

Ana Betina Magalhães Alves de Sousa

**Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal**

Uma Revisão da Literatura e Caso clínico.

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2014

Ana Betina Magalhães Alves de Sousa

**Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal**

Uma Revisão da Literatura e Caso clínico.

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2014

Ana Betina Magalhães Alves de Sousa

**Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal**

Uma Revisão da Literatura e Caso clínico.

"Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos
requisitos para obtenção do grau
de mestre em Medicina Dentária"

Resumo

O presente estudo aborda as proteínas derivadas da matriz do esmalte como meio para atingir a regeneração periodontal. As proteínas derivadas da matriz do esmalte, presentes no mercado através da formulação comercial designada por Emdogain®, têm a capacidade de mimetizar as fases embrionárias da odontogênese. Como tal, foram introduzidas como um agente biológico capaz de regenerar o complexo de suporte do dente.

Foi realizada uma revisão da literatura e um caso clínico demonstrativo, sendo que a pesquisa foi realizada através do motor de busca Medline/PubMed utilizando como Mesh-terms: “Periodontal Disease”, “Periodontal Regeneration”, “Enamel Matrix Derivative”, e “Emdogain”. Do processo de seleção resultaram 38 artigos que constituem a amostra a integrar nesta revisão da literatura.

O propósito deste trabalho foi avaliar, com base na literatura, o papel das proteínas derivadas da matriz de esmalte no processo de regeneração dos tecidos periodontalmente perdidos/lesados. Os estudos clínicos e histológicos encontrados descrevem resultados satisfatórios, designadamente melhorias clínicas significativas e preenchimento ósseo, quando as proteínas derivadas da matriz do esmalte são associadas a cirurgias periodontais com o objectivo de promover regeneração periodontal.

Abstract

The present study focuses on proteins derived from the enamel matrix as a means to achieve periodontal regeneration. The enamel matrix protein derivative that are commercially available on the market by the name Emdogain ®, have the ability to mimic the early stages of odontogenesis, as such, were introduced as a biological agent capable of regenerating the tooth support complex.

A literature review and a demonstrative clinical case were performed, the choice of articles in the literature was performed via a search through the Medline / PubMed host search engine, using as Mesh-terms: "Periodontal Disease", "Periodontal Regeneration", "Enamel Matrix Derivative" and "Emdogain ". From the selection process, 38 articles resulted forming the sample to be included in this literature review.

The purpose of this study was to evaluate, based on the literature, the role of enamel matrix proteins derivative in the regeneration of tissues lost/damaged to periodontal disease. Clinical and histological studies describe good results as significant clinical improvements and bone fill, when enamel matrix proteins derivative are associated to periodontal regeneration procedures.

“Dúvido, portanto penso”.

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Quero deixar aqui o meu agradecimento a todas as pessoas que tornaram possível a realização deste trabalho, muito em particular:

À minha orientadora, Dr.^a Célia Coutinho Alves e ao meu co-orientador, o Dr. Pedro Pires, pela ajuda incondicional, sem a qual esta tese não seria possível.

Ao Dr. Frias Bulhosa pela sua disponibilidade e ajuda relativamente à conformidade e formalidade do presente trabalho (manual de estilo da Universidade Fernando Pessoa).

Aos meus colegas e amigos; nunca esquecerei, os momentos bons e menos bons que, de certa forma, deixaram um marco na minha vida.

À minha família, sempre muito unida, que permitiu que me tornasse na pessoa que sou hoje.

Índice

I.	Introdução.....	1
	1. Contextualização Histórica.....	3
	2. Quadro Concetual.....	6
II.	Metodologia.....	7
III.	Enquadramento teórico.....	9
	1. Periodonto Normal.....	9
	i. Fisiologia.....	9
	ii. Constituintes.....	10
	2. Doença Periodontal.....	12
IV.	Tratamento.....	15
	1. Fase inicial/ Tratamento não cirúrgico.....	16
	2. Tratamento cirúrgico.....	17
	i. Tratamento ressectivo.....	18
	ii. Tratamento regenerativo.....	19
V.	Regeneração Periodontal.....	20
	1. Aspectos históricos e biológicos.....	20
	2. Técnicas regenerativas.....	22
	3. Proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®).....	23
	i. Propriedades.....	26
	ii. Indicações de uso.....	28
	iii. Modo de aplicação.....	29
	iv. Mecanismo de acção.....	29
	v. Cuidados pós-operatórios.....	32
	4. Factores que influenciam o resultado clínico do EMD.....	32
VI.	Caso Clínico.....	34
	1. Descrição do caso e resultados.....	34
VII.	Discussão.....	40
VIII.	Conclusão.....	43
IX.	Referências bibliográficas.....	44

Índice de Figuras

Figura 1 - Anatomia do periodonto	10
Figura 2 (a) - Constituintes do Complexo de suporte do dente	11
Figura 2 (b) - Constituintes do Complexo de suporte do dente.....	12
Figura 3 (a-f) - Mecanismo de acção do Emdogain®	31
Figura 4 - Regeneração periodontal.....	34
Figura 4 (a e b) - Imagens pré-cirúrgicas	34
Figura 4 (c) - Periodontograma inicial do 1º e 2º Quadrantes	35
Figura 4 (d-h) - Imagens intra-operatórias	37
Figura 4 (i e j) - Raios-x iniciais do 1º e 2º Quadrantes	38
Figura 4 (k e l) - Raios-X pós-cirúrgicos do 1º e 2º Quadrantes	38
Figura 4 (m) - Periodontograma do 1º e 2º Quadrantes 6 meses após cirurgia	39
Figura 4 (n) - Raio-X periapical 6 meses após a cirurgia	39

Índice de abreviaturas

DP: Doença periodontal

LP: Ligamento periodontal

RTG: Regeneração tecidual guiada

BG: *bone grafting*

PDME: Proteínas derivadas da matriz do esmalte

RAR: raspagem e alisamento radicular

PB: Placa bacteriana

PS: Profundidade de sondagem

EMD: *Enamel matrix derivative*

NIC: Nível de inserção clínica

RG: Recessão gengival

EDTA: ácido etileno diaminotetra acético

mm: milímetros

min.: minutos

RCT: Ensaios controlados randomizados

OFD: *open flap debridement*

PGA: ester de alginato de propileno glicol

I-Introdução

A doença periodontal ou periodontite, é uma doença inflamatória/infecciosa crônica dos tecidos de suporte do dente, nomeadamente, o cemento radicular, o ligamento periodontal e o osso alveolar (Esposito *et al.*, 2009).

Esta condição induz a perda/destruição do complexo de suporte do dente e, como tal, pode levar à perda deste.

O tratamento ideal seria recuperar os tecidos periodontais perdidos/destruídos pela doença periodontal (DP).

O advento de novas modalidades terapêuticas tem permitido, em algumas situações específicas, a regeneração dos tecidos de suporte periodontal, previamente perdidos em decorrência da doença periodontal. Em função disto, têm-se procurado e desenvolvido tratamentos, com o objetivo de cessar a progressão desta doença e estabelecer a arquitetura tecidual original, isto é, regenerar, formar um novo ligamento periodontal (LP) com fibras inseridas em cemento e osso alveolar neoformados, após episódios de DP.

A regeneração das estruturas periodontais perdidas ainda é o maior desafio no tratamento periodontal.

Diversas técnicas cirúrgicas regenerativas têm sido desenvolvidas, tais como, regeneração tecidual guiada (RTG), enxertos ósseos (BG), fatores de crescimento e o uso de proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME) (Esposito *et al.*, 2009).

As PDME cuja comercialização é feita através de um produto designado por Emdogain®, são indicadas como um potencial agente promissor no processo de regeneração periodontal (Sculean *et al.*, 2002).

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal

O Emdogain® tem a particularidade de ter propriedades antimicrobianas, (não sendo assim necessária a toma de antibióticos pós-operatórios) e não necessita de uma segunda intervenção. Estes dois factores diminuem a probabilidade de ocorrência de uma inflamação/infecção, originando um bom pós-operatório e boa cicatrização.

O tema escolhido para este trabalho monográfico assenta na defesa da terapia regenerativa com recurso a proteínas derivadas da matriz do esmalte para a regeneração periodontal.

O objetivo deste trabalho de final de curso, foi avaliar com base na literatura, através de uma revisão bibliográfica e de uma demonstração de um caso clínico, o papel das proteínas derivadas da matriz de esmalte no processo regenerativo das estruturas dentárias afetadas pela doença periodontal.

Assim sendo, as questões de investigação que se impõe são as seguintes: Serão estas proteínas uma mais-valia para o médico dentista? E para o paciente? E para o avanço do tratamento regenerativo periodontal?

1. Contextualização Histórica

O termo doença periodontal é usado num sentido amplo para abranger todas as condições patológicas que acometem as estruturas do periodonto de sustentação. A etiologia e a patogênese das doenças periodontais têm sido objecto de muitos estudos nas últimas décadas. Assim, os conceitos têm vindo a sofrer grandes alterações devido aos novos conhecimentos e técnicas científicas.

Foram inicialmente utilizados os termos “reinserção” e “nova inserção” para descrever diferentes perspectivas. O termo reinserção dizia respeito à regeneração de uma inserção fibrosa a uma superfície radicular que tinha sido cirúrgica, mecânica, ou patologicamente desprovida do seu ligamento periodontal; enquanto o termo “nova inserção”, estava associado à regeneração de novos tecidos de inserção periodontal (Lindhe, 2003).

Nyman *et al.* e Isidor *et al.* (1982) demonstraram através de pesquisas que não havia diferenças em relação à nova formação de uma inserção de tecido conjuntivo, quer no caso de ter sido perdida devido à DP, ou ter sido mecanicamente removida. Portanto, foi sugerido que o termo “nova inserção” deveria ser utilizado para descrever a formação de um novo cemento com fibras colageneas inseridas numa superfície radicular desprovida dos seus tecidos do ligamento periodontal, quer isso tenha ou não ocorrido devido à DP ou a meios mecânicos, e que o termo “reinserção” deveria ser utilizado apenas para descrever a reunião de tecidos moles adjacentes a uma superfície radicular com tecido do ligamento periodontal preservado (Lindhe, 2003).

Segundo o Glossário de Termos Periodontais (1992), o termo regeneração é definido como uma “reprodução ou reconstituição de uma parte afetada, de tal forma que a arquitectura e a função dos tecidos dessas áreas sejam completamente recuperadas”.

Um dos primeiros métodos utilizados na tentativa de se obter uma nova inserção foi o de raspagem e alisamento radicular (RAR), combinado com curetagem dos tecidos moles, removendo deste modo a porção do cemento e epitélio da bolsa afetados pela DP. (Lindhe, 2003).

Estudos em animais, realizados por Beube (1947), Ramfjord (1951), Kon e colaboradores (1969), e em seres humanos, realizados por Younger (1899), McCall (1926), Orban (1948), Beube (1952), Waerhaug (1952), Schaffer e Zander (1953), Carranza (1954), demonstraram que este tipo de tratamento periodontal resultou não apenas no estabelecimento da saúde gengival, mas também numa redução da profundidade da bolsa periodontal. Considerou-se que esta diminuição da profundidade da bolsa foi em parte o resultado da retracção da gengiva que estava inicialmente inflamada (Lindhe, 2003).

