO	D7	D14	D21	D92
1	CAF+SCTG	2mm	0mm	0mm	1mm	1mm
2	TUN+SCTG	1mm	1mm	1mm	1mm	1mm
3	TUN+SCTG	1mm	1mm	1mm	1mm	1mm
4	TUN+SCTG	3mm	3mm	2mm	2mm	2mm
5	TUN+SCTG+PDME	3mm	3mm	0mm	0mm	0mm
6	CAF+SCTG+PDME	2mm	2mm	2mm	1mm	1mm
7	CAF+SCTG+PDME	2mm	2mm	2mm	1mm	1mm
8	TUN+SCTG	2mm	2mm	2mm	2mm	2mm
Valor médio de RecRed:		2mm	1,75mm	1,25mm	1,1mm	1,1mm

D=dia, mm=milímetros.

Durante os 7 primeiros dias o grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME) teve melhores resultados de RecRed, 3mm contra 1,7mm no grupo controlo 2 (TUN+SCTG). Os resultados inverteram-se depois de uma semana, devido ao fracasso do enxerto na cirurgia TUN+SCTG+PDME (tabela 11).

Enquanto foi possível comparar, os melhores resultados foram observados nos grupos teste, com as PDME (tabela 11).

Tabela 11 - resultados médios da variável primária nos diferentes grupos comparados, grupo controlo 1 (CAF+SCTG) vs grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME), grupo controlo 2 (TUN+SCTG) vs grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME).

	D0	D7	D14	D21	D92
RecRed (em mm)					
CAF+SCTG	2	0	0	1	1
CAF+SCTG+PDME	2	2	2	1	1
TUN+SCTG	1,7	1,7	1,5	1,5	1,5
TUN+SCTG+PDME	3	3	0	0	0

D= dia.

C. Resultados das variáveis secundárias

1. Resultados de percentagem de recobrimento radicular

Tabela 12 - resultados da variável secundária - recobrimento radicular.

Pacientes	Cirurgias	CRC/mRC (%)									
		DO		D7		D14		D21		D92	
		CRC	mRC	CRC	mRC	CRC	mRC	CRC	mRC	CRC	mRC
1	CAF+SCTG	CRC - 100	-	CRC - 100	-	-	mRC - 80	-	mRC - 80	-	mRC - 80
2	TUN+SCTG	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-
3	TUN+SCTG	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-
4	TUN+SCTG	CRC - 100	-	CRC - 100	-	-	mRC - 80	-	mRC - 75	-	mRC - 75
5	TUN+SCTG+PDME	CRC - 100	-	CRC - 100	-	-	mRC - 0	-	mRC - 0	-	mRC - 0
6	CAF+SCTG+PDME	CRC - 100	-	CRC - 100	-	-	mRC - 70	-	mRC - 70	-	mRC - 70
7	CAF+SCTG+PDME	CRC - 100	-	CRC - 100	-	-	mRC - 70	-	mRC - 70	-	mRC - 70
8	TUN+SCTG	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-	CRC - 100	-

CRC= recobrimento radicular completo, mRC= recobrimento radicular parcial, D= dia.

Relativamente a primeira variável secundária, o recobrimento radicular, obtivemos resultados semelhantes nos grupos controlo 1 (CAF+SCTG) e no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) durante a primeira semana (100%, CRC). Além da primeira semana e até 3 meses o recobrimento radicular foi parcial nos dois grupos e foi superior no grupo controlo 1 (80%, mRC) contra 70% de recobrimento parcial no grupo teste 2 (tabela 13).

No grupo controle 2 (TUN+SCTG) e no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME) o recobrimento radicular foi total durante as duas primeiras semanas (100%). Foram observadas diferenças importantes depois da segunda semana devido ao fracasso do enxerto da única cirurgia TUN+SCTG+PDME (0%, mRC) (tabela 13).

Tabela 13 - resultados da variável secundária recobrimento radicular nos diferentes grupos comparados.

	D0	D7	D14	D21	D92
CRC/mRC (em %)					
CAF+SCTG	100	100	80	80	80
CAF+SCTG+PDME	100	100	70	70	70
TUN+SCTG	100	100	95	94	94
TUN+SCTG+PDME	100	100	0	0	0

CRC= recobrimento radicular completo, mRC= recobrimento radicular parcial, D=dia.

2. Análise dos biomarcadores

a) Concentração dos biomarcadores IL-8 nas amostras, em µg/ml :

Tabela 14 - resultados da análise biomolecular da IL-8 em µg/ml.

Pacientes	Cirurgias	IL-8 (µg/ml)			
		D0	D7	D14	D21
1	CAF+SCTG	16,9	44,8	12,4	14,0
2	TUN+SCTG	11,5	33,9	11,5	42,7
3	TUN+SCTG	17,2	156,9	24,4	20,4
4	TUN+SCTG	nd	148,5	29,2	nr
5	TUN+SCTG+PDME	nd	nd	nd	nd
6	CAF+SCTG+PDME	30,6	147,9	5,0	23,2
7	CAF+SCTG+PDME	7,2	237,0	79,9	3,2
8	TUN+SCTG	3,6	146,8	nr	4,3

nd = não determinado, nr= não realizado, D = Dia.

Os resultados da IL-8 foram encontrados superiores no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) em comparação com o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) (tabela 15).

Tabela 15 – Valores médios da IL-8 no FGC, no grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME), em µg/ml.

Cirurgias	IL-8 (µg/ml)			
	D0	D7	D14	D21
CAF+SCTG	16,9	44,8	12,4	14,0
vs	vs	vs	vs	vs
Média CAF+SCTG+PDME	18,9	192,45	42,5	13,2

D = Dia.

Não foi detectado IL-8 no grupo TUN+SCTG+PDME e foi encontrado interleucina 8 no grupo TUN+SCTG (tabela 16).

Tabela 16 - resultados da análise biomolecular da IL-8, no grupo controlo 2 e no grupo teste 2, em $\mu\text{g/ml}$.

Cirurgias	IL-8 ($\mu\text{g/ml}$)			
	D0	D7	D14	D21
Média TUN+SCTG	8,0	121,5	16,2	16,8
<i>vs</i>	<i>vs</i>	<i>vs</i>	<i>vs</i>	<i>vs</i>
TUN+SCTG+PDME	nd	nd	nd	nd

nd = não definido, D = Dia.

b) Concentração dos biomarcadores FGF-2 nas amostras, em $\mu\text{g/ml}$:

Os valores com exceção da cirurgia 1 CAF+SCTG, no dia 21, com uma concentração de $32,3 \mu\text{g/ml}$, foram abaixo do limite de detecção.

c) Concentração dos biomarcadores VEGF nas amostras, em µg/ml:

Tabela 17 - resultados da análise biomolecular do VEGF, em µg /ml.

Pacientes	Cirurgias	VEGF (µg/ml)			
		D0	D7	D14	D21
1	CAF+SCTG	nd	nd	nd	nd
2	TUN+SCTG	nd	nd	nd	nd
3	TUN+SCTG	nd	32,1	nd	nd
4	TUN+SCTG	nd	117,6	67,3	nr
5	TUN+SCTG+PDME	nd	nd	nd	nd
6	CAF+SCTG+PDME	nd	63,4	nd	nd
7	CAF+SCTG+PDME	nd	5,5	82,4	nd
8	TUN+SCTG	nd	81,8	nr	nd

D = dia, nd= não definido, nr= não realizado.

