

Fernanda Marie Fernandes de Carvalho Pereira

**PROTEINAS DE MATRIZ DE ESMALTE EM DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS –  
A SUA UTILIZAÇÃO EM PERIODONTIA**



Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2012



Fernanda Marie Fernandes de Carvalho Pereira

**PROTEINAS DE MATRIZ DE ESMALTE EM DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS – A  
SUA UTILIZAÇÃO EM PERIODONTIA**

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2012

Fernanda Marie Fernandes de Carvalho Pereira

Fernanda Marie Fernandes de Carvalho Pereira

**PROTEINAS DE MATRIZ DE ESMALTE EM DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS – A  
SUA UTILIZAÇÃO EM PERIODONTIA**

“ Projecto de Investigação apresentado à Universidade  
Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau  
de Mestrado Integrado em Medicina Dentária”

---

## Resumo

**Introdução:** Ao longo dos anos, várias técnicas cirúrgicas têm sido propostas para o tratamento regenerativo dos defeitos infra-ósseos resultantes da destruição periodontal. As proteínas de matriz de esmalte ao mimetizarem as fases embrionárias da odontogênese, surgem como uma alternativa promissora e viável aos enxertos ósseos e à utilização de membranas, uma vez que nem um aporte ósseo, nem uma exclusão das células do epitélio são necessários para que ocorra regeneração.

**Objectivo:** O objectivo deste trabalho de revisão bibliográfica é contextualizar o problema clínico dos defeitos periodontais infra-ósseos, comparando e avaliando a contribuição do Emdogain® de forma isolada, ou associado à regeneração tecidual guiada (RTG), na obtenção de regeneração periodontal.

**Materiais e Métodos:** Para o enquadramento teórico deste trabalho foi realizada uma pesquisa bibliográfica nos motores de busca *GoogleScholar*, *Medline/PubMed* e *SciELO*. As palavras utilizadas foram “*EMD*”, “*emdogain*”, “*infrabony defects*”, “*infrabony defects*” e “*GTR*”, sem limite de tempo. Foram igualmente consultadas algumas obras literárias e duas teses de doutoramento. No que concerne ao capítulo da discussão, a pesquisa foi restringida a revisões sistemáticas e meta-análises.

**Conclusão:** Apesar dos mecanismos de acção da regeneração induzida por proteínas da matriz do esmalte não serem, ainda hoje, bem conhecidos, foi possível concluir, ainda que com algumas limitações, que o tratamento de defeitos infra-ósseos com proteínas derivadas da matriz de esmalte (Emdogain®), isoladamente ou com outras técnicas associadas, parece apresentar fortes evidências na redução da profundidade de sondagem, no ganho de nível de inserção clínico e no preenchimento ósseo. Tendo em conta o alto grau de heterogeneidade na forma como se avaliaram os parâmetros clínicos, bem como uma constante ausência de avaliação histológica nos estudos publicados, é elementar que estes resultados, ainda que promissores, sejam interpretados com algumas reservas.

## Abstract

**Introduction:** Over the last years several surgical techniques have been proposed for regenerative treatments of infra-bony defects that are a consequence of periodontitis. Once enamel matrix proteins (EMD) mimic the embryonic phases of odontogenesis, they appear to be a reliable and promising alternative to the use of bone grafts and membranes since neither bone uptake nor epithelial exclusion are needed so that regeneration can occur.

**Objective:** The purpose of this systematic review is to update the clinical knowledge of periodontal infra-bony defects comparing and evaluating the contribution of Emdogain® use either isolated or associated to guided tissue regeneration in periodontal regeneration.

**Methods:** For theoretical background of this systematic review it was prepared a bibliographic search in *GoogleScholar*, *Medline/PubMed* and *SciELO* search engines. The words “*EMD*”, “*emdogain*”, “*intrabony defects*”, “*infrabony defects*” and “*GTR*” were inserted in the mentioned search engines without time restrictions. It was also accessed some specialty books, as well as, two Phd thesis. Concerning the discussion of this systematic review the search was restricted to meta-analysis and systematic reviews.

**Conclusion:** Although action mechanisms of regeneration induced by enamel matrix proteins are not completely known, it was possible to conclude, despite some limitations, that enamel matrix derivate (Emdogain®) used isolated or associated with other techniques, appears to show, with strong evidence level, the reduction of probing depth, clinical attachments level gain and bone fill. Taking into account the heterogeneity of inclusion criteria among studies and the lack of histological analysis of the published results, it is needed extreme caution in the interpretation of results.

*“O que dá o verdadeiro sentido ao encontro é a busca,  
e é preciso andar muito para se alcançar o que está perto.”*

José Saramago

## **Agradecimentos**

Agradeço aos meus pais e irmão, pelas condições dadas para que este curso fosse possível, bem como as palavras de ânimo para que este trabalho se realizasse

A ti, João, pela transmissão de força e apoio incondicional para que nada careça na concretização dos meus sonhos.

Aos meus amigos e colegas de curso que nunca esquecerei e que fazem de mim uma pessoa melhor.

À minha orientadora, Dra. Patrícia Almeida Santos, pelo apoio e orientação disponibilizados, bem como pelo rigor e competência científica, para a concretização deste trabalho.

## Índice de Conteúdos

<b>I.</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>Enquadramento teórico .....</b>	<b>3</b>
1.	Constituintes do periodonto .....	3
2.	Doenças periodontais .....	4
3.	Patogénese.....	5
5	Terapia regenerativa.....	9
6.	Emdogain® .....	12
6.1	EMD .....	12
6.2	Cementogénese .....	13
6.3	Propriedades .....	14
6.4	Indicações.....	15
6.5	Defeitos periodontais.....	16
6.6	Modo de aplicação.....	18
6.7	Mecanismos de acção .....	20
6.8	Vantagens e desvantagens .....	21
<b>III.</b>	<b>Materiais e Métodos .....</b>	<b>23</b>
<b>IV.</b>	<b>Resultados/Discussão .....</b>	<b>24</b>
<b>III-</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>34</b>
	<b>Bibliografia .....</b>	<b>36</b>

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1 - Teoria da compartimentalização (Melcher, 1976). .....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 2 - Classificação dos defeitos infra-ósseos com base no número de paredes circundantes. ....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 3- Modo de aplicação do Emdogain® .....</b>	<b>18 a 19</b>
<b>Figura 4 - Mecanismos de acção do Emdogain®.....</b>	<b>20</b>

## **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1.</b> Revisões sistemáticas e meta-análises.....	26-27
---	-------

## **Siglas e abreviaturas**

$\Delta$ NIC: Variação do nível clínico de inserção

$\Delta$ PS: Variação da profundidade de sondagem

$\Delta$ RG: variação da recessão gengival

$\pm$ : Mais ou menos

BMP: proteínas morfogenéticas do osso

EDTA: ácido etileno diaminotetra acético

EMD: *Enamel matrix derivate*

mm: milímetros

N: Número de indivíduos

OFD: *Open flap debridement*

PB: Placa bacteriana

PDGF: derivado das plaquetas

PGA: ester de alginato de propileno glicol

PME: Proteínas de matriz do esmalte

RCT: Ensaios controlados randomizados

RTG: Regeneração tecidual guiada

## I. Introdução

A periodontite é uma doença crónica, de carácter inflamatório e infeccioso, que está associada à destruição progressiva dos tecidos de suporte dentário, tais como, o ligamento periodontal, o cemento radicular e o osso alveolar (Kinane *et al.*, 2008).

As diferentes modalidades de tratamento periodontal visam cessar a progressão da doença e, idealmente, reverter o processo destrutivo, levando à regeneração dos tecidos periodontais perdidos.

Nesse sentido, com vista à tão desejada regeneração periodontal, vários são os materiais e as técnicas que têm sido desenvolvidos ao longo das últimas décadas (Heden e Wennström, 2006).

As proteínas derivadas da matriz do esmalte, disponíveis comercialmente sob a designação de Emdogain® (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden), surgem precisamente neste contexto.

Actualmente, assistimos cada vez mais à necessidade premente de prestar cuidados de saúde ditos de excelência. Neste sentido, a regeneração dos tecidos periodontais, restaurando por completo a sua forma e função, deverá ser, sempre que possível, preferível à utilização de técnicas ditas ressectivas.

Tendo por base esta premissa, aliado a um interesse pessoal na área da Periodontia, o tema escolhido para este trabalho de revisão bibliográfica prende-se com a utilização das proteínas da matriz de esmalte (PME) no tratamento de defeitos infra-ósseos.

O objectivo principal deste trabalho monográfico é contextualizar o problema clínico dos defeitos periodontais infra-ósseos e avaliar a contribuição das PME, isoladas ou em associação com a regeneração tecidular guiada (RTG), na sua resolução.

Para a sua realização utilizaram-se diversos artigos científicos, devidamente seleccionados da Pubmed, SciELO e GoogleScholar, que nos pareceram relevantes e

ainda algumas obras literárias e duas teses de doutoramento. Os artigos científicos seleccionados referem-se, na sua totalidade, a artigos publicados em inglês, português, francês ou espanhol. Não foi aplicado qualquer limite temporal como critério de pesquisa.

## II. Enquadramento teórico

### 1. Constituintes do periodonto

O periodonto é uma unidade de desenvolvimento (biológica e funcional) que com a idade vai sofrendo determinadas modificações (Lindhe *et al.*, 2008) e cuja principal função é inserir a peça dentária no tecido ósseo dos maxilares (Wolf *et al.*, 2006).

É composto pela gengiva, pelo ligamento periodontal, pelo cimento radicular e pelo osso alveolar (Lindhe *et al.*, 1997).

A gengiva compreende a mucosa mastigatória (gengiva e revestimento do palato duro), a mucosa especializada que recobre o dorso da língua e a mucosa de revestimento que inclui a restante parte. Duas partes da gengiva podem ser diferenciadas, a gengiva livre, que compreende o tecido gengival das partes vestibular e lingual ou palatino dos dentes e a papila interdentária, e a gengiva aderida, demarcada pela junção cimento-esmalte (Lindhe *et al.*, 2008).

O ligamento periodontal localiza-se no espaço existente entre o osso alveolar e a raiz do dente. No espaço do ligamento periodontal existem igualmente vasos e nervos, bem como células ectomesenquimatosas indiferenciadas, capazes de se diferenciar e dar origem a fibroblastos, cementoblastos e osteoblastos. Esta capacidade “neoformadora” constitui o fundamento das técnicas de regeneração periodontal. O ligamento é formado por fibras de conexão que unem o dente ao osso alveolar - as fibras de Sharpey, formando redes com orientações variáveis, o que confere ao dente uma certa mobilidade no seu alvéolo (Garcia e Manau, 2007; Lindhe *et al.*, 2008).

O cimento radicular é um tecido mineralizado que não contém vasos sanguíneos ou linfáticos, nem inervação e não sofre remodelação e/ou reabsorção fisiológica, caracterizando-se pela sua formação contínua (Lindhe *et al.*, 2008). O cimento tem como principal função ancorar solidamente, embora não de forma rígida, o dente ao

osso alveolar através das fibras de Sharpey (Garcia e Manau, 2007), contribuindo para o processo de reparação após a presença de danos na superfície radicular. Estas fibras são formadas pelos fibroblastos do ligamento periodontal (Lindhe *et al.*, 2008).

O osso alveolar é formado pela maxila e pela mandíbula e desenvolve-se aquando da erupção dos dentes. A sua principal função prende-se com a distribuição e absorção das forças provocadas pela mastigação ou outro contacto dentário (Lindhe *et al.*, 2008).

No periodonto saudável há a constante renovação de todos os tecidos (*turnover*), com excepção do cimento, que ganha espessura por meio de aposição, a velocidades variáveis, ao longo dos anos (Wolf *et al.*, 2006).

## **2. Doenças periodontais**

As doenças periodontais são um grupo de doenças orais inflamatórias que dependendo da lesão tecidual causada e da reacção de defesa do hospedeiro, se podem manifestar, ainda que de uma forma redutora, como dois quadros clínicos distintos: a gengivite e a periodontite.