O conceito “nova inserção” tornou-se amplamente aceite com o trabalho de Prichard (1957), no qual a formação de nova inserção em lesões periodontais infra-ósseas foi relatada como um resultado previsível do tratamento. No entanto, estes resultados foram somente obtidos em lesões infra-ósseas de 3 paredes e sugeriram que a morfologia do defeito ósseo periodontal era essencial para o estabelecimento de um prognóstico previsível (Lindhe, 2003).

Por outro lado, os resultados de vários estudos histológicos em animais e humanos (Listgarten e Rosenberg, 1979, Caton e Nyman, 1980, Caton e colaboradores, 1980, Steiner e colaboradores, 1981, Stahl e colaboradores, 1983, Bowers e colaboradores, 1989) indicam que a formação de nova inserção periodontal não é previsível após curetagem subgengival ou cirurgia de retalho (Lindhe, 2003).

Wilson (1999) definiu regeneração como a “reprodução ou reconstituição de uma parte perdida ou lesada, como por exemplo a formação de um novo cimento, ligamento periodontal e osso alveolar, perdidos devido a uma doença periodontal”.

O termo regeneração é definido como uma reprodução ou reconstituição de uma parte perdida ou afetada, de tal forma que a arquitetura e a função dos tecidos dessas áreas sejam completamente curados. Portanto, a regeneração do complexo de suporte periodontal (periodonto) inclui a reconstituição do cimento, do ligamento periodontal e osso alveolar. (Lindhe, 1999).

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal

Os primeiros estudos sobre o papel das proteínas derivadas da matriz de esmalte na regeneração periodontal foram publicados por Heijl *et al.* (1997), demonstrando potencial para mediar a regeneração periodontal em humanos. Estas proteínas têm demonstrado ser uma opção no tratamento de defeitos ósseos e como coadjuvante para técnicas que visam o recobrimento radicular (em caso de recessão gengival).

As proteínas derivadas da matriz de esmalte têm sido empregues na tentativa de regenerar as estruturas periodontais destruídas, tendo como base a sua participação no processo de desenvolvimento do dente e das suas estruturas de suporte.

2. Quadro Concetual

A Periodontologia é a ciência que diagnostica, previne e trata as doenças relativas ao sistema de suporte dentário.

O periodonto é um aparelho complexo de suporte dentário, que envolve a gengiva, o cimento radicular, o ligamento periodontal e o osso alveolar.

A doença periodontal é o resultado de um processo interactivo entre o biofilme dentário e os tecidos periodontais através de respostas celulares e vasculares. A instalação e a progressão da DP envolve um conjunto de eventos imunopatológicos, com a participação dos factores modificadores locais, sistémicos, ambientais e genéticos (Sallum, 2003).

O tratamento periodontal tem como objectivo primário o controlo da doença de forma a prevenir a sua recidiva, impedindo assim a perda de inserção adicional, mas também a recuperação das estruturas periodontais parcialmente destruídas pela doença (Gestrelius *et al.*, 1997).

A terapia regenerativa visa reproduzir e reconstituir uma zona anatómica perdida ou danificada, para que a arquitetura e funcionalidade dos tecidos sejam restauradas (Ohana *et al.*, 2010).

O Emdogain® é um produto biológico que, por meio natural, regenera o tecido do periodonto (cimento, ligamento e osso alveolar) do dente, acometido por doença periodontal. Não é um enxerto. É o único produto que utiliza uma proteína, a amelogenina, que mimetiza a embriogénese dentária e induz a formação das estruturas de suporte do dente.

II-Metodologia

Foi realizada em de Janeiro de 2014 uma revisão da literatura, para o enquadramento teórico deste trabalho, sendo que para o levantamento dos artigos na literatura foi realizada uma pesquisa através do motor de busca Medline/PubMed.

Este trabalho também contém a apresentação de um caso clínico, realizado na clinica do Dr.º Manuel Neves, pela Dr.ª Célia Coutinho Alves, entre os meses de Outubro de 2013 e Junho de 2014. Tive o privilégio de observar o caso do início ao fim, que me deu a conhecer outra face da Medicina Dentária. Quem sabe se não será o meu futuro caminho, visto que possuo um interesse pessoal pela área.

Foram utilizados, para busca dos artigos, os seguintes descritores (Mesh terms) na língua Inglesa: “Periodontal Disease”, “Periodontal Regeneration”, “Enamel Matrix Derivative”, e “Emdogain”.

Os critérios de inclusão definidos para a selecção dos artigos foram: artigos revistos por peritos (analisado por especialistas); artigos acessíveis na íntegra (texto completo) que retratassem a temática referente à revisão integrativa, nas línguas de Inglês ou Espanhol.

Por sua vez, os critérios de exclusão foram definidos como: artigos duplicados, artigos que não possuam resumo disponível “on-line” e artigos que se reportem a opiniões de pessoas individuais ou colectivas, não podendo ser considerada a sua aplicação científica.

A pesquisa “on-line” inicial acima descrita resultou em 498 referências bibliográficas.

Os critérios de inclusão/exclusão foram aplicados em três níveis distintos: título, resumo e texto integral. A leitura dos títulos permitiu a selecção de 85 artigos. Após uma análise meticulosa dos resumos, só 55 foram seleccionados. A leitura integral destes 55 artigos

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal

permitiu a selecção de 38 artigos que constituem a selecção a integrar nesta revisão da literatura.

III- Enquadramento teórico

1. Periodonto Normal

i. Fisiologia

O periodonto forma uma unidade de desenvolvimento, biológica e funcional, que tem como principal função a inserção do dente no tecido ósseo dos maxilares (Lindhe *et al.*, 2008).

Trata-se de um organismo complexo, que serve como aparelho de suporte dos dentes em função e em relação oclusal (Ivanovski, 2009).

O periodonto é classificado como periodonto de protecção (gengiva) e periodonto de sustentação (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar).

O ligamento periodontal é o tecido conjuntivo que serve de união entre o dente e o osso alveolar e permite que as forças sejam distribuídas ao osso alveolar durante a mastigação e função oclusal. A maioria do volume do ligamento é ocupada por tecido conjuntivo denso e a minoria por tecido conjuntivo laxo com estruturas neurovasculares. As células presentes neste tecido incluem osteoblastos, cementoblastos, osteoclastos, as células mesenquimatosas multipotenciais, restos epiteliais e fibroblastos, sendo estas últimas as mais abundantes (Carranza, 2003).

Uma vez que o ligamento periodontal contém uma variedade de células, desempenha um papel importante na cicatrização e reparação. Este potencial é foco dos procedimentos periodontais regenerativos (Melcher, 1976).

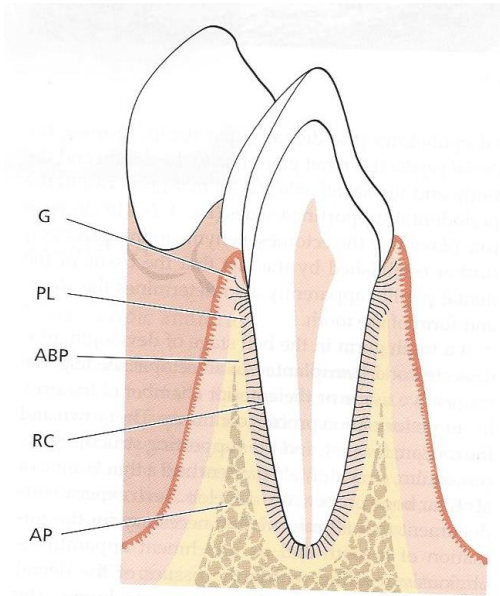


Figura 1 – Anatomia do periodonto; G- gengiva, PL- ligamento periodontal, RC – cemento radicular, AP- osso alveolar; ABP – osso alveolar propriamente dito (Lindhe, 2003).

ii. Constituintes

O periodonto é composto pela gengiva, pelo ligamento periodontal, pelo cemento radicular e pelo osso alveolar (Lindhe *et al.*, 1997).

A gengiva é a parte da mucosa mastigatória que recobre o processo alveolar e circunda a porção cervical dos dentes. É composta por uma fina camada exterior de epitélio e um núcleo interior de tecido conjuntivo e possui duas partes que podem ser diferenciadas: a gengiva livre que tem cor rosácea e compreende o tecido gengival das partes vestibular e lingual/palatina dos dentes e das papilas interdentárias, e a gengiva aderida, demarcada pela junção/ linha mucogengival (Lindhe *et al.*, 1997). Ver figura 2a.

O ligamento periodontal é uma camada de tecido conjuntivo mole, ricamente vascularizado, que circunda as raízes dentárias, existente no espaço entre o osso alveolar e a peça dentária. É responsável pela união entre o cemento radicular e o osso alveolar através fibras inseridas em ambos, denominadas fibras de Sharpey. É responsável por manter o dente no seu alvéolo, proporcionar capacidade sensorial ao dente como pressão e dor, nutrir o cemento e osso alveolar, formar e manter cemento e osso alveolar no seu alvéolo e tem a

capacidade de remodelar o osso alveolar em resposta à pressão exercida ao dente (Lindhe, 2003). Ver Figura 2b.

O cemento radicular é um tecido calcificado especializado caracterizando-se por ser uma fina camada de tecido conjuntivo duro, que recobre as superfícies radiculares dos dentes e, ocasionalmente, pequenas porções das coroas destes (Lindhe *et al.*, 1997).

O osso ou processo alveolar é definido como a porção da maxila e mandíbula que se forma e dá suporte aos alvéolos dentários. Desenvolve-se conjuntamente com a erupção dos dentes, sendo gradualmente reabsorvido quando estes são perdidos. Tem como função formar os alvéolos dentários que permitem o suporte e protecção das peças dentárias e pode ser dividido em três áreas anatómicas: crista alveolar, osso interproximal e osso inter-radicular (Lindhe *et al.*, 1997).

Figura 2 – Constituintes do periodonto

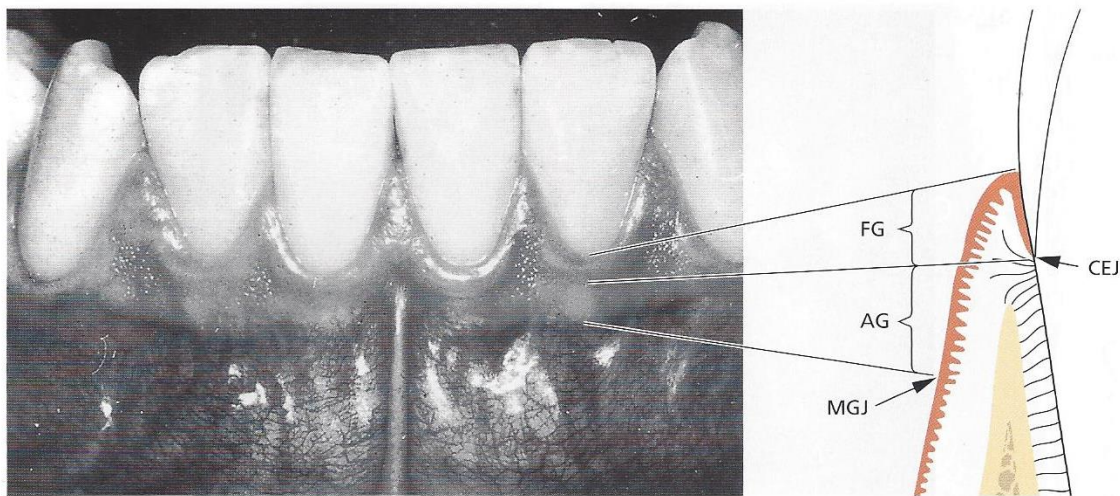


Figura 2a; FG – gengiva livre, AG – gengiva aderida, CEJ – junção amelocementária, MGJ – junção mucogengival (Lindhe, 2003).