Antes da cirurgia, não foi possível encontrar VEGF nos dois grupos. Foi encontrado o fator VEGF no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) no dia 7 (34,5 mg/ml) e no dia 14 (41,2 mg/ml). No dia 21 não foi encontrado VEGF nos dois grupos (tabela 18).

Tabela 18 - resultados da análise biomolecular do VEGF, no grupo controle 1 e no grupo teste 1, em µg/ml.

Cirurgias	VEGF (µg/ml)			
	D0	D7	D14	D21
CAF+SCTG	nd	nd	nd	nd
vs	vs	vs	vs	vs
Média CAF+SCTG+PDME	nd	34,5	41,2	nd

D=dia, nd= não definido.

Nas cirurgias TUN, foi encontrado o fator VEGF no grupo controle 2 (TUN+SCTG) no dia 7 (57,8 µg/ml) e no dia 14 (16,8 µg/ml) devido ao fracasso do enxerto da única cirurgia do grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME) (tabela 19).

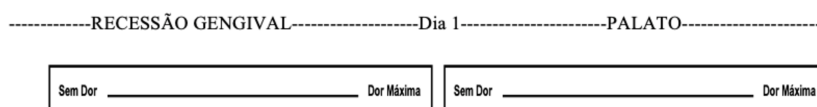
Tabela 19 - resultados da análise biomolecular do VEGF, no grupo controlo 2 e no grupo teste 2, em µg/ml.

Cirurgias	VEGF (µg/ml)			
	D0	D7	D14	D21
Média TUN+SCTG	nd	57,8	16,8	nd
vs	vs	vs	vs	vs
TUN+SCTG+PDME	nd	nd	nd	nd

D= dia, nd= não definido.

D. Resultados das medições e observações adicionais**1. Resultados da avaliação da dor pela escala visual analógica – VAS**

A avaliação da dor pela escala visual analógica foi feita através da escala indicada abaixo para cada paciente: a nível da recessão gengival e do palato. Depois de ter todos os resultados, foi realizada uma média para cada dia;

**Figura 9** - escala visual analógica (VAS).**Tabela 20** - resultados da escala VAS.

Pacientes	Cirurgias	VAS (sobre 10)								
		DO	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Pontuação média
1	CAF+SCTG	0/0	6/4	5/5	5/5	4/5	4/4	2/1	1/1	3,4/3,1
2	TUN+SCTG	0/0	4/4	4/4	3/3	3/3	2/1	1/1	1/1	2,3/2,1
3	TUN+SCTG	0/0	4/4	4/4	3/3	3/3	2/1	1/1	1/1	2,3/2,1
4	TUN+SCTG	0/0	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/1	1/1	2,3/2,1
5	TUN+SCTG+PDME	0/0	5/6	5/5	6/6	3/5	3/3	3/3	1/1	3,3/3,6
6	CAF+SCTG+PDME	0/0	5/5	5/5	5/5	3/4	3/3	2/1	2/1	3,1/3,0
7	CAF+SCTG+PDME	0/0	5/5	5/5	5/5	3/4	3/3	2/1	2/1	3,1/3,0
8	TUN+SCTG	0/0	3/3	3/3	3/3	2/2	2/2	1/1	1/1	1,8/1,8

VAS= escala visual analógica, D= dia, x/x= pontuação média da recessão gengival/ pontuação média do palato.

Os resultados mais altos encontraram-se no terceiro dia da cirurgia TUN+SCTG+PDME, com dores anotadas de 6/10 nas duas localizações. Ao contrario, as dores mais baixas foram encontrado em todas as cirurgias depois da cirurgia, com notas de 0/10.

Na pontuação média, a cirurgia menos dolorosa foi a cirurgia TUN+SCTG do paciente 8 (1,8/10 nas duas localizações). Ao contrário, a cirurgia com mais dores foi a cirurgia do paciente 1 na zona das recessões gengivais (3,4/10) e o paciente 5 na zona do palato (3,6/10) (tabela 20).

Relativamente a comparação do grupo controlo 1 (CAF+SCTG) com o grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME), a média de dor máxima foi registrado no dia 1 depois da cirurgia no grupo controlo 1 (6,0/10), na localização das recessões gengivais. No grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME), também foi observado dores máximas nas recessões gengivais no dia 1 pós cirúrgico (5,0/10). Na zona do palato, a dor maior do grupo controlo 1 foi de 5,0/10 durante os dias 2, 3, 4 pós cirúrgico. No grupo teste 1, a dor foi classificado igualmente de 5,0/10, mas a partir do dia 1 pós cirúrgico. No ultimo dia, as dores foram quase desaparecendo nos dois grupos CAF; 1,0/10 nas duas localizações do grupo CAF+SCTG contra 2,0/10 nas recessões gengivais e 1,0/10 no palato do grupo teste 1 (tabela 21).

As últimas comparações da VAS foram realizadas entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME). Não houve diferenças importantes entre os grupos, a exceção do dia 3 pós cirúrgico, onde as dores do grupo controlo 2 (TUN+SCTG) foram de 3,0/10 nas duas localizações contra o dobro (6,0/10), no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME). As dores maiores do palato foram registradas no grupo teste 2 com 6,0/10 no dia 1 e no dia 3 pós cirúrgico, enquanto foram só de 4,0/10 no grupo controlo 2 no dia 1 e 2 pós cirúrgico. O último dia, as dores foram quase inexistentes nos dois grupos 2, com uma medição de 1,0/10 nas quatro localizações (tabela 21).

Tabela 21 - tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados, VAS (escala visual analógica).

VAS	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Pontuação média
CAF+SCTG	0/0	6/4	5/5	5/5	4/5	4/4	2/1	1/1	3,3/2,5
CAF+SCTG+PDME	0/0	5/5	5/5	5/5	3/4	3/3	2/1	2/1	3,1/3
TUN+SCTG	0/0	3,5/3,5	3,5/3,5	3,0/3,0	2,7/2,7	2,2/1,7	1,2/1	1/1	2,1/2,05
TUN+SCTG+PDME	0/0	5/6	5/5	6/6	3/5	3/3	3/3	1/1	3,2/3,6

CAF: retalho reposicionado coronalmente, SCTG: enxerto de tecido conjuntivo desepitelizado, TUN: tunelização, PDME: proteínas derivadas da matriz de esmalte, D: dia.

2. Resultados das variáveis do RES – *Root Esthetic Score*

Tabela 22 - resultados da variável RES.

Pacientes	Cirurgia	Dente envolvido	GM	MTC	STT	MGJ	GC	pontuação total
1	1 : CAF+SCTG	23	3	0	0	0	1	4/10
2	2 : TUN+SCTG	34	6	1	0	1	1	9/10
3	3 : TUN+SCTG	35	6	1	0	1	1	9/10
4	4 : TUN+SCTG	31	3	0	1	0	1	5/10
5	5 : TUN+SCTG+PDME	31	3	0	0	0	0	3/10
6	6 : CAF+SCTG+PDME	14	3	1	0	1	1	6/10
7	7 : CAF+SCTG+PDME	15	3	1	0	1	1	6/10
8	8 : TUN+SCTG	31	6	1	1	1	1	10/10
Média das pontuações total:								6,5/10

GM= margem gengival, MTC= contorno gengival, STT= textura gengival, MGJ= alihamento da linha muco-gengival, CG= cor gengival.