Na gengivite, o tecido conjuntivo é progressivamente destruído e o seu lugar é ocupado por um infiltrado inflamatório. O epitélio sofre também alterações morfológicas importantes, mantendo-se, no entanto, unido à superfície do esmalte. As fibras são parcialmente destruídas, contudo, existe uma conservação da integridade a nível do limite apical (Garcia e Manau, 2007). Em termos clínicos corresponde a uma inflamação da gengiva marginal, normalmente provocada pela acumulação de placa bacteriana, sendo reversível com o tratamento adequado (Kinane, *et al.*, 2008).

A periodontite, por outro lado, é uma doença crónica que para além de se referir a uma inflamação da gengiva marginal, está igualmente associada à destruição progressiva dos tecidos de suporte do dente, tais como o ligamento periodontal, o cimento radicular e o

osso alveolar. A sua natureza é multifactorial, envolvendo bactérias, a susceptibilidade do hospedeiro e factores ambientais (Kinane *et al.*, 2008).

Um aspecto importante prende-se com o facto de a periodontite ser sempre precedida por uma gengivite. Assim, num hospedeiro susceptível, a gengivite pode evoluir para periodontite quando o infiltrado inflamatório gengival ultrapassa a barreira defensiva formada pelas fibras gengivais (Garcia e Manau, 2007). O infiltrado inflamatório de origem bacteriano, que afecta e destrói progressivamente os tecidos periodontais, deriva da inadequada interacção entre a microflora oral e os mecanismos de defesa do hospedeiro (Pereira *et al.*, 2011; Illueca *et al.*, 2006).

A periodontite difere de indivíduo para indivíduo no que diz respeito à etiologia, à história clínica, à progressão da doença e à resposta terapêutica, mas apresenta uma cadeia de eventos comum. De acordo com Page *et al.* (1997), as características histopatológicas, as vias de destruição tecidual, bem como de cicatrização são muito semelhantes, se não idênticas, sendo, no entanto, influenciadas por factores modificadores da doença.

Relativamente à prevalência da doença, a periodontite ocorre particularmente em adultos e, além de danificar o osso alveolar e o ligamento de suporte, comprometendo o prognóstico do dente, parece estar associada ao aumento do risco para determinadas patologias sistémicas (Chen *et al.*, 2010), das quais se destacam a diabetes *mellitus*, a aterosclerose, as doenças cardiovasculares e cerebrovasculares e o parto pré-termo (Palmer e Soory, 2008).

Clinicamente, a perda do sistema de ligação traduz-se pelo aparecimento de uma bolsa periodontal, pela diminuição do nível de inserção, pela recessão gengival e, radiologicamente, pela destruição do osso alveolar (Bouyer, 2007).

### **3. Patogénese**

A periodontite é iniciada por um pequeno grupo de bactérias, predominantemente anaeróbias, gram-negativas que colonizam a área subgengival (Page e Kornman, 1997).

As espécies bacterianas que se destacam pelo alto potencial patogénico em provocar lesões periodontais são *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* (*Consensus report*, 1996).

O metabolismo das bactérias (exotoxinas, endotoxinas, e/ou enzimas como colagenases) era no passado considerado o único responsável pela destruição tecidular. Hoje sabe-se que apesar das bactérias serem necessárias, a sua presença não é, no entanto, suficiente para causar a doença. Factores como a susceptibilidade do hospedeiro ou os factores modificadores têm interveniência neste processo patológico de natureza multifactorial (Page e Kornman, 1997).

Estes factores modificadores podem ter uma origem genética, ambiental ou adquirida e revestem-se de especial importância, uma vez que influenciam de forma marcada a manifestação clínica da periodontite, nomeadamente no que respeita ao seu início, à progressão, à severidade e/ou ao prognóstico da doença. A contribuição dos factores modificadores reflecte-se na regulação, na activação ou na inibição de vários componentes dos mecanismos da resposta de defesa do hospedeiro, da homeostasia e da reparação tecidular. Assim sendo, parece que os componentes da resposta do hospedeiro, que normalmente lhe conferem protecção, são os mesmos que levam à destruição (Page *et al.*, 1997).

O reconhecimento da tríade – bactérias, hospedeiro susceptível e factores ambientais/modificadores (como o stress, as doenças sistémicas ou o tabaco), bem como o peso de cada um deles no indivíduo, ajuda na identificação de indivíduos de alto risco para a periodontite, o que tem implicações na prevenção e tratamento da doença (Page *et al.*, 1997).

#### 4. Tratamento periodontal

A terapêutica 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.*, 1997a).

Do ponto de vista clínico, o tratamento periodontal pode ser dividido em quatro fases: sistémica, inicial, correctiva e de suporte.

A fase **sistémica** pretende eliminar ou diminuir a influência de determinadas condições sistémicas nos resultados da terapia, das quais se destacam a diabetes e o tabaco (Lang e Baur, 2008).

A literatura biomédica suporta a conclusão de que a diabetes está associada com alterações do foro genético e metabólico que provocam uma redução da capacidade de lidar com as infecções, prejudicando assim a cicatrização das feridas. A disfunção dos neutrófilos polimorfonucleares (PMN) em diabéticos insulino-dependentes parece estar relacionada com a severidade da periodontite. Além disso, existem evidências na literatura médica que a condição periodontal melhora com o controlo da diabetes. Por outro lado, outros estudos já demonstraram que a terapia inicial da doença periodontal pode ter, pelo menos, um efeito benéfico sobre o controlo metabólico da diabetes, enfatizando o efeito sinérgico entre as duas patologias (*Consensus report*, 1996).

Mais ainda, em estudos a curto prazo, a resposta ao tratamento periodontal não cirúrgico de diabéticos bem controlados foi semelhante à resposta de indivíduos não-diabéticos (grupo controlo), com melhorias na profundidade de sondagem e no ganho de inserção (Palmer e Soory, 2008), o que reflecte a grande importância que se deve conceder ao controlo da diabetes.

No que respeita ao tabaco, este parece ter efeitos no tecido conjuntivo, na vascularização e nas células do sistema imunológico. O tabagismo é um importante factor de risco provocando a diminuição de anticorpos séricos e alterando a função dos

PMN. Estes efeitos influenciam a cicatrização da ferida, as respostas imunes e inflamatórias. A manifestação clínica da periodontite encontra-se alterada em fumadores, incluindo o aumento da formação de cálculo e da recessão gengival e a diminuição da inflamação gengival (*Consensus report*, 1996).

A resposta ao tratamento periodontal pode ser negativamente alterada pelo factor tabaco, cujo efeito é dose-dependente, o que leva à obtenção de piores resultados em indivíduos fumadores comparativamente a não-fumadores ou ex-fumadores, nas diferentes modalidades de tratamento periodontal (tratamentos cirúrgicos, não cirúrgicos ou terapia periodontal regenerativa) (Papapanou e Lindhe, 2008).

Nesse sentido, as medidas a tomar no controlo do tabagismo tornam-se importantes para o sucesso do tratamento e na manutenção da saúde periodontal a longo prazo. Para tal, todos os pacientes devem ser avaliados e aconselhados no que diz respeito à cessação tabágica, de forma a contribuir para uma melhor taxa de sucesso terapêutico (Palmer e Soory, 2008).

A fase **inicial** consiste na motivação e instrução do paciente para um bom controlo de placa. Esta fase inclui também a realização da higiene da cavidade oral com a completa remoção de todos os depósitos moles e duros, bem como dos seus factores retentivos (Addy e Moran, 2008). A eliminação mecânica de placa bacteriana (PB) e de tártaro supra e infra-gengivalmente, designada de raspagem e alisamento radicular (RAR), tem oferecido resultados previsíveis, originando uma reorganização dos tecidos periodontais. No entanto, este procedimento está normalmente associado à formação de um epitélio longo de união (reparação), que conseqüentemente leva ao aparecimento de recessões gengivais (Macedo *et al.*, 2008; Pouxá *et al.*, 2006; *Consensus report*; 1996), não ocorrendo restauração funcional, nem morfológica do periodonto, mas sim uma cicatriz não funcional (Illueca *et al.*, 2006).

Seis a oito semanas após a implementação da técnica supracitada é realizada uma consulta de reavaliação que permite observar o sucesso ou insucesso do tratamento realizado pela variação do nível de inserção clínico e presença ou ausência de hemorragia após sondagem. Caso não haja melhoria dos valores indicadores de saúde

periodontal, apesar do esforço e *compliance* do paciente, deverá considerar-se a necessidade de avançar para a fase de tratamento correctivo (Claffey e Polyzois, 2008).

Na fase **correctiva** estão incluídas as medidas terapêuticas que visam a resolução das sequelas da periodontite (Salvi *et al.*, 2008). Neste contexto, faz sentido referir-nos ao conceito de regeneração periodontal que visa a reprodução ou reconstituição do periodonto perdido com neoformação do cemento radicular, do ligamento periodontal e do osso alveolar (*Glossary of periodontal terms*, 2001), devendo ser encarada como o objectivo *major* no tratamento de dentes afectados com periodontite (Bosshardt, 2008). Assim sendo, a regeneração é o processo mais desejado nesta fase, mas nem sempre é alcançada da melhor forma. Já Ramfjord esperava obter, com o retalho de Widman modificado, a cicatrização em forma de regeneração de todos os tecidos periodontais. No entanto, limitava-se a uma “reparação”, com formação de um epitélio longo de união, sem regeneração do tecido original, no que se refere à forma e à função (Wolf *et al.*, 2006).

A fase de **suporte periodontal** tem por finalidade a monitorização dos resultados obtidos durante a fase “activa” do tratamento no sentido de preservar, a longo-prazo, a saúde periodontal recuperada (Lang *et al.*, 2008).

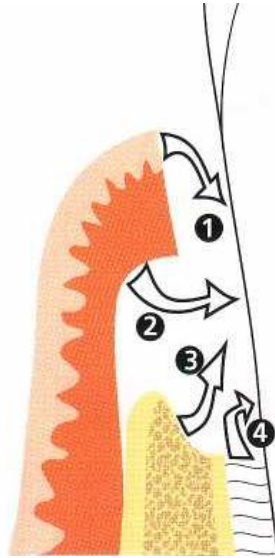
## 5 Terapia regenerativa

O tratamento regenerativo visa reproduzir e reconstituir uma zona anatómica perdida ou danificada, para que a arquitectura e funcionalidade dos tecidos sejam restauradas (Ohana *et al.*, 2010).

Fruto dos estudos efectuados por Melcher, em 1976, hoje sabe-se que a cicatrização dos defeitos periodontais é determinada pelo tipo de células que coloniza primariamente a superfície radicular exposta (teoria da compartimentalização) (Figura 1). Assim sendo, quatro grupos de células podem invadir os defeitos ósseos. Se forem as células epiteliais a proliferar ao longo da superfície radicular, a cicatrização resultará na formação de um

epitélio longo de união. No caso de serem as células do tecido conjuntivo, pode ocorrer reabsorção radicular. Se, por outro lado, forem as células ósseas as primeiras a entrar em contacto com a superfície radicular podem levar a reabsorção mas também a anquilose. Por último, as únicas células que demonstraram ter capacidade para formar nova inserção são originárias do ligamento periodontal (Melcher *et al.*, 1976; Illueca *et al.*, 2006). Na “*restitutio ad integrum*” a inserção das fibras do ligamento periodontal na região da formação do novo cemento denomina-se de nova inserção (Alonso *et al.*, 2006). A proliferação e migração das células do ligamento periodontal e a síntese de matriz extracelular, bem como a diferenciação dos cementoblastos e osteoblastos são pré-requisito para obter regeneração periodontal (Karring e Lindhe, 2008).

**Fig. 1** – Teoria da compartimentalização (Melcher, 1976)



**Legenda:** (1) células epiteliais, (2) células conjuntivas, (3) células do osso, ou (4) células do ligamento periodontal

Actualmente são vários os tratamentos “ditos” de regeneração disponíveis na literatura. De uma forma geral, podem ser divididos em técnicas de fundamento mecânico como a aplicação de membranas (Regeneração tecidual guiada - RTG) ou o preenchimento da lesão por enxertos (geralmente de tecido ósseo ou seu derivado); e as técnicas de fundamento biológico, como a aplicação de factores de crescimento (como o derivado das plaquetas – PDGF; ou as proteínas morfogenéticas do osso – BMP), de proteínas de adesão (como a fibronectina), de proteínas da matriz extracelular (proteínas da matriz do esmalte – Emdogain®), a engenharia tecidual com células vivas, a terapia genética e/ou uma combinação dos métodos mencionados (Baptista, 2005; Wolf *et al.*, 2006).