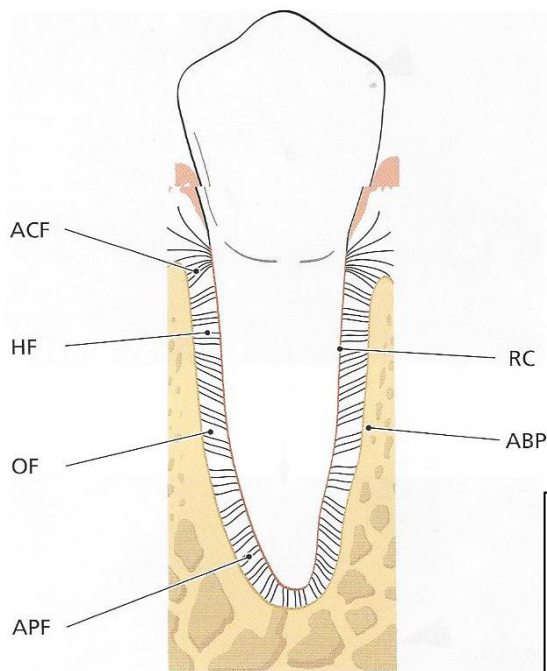


Figura 2b; O ligamento periodontal possui fibras com diferentes orientações: fibras horizontais (HF), fibras oblíquas (OF) e fibras apicais (APF). RC-cemento radicular, ABP- osso alveolar propriamente dito; ACF – fibras da crista alveolar (Lindhe, 2003).

2. Doença Periodontal

A doença periodontal é uma doença inflamatória/infecciosa crônica dos tecidos de suporte do dente, potenciada por bactérias que afectam supra e infra-gengivalmente os tecidos de suporte do dente (Lancet, 2005).

A síndrome periodontal é definida por meio de sinais e sintomas clínicos, e possui uma variedade de fenótipos, sendo o mais frequentemente observado a gengivite. Esta caracteriza-se por uma inflamação gengival induzida pela acumulação de placa bacteriana (PB) e inclui alterações na cor do tecido, volume, temperatura, exsudado crevicular e sangramento gengival (Mariotti, 2003). É uma condição reversível caso haja a remoção da PB e sejam instituídas medidas de controlo desta (Loe *et al.*, 1965; Lindhe e Rylander, 1975).

Em indivíduos susceptíveis, esta inflamação gengival crónica vai levar ao colapso do ligamento periodontal e do osso alveolar circundante, resultando na criação de bolsas periodontais em redor das raízes dentárias. Estas bolsas são o ambiente ideal para os microorganismos bacterianos e para a proliferação de espécies ainda mais agressivas para o periodonto (Esposito *et al.*, 2009).

A doença periodontal é uma condição muito prevalente. Lancet (2005) e Abandar (1999) demonstraram, a partir de estudos epidemiológicos, a existência de formas severas desta patologia em 10% a 30% da população adulta (Koop, 2012; Esposito *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos da América, foi realizada uma pesquisa nacional em 2009 e 2010, onde foi relatada a presença de DP em mais de 47% da população adulta com ≥ 30 anos. Formas ligeiras estavam presentes em 8.7% dos casos, formas moderadas 30% moderada, e severas em 8.5% (Eke *et al.*, 2012). A doença periodontal raramente afecta crianças ou adultos jovens. (Esposito *et al.*, 2009).

Os sintomas desta enfermidade, infelizmente, são muitas vezes menosprezados, apresentando hemorragia e recessão gengival. Em formas mais graves pode manifestar-se por abscessos periodontais dolorosos e em estágios mais avançados, mobilidade e perda dentária (Lindhe, 2003).

Clinicamente, a perda do complexo de união resulta no aparecimento de uma bolsa periodontal, na diminuição de inserção, recessão gengival e, radiologicamente, na perda de osso alveolar (Bouyer, 2007).

A doença periodontal é uma patologia multifactorial, tendo como o biofilme bacteriano o factor etiológico primário. No entanto, a manifestação e a progressão da periodontite são influenciadas por diversas condições, incluindo características do indivíduo, fatores sociais e comportamentais, fatores sistémicos, influência genética, anatomia dentária, composição microbiológica do biofilme dentário e outros possíveis fatores de risco.

O consumo de tabaco é reconhecido como o mais importante factor de risco ambiental da doença periodontal. A sua exposição crónica e prolongada associada à composição de mais de 4000 toxinas resultam num conjunto de efeitos adversos no periodonto. Segundo Heasman, L *et al.* (2006) o fumo do tabaco pode exercer efeitos sobre a microbiologia periodontal, o fluxo sanguíneo gengival, a fagocitose de polimorfonucleares, a produção de citocinas e de células TCD3, CD4 e CD8+ e sobre a cicatrização periodontal, que subsequentemente, irá levar a alterações do periodonto. Existe ainda uma relação clara entre o consumo do tabaco e a prevalência e gravidade das doenças periodontais, nomeadamente a perda de osso alveolar, a perda de inserção periodontal e a formação de bolsas periodontais. Numerosos estudos apontam o tabaco também como um fator de insucesso para a terapia periodontal. Foram verificadas melhores taxas de sucesso no tratamento periodontal em indivíduos não-fumadores do que em fumadores (FDI/WHO, 2005).

A literatura actual indica que a DP está ainda associada a um maior risco/predisposição para determinadas doenças sistémicas, das quais se destacam a Diabetes Mellitus, (sendo que a diabetes descompensada também traz maior risco de severidade da doença periodontal), a aterosclerose, as doenças cardio e cerebrovasculares e o parto pré-termo (Dentino, 2013).

IV-Tratamento Periodontal

O tratamento periodontal assenta essencialmente em dois pilares: a cessação da progressão da perda de inserção, causada pela doença periodontal, e a regeneração/reconstrução dos tecidos periodontais perdidos.

O tratamento da DP também é direccionado à causa. As bolsas periodontais e as superfícies radiculares têm de ser limpas de maneira a diminuir a quantidade de biofilmes bacterianos e cálculo infragengival, que em conjunto com as práticas de higiene oral do paciente, irão impedir a recolonização bacteriana. O controlo da placa bacteriana pelo paciente torna-se assim um aspeto essencial para o sucesso do tratamento. (Esposito *et al.*, 2009).

Na presença de bolsas profundas, a cirurgia poderá ter indicação para obter um acesso total à zona mais apical de forma a conseguir uma limpeza mais eficaz e uma diminuição da profundidade de sondagem (PS) (Esposito *et al.*, 2009).

A finalidade desta terapia periodontal convencional é travar a progressão da doença periodontal. No entanto, segundo Caton, J (1989), esta abordagem terapêutica normalmente resulta na reparação por formação de tecido fibroso cicatricial, acompanhada pela migração apical do epitélio gengival. (Ivanovski, 2009).

Este processo de cicatrização não restitui totalmente a forma ou função dos tecidos perdidos e, por isso, não é considerado regeneração, mas sim reparação.

Uma das principais preocupações para muitos pacientes é o problema estético como resultado da evolução da doença e como sequela do tratamento periodontal devido à recessão gengival.

O tratamento ideal é recuperar (i.e., regenerar) os tecidos periodontais que foram danificados pela doença (Esposito *et al.*, 2009).

Clinicamente, o tratamento periodontal pode ser dividido em quatro fases sequenciais: sistêmica, inicial/não cirúrgica, correctiva/cirúrgica e de tratamento de suporte.

A fase sistêmica pretende eliminar ou diminuir a influência de determinadas condições sistêmicas sobre os resultados da terapia, dos quais se destacam a Diabetes Mellitus e o tabaco (Lang e Baur, 2008).

A fase de tratamento de suporte ou de manutenção é a última fase do planeamento periodontal, e surge após a fase activa do tratamento. Esta visa a prevenção secundária da doença periodontal (*American Academy of Periodontology*, 1998). Idealmente, esta fase é introduzida somente depois de todos os sinais de doença terem sido eliminados ou substancialmente reduzidos, e quando a estabilidade periodontal é altamente provável. Uma abordagem multifacetada para a reavaliação regular da saúde periodontal durante esta fase é fundamental para o sucesso do tratamento a longo prazo (Dentino, 2005).

1. Fase inicial / tratamento não cirúrgico

A fase inicial também designada de não cirúrgica ou direccionada à causa, consiste, em primeiro lugar, na motivação e instrução do paciente para um bom controlo da placa bacteriana, seguida da remoção de fatores de retenção desta e na realização de raspagem e alisamento radicular. Esta fase tem como objectivo eliminar ou controlar a inflamação gengival.

O desbridamento mecânico da raiz é defendido por muitos como o tratamento padrão da periodontite. Este visa a remoção do biofilme bacteriano, toxinas e cálculo gengival, e a recriação de uma superfície radicular biologicamente aceitável.

Evidências de melhora clínica incluem: mudança na cor, contorno e textura do tecido, diminuição do sangramento gengival e das profundidades das bolsas periodontais, bem como no ganho de inserção (Dentino, 2013).

A raspagem e alisamento radicular, tem oferecido resultados previsíveis, originando uma reorganização dos tecidos periodontais. Porém, esta abordagem convencional está normalmente associada à cicatrização por reparação e não por regeneração, dando origem a um epitélio longo de união.

São considerados resultados atingíveis desta fase, a resolução da inflamação, a formação de uma inserção através de um epitélio longo de união, a recessão gengival e a recolonização de sulcos/bolsas periodontais por bactérias com menor potencial patogénico.

A fase inicial tem como vantagens o facto de ser um tratamento repetível, pouco agressivo e com bom pós-operatório, no entanto é tecnicamente difícil, depende da resposta do paciente e produz uma resposta lenta.

O uso de antimicrobianos de ação sistémica e local (*American Academy of Periodontology*, 2004), a modulação da resposta do indivíduo (Golub, 1983), e a utilização do laser (Ambrosi, 2005; Crespi, 2007; Tomasi, 2006) podem ser considerados como adjuvantes desta fase.

Bowers, GM et al. (1989) constataram que, após o tratamento inicial, ocorria cicatrização por meio de reparação sem a formação de nova inserção periodontal (Esposito *et al.*, 2009).