A margem gengival foi observada com melhor aspecto em cirurgias TUN+SCTG. A textura gengival foi observada também com melhor aspecto nas cirurgias TUN devido à ausência de descargas. A cor gengival foi observada com bom aspecto em todas as cirurgias menos no paciente 5 com a cirurgia TUN+SCTG+PDME devido ao fracasso do enxerto (tabela 22).

Na comparação das cirurgias CAF com ou sem as PDME, o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) teve uma média da pontuação total do RES de 4,0/10 aos 3 meses contra uma média de 6,0/10 no grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME). As médias não são comparáveis devido as amostras reduzidas, pois o grupo controlo 1 tem apenas uma cirurgia (tabela 23).

O grupo controlo 2 (TUN+SCTG) efetuou 4 cirurgias de recessão gengival única realizadas contra uma única cirurgia de uma recessão gengival no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME). A média do RES do grupo controlo 2 foi de 8,25/10 contra 3,0/10 no grupo teste 2. Os resultados da variável RES estão significativamente diferentes mas não são comparáveis devido ao fracasso da cirurgia do grupo teste 2 (tabela 23).

Tabela 23 - tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados.RES (avaliação da estética radicular).

RES		Média das pontuações total
	CAF+SCTG	4,0/10
	CAF+SCTG+PDME	6,0/10
	TUN+SCTG	8,25/10
	TUN+SCTG+PDME	3,0/10

CAF: retalho reposicionado coronalmente, SCTG: enxerto de tecido conjuntivo desepitelizado, TUN, tunelização, PDME: proteínas derivadas da matriz de esmalte.

3. Resultados da satisfação do paciente – PROMs

Os resultados da satisfação do paciente foram avaliados através das três perguntas subcitadas. A média foi feita incluindo todas as respostas. A primeira pergunta foi: “Encontra-se satisfeito(a) com o resultado final do tratamento efetuado?”

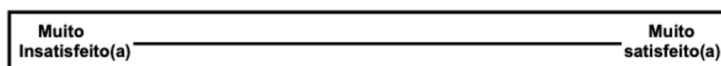


Figura 10 – linha representativa dos PROMs.

A segunda pergunta foi: “Submeter-se ia novamente à técnica realizada?”

A terceira pergunta foi: “Recomendaria este procedimento?”

Tabela 24 - resultados dos PROMs.

Pacientes	CIRURGIAS/ RESPOSTAS	RESPOSTA	RESPOSTA	RESPOSTA
		1	2	3
1	CAF+SCTG	6/10	SIM	SIM
2	TUN+SCTG	9/10	SIM	SIM
3	TUN+SCTG	9/10	SIM	SIM
4	TUN+SCTG	6/10	SIM	SIM
5	TUN+SCTG+PDME	0/10	SIM	SIM
6	CAF+SCTG+PDME	7/10	SIM	SIM
7	CAF+SCTG+PDME	7/10	SIM	SIM
8	TUN+SCTG	10/10	SIM	SIM
MÉDIA :		6,75/10	8 SIM	8 SIM

No grupo controlo 1 (CAF+SCTG) a média de satisfação foi de 6/10 apresentando duas respostas positivas numa única cirurgia. O grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) envolveu duas cirurgias, a média registada foi de 7/10, com duas respostas positivas (tabela 25).

A satisfação dos pacientes foi em média 8,5/10 no grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e as foram positivas. Contrariamente, o fracasso do enxerto aconteceu no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME) e a satisfação do resultado final foi de 0/10. No entanto, as respostas às duas últimas perguntas foram positivas (tabela 25).

Tabela 25 - tabela dos resultados das médias dos diferentes parâmetros adicionais avaliados. PROMs (avaliação da satisfação dos pacientes).

PROMs		Média R1	R2	R3
	CAF+SCTG	6,0/10	SIM	SIM
	CAF+SCTG+PDME	7,0/10	2 SIM	2SIM
	TUN+SCTG	8,5/10	4 SIM	4SIM
	TUN+SCTG+PDME	0/10	SIM	SIM

CAF: retalho reposicionado coronalmente, SCTG: enxerto de tecido conjuntivo desepetialisado, TUN, tunelização, PDME: proteínas derivadas da matriz de esmalte, R: resposta.

E. Resultados das complicações pós-operatórias

Relativamente as complicações pós-operatórias, foi observado inchaço, rubor, hemorragia, edema e deiscência de retalho. As cirurgias TUN não resultaram em complicações pós-operatórias, ao menos de uma cirurgia onde foi observado hemorragia. Foram as cirurgias CAF que apresentaram todas inchaço. As cirurgias do grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) apresentaram mais complicações pós-operatórias importantes com inchaço e deiscência de retalho.

Tabela 26 - Resultados das complicações pós-operatórias dos pacientes.

Pacientes	Cirurgias	Complicações pós-operatórias
1	CAF+SCTG	Inchaço, rubor
2	TUN+SCTG	-
3	TUN+SCTG	-
4	TUN+SCTG	hemorragia
5	TUN+SCTG+PDME	Inchaço, edema, hemorragia
6	CAF+SCTG+PDME	Inchaço, deiscência de retalho
7	CAF+SCTG+PDME	Inchaço, deiscência de retalho
8	TUN+SCTG	-

IV. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto clínico e biomolecular depois da utilização das PDME, na cicatrização periodontal associada à cirurgia de CAF ou TUN em combinação com SCTG, a fim de tratar pacientes com recessões gengivais única ou múltiplas RT1.

A variável primária foi a redução de recessão gengival (RecRed). A amostra dos grupos controlos foi de 5 cirurgias (1 CAF+SCTG e 4 TUN+SCTG) e a amostra dos grupos testes foi de 3 cirurgias (2 CAF+SCTG+PDME e 1 TUN+SCTG+PDME). A RecRed foi sempre superior nos grupos testes durante os 14 primeiros dias após a cirurgia, até um ponto máximo no sétimo dia onde foi observado uma redução da recessão gengival maior nos grupos testes, 2,3mm contra 1,4mm nos grupos controlos. A partir do dia 21 pós cirurgia, a RecRed foi superior nos grupos controlos, 1,4mm, contra 0,7mm nos grupos testes. A amostra reduzida dos grupos testes e o fracasso de uma das três cirurgias no grupo teste não permite tirar conclusões definitivas.

Comparando as cirurgias CAF, o grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) obteve melhores resultados do que o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) durante as duas primeiras semanas (2mm contra 0mm), devido à expectável cicatrização retardada do tecido gengival sem as PDME. Três semanas pós cirurgia, os resultados foram iguais, 1mm de RecRed, sem diferenças entre os grupos de estudo.