No âmbito deste trabalho apenas a regeneração mediante a aplicação de proteínas da matriz extracelular será discutida em pormenor.

## **6. Emdogain®**

### **6.1 EMD**

As Proteínas da matriz do esmalte são compostas por um conjunto de proteínas: as amelogeninas, a amelina, a enamelina, uma proteína sulfatada e a tuflelina (Hammarstrom, 1997). As amelogeninas são um grupo heterogéneo de diversas proteínas de baixo peso molecular que constituem a componente mais importante da fracção orgânica da matriz do esmalte (cerca de 90%) (Esposito *et al.*, 2004).

A matriz do esmalte, de origem suína, é recolhida de germens dentários em desenvolvimento de porcos com 6 meses de idade. Após uma fase de purificação, o seu extracto ácido, que contém amelogeninas hidrófobas, designa-se por derivado das proteínas da matriz do esmalte (EMD - *Enamel matrix derivate*). Quando estabilizado e desidratado por congelação, o EMD é comercializado sob a designação de Emdogain® (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden) (Venezia *et al.*, 2004).

O Emdogain® apresenta como componente principal na sua constituição, as amelogeninas de origem suína, água e um veículo de transporte, a solução aquosa de ester de alginato de propileno glicol (PGA). Este veículo vai permitir a aplicação do derivado das proteínas do esmalte sob a forma de um gel (Esposito *et al.*, 2004).

Os primeiros estudos sobre EMD foram publicados em 1997 por Heijl e seus colaboradores, avaliando o processo de cicatrização de 27 pares de defeitos periodontais. Após um período de três anos, os resultados clínicos e radiológicos 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.

O EMD surge assim como uma alternativa aos enxertos ósseos e à utilização de membranas no tratamento dos defeitos infra-ósseos, uma vez que nem um aporte ósseo, nem uma exclusão das células do epitélio são necessários para que ocorra regeneração (Louise *et al.*, 2004). O conceito subjacente à sua utilização é o de mimetizar as fases embrionárias da odontogénese, nas quais um tecido mineralizado semelhante ao cimento servirá de matriz para o repovoamento das células provenientes do LP (Francetti *et al.*, 2004; Hammarström *et al.*, 1997; Heijl *et al.*, 1997; Zetterström *et al.*, 1997; Venezia *et al.*, 2004).

Existem uma série de factores que podem modificar os resultados da terapia regenerativa, dos quais se destacam um controlo de placa inadequada ou uma pobre adesão ao tratamento periodontal de suporte e ainda os hábitos tabágicos. Contrariamente, tanto a idade, como as condições sistémicas (por ex. a diabetes) não parecem ter influência sobre os resultados da regeneração (*Consensus report*, 1996).

## 6.2 Cementogénese

Ao nível embriológico, as PME têm um papel importante no desenvolvimento dos tecidos de suporte dos dentes induzindo a cementogénese (Louise *et al.*, 2004).

Embora os mecanismos de acção das PME não estejam completamente esclarecidos relativamente à regeneração periodontal, estudos clínicos demonstraram que a matriz proteica constituinte do EMD representa um substrato que induz a diferenciação das células estaminais mesenquimais do tecido periodontal (Francetti *et al.*, 2004; Esposito *et al.*, 2004; Sculean *et al.*, 2002), tal como na embriogénese.

As células da bainha epitelial de Hertwig sintetizam e secretam PME que são depositadas na superfície da raiz do dente em formação (Hammarstrom, 1997; Chen *et al.*, 2010), sendo que das PME a maior percentagem, corresponde às amelogeninas (Fulea, 2002).

As amelogeninas, cuja concentração aumenta drasticamente durante o desenvolvimento dentário, estão primariamente envolvidas na regulação do crescimento de cristais de hidroxiapatite, aquando da formação do esmalte (Chen *et al.*, 2010), bem como na formação do cimento acelular sobre a superfície radicular (Hammarström *et al.*, 1997; Heijl *et al.*, 1997; Gestrelus *et al.*, 1997a; Chen *et al.*, 2010) e ainda, na inserção periodontal (Gestrelus *et al.*, 2000; Alonso *et al.*, 2006).

Quando as amelogeninas são aplicadas nas superfícies das paredes radiculares descontaminadas de uma lesão infra-óssea precipitam para formar PME estáveis com uma superfície hidrofóbica que lhes permite suportar interações com as células dos tecidos adjacentes, obtendo uma regeneração do sistema de união, com condições iniciais para a formação de um verdadeiro aparelho de suporte periodontal (Bouyer, 2007) permitindo, portanto, a regeneração dessa lesão (Louise *et al.*, 2004). Esta regeneração ocorre por uma interacção de células da matriz do esmalte e de células indiferenciadas dos tecidos periodontais vizinhos (Heijl *et al.*, 1997).

As moléculas de amelogenina podem desencadear uma versão equilibrada, sequenciada e autócrina de factores de crescimento que compõem os efeitos regenerativos do EMD (Lyngstadaas *et al.*, 2009). A segurança e eficácia clínica desta proteína foram já demonstradas tanto em animais (Hammarstrom *et al.*, 1997), como em humanos (Heijl *et al.*, 1997; Heden *et al.*, 1999). O EMD induz, portanto, a regeneração dos tecidos periodontais designadamente do cimento acelular, do ligamento periodontal e do osso alveolar. Ao imitar o desenvolvimento inicial e natural dos tecidos (Heijl *et al.*, 1997), assume um importante papel na cementogénese da raiz e no desenvolvimento do sistema de inserção periodontal (Chen *et al.*, 2010).

### **6.3 Propriedades**

Estudos demonstram que o Emdogain® actua na proliferação, adesão, biossíntese e formação de nódulos de mineralização e de fibroblastos do ligamento periodontal, inibindo a componente migratória das células epiteliais (Gestrelus *et al.*, 1997b).

Parece estar igualmente envolvido na formação do cimento acelular, que é um pré-requisito para o desenvolvimento do ligamento periodontal (Fulea, 2002). Uma vez que não parece ser absolutamente necessário que esse tecido mineralizado seja idêntico ao cimento acelular encontrado aquando da formação das raízes dentárias (Gestrelus *et al.*, 1997b), as PME podem, desta forma, induzir a sua regeneração (Hammarstrom, 1997).

A aplicação das PME em defeitos infra-ósseos estimulou significativamente a proliferação de células do ligamento periodontal, num estudo experimental em cães, nas primeiras quatro semanas, havendo, no entanto, uma limitação no processo de cicatrização (Onodera *et al.*, 2005).

O uso de EMD nos defeitos periodontais melhora o nível de inserção e reduz as bolsas periodontais (Giannobile e Somerman, 2003; Chen *et al.*, 2010), podendo ser favorável, na criação de condições ideais de cicatrização, por encerramento primário, minimizando, assim a contaminação da ferida por bactérias (Wachtel, 2003).

#### **6.4 Indicações**

No âmbito da regeneração periodontal, a utilização do Emdogain® está indicada como adjuvante da cirurgia periodontal através da sua aplicação tópica nas superfícies radiculares expostas (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).

De acordo com a literatura científica disponível, são três as grandes indicações do Emdogain® no âmbito da regeneração periodontal, designadamente no tratamento de defeitos infra-ósseos (Giannobile e Somerman, 2003), na regeneração de lesões de furca grau II mandibulares (com mínima perda óssea interproximal) (Meyle *et al.*, 2011) e ainda no tratamento de recessões gengivais, quando associado ao retalho de reposicionamento coronal (Froum *et al.*, 2001; Koop *et al.*, 2012; Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).

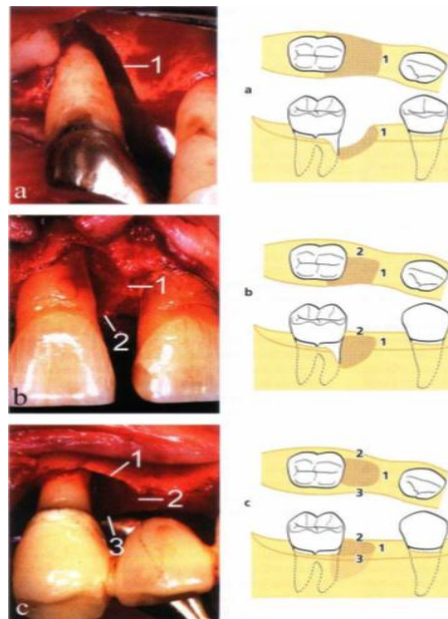
No âmbito deste trabalho apenas será discutida a utilização de Emdogain® no tratamento de defeitos infra-ósseos.

### **6.5 Defeitos periodontais**

Os defeitos periodontais podem ser de 3 tipos: defeitos supra-ósseos (ou horizontais), defeitos infra-ósseos (verticais ou intra-ósseos) e defeitos inter-radiculares (ou lesões de furca) (Lindhe *et al.*, 2008).

Os defeitos infra-ósseos são uma consequência natural do desenvolvimento da doença periodontal (Ayub *et al.*, 2010) e no que respeita a estes defeitos, objecto de estudo do nosso trabalho, podem ser caracterizados pelo sistema primário de classificação como defeitos de uma, duas e três paredes. Esta definição tem como base o número de paredes ósseas alveolares residuais (Cortellini e Tonetti, 2008).

**Fig. 2** – Classificação dos Defeitos infra-ósseos com base no número de paredes circundantes.



Legenda: Os defeitos são classificados como uma parede (a), duas paredes (b) ou três paredes (c).

(Karring e Lindhe, 2008).

Apesar dos defeitos infra-ósseos estarem normalmente associados a um maior risco de progressão da periodontite são, no entanto, os únicos com potencial de regeneração (Trombelli, 2002).

A relação espacial estabelecida entre a parede óssea do defeito e a superfície radicular é, contudo, um factor fundamental para o êxito da regeneração pois permite a estabilidade da zona de ferida durante a cicatrização do periodonto e a proximidade de fontes tecidulares e vasculares de células originais (Illueca *et al.*, 2006). Especificamente, os defeitos mais amplos e superficiais têm menor previsibilidade de tratamento do que os defeitos estreitos e profundos. Ou seja, estes últimos defeitos têm maior possibilidade de apresentar um ganho de inserção (Karring *et al.*, 2005).

## 6.6 Modo de aplicação.

O protocolo de aplicação do Emdogain® inicia-se com a anestesia da área a operar, devendo evitar-se usar, no entanto, anestésico local contendo adrenalina na área interdentária ou na margem gengival adjacente ao defeito periodontal a tratar (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).



Fig. 3a

Seguidamente deve efectuar-se uma incisão intrasulcular e proceder-se à elevação de um retalho muco-periósseo de espessura total. Caso se justifique, podem efectuar-se uma ou duas incisões de descarga. Todo o tecido de granulação, depósitos de placa bacteriana e/ou de tártaro devem ser removidos da superfície radicular na área do defeito a tratar. (figura 3a)

De acordo com a literatura científica, a técnica cirúrgica amplamente usada, nos estudos com EMD é o retalho de Widman modificado. No entanto, o retalho de preservação de papila aparece igualmente referido como uma alternativa viável (Trombelli *et al.*, 2002; Silvestri *et al.*, 2003; Wachtel *et al.*, 2003).

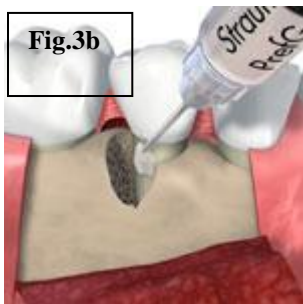
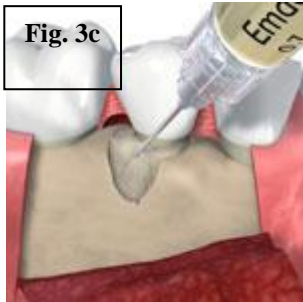


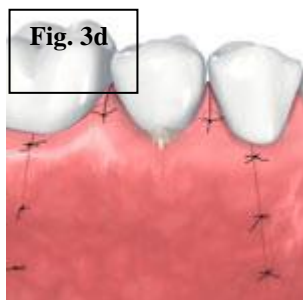
Fig.3b

Imediatamente antes da aplicação de EMD e logo após o desbridamento da área em questão, a maioria dos autores enfatiza o condicionamento da superfície radicular de forma a remover a *smear layer*. Podem ser usados vários agentes de condicionamento, no entanto, o fabricante do Emdogain® preconiza a utilização do PrefGel® que apresenta na sua constituição 24% de ácido etileno-diaminotetra acético (EDTA), a um pH neutro. Apesar de não existir evidência científica de que este procedimento seja eficaz, tradicionalmente, os condicionadores são utilizados, a fim de estimular a regeneração periodontal (Esposito, 2008).