2. Tratamento cirúrgico

A fase cirúrgica do tratamento periodontal é realizada somente após a reavaliação da terapia inicial, na presença de infecção residual/ inflamação e se verifica a possibilidade de progressão da doença periodontal. Clinicamente, avançamos para uma abordagem cirúrgica quando após 3 meses da última sessão de RAR se verificam profundidades de sondagem superiores a 5mm, com hemorragia gengival à sondagem que refletem defeitos ósseos compatíveis com abordagem cirúrgica.

O tratamento cirúrgico é indicado para pacientes cooperantes e deve ser evitado em pacientes em que se verifica um inadequado controlo da placa bacteriana, e em fumadores severos (Preber e Bergstrom, 1990).

São objetivos gerais da cirurgia periodontal: eliminação de fatores locais, eliminação ou redução de bolsas periodontais, restauração do osso alveolar e regeneração de uma inserção funcional.

Existe uma boa documentação acerca de diversos procedimentos cirúrgicos que visam facilitar a instrumentação das superfícies radiculares, diminuir as profundidades das bolsas, com a finalidade de restaurar a inserção clínica. Estas abordagens cirúrgicas têm sido utilizadas no tratamento da doença periodontal, e são geralmente classificadas como de acesso, ressetivas, ou de regeneração. A profundidade de bolsa e a arquitetura do tecido ósseo ditam qual o procedimento cirúrgico mais indicado.

A cirurgia de acesso geralmente utilizada é a de Widman modificado.

i. Tratamento cirúrgico ressetivo

Os procedimentos ressetivos têm como finalidade a diminuição ou eliminação das bolsas periodontais e o estabelecimento dos contornos gengival e ósseo favoráveis, que irão permitir uma higiene oral mais eficaz e uma boa manutenção periodontal.

Clinicamente, o objetivo será a união do epitélio de inserção à porção mais apical da raiz, através da remoção da anatomia negativa (remoção de picos ósseos).

O tratamento cirúrgico ressetivo tem como indicações: a presença de bolsas periodontais de profundidades superiores a 6mm, defeitos ósseos horizontais ou crateras pouco profundas (defeitos de duas paredes), defeitos ósseos em zonas posteriores (não estéticas).

ii. Tratamento regenerativo

A terapia regenerativa visa reproduzir e reconstituir uma zona anatômica perdida ou danificada, para que a arquitetura e funcionalidade dos tecidos sejam restauradas (Ohana *et al.*, 2010).

O objetivo do tratamento periodontal regenerativo é a reconstrução/regeneração completa do complexo de suporte do dente, que foi perdido devido a doença periodontal inflamatória ou lesão periodontal traumática (Hogi *et al.*, 2014).

É caracterizado pela formação de um novo cimento com fibras de colagénio inseridas, ligamento periodontal e osso alveolar recém-formados.

É verdade que o tratamento periodontal convencional, não cirúrgico e cirúrgico, geralmente leva a melhorias clínicas significativas tais como: a diminuição da profundidade de sondagem das bolsas periodontais e ganho de inserção clínica. No entanto resulta, ou na formação de um longo epitélio de união ou em nenhuma ou pequena regeneração periodontal (Hogi *et al.*, 2014).

Visto isto, inúmeros materiais e técnicas cirúrgicas têm sido amplamente estudadas com o fim de obter uma regeneração/restauração dos tecidos, fiel e previsível.

O tratamento periodontal regenerativo constitui o tratamento ideal em caso de quantidade de osso significativo mas com perda significativa de inserção clínica (lesão de furca de grau II e defeitos infra-ósseos angulares).

V-Regeneração Periodontal

1. Aspectos históricos e biológicos

Nos últimos 25 anos, a regeneração do complexo periodontal tem sido foco de investigação clínica e laboratorial. Até à data foram realizados numerosos ensaios clínicos controlados e randomizados para o estudo da eficácia de novas técnicas cirúrgicas regenerativas (Ivanovski, 2009).

A regeneração do periodonto é um processo fisiológico contínuo. Sob condições normais, há formação de novas células e tecidos para substituir aqueles que maturaram e morreram, denominado “turn-over”. Este processo manifesta-se pela atividade mitótica do epitélio gengival e do tecido conjuntivo do ligamento periodontal, pela formação de novo osso e pela deposição contínua de cemento (Carranza e Newman, 1997).

O termo “regeneração” é definido como uma reprodução ou reconstituição de uma parte perdida ou afetada, de tal forma que a arquitetura e função dos tecidos dessas áreas sejam completamente restauradas (Lindhe, 1999).

A regeneração periodontal tem de incluir a regeneração do cemento, em função com o ligamento periodontal, osso alveolar e gengiva (American Academy of Periodontology, 2001).

Segundo Karring, T (1980) e Nyman, S (1980) a regeneração periodontal requer uma nova inserção à superfície da raiz, um processo que envolve a regeneração das fibras do ligamento periodontal e a inserção destas no cemento recém-formado (Ivanovski, 2009).

O conceito de “nova inserção” como uma técnica viável foi estabelecido pelo trabalho de Pritchard, J (1957), que demonstrou que os defeitos intra-ósseos de três paredes poderiam

ser preenchidos novamente de osso posteriormente à realização de uma cirurgia de desbridamento infragengival de rotina da raiz (Ivanovski, 2009).

Vários estudos histológicos subsequentes vieram demonstrar que uma nova inserção não é alcançável rotineiramente após a raspagem e alisamento radicular infragengival. No entanto o trabalho de Pritchard serviu como prova de evidência de que a regeneração periodontal é alcançável em condições “cl clinicamente ideais” (Ivanovski, 2009).

A cicatrização dos defeitos periodontais é determinada pelo tipo de células que primeiramente colonizam a superfície radicular exposta. Esta pode ser invadida por quatro grupos de células: epiteliais, ósseas, do tecido conjuntivo e do ligamento periodontal. No caso de serem as células epiteliais a proliferar ao longo da superfície radicular, a cicatrização resultará na formação de um longo epitélio de união. Se por outro lado forem as células do tecido conjuntivo as primeiras a colonizar, poderá ocorrer reabsorção radicular. Se forem as células ósseas as primeiras a entrar em contacto com a superfície radicular pode resultar em reabsorção óssea ou anquilose (Melcher, 1976).

Foi demonstrado por Karring, T (1980) e Nyman, S, (1980) que tanto as células provenientes de tecidos gengivais como as provenientes do osso alveolar falham na criação de uma nova inserção à raiz do dente (Ivanovski, 2009).

As únicas células que demonstraram ter capacidade para formar uma nova inserção são as células provenientes do ligamento periodontal (Melcher, 1976).

Para que a regeneração periodontal ocorra é necessária a migração e fixação de células progenitoras do ligamento periodontal na superfície radicular, previamente tratada, e a proliferação e maturação destas numa inserção fibrosa, organizada e funcional inserida no cimento recém-formado. Paralelamente, é necessário que as células progenitoras do tecido ósseo migrem, proliferem e madurem em conjunto com o ligamento periodontal em regeneração (Ivanovski, 2009).

Além da origem das células responsáveis pela regeneração, é igualmente importante a prestação de espaço suficiente para o potencial regenerativo de um defeito. Conseqüentemente, a estabilidade do coágulo sanguíneo e do retalho mucoperióstico em conjunto com a provisão de espaço são fatores críticos, que influenciam significativamente o resultado da cirurgia regenerativa (Tonetti, 1996).

A anatomia e composição do periodonto fazem com que a cicatrização periodontal seja um processo mais difícil e complexo em comparação com os tecidos moles em geral, dado que, é necessária uma interação entre dois tecidos duros (osso alveolar e cimento radicular) e um tecido mole (ligamento periodontal), e entre o epitélio (Melcher, 1976).

Os procedimentos periodontais regenerativos são empregues nos casos em que se espera que o resultado do tratamento melhore a arquitetura gengival local, a função e o prognóstico dos dentes envolvidos pela DP (Lindhe, 2003).

É importante salientar que a regeneração periodontal apenas pode ser demonstrada por meios histológicos (Hogi *et al.*, 2014).

2. Técnicas regenerativas

Diversas técnicas cirúrgicas têm sido desenvolvidas na tentativa de regenerar os tecidos periodontais, perdidos por doença periodontal, incluindo a regeneração tecidual guiada (RTG), os enxertos ósseos (EO), e proteínas derivadas da matriz do esmalte (EMD) (Esposito *et al.*, 2009). Segundo Bosshardt, DD (2005), Bowers, GM (1989) e Sculean, A (1999), todos estes procedimentos mostraram potencial de regeneração em humanos.

A RTG é uma técnica regenerativa que utiliza uma membrana biocompatível, reabsorvível ou não-reabsorvível, que é cirurgicamente posicionada à volta do dente para cobrir o defeito ósseo, permitindo a recolonização de células, a partir do ligamento periodontal, do cimento e do osso alveolar, e proteger o coágulo sanguíneo (Esposito *et al.*, 2009).

Os EO incluem a utilização de enxertos de osso autógeno (auto-enxertos), aloenxertos de osso desmineralizado por técnica de congelamento seco (DFDBA), materiais de enxerto provenientes de animais (xenoenxertos) e enxertos de osso sintético (aloplásticos como a hidroxiapatite) (Esposito *et al.*, 2009).

Em ambos, RTG e os EO, a regeneração periodontal é baseada no conceito de exclusão seletiva de células epiteliais na colonização da ferida e na manutenção de espaço para o coágulo sanguíneo (Esposito *et al.*, 2009).

A regeneração periodontal mediada por EMD é baseada num conceito diferente.

No âmbito desta Tese de Mestrado Integrado só será discutida pormenorizadamente a regeneração periodontal através de proteínas derivadas da matriz de esmalte.

3. Proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®)

As proteínas derivadas da matriz do esmalte foram introduzidas pela primeira vez na cirurgia periodontal há mais de 15 anos atrás. O Emdogain® foi originalmente desenvolvido pela BIORA, em Malmö, Suécia, mas atualmente é comercializado pela Straumann, Suíça.

O gel de proteínas derivadas da matriz do esmalte é composto por um conjunto de proteínas: amelogenina, amelina, a enamulina, uma proteína sulfatada e a tuflelina (Hammarstrom, 1997).

As amelogeninas são uma família de proteínas hidrofóbicas que constituem cerca de 90% de toda a matéria orgânica da matriz do esmalte. Estas organizam-se em agregados macromoleculares e formam uma matriz extracelular insolúvel que funciona como o controlo da organização estrutural dos cristais de hidroxiapatite em desenvolvimento (Lyngstadaas, 2009).

Através da análise histológica foi possível observar que a amelogenina, até então considerada como uma proteína específica do esmalte, era depositada sobre a superfície radicular antes da formação do cemento, e que poderia ser a responsável pela diferenciação dos tecidos periodontais. Baseado nestas observações foi criado o Emdogain® (EMD), uma fração purificada das amelogeninas.

A matriz de esmalte, de origem porcina, é extraída a partir de gérmenes dentários durante a odontogénese, em porcos de 6 meses de idade.

O derivado das proteínas da matriz do esmalte (EMD – *enamel matrix derivative*) é constituído pelo extracto ácido que contém um conjunto de amelogeninas hidrófobas, obtido após uma fase de purificação da matriz de esmalte porcino.