Relativamente às cirurgias TUN, foi observado uma maior e mais rápida cicatrização gengival no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME), devido a ajuda das PDME. Os resultados são superiores no grupo teste 2, 3mm, comparativamente a 1,7mm no grupo controlo 2. O grupo teste 2 incluiu apenas uma cirurgia. O enxerto não se integrou, fracassou, obrigando à sua remoção 14 dias depois. Os resultados foram contraditórios durante as duas primeiras semanas, passando de 3mm no grupo teste 2 a 0mm, e de 1,7mm no grupo controlo 2 a 1,5mm. Os resultados não apresentaram evidência científica, não sendo relevantes para a conclusão. O ideal seria retirá-los do estudo pois subvalorizam os resultados deste grupo. No entanto, foram mantidos, sendo o grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME) incluíu apenas uma cirurgia.

A primeira variável secundária avaliada foi o recobrimento radicular parcial e total. Os resultados da investigação demonstraram um maior recobrimento radicular completo nos grupos controlos (CAF+SCTG e TUN+SCTG). O grupo CAF+SCTG apresentou um recobrimento radicular parcial de 80% depois de três meses enquanto o grupo CAF+SCTG+PDME revelou 70%. O grupo TUN+SCTG apresentou 94% de recobrimento radicular completo depois de três meses enquanto não tivemos resultados do grupo TUN+SCTG+PDME devido ao fracasso do enxerto. O estudo de Roman et al., 2013, confirmou os resultados superiores sem as PDME. Os autores obtiveram 70,6% de recobrimento radicular completo com SCTG isolado, contra 56,5% de recobrimento radicular completo com a adição das PDME. As diferenças no recobrimento radicular médio, registadas para as duas técnicas, após 1 ano não foram estatisticamente significativas ($p= 0,19$) (Roman et al, 2013).

Ao contrário dos nossos resultados, a literatura mostra diferentes estudos com recobrimento radicular significativo maior com as PDME; no estudo de Dias et al., avaliaram 32 cirurgias de recessões gengival (única ou múltiplas, RT1 de Cairo, 2011). No final dos 6 meses, 82% das cirurgias CAF+SCTG+PMDE tiveram um recobrimento radicular parcial contra 48% das CAF+SCTG. Das 16 cirurgias CAF+SCTG+PMDE, 12 tiveram um recobrimento radicular completo contra 7 das 16 cirurgias CAF+SCTG. O recobrimento radicular médio foi significativamente maior no grupo teste em comparação ao grupo controle (86% vs. 66%, $p= 0,008$) (Dias et al, 2022). Henriques et al., confirmaram um maior recobrimento radicular com SCTG+PDME e Rasperini et al., também mas com resultados inferiores; 62% de recobrimento radicular parcial para o grupo das proteínas derivadas do esmalte contra 47% sem as PDME (Henriques et al, 2010) (Rasperini et al, 2011). Uma possível explicação para estes resultados poderá ter estado nas amostras reduzidas e ao fracasso de uma das cirurgias. O clínico que fez as cirurgias não tinha experiência clínica e era aluno da pós-graduação da faculdade. Em comparação com o estudo de Dias et al, em 2022, o clínico que realizou as cirurgias tinha mais de 20 anos de experiência na área da periodontologia.

A segunda variável secundária avaliada foi a análise dos três biomarcadores; IL-8, VEGF, FGF-2. Estes marcadores são produzidos pelas células do ligamento periodontal em condições de reparação tissular e foram usados para aferir o nível de inflamação dos tecidos antes e após a intervenção cirúrgica. Nos resultados da investigação, a interleucina 8 foi encontrada em maior concentração nos grupos testes. Os artigos científicos que

fizeram estudos com as PDME indicaram um efeito benéfico na cicatrização dos tecidos e uma cicatrização mais rápida, o que significa uma inflamação tecidual reduzida (Dias et al, 2022).

Na investigação, a IL-8 foi encontrada num valor médio de 192,5 µg/ml depois de 7 dias no grupo CAF+SCTG+PMDE (n=2) contra 44,8 µg/ml no grupo CAF+SCTG (n=1). Depois de 14 dias a quantidade de IL-8 baixou nos dois grupos mas ficou numa média superior no grupo teste (42,5 µg/ml contra 12,4 µg/ml) (tabela 22).

Ao contrário, depois de 21 dias de investigação, a quantidade de IL-8 no FCG foi inferior no grupo teste CAF+SCTG+PDME em comparação com o grupo controlo (13,2 µg/ml contra 14,0 µg/ml) (tabela 22).

Num estudo realizado em sangue humano, *in vitro*, os resultados demonstraram o contrario do que descobrimos na investigação. As PDME provocaram a diminuição da libertação de citocinas pró-inflamatórias do sangue humano, sugerindo que as mesmas possuem um potencial anti-inflamatório, ou seja, níveis de IL-8 inferiores quando as PDME foram utilizadas (Myhre et al., 2006).

No estudo da Dias et al., onde foi realizada uma intervenção semelhante, observou-se que As PDME também não prevenirem a expressão da interleucina 8. A quantidade das IL-8 foi significativamente superior aos 7 dias no grupo controlo CAF+SCTG mas sem diferencia estatísticas depois de 14 dias (Dias et al, 2022). No entanto, a comparação com os valores absolutos não foi possível pois os autores reportam as concentrações no ensaio, que variam com as diluições efetuadas, e não no FCG.

O segundo biomarcador avaliado foi o FGF-2. Os valores medidos após diluição foram inferiores ao limite de detecção, inferiores a 31 pg/ml *assay concentration*, o que significa que serão inferiores aos cerca de 40 pg/ml reportados por Dias et al. Não foi detectado FGF-2 em muitas das amostras, explicamos a ausência das FGF-2 nas amostras devido a diluição excessiva realizada na investigação.

O último biomarcador avaliado foi o VEGF. Supostamente com o efeito indicado das PDME na cicatrização, pelo estudo do Dias et al., esperaríamos encontrar uma quantidade superior nos grupos testes, devido a vascularização acelerada. Verificou-se na investigação, no grupo teste CAF+SCTG+PDME (n=2) foi encontrado mais VEGF do

que no grupo controlo CAF+SCTG (n=1). Aos 7 dias, 34,5 µg/ml do biomarcador foi encontrado no grupo teste, contra uma quantidade do biomarcador VEGF abaixo do limite de detecção no grupo controlo. Não foi identificada no grupo controlo devido as amostras reduzidas e as diluições excessivas (tabela 26).

Aos 14 dias, uma quantidade de 41,2 µg/ml no grupo CAF+SCTG+PDME contra uma quantidade não identificada no grupo CAF+SCTG devido as amostras reduzidas e as diluições excessivas (tabela 26).

Não foi possível comparar as quantidades do VEGF nas cirurgias TUN. A cirurgia TUN+SCTG+PDME não cicatrizou e houve um rejeito do enxerto. Os resultados não são comparáveis (tabela 27).

No estudo da Dias et al., observamos resultados superiores no grupo teste CAF+SCTG+PDME depois de 14 dias. Aos 7 dias os resultados não tiveram diferenças significativas; 32,5 pg/L contra 37,7pg/L no grupo teste. Depois de 14 dias, encontramos 37,2 pg/L no grupo teste CAF+SCTG+PDME e 31,6 pg/mL no grupo CAF+SCTG, sendo resultados estatístico significativos e que também confirmam os resultados da investigação (Dias et al, 2022).