Desta forma, deverá proceder-se ao condicionamento da superfície radicular com Straumann® PrefGel (EDTA a 24%), deixando actuar durante 2 minutos. De seguida deve lavar-se com solução salina estéril. (Figura 3b)



O Straumann® Emdogain deve ser imediatamente aplicado na superfície radicular exposta, evitando a contaminação com sangue ou com saliva. A aplicação deve começar pelo nível de osso mais apical, de forma a cobrir toda a superfície radicular. (Figura 3c)



Finalizada a aplicação do produto, deverá proceder-se à sutura, cujo objectivo deve ser sempre o encerramento primário da ferida cirúrgica e uma excelente estabilidade da ferida ao suturar. Neste sentido, o retalho pode ser alongado cortando perióstio mucogengival, evitando assim, uma sutura com tensão. O material de sutura deverá ser não irritante. (Figura

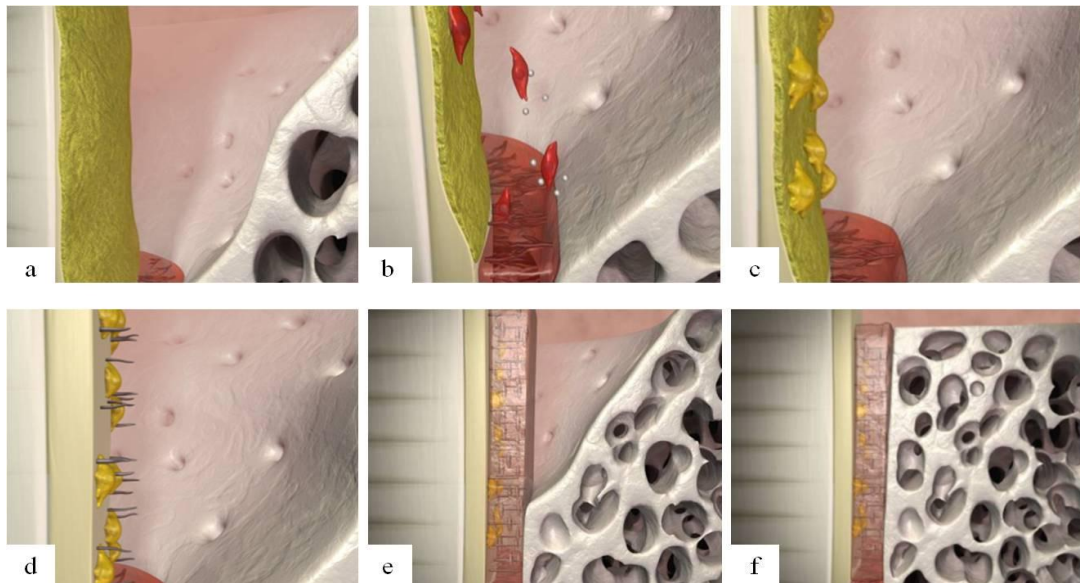
3d)

Não devem ser efectuadas medições clínicas nas áreas sujeitas a intervenção cirúrgica nos seis meses subsequentes ao tratamento (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).

## 6.7 Mecanismos de acção

Após a colocação do Emdogain® na superfície radicular, este precipita formando uma camada de matriz extracelular (Heijl *et al.*, 1997; Fulea, 2002; Chen *et al.*, 2010) (Figura 4a).

**Figura 4 (a-f)** - Mecanismos de acção do Emdogain®.



Alguns dias depois, assiste-se à estimulação e proliferação das células mesenquimatosas (Francetti *et al.*, 2004; Esposito *et al.*, 2004; Sculean *et al.*, 2007) provenientes da parte sã do periodonto, que irão estimular citocinas e outras substâncias autócrinas (Gestrelus *et al.*, 1997a; Lyngstadaas *et al.*, 2001). (fig. 4b)

Semanas depois, os cimentoblastos diferenciam-se e é formada a matriz do cemento acelular (Hammarström *et al.*, 1997; Heijl *et al.*, 1997; Gestrelus *et al.*, 1997a; Francetti *et al.* 2004; Chen *et al.*, 2010), onde se fixarão as fibras do ligamento periodontal. (fig. 4c)

Meses depois, as fibras do LP vão ancorar-se à superfície radicular (Heijl *et al.*, 1997), dando lugar à neoformação de LP (Francetti *et al.*, 1997; Hammaström *et al.*, 1997;

Heijl *et al.*, 1997; Zetterström *et al.*, 1997; Venezia *et al.*, 2004) e ao preenchimento dos defeitos ósseos. (fig. 4d)

Cerca de um ano depois, o novo osso alveolar é formado sobre o cimento, dentro do defeito (Gestrelus *et al.*, 1997a,b; Sculean *et al.*, 2008; Trombelli *et al.*, 2008). (fig. 4e)

A sequência de eventos supracitada leva à regeneração periodontal e à formação de um novo suporte funcional (Hammarström *et al.*, 1997; Heijl *et al.*, 1997; Gestrelus *et al.*, 1997b). (fig.4f)

## **6.8 Vantagens e desvantagens**

A principal vantagem do Emdogain® prende-se com o facto de mimetizar o processo de desenvolvimento do periodonto de uma forma única (Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).

Apesar de ser de origem porcina, o Emdogain® é um produto absolutamente seguro, tendo já sido tratados mais de 1 000 000 de doentes sem efeitos secundários (Meyle *et al.*, 2011; Institut Straumann AG, Waldenburg, Switzerland; anteriormente Biora AB, Malmö, Sweden).

A utilização de Emdogain® pressupõe uma técnica mais simples, mais rápida e mais cómoda, especialmente em zonas de difícil acesso. O seu uso é menos invasivo, estando, aliás, associado a um menor número de complicações pós-operatórias, quando comparado com as técnicas convencionais de regeneração, nomeadamente com a regeneração tecidual guiada (RTG) onde o risco de exposição da membrana deve ser considerado (Esposito *et al.*, 2008; Pousa *et al.*, 2003).

No que respeita ao custo é equiparável às demais técnicas disponíveis (Pousa *et al.*, 2003).

Esta forma regenerativa está associada a uma menor morbidade, melhor cicatrização do tecido mole com menos dor e tumefacção para o paciente, após o tratamento cirúrgico (Sanz *et al.*, 2004).

### III. Materiais e Métodos

Para a realização do enquadramento teórico deste trabalho de revisão bibliográfica, utilizaram-se diversos artigos científicos que nos pareceram relevantes e ainda algumas obras literárias e duas teses de doutoramento. Os artigos científicos seleccionados referem-se, na sua totalidade, a artigos publicados em inglês, português, francês ou espanhol. Não foi aplicado qualquer limite temporal como critério de pesquisa.

A pesquisa foi efectuada através dos motores de busca da PubMed, do GoogleScholar e SciELO entre Abril e Junho do ano corrente.

As palavras-chave utilizadas foram “*EMD*”, “*emdogain*”, “*inrabony defects*”, “*infrabony defects*”, “*guided tissue regeneration*” e “*GTR*”.

No que respeita às duas teses consultadas encontravam-se disponíveis nas bibliotecas da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e na Universidade de Nantes.

Tendo em conta a multiplicidade de estudos disponíveis na literatura consultada e objectivando um maior rigor científico na discussão deste trabalho, optou-se por seleccionar apenas revisões sistemáticas e meta-análises para a elaboração da secção designada.

Assim sendo, para a realização da discussão, as palavras-chave usadas foram “*enamel matrix derivative*” e “*periodontal regeneration*”. Utilizou-se o bloqueador booleano “AND”, sem limitação temporal e/ou espacial, usando somente meta-análises e revisões sistemáticas. Desta pesquisa resultaram 15 artigos. Com base na leitura do título e do respectivo *abstract*, foram incluídos doze artigos (5 meta-análises e 7 revisões sistemáticas).

#### **IV. Resultados/Discussão**

Na literatura científica disponível, os estudos que avaliam a eficácia do EMD no tratamento de defeitos infra-ósseos distribuem-se por todos os graus da “pirâmide de evidência”. Desta forma, foi possível encontrar desde simples relatos de casos, passando por estudos não controlados de séries de casos, estudos de caso-controlo ou de coortes, estudos clínicos randomizados e controlados, multicêntricos e duplamente cegos até às revisões sistemáticas e meta-análises, que se encontram no topo da pirâmide de evidência.

No que respeita às revisões sistemáticas, ao utilizarem uma metodologia confiável, rigorosa e auditável (Kamei, 2011), são particularmente úteis para agrupar, de forma organizada, as informações resultantes de um conjunto de estudos, realizados de forma independente, acerca de determinado tratamento ou intervenção, que podem apresentar resultados controversos e/ou coincidentes. Para além de facilitarem a elaboração de directrizes clínicas, permitem identificar temas que necessitam de mais evidência científica, além de auxiliar na orientação para investigações futuras (Linde e Willich, 2003).

Uma meta-análise, por sua vez, visa extrair informação adicional de dados preexistentes através da união dos resultados de distintos trabalhos e pela aplicação de uma ou mais técnicas estatísticas. É um método quantitativo que permite combinar os resultados de diversos estudos realizados separadamente (geralmente extraídos de trabalhos publicados) e sintetizar as suas conclusões numa única conclusão ou mesmo extrair uma nova conclusão (Luiz, 2002).

Actualmente, assistimos cada vez mais à necessidade premente de prestar cuidados de saúde ditos de excelência, o que obriga os profissionais de saúde, dos quais os médicos dentistas não são excepção, a realizar a sua prática clínica baseada na evidência. De acordo com Sackett *et al.* (2000), a prática clínica baseada na evidência pode ser definida, como o uso consciente, explícito e criterioso da melhor e mais actual evidência de pesquisa na tomada de decisões clínicas sobre o cuidado de pacientes.