O Emdogain® é um material implantável e reabsorvível que promove a regeneração periodontal, a qual decorre ao longo de mais de um ano. Consiste em matriz derivada do esmalte envolvido numa base de alginato de propilenoglicol. O gel apresenta uma viscosidade adequada para facilitar a aplicação direta na superfície exposta da raiz, durante a cirurgia periodontal.

Uma vez aplicadas sobre a superfície de uma raiz exposta, as proteínas derivadas da matriz de esmalte agrupam-se numa matriz tridimensional e criam o ambiente adequado para a migração e fixação selectiva de células periodontais, reestabelecendo os tecidos de suporte dentário perdidos. Na sequência da formação de uma nova ligação, o osso alveolar também pode ser regenerado graças a capacidade osteogénica do ligamento periodontal. O Emdogain® é decomposto através de processos enzimáticos normais de cicatrização da ferida. (*Institut Straumann AG, Waldenberg, Switzerland*).

Desde a sua introdução em 1997, as proteínas derivadas da matriz de esmalte têm sido amplamente utilizadas no tratamento periodontal regenerativo. A sua capacidade

regenerativa foi demonstrada em diversos estudos clínicos controlados e histológicos que evidenciaram melhorias clínicas significativas após a sua utilização.

Um dos primeiros estudos em humanos foi um estudo multicêntrico e randomizado realizado para comparar o efeito a longo prazo do tratamento com EMD como adjuvante na cirurgia com técnica de Widman modificada e a utilização de placebo e técnica de Widman modificada (Heijl *et al.*, 1997). 33 pacientes com 34 sítios pares de teste e de controle: defeitos ósseos de uma ou duas paredes com profundidades de sondagem superiores a 4 mm foram incluídos no estudo e monitorados durante 36 meses. Os resultados do grupo EMD foram superiores, demonstrando ganho de inserção clínico, redução de profundidades de sondagem e ganho ósseo, visualizado através de análise radiográfica (Venezia *et al.*, 2004).

Para além disso, diversos estudos (Mellonig, 1999; Sculean *et al.*, 1999; Sculean *et al.*, 2000; Rasperini *et al.*, 2000; Yukna e Mellonig, 2000; Bosshardt *et al.*, 2005), revelaram que o uso do Emdogain® (EMD) na cirurgia periodontal regenerativa favorece a formação de uma nova inserção, caracterizada pela presença de cemento acelular e/ou celular com fibras de colagénio inseridas, e osso alveolar recém-formados (Rathe *et al.*, 2009).

O processo de regeneração do EMD inicia-se quando este é reabsorvido durante o processo de cicatrização deixando apenas uma camada natural e insolúvel na superfície da raiz, que estimula as células formadoras de cimento a funcionar como uma interface entre o dente e os tecidos adjacentes, prevenindo o crescimento epitelial exacerbado (Cochran e Wozney, 1999; Bosshardt, 2005; Carranza *et al.*, 2007).

i. Propriedades

Inicialmente, pensava-se que a matriz de esmalte apenas tinha como funções, regular a iniciação, propagação, terminação, e maturação dos cristais de hidroxiapatite do esmalte (Simmer e Snead, 1995). Outros dados vieram constatar que a matriz do esmalte possui também uma função extrínseca ao desenvolvimento do esmalte. Estas proteínas medeiam a formação de cemento acelular e a inserção do ligamento periodontal durante o desenvolvimento radicular.

Vários estudos posteriormente realizados, demonstram o potencial biológico das proteínas da matriz do esmalte e sugerem que estas promovem a regeneração periodontal através de uma grande variedade de efeitos como: supressão da proliferação de células epiteliais, libertação de fatores de crescimento pelos fibroblastos do ligamento periodontal, e efeito antimicrobiano (Sculean *et al.*, 2001).

Bosshardt, DD (2008) publicou um artigo de revisão sobre os mediadores biológicos associados as proteínas da matriz de esmalte. Foi demonstrado que as PDME têm uma influência significativa sobre o comportamento de vários tipos de células pela mediação na adesão celular, activação, proliferação e sobrevivência, bem como na expressão de fatores de crescimento, citocinas, constituintes da matriz extracelular e outras moléculas envolvidas na regulação da remodelação óssea.

Estudos realizados por Jianing *et al.* (2004), concluíram que o EMD promove a proliferação e diferenciação de osteoblastos e induz, indirectamente, a inibição de osteoclastos e sua função. Também foi demonstrado que o EMD estimula o crescimento de outros tipos de células mesenquimatosas tais como fibroblastos e cementoblastos (Lyngstadaas *et al.*, 2001).

A ideia de que as proteínas derivadas da matriz de esmalte estariam envolvidas na formação do cemento foi originalmente proposta por Slavkin e Boyde (1975). Segundo estes autores,

as proteínas derivadas da matriz do esmalte são temporariamente depositadas sobre a superfície de dentina radicular e proporcionam um passo inicial e essencial na formação do cemento acelular (Slavkin e Boyde, 1975; Slavkin, 1976; Slavkin e Diekwisch, 1997).

A realização de estudos de microscopia eletrônica e de radiologia veio fornecer evidência de que a cementogênese é iniciada e modulada pelas proteínas derivadas da matriz do esmalte. O processo de apoptose das células da bainha de Hertwig em conjunto com a deposição destas proteínas na superfície da dentina radicular estão na origem da cementogênese.

Um dos aspectos cruciais para a cicatrização/regeneração do tecido periodontal, após qualquer tipo de procedimento cirúrgico, é a inibição da migração de células epiteliais para a superfície radicular, visto que estas impedem o restabelecimento normal da arquitetura periodontal (Caton, 1980; Nyman, 1981).

Foram encontrados 2 estudos (Gestrelus, 1997; Hammarstrom, 1997) que concluíram que as PDME atuam na proliferação, adesão, biossíntese e formação de nódulos de mineralização e de fibroblastos do ligamento periodontal, inibindo a componente migratória das células epiteliais.

O EMD possui propriedades osteocondutora, osteoindutora e osteogénica (Rathe *et al.*, 2009), e também demonstrou diminuir a expressão de mediadores inflamatórios e linfócitos B (Petinaki, 1998).

Uma vez que o EMD é uma material de origem porcina, poderia ter o potencial de estimular reações imunológicas em humanos, no entanto, estas proteínas são semelhantes em mamíferos e, sendo assim, este produto é pouco provável ser antigénico (Brookes, SJ, 1995). Através dos estudos realizados por Froum (2004), Heard, RH (2000) e Zetterstrom, O (1997), concluiu-se que o uso de EMD como adjuvante em procedimentos periodontais era seguro para o paciente (Esposito *et al.*, 2009).

As proteínas derivadas da matriz de esmalte (enamelinas e amelogeninas) depositam-se na superfície radicular até 4 semanas após a sua aplicação.

É interessante também destacar que a solução de veículo (propilenoglicol- alginato - PGA) do EMD tem efeitos antimicrobianos significativos (Sculean, 2001). O PGA é capaz de reduzir o crescimento de bactérias, nomeadamente, suprime o crescimento de *Porphyromonas gingivalis* (Inaba H *et al.*, 2004). Esta solução de veículo possui outras características tais como: biocompatibilidade, facilidade de utilização clínica, e compatibilidade com as proteínas derivadas da matriz de esmalte (Esposito *et al.*, 2009).

Os resultados obtidos com a utilização do Emdogain® podem permanecer até cerca de 10 anos (Sculean, 2008).

ii. Indicações de uso

O Emdogain® destina-se a aplicações tópicas em conjunto com cirurgias periodontais, para estabelecer a regeneração dos tecidos de suporte dentário, perdidos em decorrência de doença ou trauma periodontais. Este produto mostrou ser eficaz em locais com bolsas periodontais com uma profundidade superior a 6mm, associados à perda óssea vertical de 3mm (em radiografia), e em envolvimentos de furca que excedam os 2mm, mas não em defeitos totais. O Emdogain® também mostrou ser eficaz em defeitos de recessão gengival, revelando potencial no recobrimento da raiz, resultados estéticos, aumento da quantidade de tecido queratinizado e potencial para a regeneração da união (*Institut Straumann AG, Waldenberg, Switzerland*).

Devem ser regenerados preferencialmente defeitos contidos, isto é, que contenham paredes para suportar o material, com adequado suporte sanguíneo e retenção física do material. Quanto maior exposição da raiz ao material, menor a capacidade de contenção, aporte sanguíneo e retenção. Quanto mais estreitos e profundos os defeitos, mais contido será o defeito, e como tal, mais efetivo será o aporte sanguíneo.

O Emdogain® tem indicação de uso em defeitos intraósseos, defeitos de furca, recessão gengival, combinações com GTR, BG, entre outras. (Esposito *et al.*, 2009).

Os defeitos periodontais ideais para regenerar são os defeitos de duas paredes (estreitos e profundos) e as lesões de furca grau II mandibular, que são, anatomicamente, os mais fáceis de limpar e regenerar.

iii. Modo de aplicação

Para um procedimento regenerativo ser bem-sucedido, há que respeitar quatro condições sobre a aplicação clínica de materiais e técnicas cirúrgicas: a remoção de toxinas das superfícies radiculares (superfície lisa e limpa), provisão de espaço de modo a permitir a migração coronal de células do ligamento periodontal ao longo da superfície radicular, estabilização da ferida de maneira a proteger o coágulo sanguíneo (desenho do retalho e a técnica de sutura adequados), e a cicatrização primária da ferida pela adaptação passiva do retalho e da sutura (Tobias *et al.*, 2004).

A maioria dos autores, antes da aplicação de EMD e após o desbridamento mecânico da raiz, condiciona a superfície da raiz dentária com os objetivos de remoção da smear-layer e exposição de algumas fibras de colagénio. Este condicionador de raiz, designado por Pref-Gel® é composto por 24 % de ácido etileno diaminotetra acético (EDTA) de pH neutro. Ainda não há evidência da eficácia deste procedimento. (Esposito *et al.*, 2009)

A aplicação de Emdogain® só é realizada quando se verifica que a raiz está desprovida de tecido de granulação, limpa e seca.

iv. Mecanismo de acção

O Emdogain® trabalha da raiz para o defeito. É depositado na raiz, adere ao colagénio da raiz exposta e precipita nesta, permanecendo lá durante 2-4semanas, dando tempo a que o

ligamento se organize e que as células do ligamento periodontal preencham o espaço devido. Este produto vai prover informação para que naquele local, se forme cimento radicular.

Quando o Emdogain® é aplicado, as proteínas derivadas da matriz de esmalte precipitam-se sobre a superfície da raiz, formando uma camada de matriz extracelular (ver Fig. 3a).

A matriz estimula a atração e proliferação de células mesenquimatosas da região sã do periodonto (ver Fig. 3b).

As células libertam citocinas naturais específicas e substâncias autócrinas que promovem a proliferação necessária (ver Fig. 3c).

As *stem cells*/ células mesenquimatosas são atraídas e diferenciam-se em cementoblastos, que iniciam a formação da matriz do cimento na qual as fibras periodontais se irão fixar (ver Fig. 3d).