Vários estudos *in vitro* e *in vivo* pré-clínicos confirmam o efeito das PDME nos grupos testes, por exemplo, o estudo *in vitro* do Villa et al., em 2015, confirmou a expressão do VEGF nos fibroblastos humanos com a adição das PDME (Villa et al, 2016).

Em relação aos paciente também foram analisadas e comparadas as variáveis adicionais. A escala visual analógica (VAS) foi comparada entre os diferentes grupos do estudo. O grupo teste 1 (CAF+SCTG+PDME) obteve melhores resultados da pontuação média na localizações das recessões gengival, 3,1/10 contra 3,3/10 no grupo controlo 1 (CAF+SCTG). Na localização do palato melhores resultados foram encontrados no grupo controlo 1, com uma pontuação média de 2,5/10, em comparação com uma pontuação média de 3,0/10 no grupo teste 1. O grupo controlo 2 (TUN+SCTG+PDME) obteve melhores resultados da pontuação média nas duas localizações, 2,1/10 e 2,05/10 contra 3,2/10 nas recessões gengivais e 3,6/10 no palato no grupo teste 2 (TUN+SCTG+PDME).

Relativamente ao estudo do González-Febles et al., em 2023, os pacientes tratados com TUN relataram significativamente menos dores do que CAF durante a intervenção cirúrgica, a média foi inferior de 1,64 numa nota até 10 no grupo TUN ($p = 0,028$). Embora a experiência cirúrgica global também tenha sido melhor no TUN do que no CAF, esta diferença não foi estatisticamente significativa, média foi inferior de 1,6 numa nota

até 10 no grupo TUN ($p=0,089$). Durante o período pós-operatório de 2 semanas, os pacientes tratados com TUN relataram menos dor em comparação com os tratados com CAF, mas essas diferenças foram estatisticamente significativas apenas para “pior dor” nos dias 1, 10 e 11.

A segunda variável adicional relativamente ao doente foi a variável RES *Root Esthetic Score*. Foi realizado a avaliação estética da cicatrização através de um investigador não envolvido no estudo (P.H) para evitar os riscos de vieses. Os resultados não são suficientes para ser feita a análise de comparação estatística devido à reduzida amostra do estudo. Na comparação dos grupos controlos com os grupos testes, os grupos controlos (CAF+SCTG e TUN+SCTG) tiveram uma média de RES de 7,4/10 contra 5,0/10 nos grupos testes (CAF+SCTG+PDME e TUN+SCTG+PDME). 5 cirurgias foram realizadas nos grupos controlos contra 3 nos grupos testes.

Em comparação com o estudo de González-Febles et al., em 2023, foram observados melhores resultados no grupo CAF+SCTG do que no grupo TUN+SCTG mas sem diferenças significativas. Observaram uma média de pontuação de 8,8 sobre 10 +/- 1,8 no grupo CAF+SCTG e no grupo TUN+SCTG uma média de pontuação total de 8,8 sobre 10 +/- 1,5 (González-Febles et al., 2023). Contudo, não são resultados comparáveis com a investigação devido a diferença das amostras iniciais.

Em comparação com o estudo de Sør Dahl e Verket, em 2022, foi verificado um RES superior nas cirurgias TUN+SCTG em comparação com as cirurgias CAF+SCTG. Não foram incluídas muitas cirurgias TUN. O objetivo do estudo foi de comparar o RES do paciente e o RES do profissional. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas comparando o RES total, embora os pacientes em geral tenham considerado os resultados melhores que os profissionais, 6,0 sobre 10 contra 5,5 sobre 10. A satisfação do paciente nem sempre refletiu o RES (Sør Dahl & Verket., 2022).

A terceira e última variável adicional relativamente aos pacientes foi a variável *PROMs* que consiste numa avaliação de satisfação dos doentes relativamente à cirurgia de recessão gengival. Os *PROMs* foram avaliados através de três perguntas que foram: encontra-se satisfeito(a) com o resultado final do tratamento efetuado? Submeter-se ia novamente à técnica realizada? Recomendaria este procedimento?

No grupo controlo 1 (CAF+SCTG) uma cirurgia realizada com uma média de satisfação de 6/10 e com duas respostas positivas as perguntas. O grupo teste 1

(CAF+SCTG+PDME) envolveu duas cirurgias, a média encontrada foi de 7/10. As duas cirurgias do grupo teste 1 deu duas respostas positivas as duas últimas perguntas (tabela 25). No grupo controle 2, TUN+SCTG, foram realizado 4 cirurgias, tiveram uma média de 7,5/10 na primeira pergunta e quatro respostas positivas foram incluídas. Pelo contrário, o grupo teste 2, TUN+SCTG+PDME, compreende a única cirurgia com fracasso cirúrgico, a resposta a primeira pergunta foi de 0/10 devido ao fracasso cirúrgico, mas as duas outras repostas foram positivas. As médias do grupo controle 2 (TUN+SCTG) com o grupo teste 2 (TUN+SCTG+PMDE) foram quase iguais. No geral, menos dores e melhor pós cirúrgico foi encontrado nos grupos controle 2 e teste 2 (TUN+SCTG e TUN+SCTG+PDME).

No estudo do Gonzáles-Febles et al., em 2023, compararam os dados relativamente aos pacientes e a suas satisfações das cirurgias. O grupo TUN+SCTG encontrou-se com dores durante a cirurgia, significativamente menores do que o grupo CAF+SCTG, média inferior de 1,64 valores sobre 10 ($p=0,028$), comparando com uma diferença de 1,5 valores sobre 10 na investigação. Foram resultados parecidos.

No estudo do Gonzáles-Febles et al., em 2023, a melhor experiência cirúrgica também tenha sido melhor no TUN+SCTG do que no CAF+SCTG, média inferior de 1,6 valores sobre 10 ($p=0,089$), mas sem diferença estatística. Os resultados da investigação concordaram com os resultados do estudo, onde a melhor experiência e os melhores resultados foram obtidos nas cirurgias TUN.

Os autores oncluíram que os *PROMs* foram melhores durante as duas semanas pós cirúrgica com uma cirurgia TUN. Essas diferenças podem ser devidas à técnica CAF+SCTG ou CAF+SCTG+PDME, envolvendo incisões, a elevação periosteal e o avanço coronal das margens gengivais, o que pode ter resultado em um aumento da morbidade pós-operatória. (González-Febles et al., 2023).

V. CONCLUSÃO

Através deste estudo piloto podemos retirar as seguintes conclusões:

Para a variável primária, a redução de recessão gengival (RecRed), a hipótese do estudo H1.1 (hipótese alternativa) foi considerada. Existiram diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 1 (CAF+SCTG) e o grupo teste 1 (CAF+SCTG+EMD).

Para a variável primária, a redução de recessão gengival (RecRed), a hipótese do estudo H2.1 (Hipótese alternativa) foi considerada. Existiram diferenças em termos de RecRed entre o grupo controlo 2 (TUN+SCTG) e o grupo teste 2 (TUN+SCTG+EMD).