Tendo em conta o supracitado, para a realização desta secção, optámos por seleccionar apenas os tipos de estudos que se encontram no topo da pirâmide de evidência, designadamente as revisões sistemáticas e as meta-análises, que se revestem de especial importância pela altíssima relevância clínica que apresentam. (Tabela 1)

**Tabela 1.** Revisões sistemáticas e meta-análises

Autores	Estudos Incluídos	Meta Análise / Revisão sistemática	Resultados $\Delta$ Ps; $\Delta$ Nic; $\Delta$ RG	Conclusão	
<b>Froum, 2001</b>	6 RCT, boca dividida.	Revisão sistemática	EMD vs. OFD $\Delta$ PS 4.94 +/- 0.19 Vs. 2.24 +/- 0.38	Este estudo inclui 53 defeitos no grupo Emdogain® e 31 defeitos no grupo controlo com 23 indivíduos. Os resultados não incluem a estimativa do erro padrão, não podendo ser incluídos em meta-análise.	
<b>Kalpidis e Ruben, 2002</b>	12 estudos randomizados controlados	Meta-análise	PME vs. RTG $\Delta$ NIC= + 3.2, $\pm$ 0.9mm; - 3.2, $\pm$ 0.9mm; $\Delta$ RG= - 0.9, $\pm$ 0.4mm	A utilização de PME vs. RTG providencia melhorias significativas ao nível do NIC e da PS medidas 6 a 12 meses após tratamento. Os dados estudados não possuem significância estatística para poder ser considerada superior ou equivalente a outros procedimentos regenerativos.	
<b>Giannobile e Somerman, 2003</b>	1 meta análise / 7 estudos clínicos randomizados controlados e/1 estudos quasi-experimental	Revisão sistemática	PME vs. OFD Aumento NIC; Diminuição de PS; Preenchimento de defeito ósseo medido radiograficamente (dados estatísticos significativos com grande consistência)	1- Existem dados que suportam o uso de PME no tratamento de defeitos intra-ósseos periodontais para melhorar o NIC e diminuir as PS, contudo benefícios a longo prazo não são conhecidos. 2- De acordo com os estudos investigados as PME demonstram consistentemente grande eficácia quando comparadas com grupos de controlo. 3- As PME aparentam ser seguras em administrações múltiplas ou singulares em termos de resposta imunitária ou eventos de inflamação local ou sistémica. 4- Dados pré clínicos e clínicos, quanto a factores de crescimento induzido por PME, aparentam ser promissores mas não permitem obter conclusões.	
<b>Esposito, 2004</b>	10 estudos randomizados controlados.	Meta-análise	PME vs. OFD $\Delta$ NIC= +1.3mm $\Delta$ PS = -1mm $\Delta$ RG = 0.5mm	PME vs. RTG $\Delta$ PS = -0.6mm $\Delta$ RG = 0.5mm	As PME são capazes de aumentar significativamente o NIC e reduzir a PS quando comparadas com a técnica de OFD; Contudo não há provas de diferenças significativas entre PME e RTG.
<b>Venezia, 2004</b>	27 estudos RCT, 10 séries de casos e 1 ensaio clínico	Meta-análise	PME vs. OFD NIC = +4.07 vs. +2.55mm  PS= -4.82 vs. -2.59mm  RG = -0.77 vs. -1.37mm	PME + RTG NIC= +4.07 vs. +3.64mm  PS= -4.82 vs. -5.24mm  RG = +0.77 vs +1.5mm	As PME aparentam ser de utilização clínica segura e capazes de regenerar os tecidos periodontais perdidos. De acordo com parâmetros clínicos, o uso de PME é mais eficaz que a OFD e RTG.
<b>Esposito, 2005</b>	1 meta análise / 8	Meta-análise	PME vs. OFD	PME vs. RTG	O alto grau de heterogeneidade observada entre os ensaios sugere que os resultados devem ser

	estudos RCT		$\Delta$ NIC= + 1.2 mm $\Delta$ PS= - 0.8mm	$\Delta$ NIC e $\Delta$ PS - não relevante $\Delta$ RG = - 0.39mm	interpretados com grande cuidado. Não existem vantagens clínicas reais na utilização de PME vs. RTG, à excepção da menor recessão gengival observada no grupo com PME..
<b>Bosshardt, 2008</b>	103 artigos	Revisão sistemática	As PME podem ter efeito em: 1- quimiotaxia, proliferação e migração de células. 2- Proliferação e sobrevivência celular. 3- Expressão de factores de transcrição. 4- Expressão de factores de crescimento, Citoquinas, constituintes de matriz extracelular e outras macromoléculas. 5- Expressão de moléculas envolvidas na regulação de remodelação óssea.		Analisando todos os dados analíticos existem evidências das PME suportarem a cicatrização e formação de novo tecido periodontal.
<b>Pagliaro, 2008</b>	58 estudos RCT	Revisão sistemática	<b>RTG + PME vs. OFD + PME</b> $\Delta$ CAL= 1.22 mm vs. 1.20 mm $\Delta$ PS= 1.21 mm vs. 0.77 mm		Mais estudos deverão ser realizados sobre o tratamento de defeitos infra-ósseos utilizando as técnicas mencionadas. Existe necessidade de estudos controlados randomizados bem orientados sobre as complicações pós-operatórias e as opiniões de pacientes.  Maior Recessão gengival no grupo com RTG comparado com EMD.
<b>Trombelli, 2008</b>	4 Ensaios clínicos randomizados e/ou revisão sistemáticas	Revisão sistemática	EMD vs. OFD  Aumento do NIC (de 1.20mm a 1.33mm) e diminuição da PS (de 0.77mm a 1.60mm).  EMD vs RTG		PME + OFD comparado com OFD isoladamente, com um acréscimo no NIC e redução da PS.  EMD + RTG sem vantagem adicional comparativamente à utilização de RTG ou EMD isoladamente.
<b>Esposito, 2009</b>	1 meta Análise / 4 estudos RCT	<b>Meta-análise</b>	PME vs. RTG  $\Delta$ NIC= não relevante; ; $\Delta$ PS = não relevante; $\Delta$ RG = -0.4mm		As actuais vantagens clínicas da utilização de PME são desconhecidas. A RTG apresenta maior RG e mais complicações pós-operatórias que o EMD. Alto grau de heterogeneidade observado entre os ensaios.
<b>Parrish, 2009</b>	23 estudos RCT	Revisão sistemática	PME vs. regeneração óssea guiada  $\Delta$ CAL= + 3.71mm		O uso de PME com membranas apresenta melhores resultados na ordem de 1 a 2mm que a técnica OFD. O uso de qualquer tipo de membrana com PME suporta maior ganho de NIC que qualquer outra OFD.
<b>Koop et al , 2012</b>	27 estudos RCT	Revisão sistemática	EMD vs. OFD $\Delta$ NIC = +1.30 mm $\Delta$ PS= - 0.92 mm		No tratamento de defeitos intra-ósseos o uso de EMD providencia ganho significativo quando comparado com OFD. Observou-se alto grau de heterogeneidade entre estudos. Os dados devem ser interpretados com grande cuidado porque podem existir dados sobrestimados quanto ao efeito do tratamento.

**Legenda:** NIC: nível de inserção clínica; PS: profundidade de sondagem; RG: recessão gengival; RCT: ensaios clínicos controlados randomizados; RTG: Regeneração tecidual guiada; EMD: proteínas derivadas de matriz do esmalte; OFD: *Open flap debridement* (Retalho de espessura total);  $\Delta$ : variação; mm: Milímetros

Froum *et al.*, em 2001, efectuaram uma revisão sistemática com base em 6 RCTs (Heijl *et al.*, 1997; Heden *et al.*, 1999; Pontoriero *et al.*, 1999; Heden, 2000; Froum *et al.*, 2001b; Lekovic *et al.*, 2000) , e tendo em conta os resultados encontrados, os autores

sugerem um método de decisão no tratamento de defeitos infra-ósseos com PME, combinando os princípios biológicos de regeneração e considerações sobre a morfologia do defeito, de forma a alcançar o sucesso clínico. Esta árvore de decisão clínica caracteriza-se por possuir 3 ramos terapêuticos. O primeiro ramo da árvore diz respeito a defeitos bem delineados e profundos que sugerem o uso de PME isoladamente. O segundo ramo diz respeito a defeitos infra-ósseos mal delineados com uma profundidade moderada e que deverão ser solucionados com a ajuda de PME + enxerto ósseo. Nestes dois ramos pode ser usado o retalho avançado coronalmente, se necessário. O terceiro e último ramo refere-se a defeitos infra-ósseos rasos ou supracrestais, os quais devem ser tratados com PME + enxerto + membrana associado ao retalho avançado coronalmente. No entanto, mais dados clínicos são ainda necessários para testar a hipótese das *guidelines* propostas.

Numa outra revisão sistemática que incluiu séries de casos, ensaios controlados e de boca dividida, com um *follow-up* de 5 anos (Heijl *et al.*, 1997; Pontoriero *et al.*, 1999; Sculean *et al.*, 1999; Lekovic *et al.*, 2000; Okuda *et al.*, 2000; Sivistri *et al.*, 2000; Froum *et al.*, 2001; Pietruska., 2001; Sculean *et al.*, 2001; Zucchelli *et al.*, 2002; Velasquez *et al.*, 2002; Tonetti *et al.*, 2002), verificou-se um ganho de NIC e uma redução de PS, bem como uma diminuição da RG, quando utilizado PME com RTG, demonstrando um claro benefício da associação dos dois. Os autores identificam a necessidade de controlo dos factores modificadores, enfatizando a regulação da interacção celular na melhoria da previsibilidade, da qualidade e na quantidade da regeneração guiada com PME nos resultados clínicos e histológicos. No entanto, a consistência dos resultados histológicos é questionada (Kalpidis e Ruben, 2002).

Em 2003, numa revisão sistemática com 7 RCT (Heijl *et al.*, 1997; Silvestri *et al.*, 2000; Froum *et al.*, 2001; Sculean *et al.*, 2001; Tonetti *et al.*, 2002; Okuda *et al.*, 2000; Pontoriero *et al.*, 1999) e um estudo quasi-experimental (Zetterström *et al.*, 1997), foi evidenciado que o uso de PME leva a melhorias do NIC e a uma redução da PS, comparativamente ao grupo de controlo (cirurgia de retalho). Os seus efeitos a longo prazo não foram, no entanto, avaliados. As PME aparentam ser seguras em administrações múltiplas ou singulares em termos de resposta imunitária ou eventos de inflamação local ou sistémica. Os dados pré-clínicos e clínicos, quanto a factores de crescimento induzidos por PME, parecem ser promissores mas não permitem tecer

conclusões definitivas. Para além disso, esta revisão sistemática sugere que a administração de PME é segura devido à não activação da resposta de anticorpos ou outros eventos inflamatórios, quer locais, quer sistémicos. Estas premissas são, no entanto, escassas para a realização de uma conclusão esclarecedora (Giannobile e Somerman, 2003).

Na meta-análise de Esposito *et al.*, em 2004, foi analisada a eficiência do EMD no tratamento de defeitos infra-ósseos comparativamente a RTG e a um grupo de controlo. 8 ensaios clínicos randomizados (Sculean *et al.*, 2001a; 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) com 1 ano de *follow-up* foram incluídos. No grupo que utilizou o EMD verificou-se uma melhoria do NIC de 1.3 mm e uma redução da PS de 1 mm, quando comparado com o grupo de controlo (cirurgia de retalho-OFD). Os autores ao analisarem os 6 estudos que comparavam EMD vs. RTG, verificaram uma maior redução da PS média nos grupos de RTG (0.58mm). Segundo os investigadores, a maior redução da PS neste grupo pode ser explicada pelo aumento da RG observada no grupo com RTG (0.47mm). No que diz respeito ao NIC, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, donde se conclui que o EMD é igualmente eficaz. Para além disso, não existem evidências de que os dentes possam ser mais “salvos” usando PME. Os autores alertam para o facto da alta heterogeneidade encontrada nos resultados dos diferentes ensaios poder ser explicada, nomeadamente pelo que diz respeito ao uso de antibióticos, às diferentes técnicas cirúrgicas utilizadas no grupo de controlo, à PS inicial do defeito infra-ósseo ou poder apenas dever-se ao facto de serem ensaios independentes sem conflito de interesses ou serem fundeados pelo fabricante. Em relação a este último factor, os autores referiram que os estudos fundeados pelo fabricante possuíam um maior risco de enviesamento, o que pode conduzir a “achados erróneos”.

Venezia *et al.*, (2004) efectuaram uma meta-análise que pretendia avaliar os resultados clínicos do tratamento de defeitos infra-ósseos com EMD, em termos de redução de profundidade de sondagem, ganho de nível de inserção clínico, preenchimento do defeito (através de estudos com re-entrada) e parâmetros radiográficos. Para esse efeito os autores recorreram a 28 estudos (Heijl *et al.*, 1997; Zetterström *et al.*, 1997; Heden *et al.*, 1999; Pontoriero *et al.*, 1999; Sculean *et al.*, 1999a, 1999c, 1999d; Heard *et al.*,

2000; Heden, 2000; Lekovic *et al.*, 2000; Okuda *et al.*, 2000; Parashis e Tsiklakis, 2000; Parodie *et al.*, 2000; Sivestri, 2000; Yukna e Melloning, 2000; Bratthall *et al.*, 2001; Camargo *et al.*, 2001; Froum *et al.*, 2001; Lekovic *et al.*, 2001a, 2001b; Okuda *et al.*, 2001; Pietruska *et al.*, 2001; Sculean *et al.*, 2001a, 2001d, 2001c; Cardaropoli e Leonhardt, 2001; Minable *et al.*, 2002; Rosen e Reynolds, 2002; Scheyer *et al.*, 2002; Sculean *et al.*, 2002b, 2002c; Tonetti *et al.*, 2002; Trombelli *et al.*, 2002b; Velasquez-Plata *et al.*, 2002; Windisch *et al.*, 2002; Zucchelli *et al.*, 2002; Sculean *et al.*, 2003; Silvestri *et al.*, 2003), o que corresponde a 955 defeitos infra-ósseos tratados com EMD.