A camada de cimento recentemente formada aumenta de espessura, prolongando o ligamento periodontal (ver Fig. 3e).

No espaço de meses, o defeito é preenchido com ligamento periodontal recém-formado. Paralelamente ao desenvolvimento de novo ligamento periodontal há formação de novo osso alveolar (ver.Fig.3f).

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal

Figura 3. Mecanismo de ação do Emdogain® (Straumann).

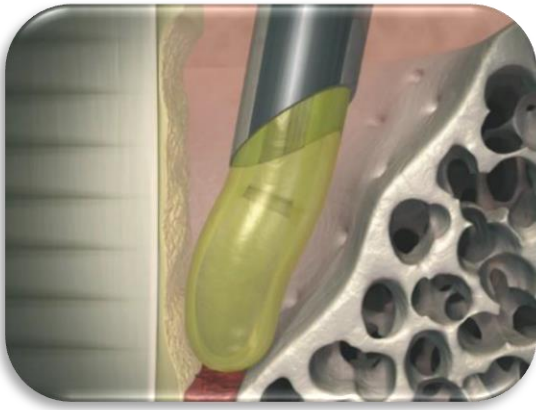


Fig. 3a

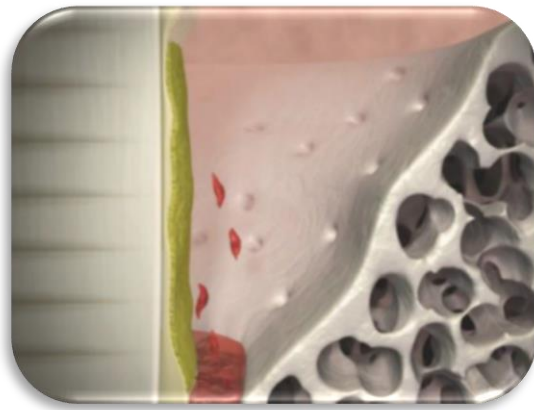


Fig. 3b



Fig. 3c

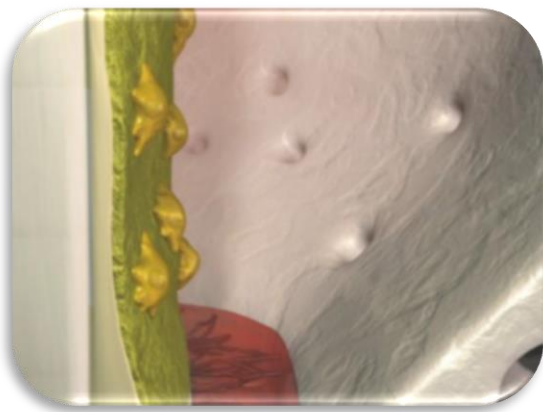


Fig. 3d

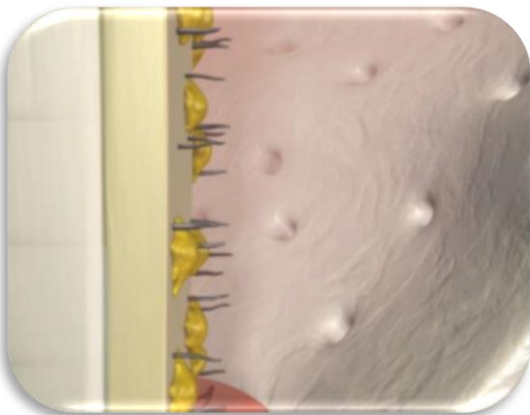


Fig. 3e

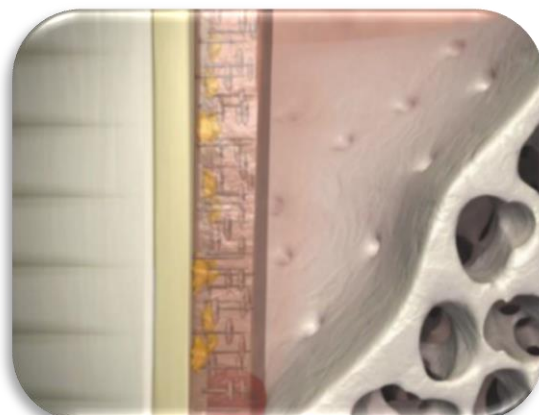


Fig. 3f

Tratando-se de um tratamento cirúrgico, após a aplicação de EMD para regeneração periodontal impõem-se alguns cuidados pós-operatórios:

v. Cuidados pós-operatórios

1. Aplicação de gelo nas primeiras 24h;
2. Evitar mastigar para o lado operado;
3. Dieta mole e morna 72h;
4. Não escovar durante 15 dias na zona;
5. Gel/bochecho CHX 2-3x por dia durante 15 dias;
6. Analgésico anti-inflamatório 12-12h 3 dias;
7. Considerar profilaxia antibiótica (Diabetes);
8. Remoção de sutura após 10-15 dias;
9. Escovagem suave com escova pós-cirúrgica ou uma escova muito suave após a remoção da sutura;
10. Utilização de escovilhão apenas passado 1 mês (tempo necessário para a organização do epitélio);
11. Dessensibilizante em caso de hipersensibilidade.

4. Fatores que influenciam o resultado clínico do EMD

Existem diversos fatores, encontrados na literatura, que influenciam o resultado clínico ou radiográfico, após o tratamento com EMD. São estes: o tempo, a profundidade de sondagem original da bolsa /perda de inserção clínica, a localização anatômica, a morfologia do defeito, a quantidade de corticalização do defeito ósseo, o tabaco, dimensão e manipulação dos tecidos moles e o controle de placa bacteriana (Venezia *et al.*, 2004).

Após a terapia com EMD, há um ganho ósseo contínuo ao longo do tempo, avaliado radiograficamente (através de um período de observação de 36 meses) (Heijl *et al.*, 1997).

A maioria dos estudos que avaliaram a relação entre a profundidade de sondagem e / ou nível de inserção clínica iniciais, encontraram uma correlação positiva entre esses parâmetros e o ganho de nível inserção clínica e / ou redução de profundidade de sondagem.

Dois estudos avaliaram a influência da localização anatômica do defeito (mandíbula ou maxila) sobre os resultados obtidos após o tratamento com EMD. Não houve acordo nos resultados entre estes dois estudos (Heijl *et al.*, 1997; Bratthall *et al.*, 2001).

Foram obtidos resultados sobre a influência do defeito anatômico (número de paredes do defeito e o seu componente intra-ósseo) em 3 estudos (Heijl *et al.*, 1997; Tonetti *et al.*, 2002; Silvestri *et al.*, 2003). Nestes estudos foi demonstrada uma correlação entre o número de paredes do defeito e o sucesso regenerativo após o uso de EMD.

O tabagismo é considerado como um grande fator de risco para a periodontite. A resposta da terapia periodontal é pior em fumadores, comparativamente com não-fumadores. Os não-fumadores também obtiveram resultados superiores do nível clínico de inserção (NIC) em comparação aos fumadores (Koop, 2012).

O uso de uma técnica minimamente invasiva provou resultar em melhores resultados de regeneração, especialmente quando são utilizados agentes biologicamente ativos, tais como as PDME (Ivanovski, 2009).

Foi também demonstrado que os resultados de regeneração são superiores quando é realizada uma avaliação pré-operatória cuidadosa, que tem em conta a extensão do espaço interdentário, a morfologia do defeito, e o tipo de material usado / local anatômico do defeito (abordagem de sutura) (Ivanovski, 2009).

VI- Caso Clínico

Este caso demonstra o tratamento regenerativo através das proteínas derivadas da matriz do esmalte num paciente com periodontite crónica. Foi realizada uma incisão intrasulcular e o levantamento de um retalho muco-periosteó de espessura total nas faces vestibular e palatina dos defeitos. A técnica regenerativa permitiu uma cicatrização primária e melhorias clínicas ao longo de 6 meses.

1. Descrição do caso e resultados

Paciente do sexo masculino, de 51 anos de idade, com história médica sem nada a declarar: a saúde geral normal, não-fumador, sem quaisquer tipos de alergias e sem necessidade de toma de medicamentos. Nos registos clínicos relatou a realização de escovagem dentária e uso de fio dentário diariamente. No primeiro exame clínico periodontal foram registadas recessões gengivais, elevadas profundidades de sondagem e presença de bolsas periodontais na zona posterior dos quadrantes 1º e 2º revelando sangramento à sondagem.

Figura 4 – Regeneração periodontal



Figura 4 (a e b) – Imagens pré-cirúrgicas. Fotografia inicial do 1º quadrante [PS inicial do 17 (mesial) de 7mm; PS inicial do 16 (distal) de 6mm].

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal

Foi diagnosticada uma periodontite crónica leve generalizada e localizada moderada baseada no registo clínico (realização de PS e periodontograma) e no registo radiográfico (ortopantomografia e Raios-X periapicais). Deste modo, o tratamento consistia no desbridamento supra e infragengival e na motivação e instrução do paciente para o aperfeiçoamento da técnica de escovagem. Esta fase não cirúrgica consistia na realização da tartarectomia e raspagem e alisamento radicular dos dentes com PS \geq 4mm, aplicação tópica de um agente adjuvante (antimicrobiano subgengival – iodopovidona conjuntamente com soro fisiológico) nas zonas onde foi realizada a RAR e polimento com jacto de bicarbonato de sódio.

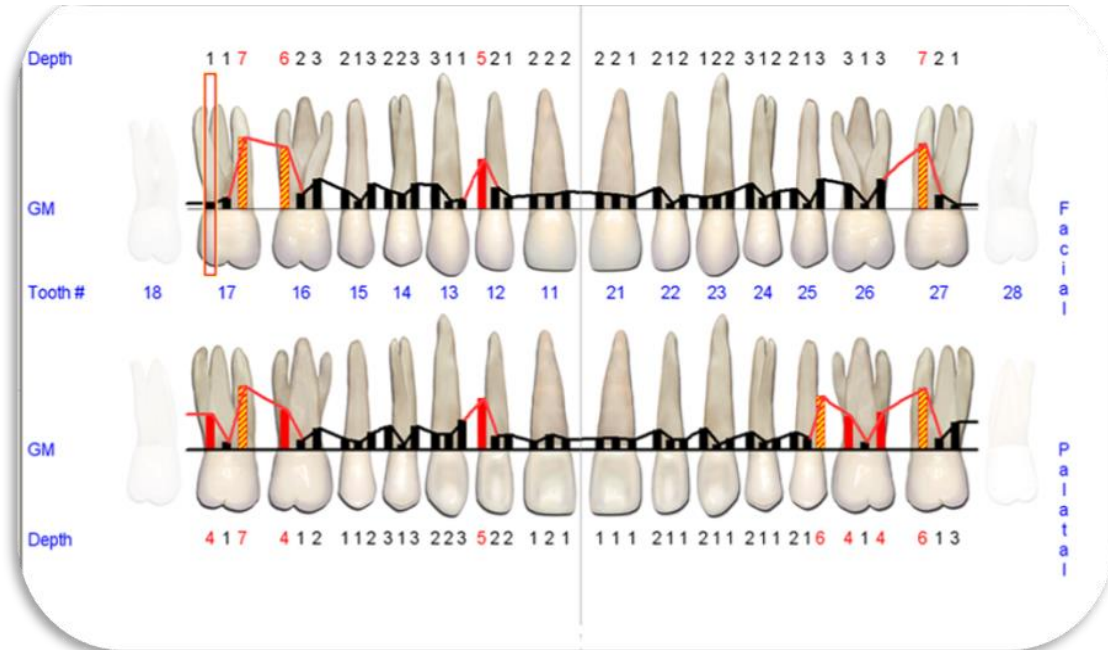


Figura 4 (c) - Periodontograma inicial do 1º e 2º Quadrantes.