Assim, foi possível concluir que o uso das PDME em cirurgias de RG RT1 resultou num recobrimento radicular médio e completo significativamente maior, bem como um aumento significativo na expressão de VEGF, sugerindo que as PDME podem contribuir para o processo angiogênico e de cicatrização. No entanto as amostras reduzidas e as diluições excessivas realizadas no biomarcador VEGF podem ter influenciado os resultados.

Os resultados da variável secundária (CRC/mRC) mostraram que ambas as intervenções cirúrgicas (TUN e CAF) resultaram em resultados clínicos de recobrimento radicular quase semelhantes; no entanto, as variáveis adicionais relevaram que o TUN resultou em menor morbidade do paciente, menos dores pós operatórias e uma avaliação pós cirúrgica com o RES superior.

Recobrimento radicular com enxerto de tecido conjuntivo com e sem proteínas derivadas da matriz de esmalte: um estudo clínico.

VI. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Sendo um estudo piloto deve ser feito um correto cálculo da amostra necessária para serem analisadas as diferenças significativas e ter mais validade interna e externa. Dessa forma, deverá ser aumentada a amostra dos diferentes grupos do estudo.

Uma limitação principal do estudo foi a experiência do operador. Outros estudos onde os operadores tem mais de 10 anos de experiência na cirurgia plástica periodontal podem ter influenciado os resultados da investigação.

A análise do biomarcador FGF-2 não foi conclusiva, sendo que a análise de outros biomarcadores poderia ser benéfico ao estudo da cicatrização gengival com a ajuda das PDME. Diluições menos importantes para o fator VEGF e diluições mais importantes para o fator IL-8 poderão ser consideradas para uma análise mais justa dos biomarcadores.

Realizar um estudo multicêntrico de forma a conseguirmos uma amostra superior e resultados de diferentes centros de investigação a fazerem o mesmo protocolo clínico e laboratorial.

Recobrimento radicular com enxerto de tecido conjuntivo com e sem proteínas derivadas da matriz de esmalte: um estudo clínico.

VII. BIBLIOGRAFIA

Al-Hezaimi K., Al-Fahad H., O'Neill R., Shuman L., & Griffin T. (2012). The effect of enamel matrix protein on gingival tissue thickness in vivo. *Odontology*. 100 (1):61-6. 10.1007/s10266-011-0022-5

Allen A. L. (1994). Use of the supraperiosteal envelope in soft tissue grafting for root coverage. I. Rationale and technique. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 14(3), 216–227.

Ardakani M. R. T., Meimandi M., Shaker R., & Golmohammadi S. (2019). The Effect of Platelet-Rich Fibrin (PRF), Plasma Rich in Growth Factors (PRGF), and Enamel Matrix Proteins (Emdogain) on Migration of Human Gingival Fibroblasts. *J Dent (Shiraz)*. 20 (4):232-39. 10.30476/DENTJODS.2019.44917.

Azzi, R., Etienne, D., Takei, H., & Fenech, P. (2002). Surgical thickening of the existing gingiva and reconstruction of interdental papillae around implant-supported restorations. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 22(1), 71–77.

Barootchi, S., & Tavelli, L. (2022). Tunneled coronally advanced flap for the treatment of isolated gingival recessions with deficient papilla. *The international journal of esthetic dentistry*, 17(1), 14–26.

BLOMLÖF, L., LINDSKOG, S. and HAMMARSTRÖM, L. (1981), Periodontal healing of exarticulated monkey teeth stored in milk or saliva. *European Journal of Oral Sciences*, 89: 251-259. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1981.tb01679.x>

Bosshardt, D. D. (2008). Biological mediators and periodontal regeneration: A review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(SUPPL. 8), 87–105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01264.x>

Brill, N., & Krasse, B. (2009). The Passage of Tissue Fluid into the Clinically Healthy Gingival Pocket. *Acta Odontologica Scandinavica*, 16, 233-245. <https://doi.org/10.3109/00016355809064110>

Burkhardt, R., & Lang, N. P. (2014). Fundamental principles in periodontal plastic surgery and mucosal augmentation--a narrative review. *Journal of clinical periodontology*, 41 Suppl 15, S98–S107. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12193>

Cairo, F., Nieri, M., Cincinelli, S., Mervelt, J., & Pagliaro, U. (2011). The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: An explorative and reliability study. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(7), 661–666. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01732.x>.

Cairo, F., Rotundo, R., Miller, P. D., & Pini Prato, G. P. (2009). Root Coverage Esthetic Score: A System to Evaluate the Esthetic Outcome of the Treatment of Gingival Recession Through Evaluation of Clinical Cases. *Journal of Periodontology*, 80(4), 705–710. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.080565>.

Caton, J, Armitage, G, Berglundh, T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *JPeriodontol*. 2018; 89(Suppl 1): S1S8. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0157>

Chambrone, L., & Tatakis, D. N. (2015). Periodontal Soft Tissue Root Coverage Procedures: A Systematic Review From the AAP Regeneration Workshop. *Journal of Periodontology*, 86(2-s), S8–S51. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.130674>

Chambrone, L., Ortega, M. A. S., Sukekava, F., Rotundo, R., Kalemaj, Z., Buti, J., & Prato, G. P. P. (2019). Root coverage procedures for treating single and multiple recession-type defects: An updated Cochrane systematic review. *Journal of Periodontology*, 90(12), 1399–1422. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0079>.

Chan, H. L., Chun, Y. H. P., MacEachern, M., & Oates, T. W. (2015). Does Gingival Recession Require Surgical Treatment? *Dental Clinics of North America*, 59(4), 981–996. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2015.06.010>

Couso-Queiruga, E., Weber, H. A., Garaicoa-Pazmino, C., Barwacz, C., Kalleme, M., Galindo-Moreno, P., & Avila-Ortiz, G. (2023). Influence of healing time on the outcomes of alveolar ridge preservation using a collagenated bovine bone xenograft: A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 50(2), 132– 146. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13744>

Dai, A., Huang, J. P., Ding, P. H., & Chen, L. L. (2019). Long-term stability of root coverage procedures for single gingival recessions: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 46(5), 572–585. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13106>

De Lima Barrozo, Y., Da Silveira, V. R. S., Martins, R. S., De Sousa Carvalho, R., & Moreira, M. M. S. M. (2016). Coronally advanced flap surgery with enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: A systematic review. *Revista Odontologia*, 31(1), 25–30. <https://doi.org/10.15448/1980-6523.2016.1.15413>

de Sanctis, M., & Zucchelli, G. (2007). Coronally advanced flap: a modified surgical approach for isolated recession-type defects: three-year results. *Journal of clinical periodontology*, 34(3), 262–268. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01039.x>

Di Gianfilippo, R., Wang, I. C., Steigmann, L., Velasquez, D., Wang, H. L., & Chan, H. L. (2021). Efficacy of microsurgery and comparison to macrosurgery for gingival recession treatment: a systematic review with meta-analysis. *Clinical oral investigations*, 25(7), 4269–4280. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-03954-0>

Dias, A. T., de Menezes, C. C., Kahn, S., Fischer, R. G., da Silva Figueredo, C. M., & Fernandes, G. V. de O. (2022). Gingival recession treatment with enamel matrix derivative associated with coronally advanced flap and subepithelial connective tissue graft: a split-mouth randomized controlled clinical trial with molecular evaluation. *Clinical Oral Investigations*, 26(2), 1453–1463. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04119-9>

Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871–874. [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(71\)90454-x](https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-x)

Esposito, M., Grusovin, M. G., Papanikolaou, N., Coulthard, P., & Worthington, H. V. (2009). Enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. A Cochrane systematic review. *European Journal of Oral Implantology*, 2(4), 247–266.