Os resultados desta meta-análise revelam que, após a utilização de EMD, a profundidade de sondagem com um valor inicial (médio) de  $7.94 \pm 0.05$  mm foi reduzida para valores de  $3.63 \pm 0.04$  mm ( $p=0.000$ ). Da mesma forma, os valores médios do nível de inserção clínico variaram de  $9.4 \pm 0.06$  mm para  $5.82 \pm 0.07$  mm ( $p=0.000$ ). Estes dados revelaram ser superiores aos obtidos quer com cirurgia de acesso (OFD), quer com RTG. Contrariamente, do ponto de vista histológico, a RTG parece ser mais previsível que o EMD no que diz respeito à formação de cimento e osso. Os autores verificaram ainda que a associação EMD e RTG não parece trazer vantagens.

No ano seguinte, Esposito *et al.*, (2005), baseando-se em 9 estudos (Tonetti *et al.*, 2002; Pontoriero *et al.*, 1999; Zuchelli *et al.*, 2002; Francetti *et al.*, 2004; Okuda *et al.*, 2000; Heijl *et al.*, 1997; Silvestri *et al.*, 2000, Sanz *et al.*, 2004; Rösing *et al.*, 2005), analisaram os efeitos clínicos da regeneração de defeitos infra-ósseos, com recurso às técnicas OFD vs. PME, OFD vs. RTG e PME vs. RTG, com um *follow-up* de 1 ano. Os resultados apresentam um ganho significativo de NIC e uma redução da PS nos grupos que utilizaram PME ou RTG, relativamente ao grupo de controlo (OFD). Quando comparados os grupos PME *versus* RTG, a única diferença estatisticamente significativa foi o aumento da RG no grupo com RTG (0.39mm). Esta meta-análise apresenta, contudo, um elevado grau de heterogeneidade.

Na revisão sistemática orientada por Bosshardt *et al.* (2008), que procurava estudar os mecanismos de acção das PME, verificou-se que estas actuam ao nível molecular e celular interferindo na cicatrização e, desta forma, parecem contribuir para a formação de novo tecido periodontal. Embora os mecanismos de acção não sejam completamente conhecidos os autores encontraram as seguintes evidências: 1- as PME causaram um

aumento da concentração de fibroblastos gengivais, fibroblastos do ligamento periodontal e possuem um efeito quimiotático para células endoteliais; 2- As PME favorecem uma maior proliferação celular de fibroblastos do ligamento periodontal em relação a fibroblastos gengivais. Aumentam a taxa de cicatrização graças ao aumento de fibroblastos e de células osteogénicas. Promovem um aumento de vasos sanguíneos e o seu veículo de transporte (gel PGA) tem propriedades antiomicrobianas; 3- As PME aumentam a expressão de factores de transcrição que estão relacionados com a diferenciação de condroblastos, osteoblastos e cementoblastos; 4- As PME estimulam a síntese proteica, induzem a redução do evento inflamatório e aumentam a activação do gene que regula as moléculas de crescimento que promovem a reparação celular; 5- promovem a remodelação óssea ao activar ostoblastos e ao reduzir a acção osteoclástica.

Com o propósito de estabelecer directrizes em termos de eficácia, complicações e opinião dos pacientes para o tratamento de lesões infra-ósseas  $\geq 3\text{mm}$ , a Sociedade Italiana de Periodontologia comissionou uma revisão científica seguindo as instruções e ferramentas sugeridas pela comissão de avaliação e pesquisa de directrizes. Estas directrizes foram desenvolvidas por um grupo multidisciplinar, baseadas numa revisão sistemática rigorosa projectadas para um equilíbrio entre rigor científico aliado a uma discussão aberta e consultiva por intermédio de especialistas. A selecção de revisões sistemáticas (Esposito *et al.*, 2005; Needleman *et al.*, 2006) e de RCTs (Chung *et al.*, 1990; Cortellini *et al.*, 1995; Pritlove-Carson *et al.*, 1995; Cortellini *et al.*, 1996; Mora *et al.*, 1996; Mayfield *et al.*, 1998; Tonetti *et al.*, 1998; Cortellini *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1998; Pontoriero *et al.*, 1999; Ratka-Kruger *et al.*, 2000; Silvestri *et al.*, 2000; Sculean A *et al.*, 2001; Cortellini *et al.*, 2001; Zucchelli *et al.*, 2002; Loos *et al.*, 2002; Heijl *et al.*, 1997; Heden *et al.*, 1997; Okuda *et al.*, 2000; Tonetti *et al.*, 2002; Silvestri *et al.*, 2003; Francetti *et al.*, 2004; Sanz *et al.*, 2004; Tonetti *et al.*, 2004; Rösing *et al.*, 2005) foi criteriosamente avaliada com base no sistema de valoração, introduzido pela Agência de Pesquisa e Legislação da Saúde Norte Americana, em 2000. Neste sistema de valoração qualitativa, dois critérios são utilizados. O primeiro avalia uma componente relativa ao grau de enviesamento dos dados (nível de evidência) e o segundo critério avalia o grau de transferibilidade dos resultados da prática clínica para a melhoria de saúde da população (força da recomendação). Apenas os valores de mais alta valoração foram alvo de análise e as directrizes recomendadas para o tratamento de

lesões infra-ósseas  $\geq 3$ mm foram as seguintes: “ é recomendado o tratamento de lesões infra-ósseas  $\geq 3$ mm com recurso a OFD, RTG ou PME, contudo, as PME e a RTG promovem maior ganho de NIC (respectivamente 1.20 mm e 1.22mm), maior redução de PS (0.77mm e 1.21mm) e um maior ganho de nível ósseo ao fim de 1 ano de 1.08mm e 1.39mm (respectivamente), em relação à técnica OFD“ (Pagliaro *et al.*, 2008).

Trombelli *et al.*, (2008) elaborou uma revisão sistemática para o estudo da associação de EMD a RTG (Sculean *et al.*, 2001b, 2004; Minable *et al.*, 2002; Sipos *et al.*, 2005) e da utilização de agentes bioactivos em combinação com enxerto ou RTG. Segundo estes autores, vários artigos demonstram um ganho significativo do NIC, após a regeneração de defeitos infra-ósseos com PME. Da mesma forma, neste estudo o efeito adicional de PME + OFD comparado com OFD isoladamente resulta num acréscimo no NIC de 1.20mm a 1.33mm e uma diminuição da PS de 0.77mm a 1.60mm. Ainda, neste grupo não se verificou uma diferença significativa quanto ao ganho de osso marginal ou nível de recessão gengival. Os resultados a longo prazo revelaram que a combinação de PME com enxerto ósseo parece ser estável. Por outro lado, a associação de PME a RTG não mostrou vantagem clínica adicional comparativamente à utilização isolada de RTG ou PME (Trombelli *et al.*, 2008).

Limitada também pelo elevado grau de heterogeneidade está a meta-análise realizada por Esposito *et al.*, em 2009, que incluiu ensaios clínicos randomizados (RCT) em defeitos infra-ósseos tratados com PME, em comparação com OFD e RTG, com 1 ano de *follow-up*. Com este trabalho os autores concluíram que a utilização de PME melhora significativamente os níveis de inserção e reduz a profundidade das bolsas, comparativamente ao grupo de controlo (OFD). Estas diferenças não se verificaram no grupo PME vs. RTG, mas verificou-se um aumento de complicações pós-operatórias e uma maior RG no grupo tratado com RTG.

Com o objectivo de expandir a meta-análise realizada por Kalpidis e Ruben, em 2002, foi conduzida uma revisão sistemática, por Parrish *et al.*, em 2009, que incluíram 23 estudos (Cardaropoli e Leonhardt, 2002; Francetti *et al.*, 2004b; Froum *et al.*, 2001; Gurinsky *et al.*, 2004; Heden *et al.*, 1999; Heijl *et al.*, 1997; Lekovic *et al.*, 2000; Okuda *et al.*, 2000; Rosling *et al.*, 2005; Sanz *et al.*, 2004; Sculean *et al.*, 1999c, 1999d; Sculean *et al.*, 2001a, 2001d; Sculean *et al.*, 2005; Silvestri *et al.*, 2000; Silvestri *et al.*,

2003; Silvestri *et al.*, 2005; Tonetti *et al.*, 2002; Wachtel *et al.*, 2003; Windisch *et al.*, 2002; Zucchelli *et al.*, 2002; Zucchelli *et al.*, 2003) para comparar diversas técnicas de regeneração. Neste estudo, os autores realizaram um modelo estatístico que procurou normalizar as profundidades de sondagem entre grupos de modo a poder calcular com maior exactidão o impacto das técnicas regenerativas sobre os defeitos infra-ósseos. Segundo o autor: “Vários pesquisadores inferiram a relação entre profundidade de sondagem inicial (PSI) e o ganho de NIC” (Parrish *et al.*, 2009). Esta afirmação está suportada pela correlação analítica realizada por Laurel *et al.*, 1998, que verificou a existência de uma relação positiva entre PSI e o ganho de NIC a uma razão de  $R=0.52$  e  $0.53$  (Laurel *et al.*, 1998). Tendo em conta esta normalização de PSI, na técnica OFD + PME, os valores quanto ao NIC apontaram para um ganho de 3.71 mm relativamente ao grupo OFD isolado (Parrish *et al.*, 2009).

Uma revisão sistemática, publicada no *Journal of Periodontology* por Koop *et al.*, (2012), tentou responder à questão se o EMD era superior em termos de regeneração periodontal quando comparado a um grupo de controlo ou a outras técnicas. Esta meta-análise avaliou o efeito do EMD no tratamento de defeitos infra-ósseos, de lesões de furca e em casos de recessão gengival. Apresentaremos apenas as conclusões referentes aos defeitos infra-ósseos. Considerando apenas RCTs, com um ano de follow-up (Tonetti *et al.*, 2002; Pontoriero *et al.*, 1999; Zuchelli *et al.*, 2002, 2003; Francetti *et al.*, 2004; Okuda *et al.*, 2000; Heij *et al.*, 1997; Silvestri *et al.*, 2000, Sanz *et al.*, 2004; Rösing *et al.*, 2005; Pietruska, 2001; Francetti *et al.*, 2005; Bokan *et al.*, 2006; Sculean *et al.*, 2006; Guida *et al.*, 2007; Sculean *et al.*, 2007, 2008; Fickl *et al.*, 2009; Grusovin e Esposito 2009; Lekness *et al.*, 2009), foi analisado o ganho de NIC e a diminuição da PS nas várias modalidades de tratamento estudadas. Apesar do alto grau de enviesamento dos estudos incluídos nesta revisão foi possível concluir que “ no tratamento de defeitos infra-ósseos o uso de EMD possui maior eficácia que o tratamento com apenas cirurgia de acesso (OFD - grupo controlo), mas é tão eficaz como o uso de membranas reabsorvíveis (grupo RTG).

Um outro aspecto importante a ressaltar prende-se com o facto de serem muito poucos os estudos disponíveis na literatura que efectuem análise histológica. De facto, dos estudos incluídos nas meta-análises e revisões sistemáticas consultadas, só cinco (Parodi *et al.*, 2000; Sculean *et al.*, 1999; Sculean *et al.*, 2001; Windisch *et al.*, 2002; Yukna e

Melloning *et al.*, 2000) possuem avaliação histológica, mesmo que num deles (Parodi *et al.*, 2000) esta avaliação seja somente empregue em duas séries de casos. Tendo em conta que a avaliação histológica é o único meio capaz de comprovar se efectivamente ocorreu uma verdadeira regeneração, este facto remete para uma avaliação incompleta na maioria dos estudos considerados. Assim sendo e pelo facto de poucos estudos apresentarem evidências histológicas e sendo esta estimativa extremamente relevante pelos motivos que apresentámos, a sua ausência não permite uma análise conclusiva.