Na reavaliação, 10 semanas após a fase não cirúrgica, foi observado a presença de bolsas periodontais residuais nos dentes 27, 26, 17 e 16. O paciente foi informado sobre o procedimento cirúrgico regenerativo através da utilização das proteínas derivadas da matriz de esmalte. Em sessões separadas foram abordados os dentes 16/17 e 26/27 para regeneração periodontal. Foi realizada uma incisão intrasulcular e subsequentemente, o levantamento de um retalho muco-periósteo de espessura total nas faces vestibular e palatina dos dentes 17, 16, 27 e 26. Após a remoção do tecido de granulação dos respectivos locais, foi possível observar com clareza que se tratava de uma lesão de furca de grau II no dente 16 (disto-vestibular) e de um defeito infra-ósseo de 2/3 paredes no dente 27. Foi realizado um desbridamento subgingival meticuloso e remoção de depósitos calcificados por raspagem e alisamento radicular. Procedeu-se à aplicação de EDTA (Prefgel®, Straumann, Switzerland) durante cerca de 2 minutos para remover a smear-layer e também para expor as fibras de colagénio. Após a lavagem com soro fisiológico, o defeito foi mantido sem qualquer vestígio de sangue e foi imediatamente preenchido com EMD e Bio-oss® (hidroxiapatite de origem bovina) como material osteocondutor. Por fim, o retalho foi fechado de maneira a garantir o fecho primário da ferida e estabilização dos materiais de regeneração e do coágulo sanguíneo. Procedeu-se à sutura do retalho de forma passiva com pontos reforçados verticais internos (*mattress suture*) com fio Gore-tex® 5-0. O paciente foi instruído para não escovar a zona durante 15 dias. De maneira a controlar a placa bacteriana foi aconselhada a aplicação tópica de gel de clorhexidina 3x/s /dia. As suturas foram removidas passado 12 dias.

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal



Figura 4 (d) – Incisão intrasulcular e deslocamento mucoperiósseo para acesso aos defeitos ósseos. Remoção do tecido de granulação e RAR



Figura 4 (e) – Aplicação do Prefgel (Gel de EDTA – 2min. sobre a raiz)



Figura 4 (f) – Limpeza do PrefGel com soro fisiológico

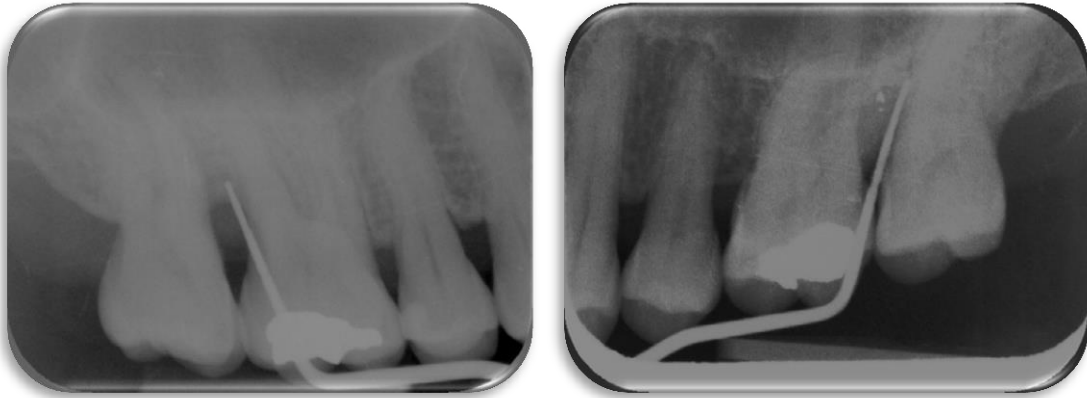


Figura 4 (g)- Aplicação do gel Emdogain® + Bio-oss® (Hidroxiapatite de origem bovina).

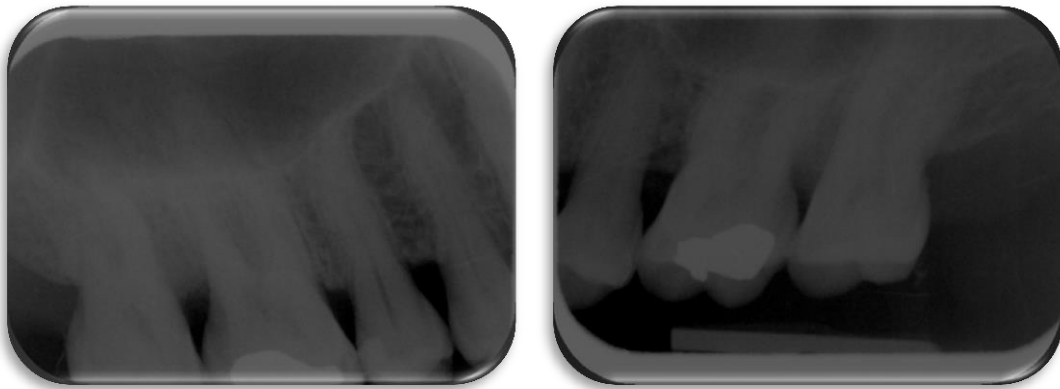


Figura 4 (h) - Sutura reforçada vertical interna para encerramento primário do retalho sem tensão.

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte
(Emdogain®) na Regeneração Periodontal



Figuras 4 (i e j) - Raios-x periapicais iniciais do 1º e 2º Quadrantes



Figuras 4 (k e l) - Raios-x periapicais pós-cirúrgicos do 1º e 2º Quadrantes.

6 meses após a cirurgia, foram novamente realizados os registos clínicos e foi feita uma nova radiografia intra-oral para controlar o preenchimento ósseo radiográfico após a terapia. Observa-se diminuição de profundidades de sondagem nos dentes 17 (de 7mm para 5mm), 16 (de 6mm para 4mm) e do 27 (de 7mm para 4mm) compatível com preenchimento ósseo ainda incompleto aos 6 meses de cicatrização, melhoria esperada ainda durante o 1º ano de cicatrização.

Utilização das Proteínas derivadas da Matriz de Esmalte (Emdogain®) na Regeneração Periodontal

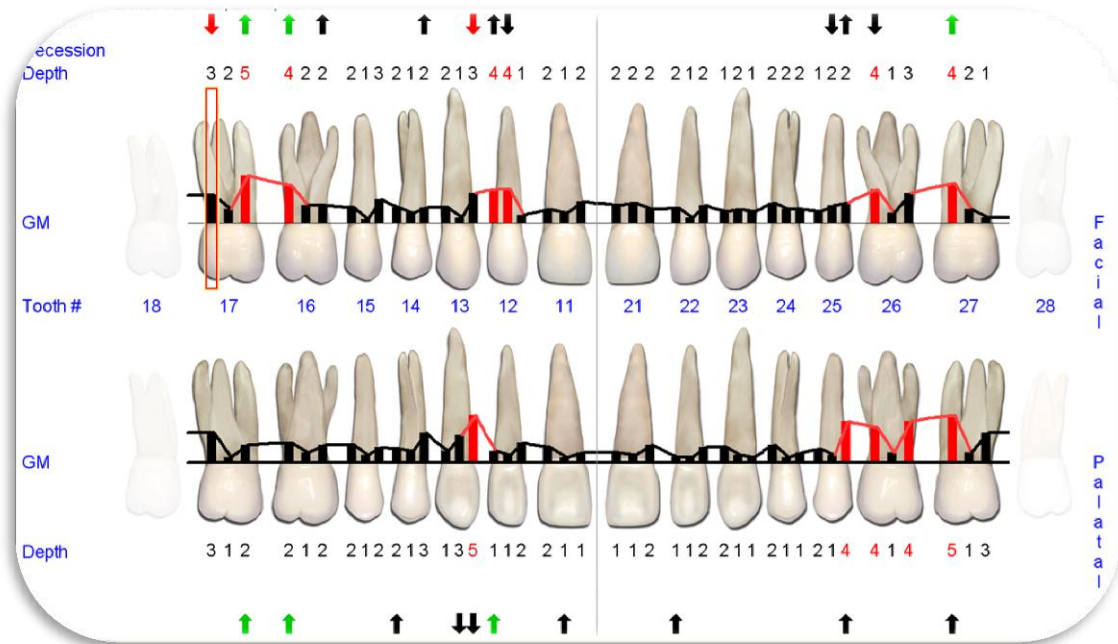


Figura 4 (m) – Periodontograma do 1º e 2º Quadrantes, 6 Meses após a cirurgia regenerativa



Figura 4 (n) – Raio-x periapical do 1º Quadrante, 6 Meses após a cirurgia regenerativa.

VII Discussão

Os primeiros estudos relativos às proteínas derivadas da matriz de esmalte foram publicados em 1997 por Heijl e seus colaboradores, que avaliaram o processo de cicatrização de 27 pares de defeitos periodontais. Após um período de três anos, os resultados clínicos e radiológicos obtidos após a utilização de EMD mostraram um ganho de inserção significativamente maior que no grupo de controlo (apenas com cirurgia de retalho de espessura total), revelando, a nível histológico, a formação de novo cemento acelular de fibras extrínsecas, novo ligamento periodontal com fibras de colagénio inseridas e funcionalmente orientadas, bem como osso alveolar neoformado.

Um dos primeiros estudos realizados em humanos foi um ensaio multicêntrico randomizado e de boca dividida com o objetivo de comparar, a longo-termo, os resultados da cirurgia com retalho de Widman modificado após a utilização de placebo ou EMD como adjuvantes (Heijl *et al.*, 1997). Foram avaliados 33 pacientes com 34 pares de locais de teste e controlo (defeitos ósseos de uma ou duas paredes com profundidades de sondagem iguais ou superiores a 4mm) e monitorizados durante 36 meses. Os resultados do grupo de EMD foram melhores, caracterizados pelo ganho de inserção clínica, redução da profundidade de sondagem e restauração do osso alveolar, analisado radiograficamente.