Gestrelus, S., Andersson, C., Lidström, D., Hammarström, L. and Somerman, M. (1997), In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 24: 685-692. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00250.x>

González-Febles, J., Romandini, M., Laciár-Oudshoorn, F., Noguerol, F., Marruganti, C., Bujaldón-Daza, A., Zabalegui, I., & Sanz, M. (2023). Tunnel vs. coronally advanced flap in combination with a connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recessions: a multi-center randomized clinical trial. *Clinical oral investigations*, 27(7), 3627–3638. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-04975-7>

Gupta, S., Chhina, S., & Arora, S. A. (2018). A systematic review of biomarkers of gingival crevicular fluid: Their predictive role in diagnosis of periodontal disease status. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(2), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2018.02.002>

Gustafsson, A. (1996), Methodological considerations in GCF sampling with paper strips: poor recovery of uncomplexed elastase. *Journal of Clinical Periodontology*, 23: 432-436. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1996.tb00570.x>

Hammarström, L. (1997). Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9 PART II), 669–677. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1997.tb00248.x>

Harris R. J. (1998). Root coverage with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft and an acellular dermal matrix graft: a clinical and histological evaluation of a case report. *Journal of periodontology*, 69(11), 1305–1311. <https://doi.org/10.1902/jop.1998.69.11.1305>

Henriques, P. S., Pelegri, A. A., Nogueira, A. A., & Borghi, M. M. (2010). Application of subepithelial connective tissue graft with or without enamel matrix derivative for root coverage: a split-mouth randomized study. *Journal of oral science*, 52(3), 463–471. <https://doi.org/10.2334/josnusd.52.463>

Imber, J. C., & Kasaj, A. (2021). Treatment of Gingival Recession: When and How? *International Dental Journal*, 71(3), 178–187. <https://doi.org/10.1111/idj.12617>

Jati, A. S., Furquim, L. Z., & Consolaro, A. (2016). Gingival recession: its causes and types, and the importance of orthodontic treatment. *Dental press journal of orthodontics*, 21(3), 18–29. <https://doi.org/10.1590/2177-6709.21.3.018-029.oin>

Jepsen, K., Stefanini, M., Sanz, M., Zucchelli, G., & Jepsen, S. (2017). Long-Term Stability of Root Coverage by Coronally Advanced Flap Procedures. *Journal of Periodontology*, 88(7), 626–633. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.160767>

Jepsen, S., Caton, J. G., Albandar, J. M., Bissada, N. F., Bouchard, P., Cortellini, P., Demirel, K., de Sanctis, M., Ercoli, C., Fan, J., Geurs, N. C., Hughes, F. J., Jin, L., Kantarci, A., Lalla, E., Madianos, P. N., Matthews, D., McGuire, M. K., Mills, M. P., ... Yamazaki, K. (2018). Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89(February), S237–S248. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0733>

Jin Jiang, Ashraf F. Fouad, Kamran E. Safavi, Larz S.W. Spångberg, Qiang Zhu, Effects of enamel matrix derivative on gene expression of primary osteoblasts, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, Volume 91, Issue 1, 2001, Pages 95-100, ISSN 1079-2104, <https://doi.org/10.1067/moe.2001.111304>.

Khuller N. (2009). Coverage of gingival recession using tunnel connective tissue graft technique. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 13(2), 101–105. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.55838>

Langer, B., & Langer, L. (1985). Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. *Journal of periodontology*, 56(12), 715–720. <https://doi.org/10.1902/jop.1985.56.12.715>

Lin A. V. (2015). Direct ELISA. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1318, 61–67. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2742-5_6

Lyngstadaas, S., Wohlfahrt, J., Brookes, S., Paine, M., Snead, M. and Reseland, J. (2009), Enamel matrix proteins; old molecules for new applications. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 12: 243-253. <https://doi.org/10.1111/j.1601-6343.2009.01459.x>

Maymon-Gil T., Weinberg E., Nemcovsky C., & Weinreb M. (2016). Enamel Matrix Derivative Aids Wound Healing in Rat Oral Mucosa. *J Periodontol*. 87(5): 601-9. [10.1902/jop.2016.150567](https://doi.org/10.1902/jop.2016.150567).

McCracken, G.I., Heasman, L., Stacey, F., Swan, M., Steen, N., De Jager, M. and Heasman, P.A. (2009), The impact of powered and manual toothbrushing on incipient gingival recession. *Journal of Clinical Periodontology*, 36: 950-957. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01472.x>

Miller PD Jr. A classification of marginal tissue recession. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1985;5:8-13.

McGuire, M.K. and Cochran, D.L. (2003), Evaluation of Human Recession Defects Treated with Coronally Advanced Flaps and Either Enamel Matrix Derivative or Connective Tissue. Part 2: Histological Evaluation. *Journal of Periodontology*, 74: 1126-1135. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.8.1126>

Miron, R. J., Dard, M., & Weinreb, M. (2015). Enamel matrix derivative, inflammation and soft tissue wound healing. *Journal of Periodontal Research*, 50(5), 555–569. <https://doi.org/10.1111/jre.12245>

Mostafa, D., & Mandil, O. A. (2021). Treatment of gingival recession defects using non-invasive pinhole technique with propolis application, a case report. *International journal of surgery case reports*, 83, 106042. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2021.106042>

Myhre, A.E., Lyngstadaas, S.P., Dahle, M.K., Stuestøl, J.F., Foster, S.J., Thiemermann, C., Lilleaasen, P., Wang, J.E. and Aasen, A.O. (2006), Anti-inflammatory properties of enamel matrix derivative in human blood. *Journal of Periodontal Research*, 41: 208-213. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00863.x>

Nart, J., & Valles, C. (2016). Subepithelial Connective Tissue Graft in Combination with a Tunnel Technique for the Treatment of Miller Class II and III Gingival Recessions in Mandibular Incisors: Clinical and Esthetic Results. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 36(4), 591–598. <https://doi.org/10.11607/prd.2748>

Olusile, A. O., Bamise, C. T., Oginni, A. O., & Dosumu, O. O. (2008). Short-term clinical evaluation of four desensitizing agents. *The journal of contemporary dental practice*, 9(1), 22–29.

Palioto, D. B., Coletta, R. D., Graner, E., Joly, J. C., & de Lima, A. F. (2004). The influence of enamel matrix derivative associated with insulin-like growth factor-I on periodontal ligament fibroblasts. *Journal of periodontology*, 75(4), 498–504. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.4.498>.

Patel, M., Nixon, P. J., & Chan, M. F. W. Y. (2011). Gingival recession: Part 1. Aetiology and non-surgical management. *British Dental Journal*, 211(6), 251–254. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2011.764>

Patur, B., & Glickman, I. (1958). Gingival Pedicle Flaps for Covering Root Surfaces Denuded by Chronic Destructive Periodontal Disease—A Clinical Experiment*. *Journal of Periodontology*, 29, 50-52.