### III- Conclusão

Apesar das PME estarem disponíveis no mercado há mais de 10 anos e a sua utilização ser creditada em mais de 50 países para o tratamento de lesões infra-ósseas, os seus mecanismos de acção não são completamente conhecidos. As várias revisões sistemáticas e meta-análises disponíveis mostram benefícios clínicos e histológicos, contudo, urge a necessidade de saber exactamente o papel das PME na regeneração periodontal.

Analisando todos os dados, existem evidências das PME promoverem a cicatrização e a regeneração de novo tecido periodontal.

O EMD parece possuir vantagens em relação a outros métodos de regeneração, com menos complicações pós-operatórias, não se tendo demonstrado, no entanto, uma superioridade no que respeita a salvar mais dentes comprometidos ou na avaliação dos critérios estéticos pelo próprio paciente, após um ano da sua aplicação.

Para o tratamento de defeitos intra-ósseos, a maioria dos estudos mostra que o uso de EMD e RTG, coadjuvante com a elevação de um retalho mucoperiósseo (OFD), produz um benefício clínico significativo, relativamente ao ganho de NIC e redução de PS.

De forma a sintetizar os resultados obtidos dos estudos seleccionados, foi possível alcançar as seguintes conclusões:

1º-Quando comparada a utilizações de EMD com o grupo de controlo (OFD), a nível radiográfico não foram encontradas diferenças entre os grupos. Contrariamente, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros clínicos, havendo um maior ganho de NIC e uma maior redução da PS no grupo em que se utilizou EMD.

2º- Na maioria dos estudos que compararam a regeneração de defeitos infra-ósseos com EMD *versus* RTG foi possível concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Contudo verificou-se que a recessão gengival era consistentemente maior no grupo em que se recorreu à RTG.

3º- Por último, quando se avaliou a utilização isolada de EMD comparativamente à associação EMD+RTG não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, revelando que a associação não traz qualquer vantagem adicional face à utilização de RTG ou EMD isoladamente.

No entanto, a heterogeneidade entre os estudos é substancial. Mais estudos devem ser realizados para definir critérios universais no sentido de permitir que toda a pesquisa feita sobre este tema apresente alto grau de evidência científica. Assim sendo, seria pertinente uma actualização mundial de directrizes para o tratamento de defeitos infra-ósseos.

## Bibliografia

1. Addy, M., Moran, J. (2008). Chemical supragigival plaque control. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp.734-735.
2. Ayub, L.G., Belém, N.J.A., Grisi, M.F.M., Souza, S.L.S., Taba, J.M., Palioto, D.B. *et alii*. (2010). Abordagem atual para matriz derivada do esmalte no tratamento periodontal. *Revista Periodontia*, 20 (4), pp. 30-37.
3. Baptista, I. (2005). Contribuição para o estudo da regeneração periodontal. A influência de um derivado das proteínas do esmalte no epitélio gengival – estudo *in vivo*. Tese de Doutorado, Universidade de Coimbra.
4. Bokan, I., Bill, J.S., Schlagenhauf, U. (2006). Primary flap closure combined with Emdogain alone or Emdogain and Cerasorb in the treatment of intra-bony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 33, pp. 885-893.
5. 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 (8), pp. 87-105.
6. Bouyer, A. (2007). Régénération parodontal au niveau des lésions intra-osseuses avec l'émdogain®: analyse de la littérature de 1997 à 2007. Thèse de doctorat. Université de Nantes.
7. Bratthall, G., Lindberg, P., Havemose-Poulsen, A., Holmstrup, P., Bay, L., Söderholm, G., Norderyd, O., Andersson, B., Rickardsson, B., Hallström, H., Kullendorff, B., Sköld Bell, H. (2001). Comparison of ready-to-use EMDOGAIN®-gel and EMDOGAIN® in patients with chronic adult periodontitis. A multicenter clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, pp. 923-929.
8. Camargo, P.M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Vasilic, N., Kenney, E.B., Madzarevic, M. (2001). The effectiveness of enamel matrix proteins used in

combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, pp. 1016-1022.

9. Cardaropoli, G. & Leonhardt, A.S. (2002). Enamel matrix proteins in the treatment of deep intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 73 pp. 501-504.
10. Chen, F.M., Zhang, J., Zhang, M., An, Y., Chen, F., Wu, ZF. (2010). A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials*, 31, pp. 7892-7927.
11. Claffey, N. & Polyzois, L. (2008). Non-surgical therapy. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp.766-776.
12. Cobb, C.M. (1996). Consensus report. Non-surgical pocket therapy: mechanical. World Workshop in periodontics. *Annals of Periodontology*, 1, pp. 443-490.
13. Consensus report (1996). Periodontal disease: pathogenesis and microbial factors. World Workshop in periodontics. *Annals of Periodontology*, 1, pp. 926-932.
14. Consensus report (1996). Periodontal regeneration around natural teeth. World Workshop in periodontics. *Annals of Periodontology*, 1, pp. 667-670.
15. Cortellini, P. & Tonnetti, M.S. (2008). Regenerative periodontal therapy. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 901.
16. Echeverría, G.J.J. & Echeverría, M.A. (2007) Manual de Periodontia. Ergon. Madrid. pp. 3-12.
17. Echeverría, G.J.J. & Echeverría, M.A. (2008) Manual de cirurgia Periodontal. Ergon. Madrid. pp. 31-43.

18. Esposito, M., Coulthard, P., Thomsen, P., Worthington, H.V. (2004) Enamel matrix derivate for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects. A Cochrane Systematic review. *Jorurnal of Dental Education*, 68, pp. 834-44.
19. Esposito, M., Grusovin, M.G., Coulthard, P., Worthington, H.V. (2005). Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane database of systematic reviews*, 4, pp. 2-49.
20. Esposito, M., Grusovin, M.G., Papanikolaou, N., Coulthard, P., Worthington, H.V. (2009). Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Australian Dental Journal*, 55, pp. 101-104.
21. Fickl, S., Thalmair, T., Keschull, M., Böhm, S., Wachtel, H. (2009). Microsurgical access flap in conjunction with enamel matrix derivative for the treatment of intrabony defects: A controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, pp. 784-790.
22. Francetti, L., Del Fabbro, M., Basso, M., Testori, T., Weinstein, R. (2004). Enamel matrix proteins in the treatment of intra-bony defects. A prospective 24-month clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, pp. 52-59.
23. Francetti, L., Trombelli, L., Lombardo, G., Guida, L., Cafiero, C., Rocuzzo, M., Carusi G, Del Fabbro, M. (2005). Evaluation of efficacy of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects: A 24-month multicenter study. *The International Journal of Penodontics & Restorative Dentistry*, 25, pp. 461-473.
24. Froum, S., Lemler, J., Horowitz, R., Davidson, B. (2001). The use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal osseous defects: a clinical decision tree based on biologic principles of regeneration. *The International Journal of Penodontics & Restorative Dentistry*, 21(5), pp. 437-449.
25. Froum, S.J., Weinberg, M.A., Rosenberg, E., Tarnow, D. (2001b). A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-months re-entry study. *Journal of Clinical Periodontology*, 72, pp. 25-34.

26. Gestrelus, S., Andersson, C., Johansson, A.C., Persson, E., Brodin, A., Rydhag, L., Hammarström, L. (1997a). Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, pp. 678-684.
27. Gestrelus, S., Andersson, C., Lidström, D., Hammarström, L., Somerman, M. (1997b). In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, pp. 685-692.
28. Giannobile, W.V. & Somerman, M.J. (2003) Growth Amelogenin-Like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), pp. 193-204.
29. Grayson, R.E., Yamakoshi, Y., Wood, E.J., Agren, M.S. (2006). The effect of the amelogenin fraction of enamel matrix proteins on fibroblast-mediated collagen matrix reorganization. *Biomaterials*, 27, pp. 2926-2933.
30. Grusovin, M.G. & Esposito, M. (2009). The efficacy of enamel matrix derivative (Emdogain) for the treatment of deep infrabony periodontal defects: A placebo-controlled randomised clinical trial. *European Journal of Oral Implantology*, 2, pp. 43-54.
31. Gurinsky, B.S., Mills, M.P., Melloning, J.T. (2004). Clinical evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft and enamel matrix derivative versus enamel matrix derivative alone for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 75, pp. 1309-1318.
32. Hammarström L. (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, pp. 658-668.
33. Heard, R.H., Mellonig, J.T., Brunsvold, M.A., Lasho, D.J., Meffert, R.M., Cochran, D.L. (2000). Clinical evaluation of wound healing following multiple exposures to enamel matrix protein derivative in the treatment of intrabony periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 71, pp. 1715-1721.

34. Heden, G. (2000). A case report study of 72 consecutive Emdogaintreated intrabony periodontal defects: clinical and radiographic findings after 1 year. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 20, pp. 127-139.
35. Heden, G., Wennstrom, J., Lindhe, J. (1999). Periodontal tissue alterations following Emdogain® treatment of periodontal sites with angular bony defects. A serie of case reports. *Journal of Clinical Periodontology*, 26, pp. 855-860.
36. Heden, G., Wennström, L. (2006). Five-year follow-up of regenerative periodontal therapy with enamel matrix derivative at sites with angular bone defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(2), pp. 295-301.
37. Heijl, L., Heden, G., Svärdröm, G., Östrgren, A. (1997). Enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of intrabony periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, pp. 705-714.
38. Illueca, F.M.A., Vera, P.B., Cabanilles, P.G., Fernandez, V.F., Loscos, F.J.G. et al. (2006). Periodontal regeneration in clinical practice. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 11, pp. 382-392;
39. Institut Straumann AG. [em linha]. Disponível em <<http://www.straumann.com.br/br-index/products/products-biologics/products-emdogain.htm>>. [Consultado em 16/05/2012].
40. Kalpidis, C.D.R. & Ruben, M.P. (2002). Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative: a literature review. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, pp. 1360-1376.
41. Kamei, F.K. (2011). Introdução à revisão sistemática da literatura. [em linha]. Disponível em <<http://www.slideshare.net/fkenjikamei/introduo-reviso-sistematica-da-literatura/download>>. [09/06/2012]
42. Karring, T. & Lindhe, J. (2008). Concepts in periodontal tissue regeneration. In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. fifth edition . Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 543; pp.552.

43. Karring, T., Lindhe, J., Cortellini, P. (2003). Regenerative Periodontal Therapy. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 4th edition. Oxford, Blackwell Munksgaard, pp. 680.
44. Kinane, D.F., Berglundh, T., Lindhe, J. (2008). Pathogenesis of periodontitis. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp.285-292.
45. Koop, R., Merheb, J., Quirynen, M. (2012). Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in reconstructive periodontal therapy: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 83(6), pp. 707-720.
46. Lang, N.P. & Baur, H.R. (2008). Systematic phase of therapy. *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp.687.
47. Lang, N.P., Salvi, G.E., Tonetti, N.P. (2008) Supportive periodontal therapy (SPT). *In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 1297.
48. Leknes, K.N., Andersen, K.M., Bøe, O.E., Skavland, R.J., Albandar, J.M. (2009). Enamel matrix derivative versus bioactive ceramic filler in the treatment of intrabony defects: 12-month results. *Journal of Clinical Periodontology*, 80, pp. 219-227.
49. Lekovic, V., Camargo, P.M, Weinlaender, M., Nedic, M., Aleksic, Z., Kenney, E.B. (2000). A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 71, pp. 1110-1116.
50. Lekovic, V., Camargo, P.M., Weinlaender, M., Kenney, E.B., Vasilic, N. (2001a). Combination use of bovine porous bone mineral, enamel matrix proteins and a bioabsorbable membrane in intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 72, pp. 583-589.