Esposito, M. *et al.* (2004), efectuaram uma revisão sistemática e meta-análise que pretendia avaliar a eficácia do EMD no tratamento de defeitos infra-ósseos comparativamente a RTG e um grupo de controlo. Foram incluídos 8 ensaios clínicos randomizados (RCT) com pelo menos 1 ano de *follow-up* (Sculean *et al.*, 2001; Tonetti *et al.*, 2002; Pontoriero *et al.*, 1999; Zuchelli *et al.*, 2002; Francetti *et al.*, 2004; Okuda *et al.*, 2000; Heij *et al.*, 1997; Silvestri *et al.*, 2000). No grupo que utilizou EMD verificou-se uma melhoria estatisticamente significativa do nível de inserção clínica (NIC) de 1.3mm e uma redução da PS de 1mm, quando comparado com o grupo de controlo (*open flap debridement* – OFD). Os autores quando compararam o uso de Emdogain® com RTG (6 RCT's), não verificaram diferenças no NIC, apenas foi encontrada uma redução na profundidade de sondagem de 0.6mm no grupo de RTG que, pelos autores, poderá ser como uma maior recessão gengival (RG)

encontrada nos locais tratados com RTG. De outro ponto de vista, os autores relataram que o Emdogain® é mais simples de usar, pode não precisar de cobertura antibiótica e não precisa de uma segunda intervenção cirúrgica (Vs membranas não-reabsorvíveis – RTG). Para além disto, e apesar de não possuir relevância estatística, foram encontradas 2 infeções pós-cirúrgicas no grupo do RTG face que, no grupo de EMD não foram encontrados nenhuns efeitos adversos. Nesta meta-análise não foi discutida a utilização de EMD em comparação com enxertos ósseos.

Também em 2004, foi realizada outra meta-análise através de 28 estudos, relativa à análise de resultados clínicos regenerativos no tratamento de defeitos infra-ósseos com EMD (Venezia *et al.*, 2004). Foram resultados desta meta-análise, redução de profundidade de sondagem inicial de 7.94 ± 0.05 mm para $3,63 \pm 0.04$ mm, ganho de NIC, que passou de 9.4 ± 0.06 mm para 5.82 ± 0.07 mm, e preenchimento do defeito ósseo. Estes resultados mostraram ser superiores aos resultados encontrados nos casos e que eram utilizados os procedimentos de OFD ou RTG.

Esposito, M *et al.* (2009), efetuaram uma revisão sistemática sobre os efeitos da utilização do Endogain® na terapia periodontal regenerativa em defeitos infra-ósseos. Foi feita uma meta-análise que inclui RCT's em pacientes acometidos pela doença periodontal, com defeitos infra-ósseos de pelo menos 3mm tratados com EMD, em comparação com OFD e RTG, com 1 ano de follow-up. Os autores concluíram que, 1 ano após a aplicação de EMD, houve uma melhoria significativa no valor de NIC (1.1mm) e uma redução da profundidade das bolsas periodontais (0.9mm) quando comparado com o grupo controlo (OFD). No entanto foi observado um elevado grau de heterogeneidade entre os estudos. Não foram encontradas grandes diferenças nos resultados clínicos entre o EMD e RTG com exceção de um aumento de recessão gengival (0.4mm) e de complicações pós-operatórias encontradas nos locais tratados com RTG.

Foi realizada por Koop *et al.*, uma pesquisa literária nos motores de busca MEDLINE/PubMed sobre o uso das proteínas derivadas da matriz de esmalte na regeneração periodontal. Em 2012 foi elaborada uma revisão sistemática pelos mesmos

autores que selecionaram defeitos infra-ósseos, lesões de furca e recessões gengivais como critérios de inclusão Para a realização da meta-análise foram incluídos apenas ensaios clínicos randomizados com 1 ou mais anos de follow-up. Só serão apresentados os resultados relativos a defeitos infra-ósseos e de furca. O tratamento de defeitos infra-ósseos através de EMD resultou num ganho significativo do valor de NIC (1.30mm), comparado com os resultados obtidos com OFD. Foi concluído, através de um estudo, que o uso de EMD em lesões de furca resultou em mais melhorias na profundidade do defeito horizontal em comparação com a utilização de membranas reabsorvíveis.

Pela ilustração deste caso clínico, os resultados clínicos obtidos vão de encontro ao que a literatura tem demonstrado.

VIII- Conclusão

A regeneração das estruturas periodontais perdidas/ lesadas ainda constitui o maior desafio no tratamento periodontal.

Na actualidade existem diversos materiais e técnicas cirúrgicas regenerativas, tais como, regeneração tecidual guiada, enxertos ósseos, fatores de crescimento e as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

As proteínas derivadas da matriz do esmalte têm sido empregues, com sucesso, como material regenerativo na restauração funcional do ligamento periodontal, cemento e osso alveolar, em pacientes com grande perda de inserção clínica.

Até à data, só os defeitos de furca grau II e infra-ósseos têm indicação para regeneração periodontal. Esperamos que a evidência e os avanços científicos nos tragam novas técnicas e materiais compatíveis com regeneração total de todos os defeitos periodontais.

Após esta revisão bibliográfica e com a "ajuda" do caso clínico efetuado e aqui apresentado, podemos concluir que as PDME são mais uma boa "ferramenta" para o médico dentista, permitindo-nos melhorar a saúde oral e periodontal dos nossos pacientes. Conclui-se também que é aconselhável esperar por mais estudos clínicos controlados e randomizados, para podermos agir com maior segurança e para podermos proporcionar, no futuro, tratamentos periodontais mais duradouros e mais previsíveis.

IX. Referências bibliográficas

American Academy of Periodontology (2004). Systemic antibiotics in periodontics, *J Periodontol*, 75, pp. 1553–1565.

American Academy of Periodontology (2001). Glossary of Periodontal Terms, 4th edition. Chicago.

American Academy of Periodontology (1998). Supportive periodontal therapy (SPT), *J Periodontol*, 69, pp. 502–506.

Bosshardt, DD. et al. (2005). Effects of enamel matrix proteins on tissue formation along the roots of human teeth, *J Periodontal Res*, 40, pp.158-167.

Brookes, SJ. et al. (1995). Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel, *Arch Oral Biol*, 40, pp.1-14.

Bowers, GM. et al. (1989). Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans, Part II, *J Periodontol*, 60, pp. 675-682.

Chambrone, D., Pasin, I.M., Conde, M.C. e col. (2007). Effect of enamel matrix proteins on the treatment of intrabony defects: a split-mouth randomized controlled trial study, *Braz. Oral Res*, 21(3): pp. 241-246.

Dentino, A. et al. (2013). Principles of periodontology, *Periodontology 2000*, 61, pp.16–53

Dentino, AR., Kassab, MM., Renner, EJ. (2005). Prevention of periodontal diseases, *Dent Clin North Am*, 49, pp. 573–594.

Donnenfeld, OW., Glickman, I. (1966). A biometric study of the effects of gingivectomy, *J Periodontol*, 37(6), pp. 447–452.

Friedewald, VE. *et al.* (2009). American Journal of Cardiology, *J Periodontol*, 80(7), pp. 1021-32

Froum, S. *et al.* (2004). A multicenter study evaluating the sensitization potential of enamel matrix derivative after treatment of two infrabony defects, *J Periodontol*, 75, pp.1001-1008.

Golub, LM. *et al.* (1983). Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observations and a proposed new mechanism of action, *J Periodontal Res*, 18, pp 516–526.

Hägi, T. T., Laugisch, O., Ivanovic, A., Sculean, A. (2014). Regenerative periodontal therapy, *Quintessence Int*, 45:pp185–192; doi: 10.3290/j.qi.a31203.

Hammarstrom, L. (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration, *J Clin Periodontol*, 24, pp. 658-668.

Hammarström, L., Heijl, L., Gestrelus, S. (1997). Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins, *J Clin Periodontol*, 24, pp. 669–677.

Heard, RH. *et al.* (2000). Clinical evaluation of wound healing following multiple exposures to enamel matrix protein derivative in the treatment of intrabony periodontal defects, *J Periodontal* 2000, 71, pp.1715-1721.

Heasman, L. *et al.* (2006). The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence, *J Clin Periodontol*, 33, pp. 241–253.

Heitz-Mayfield, L. (2005). How effective is surgical therapy compared with nonsurgical debridement?, *Periodontology 2000*, 37, pp.72–87.

Kao, RT. *et al.* (2005). Tissue engineering for periodontal regeneration, *J Calif Dent Assoc*, 33, pp. 205–213.

Inaba, H. *et al.* (2004). Effect of enamel matrix derivative on periodontal ligament cells in vitro is diminished by *Porphyromonas gingivalis*, *J Periodontol*, 75, pp.858–865.

Jianing, H. *et al.* (2004). Emdogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression, *OOOOE*, 97, pp.239-45.

Lindhe, J., Karring, T. e Lang, NP. (2003). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Oxford, UK, Blackwell Munksgaard.

Lyngstadaas, SP. *et al.* (2009). Enamel matrix proteins; old molecules for new applications, *Orthod Craniofac Res*, 12, pp.243–253.

Mariotti, A. (1999). Dental plaque-induced gingival diseases, *Ann Periodontol*, 4, pp. 7–19.

Miron, RJ. *et al.* (2014). Enamel matrix derivative in combination with bone grafts: A review of the literature. *Quintessence Int* , 45, pp 475–487; doi: 10.3290/j.qi.a31541.

Petinaki, E., Nikolopoulos, S., Castanas, E. (1998). Low stimulation of peripheral lymphocytes following in vitro application of Emdogain, *J Clin Periodontol*, 25, pp.715-720.

Preber, H., Bergström, J. (1990). Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy, *J Clin Periodontol*, 17, pp. 324–328.

Ramseier, CA. *et al.* (2012). Advanced regenerative technologies for periodontal tissue repair, *Periodontol 2000*, 59(1), pp.185-202.

Sculean, A. *et al.* (2001). Effect of an enamel matrix protein derivative (EmdogainA) on ex vivo dental plaque vitality, *J Clin Periodontol*, 28, pp. 1074–1078.

Sculean, A. *et al.* (1999). Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration, *J Periodontal Res*, 34, pp.310-322.

Sculean, A. *et al.* (2008). Ten-year results following treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration, *J Clin Periodontol*, 35(9), pp.817-24.

Slavkin, HC., Boyde, A. (1975). Cementum: an epithelial secretory product?, *J Dent Res.*, 53, p.157.

Slavkin, HC. (1976). Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited, *J Periodontol*, 47, pp. 249–255.

Slavkin, HC., Diekwisch, T. (1997). Molecular strategies of tooth enamel formation are highly conserved during vertebrate evolution, *Ciba Found Symp*, 205, pp.73–80.

Straumann. Regeneração tecidual. [Em linha]. Disponível em <http://www.straumann.com.br/pt/profissionais/produtosesolucoes/solucoesregenerativas/regeneracaotecidual.html> [Consultado em 14/03/2013).

Tonetti, MS., Prato, GP., Cortellini, P. (1996). Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery, *J Clin Periodontol*, 23, pp. 548–556.

Trombelli, L., Farina, R. (2008). Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration, *J Clin Periodontol*, 35(8), pp.117-35.

Waite, IM. (1975). The present status of the gingivectomy procedure, *J Clin Periodontol*, 2, pp. 241–249.

Zetterstrom, O. *et al.* (1997). Clinical safety of enamel matrix derivative (ENDOGAIN) in the treatment of periodontal defects, *J Clin Periodontol*, 24, pp.697-704.