Pini Prato, G. P., Magnani, C., & Chambrone, L. (2018). Long-term evaluation (20 years) of the outcomes of coronally advanced flap in the treatment of single recession-type defects. *Journal of periodontology*, 89(3), 265–274. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0379>

Raetzke P. B. (1985). Covering localized areas of root exposure employing the "envelope" technique. *Journal of periodontology*, 56(7), 397–402. <https://doi.org/10.1902/jop.1985.56.7.397>

Rasperini G., Rocuzzo M., Francetti L., Acunzo R., Consonni D., & Silvestri M. (2011). Subepithelial Connective Tissue Graft for Treatment of Gingival Recessions With and Without Enamel Matrix Derivative: A Multicenter, Randomized Controlled Clinical Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 31(2):133-9. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21491012/>.

Rasperini, G., Acunzo, R., Cannalire, P., & Farronato, G. (2017). Influence of Periodontal Biotype on Root Surface Exposure During Orthodontic Treatment: A Preliminary Study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 35(5), 655–675. <https://doi.org/10.11607/prd.2239>

Roman, A., Soancă, A., Kasaj, A., & Stratul, S. I. (2013). Subepithelial connective tissue graft with or without enamel matrix derivative for the treatment of Miller class I and II gingival recessions: a controlled randomized clinical trial. *Journal of periodontal research*, 48(5), 563–572. <https://doi.org/10.1111/jre.12039>

Rubio, María Fernanda, Baldeig, Loreta, Gómez, Andrés, & Torres, Oscar. (2019). Vestibular incision subperiosteal tunnel access (vista) con tejido conectivo versus mucograft® en el tratamiento de recesiones clase III. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 12(2), 96-99. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072019000200096>

Santamaria, M. P., Mathias-Santamaria, I. F., Ferraz, L. F. F., Casarin, R. C. V., Romito, G. A., Sallum, E. A., Pini-Prato, G. P., & Casati, M. Z. (2021). Rethinking the decision-making process to treat gingival recession associated with non-carious cervical lesions. *Brazilian oral research*, 35(Supp 2), e096. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0096>

Sanz, M., Lorenzo, R., Aranda, J., Martin, C. & Orsini, M. (2009) Clinical evaluation of a new collagen matrix (Mucograft prototype) to enhance the width of keratinized tissue in patients with fixed prosthetic restorations: a randomized prospective clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* 36, 868–876.

Sculean, A., Donos, N., Brex, M., Reich, E. and Karring, T. (2000), Treatment of intrabony defects with guided tissue regeneration and enamel-matrix-proteins. *Journal of Clinical Periodontology*, 27: 466-472. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2000.027007466.x>

Sculean, A., Donos, N., Windisch, P., Brex, M., Gera, I., Reich, E. and Karring, T. (1999), Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. *Journal of Periodontal Research*, 34: 310-322. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1999.tb02259.x>

Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T., Fabi, B., Lundgren, E., & Lyngstadaas, P. S. (2002). Presence of an enamel matrix protein derivative on human teeth following periodontal surgery. *Clinical oral investigations*, 6(3), 183–187. <https://doi.org/10.1007/s00784-002-0171-6>

Serino, G., Wennström, J.L., Lindhe, J. and Eneroth, L. (1994), The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with a high standard of oral hygiene. *Journal of Clinical Periodontology*, 21: 57-63. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1994.tb00278.x>

Stefanini, M., Marzadori, M., Aroca, S., Felice, P., Sangiorgi, M., & Zucchelli, G. (2018). Decision making in root-coverage procedures for the esthetic outcome. *Periodontology* 2000, 77(1), 54–64. <https://doi.org/10.1111/prd.12205>

Susin, C., Haas, A. N., Oppermann, R. V., Haugejorden, O., & Albandar, J. M. (2004). Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. *Journal of periodontology*, 75(10), 1377–1386. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.10.1377>

Sørdahl, A. J., & Verket, A. (2022). Patient and professional use of the root coverage esthetic score (RES) and how it relates to patient satisfaction following periodontal plastic surgery. *BMC oral health*, 22(1), 295. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02326-8>

Tavelli, L., Barootchi, S., Nguyen, T. V. N., Tattan, M., Ravidà, A., & Wang, H. L. (2018). Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: A systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology*, 89(9), 1075–1090. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0066>

Tavelli, L., Barootchi, S., Ravidà, A., Suárez-López Del Amo, F., Rasperini, G., & Wang, H. L. (2019). Influence of suturing technique on marginal flap stability following coronally advanced flap: a cadaver study. *Clinical oral investigations*, 23(4), 1641–1651. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2597-5>

Villa O, Wohlfahrt JC, Koldslund OC, Broonkes SJ, Lynngstadaas SP, Aass AM, Reseland JE (2016) EMD in periodontal regenerative surgery modulates cytokine profiles: a randomized controlled clinical trial. *Sci Rep* 15(6):23060. <https://doi.org/10.1038/srep23060>

Vitor, G. P. (2019). Recessão gengival: uma revisão narrativa. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, 22(2), 178–185. <https://doi.org/10.25061/2527-2675/rebram/2019.v22i2.600>

- Wassall, R. R., & Preshaw, P. M. (2016). Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology* 2000, 70(1), 65–79. <https://doi.org/10.1111/prd.12109>
- Wilson, T. G., Jr, McGuire, M. K., & Nunn, M. E. (2005). Evaluation of the safety and efficacy of periodontal applications of a living tissue-engineered human fibroblast-derived dermal substitute. II. Comparison to the subepithelial connective tissue graft: a randomized controlled feasibility study. *Journal of periodontology*, 76(6), 881–889. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.6.881>
- Yuan, K., Chen, C.-L. and Lin, M.T. (2003), Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model. *Journal of Clinical Periodontology*, 30: 732-738. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2003.00413.x>
- Zabalegui, I., Sicilia, A., Cambra, J., Gil, J., & Sanz, M. (1999). Treatment of multiple adjacent gingival recessions with the tunnel subepithelial connective tissue graft: a clinical report. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 19(2), 199–206. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10635186>.
- Yared, K. F. G., Zenobio, E. G., & Pacheco, W.. (2006). A etiologia multifatorial da recessão periodontal. *Revista Dental Press De Ortodontia E Ortopedia Facial*, 11(6), 45–51. <https://doi.org/10.1590/S1415-54192006000600007>
- Zadeh H. H. (2011). Minimally invasive treatment of maxillary anterior gingival recession defects by vestibular incision subperiosteal tunnel access and platelet-derived growth factor BB. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 31(6), 653–660.
- Zuhr, O., Rebele, S. F., Schneider, D., Jung, R. E., & Hürzeler, M. B. (2014). Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivative for root coverage: a RCT using 3D digital measuring methods. Part I. Clinical and patient-centred outcomes. *Journal of clinical periodontology*, 41(6), 582–592. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12178>.
- Årtun, J., & Krogstad, O. (1987). Periodontal status of mandibular incisors following excessive proclination A study in adults with surgically treated mandibular prognathism. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 91(3), 225-232. [https://doi.org/10.1016/0889-5406\(87\)90450-1](https://doi.org/10.1016/0889-5406(87)90450-1).