51. Lekovic, V., Camargo, P.M., Weinlaender, M., Vasilic, N., Djordjevic, M., Kenney, E.B. (2001b). The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 72, pp. 1157-1163.
52. Linde, K. & Willich, S.N. (2003). How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 96, pp. 17-22.
53. Lindhe, J., Karring, T., Araújo, M. (2008). The anatomy of periodontal tissue. In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 3; pp.27-34.
54. Louise, F., Cucchi, J., Fouque-Deruelle, C., Liebart, M.F. (2004). Traitements chirurgicaux des poches parodontales. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, pp. 23-445.
55. Luiz, A.J.B. (2002). Meta-análise: definição, aplicações e sinergia com dados espaciais. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, 19 (3), pp. 407-428.
56. Macedo, L. et al. Macedo, L.G.S., Costa, C.E.S., Pelegrine, A.A., Mazzucchelli, L.A., Jahn, R.S., Gromatzky, A. (2008). Utilização da matriz derivada do órgão do esmalte (Emdogain®) em defeitos periodontais. *Revista Periodontia*, 18 (1), pp 54-58.
57. Meyle, J., Hoffmann, T., Topoll, H., Heinz, B., Al-Machot, E., Jervøe-Storm, P.M., Meiss, C., Eickholz, P., Jepsen, S. (2011). A multi-centre randomized controlled clinical trial on the treatment of intra-bony defects with enamel matrix derivatives/synthetic bone graft or enamel matrix derivatives alone: results after 12 months. *Journal of Clinical Periodontology*, 38, pp. 652-660.
58. Minabe, M., Kodama, T., Kogou, T., Takeuchi, K., Fushimi, H., Sugiyama, T., Mitarai, E. (2002). A comparative study of combined treatment with a collagen

- membrane and enamel matrix proteins for the regeneration of intraosseous defects. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 22, pp. 595-605.
59. No authors. (2001). Glossary of periodontal terms. The American Academy of Periodontology. 4th ed. Chicago.
60. Ohana, R.A.E.H., Quaresma, M.C., Menezes, S.A.F., Menezes, T.O.A. *et alii*. (2010). Proteínas de matriz do esmalte como recurso coadjuvante na terapia periodontal regenerativa – revisão da literatura. *Revista Periodontia*. 20(1), pp. 7-13.
61. Okuda, K., Miyazaki, A., Momose, M., Murata, M., Nomura, T., Kubota, T. Wolff L.F., Yoshie, H. (2001). Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDOGAIN®). *Journal of Periodontal Research*, 36, pp. 309-316.
62. Okuda, K., Momose, M., Miyazaki, A., Murata M, Yokoyama. (2000). Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 71, pp. 1821-1828.
63. Onodera, H., Shibukawa, Y., Sugito, H., Ota, M., Yamada, S. (2005). Periodontal regeneration in intrabony defects after application of enamel matrix proteins with guided tissue regeneration: An experimental study in dogs. *Biomedical Research*, 26(2), pp. 69-77.
64. Page, C.P. & Kornman, K.S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14, pp. 9-11
65. Page, R.C., Offenbacher, S., Schroeder, H.E., Seymour, G.J., Kornman, K.S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14(23), pp. 216-48.
66. Pagliaro, U., Nieri, M., Rotundo, R., Cairo, F., Carnevale, G., Esposito, M., Cortellini, P., Pini-Prato, G. (2008). Clinical Guideliness of the italian society of periodontology for the reconstructive surgical treatment of angular bony defects in

- periodontal patients. *Journal of Clinical Periodontology* *Journal Periodontol*, 79(12), pp. 2219-2232.
67. Palmer, R. & Soory, M. (2008). Modifying factors. *In*: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 305-316; pp. 311-322.
68. Palmer, R.M. & Cortellini, P. (2008). Periodontal tissue engineering and regeneration: Consensus report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(8), pp. 83-86.
69. Papapanou, N.P. & Lindhe, J. (2008). Epidemiology of periodontal diseases. *In*: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 151.
70. Parashis, A. & Tsiklakis, K. (2000). Clinical and radiographic findings following application of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. A series of case reports. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, pp. 705-713.
71. Parodi, R., Liuzzo, G., Patrucco, P., Brunel, G., Santarelli, G.A., Birardi, V. (2000). Use of Emdogain in the treatment of deep intrabony defects: 12-months clinical results. Histologic and radiographic evaluation. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 20, pp.585-595.
72. Parrish, L.C., Miyamoto, T., Fong, N., Mattson, J.S., Cerutis, D.R. (2009). Non-biabsorbable vs. Biabsorbable membrane: assesment of their clinical efficacy in guided tissue regeneration technique. A systematic review. *Journal of Oral Science*, 51(3), pp. 383-400.
73. Pereira, S., Pinho, M., Almeida, R. (2011). Regeneração periodontal em defeitos ósseos – revisão da literatura. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 53(1), pp. 53-59.

74. Pietruska, M.D. (2001). A comparative study on the use of Bio-Oss and enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of periodontal bone defects. *European Journal of Oral Sciences*, 109, pp. 178-181.
75. Pontoriero, R., Wennström, J., Lindhe, J. (1999). The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 26, pp. 833-840.
76. Pousa, X., Rodríguez, C., Pastor, F., Rodrigo, D. (2005). Últimos avances en regeneración periodontal. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 17(1), pp. 229-233.
77. Rosen, P.S. & Reynolds, M.A. (2002). Aretrospective case series comparing the use of demineralized freeze-dried bone allograft and freeze-dried bone allograft combined with enamel matrix derivative for the treatment of advanced osseous lesions. *Journal of Clinical Periodontology*, 73, pp. 942-949.
78. Rösing, C.K., Aass, A.M., Mavropoulos, A., Gjermo, P. (2005). Clinical and radiographic effects of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony periodontal defects: A 12-month longitudinal placebo-controlled clinical trial in adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 76, pp. 129-133.
79. Sackett, D.L. (2000). Evidence-Based Medicine: how to practice and teach EBM. 2<sup>a</sup> ed. London: Churchill Livingstone.
80. Salvi, G.E., Lindhe, J., Lang, N.P. (2008). Treatment planning of patients with periodontal diseases. In: Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Fifth edition. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, pp. 655-674.
81. Sanz, M., Tonetti, M.S., Zabalegni, I., Sicilia, A., Blanco, J., Rebelo, H., Rasperini, G., Merli, M., Cortellini, P., Suvan, J.E. (2004). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: results from a multicenter practice-based clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 75, pp. 726-733.

82. Scheyer, E.T., Velasquez-Plata, D., Brunsvold, M.A., Lasho, D.J., Mellonig, J.T. (2002). A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 73, pp. 423-432.
83. Sculean, A. (2007). Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intrabony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, pp. 507-513.
84. Sculean, A., Barbe, G., Chiantella, G.C., Arweiler, N.B., Berakdar, M., Brex, M. (2002b). Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 73, pp. 401-408.
85. Sculean, A., Berakdar, M., Donos, N., Auschill, T.M., Arweiler, N.B. (2003). The effect of postsurgical administration of a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins. *Clinical Oral Investigation*, 7, pp. 108-112.
86. Sculean, A., Blaes, A., Arweiler, N., Reich, E., Donos, N., Brex, M. (2001c). The effect of postsurgical antibiotics on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins. *Journal of Clinical Periodontology*, 72, pp. 190-195.
87. Sculean, A., Chiantella, G.C., Windisch, P., Gera, I., Reich, E. (2002c). Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) combined with a bovine-derived xenograft (Bio-Oss) for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 22, pp. 259-267.
88. Sculean, A., Donos, N., Blaes, A., Laueremann, M., Reich, E., Brex, M. (1999d). Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the

treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. *Journal of Clinical Periodontology*, 70, pp. 255-262.

89. Sculean, A., Donos, N., Miliauskaite, A., Arweiler, N., Brex, M. (2001d). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or bioabsorbable membranes. A 4-year follow-up split-mouth study. *Journal of Clinical Periodontology*, 72, pp. 1695-1701.
90. Sculean, A., Donos, N., Windisch, P., Brex, M., Gera, I., Reich, E., Karring, T. (1999c). Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration, *Journal of Clinical Periodontology*, 34, pp. 310-322.
91. Sculean, A., Kiss, A., Miliauskaite, A., Schwarz, F., Arweiler, N.B., Hannig, M. (2008). Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, pp. 817-824.
92. Sculean, A., Pietruska, M., Arweiler, N.B., Auschill, T.M., Nemcovsky, C. (2007). Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intrabony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, pp. 507-513.
93. Sculean, A., Pietruska, M., Schwarz, F., Willershausen, B., Arweiler, N.B., Auschill, T.M. (2005) Healing of human intrabony defects following regenerative periodontal therapy with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. A controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, pp. 111-117.
94. Sculean, A., Reich, E., Giovanni, C.C., Brex, M. (1999a). Treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain): a report of 32 cases. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 19, pp. 157-163.

95. Sculean, A., Schwarz, F., Miliuskaite, A., Kiss, A., Arweiler, N., Becker, J., Brex, M. (2006). Treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative or bioabsorbable membrane: An 8-year follow-up split-mouth study. *Journal of Periodontology*, 77, pp. 1879-1886.
96. Sculean, A., Windisch, P., Chiantella, G.C., Donos, N., Brex, M., Reich, E. (2001). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, pp. 397-403.
97. Sculean, A., Windisch, P., Chiantella, G.C., Donos, N., Brex, M., Reich, E. (2001b). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, pp. 397-403.
98. Sculean, A., Windisch, P., Chiantella, G.C., Donos, N., Brex, M., Reich, E. (2001a). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, pp. 397-403.
99. Silvestri, M., Sartori, S., Rasperini, G., Ricci, G., Rota, C., Cattaneo, V. (2003). Comparisons of infrabony defects treated with enamel matrix derivative versus guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane. A multicenter controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, pp. 386-393.
100. Silvestri, M., Ricci, G., Rasperini, G., Sartori, S., Cattaneo, V. (2000). Comparison of treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. A pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, pp. 603-610.
101. Tonetti, M.S., Lang, N.P., Cortellini, P., Suvan, J.E., Adriaens, P., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmoussis, I., Mayfield, L., Rossi, R., Silvestri, M., Tiedemann, C., Topoll, H., Vangsted, T., Wallkamm, B. (2002). Enamel matrix proteins in the

- regenerative therapy of deep intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, pp. 317-325.
102. Trombelli, L. & Farina, R. (2008). Clinical outcomes with bioactive agentes alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(8), pp. 117-135.
103. Trombelli, L., Bottega, S., Zucchelli, G. (2002b). Supracrestal soft tissue preservation with enamel matrix proteins in the treatment of deep intrabony defects. A report of 35 consecutively treated cases. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, pp. 433-439.
104. Trombelli, L., Heitz-Mayfield, L.J., Needleman, I., Moles, D., Scabbia, A. (2002a). et al. (2002). A systematic review of graft materials and biological agentes for periodontal intraosseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(3), pp. 117-135.
105. Velasquez-Plata, D., Scheyer, E.T., Mellonig, J.T. (2002). Clinical comparison of an enamel matrix derivative used alone or in combination with a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, 73, pp. 433-440.
106. Venezia, E., Goldstein, M., Boyan, B.D., Schwartz, Z. (2004). The use of enamel matrix derivate in the treatment of periodontal defects: A literature review and meta-analysis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15 (6), pp. 371-391.
107. Wachtel, H., Schenk, G., Böhm, S., Weng, D., Zuhr, O., Hürzeler, M.B. (2003). Microsurgical acesse flap enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, pp. 496-504.
108. Windlisch, P., Sculean, A., Klein, F., Tóth, V., Gera, I., Reich, E., Eickholz, P. (2002). Comparision of clinical, radiographic, and histometric measurements

following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins in human periodontal defects. *Journal of Periodontology*, 73, pp. 409-417.

109. Wolf, HF., Edith, M., Rateitschak, K.H. (2004). Color Atlas of dental medicine periodontology. Germany. German edition. 3rd edition. pp. 1, pp. 12, pp. 20, pp. 323-325
110. Yukna, R.A. & Mellonig, J.T. (2000). Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *Journal of Clinical Periodontology*, 71, pp. 752-759.
111. Zetterström, O., Andersson, C., Eriksson, L., Fredriksson, A., Friskopp, J., Heden, G., Jansson, B., Lundgren, T., Nilveus, R., Olsson, A., Renvert, S., Salonen, L., Sjöström, L., Winell, A., Ostgren, A., Gestrelus, S. (1997). Clinical safety of enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, pp. 697-704.
112. Zucchelli, G., Amore, C., Montebugnoli, L., De Sanctis, M. (2003) Enamel matrix proteins and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: A comparative controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 74, pp. 1725-1735.
113. Zucchelli, G., Bernardi, F., Montebugnoli, L., De Sanctis, M. (2002). Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of infrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 73, pp. 3-12.