

**FABIOLA MATTIOLI**

**PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE  
ESMALTE EM PERIODONTIA:  
APLICABILIDADE CLÍNICA E PROPRIEDADES  
BIOLÓGICAS**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção de Título de Especialista em Periodontia.

185

**PIRACICABA  
2002**

**FABIOLA MATTIOLI**



1290005128

TCE/UNICAMP  
M434p  
FOP

**PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE  
ESMALTE EM PERIODONTIA:  
APLICABILIDADE CLÍNICA E PROPRIEDADES  
BIOLÓGICAS**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção de Título de Especialista em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

**PIRACICABA  
2002**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
BIBLIOTECA**

### Ficha Catalográfica

M434p	<p>Mattioli, Fabiola. Proteínas derivadas da matriz de esmalte em periodontia: aplicabilidade clínica e propriedades biológicas. / Fabiola Mattioli. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2002. 58f. : il.</p> <p>Orientador : Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati. Monografia (Especialização) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Ossos – Regeneração. I. Casati, Márcio Zaffalon. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

## *DEDICATÓRIA*

*À JOSÉ E ROSALI MATTIOLI, MEUS PAIS*

*E*

*RENATO ROPERTO, MEU NOIVO*

*DEDICO.*

## AGRADECIMENTOS

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNIVERSIDADE DE CAMPINAS PELA POSSIBILIDADE DE REALIZAÇÃO DO CURSO.

AO PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI PELA ORIENTAÇÃO CONSTANTE E SEGURA DURANTE TODO O CURSO.

AO PROF. DR. ANTÔNIO WILSON SALLUM PELO ESTÍMULO E EXEMPLO DE PROFISSIONALISMO.

AO PROF. DR. ENILSON ANTÔNIO SALLUM PELOS ENSINAMENTOS E EXPERIÊNCIA CLÍNICA.

AO MEU PAI, ENGENHEIRO AGRÔNOMO, MESTRE E DOUTOR EM ENTOMOLOGIA, PELO EXEMPLO, INCENTIVO E PELOS ENSINAMENTOS PARALELOS QUE CULMINARAM EM MAIOR APROVEITAMENTO NO MEU CURSO.

AO MEU NOIVO, RENATO, PELO ESTÍMULO, PELA PACIÊNCIA, PELO CARINHO E PELA DEDICAÇÃO.

A MINHA FAMÍLIA PELO CARINHO E COMPREENSÃO.

AOS PROFESSORES, JORGE, VINÍCIUS E EDWIL PELA EXPERIÊNCIA CLÍNICA ADQUIRIDA.

AOS PACIENTES PELA COMPREENSÃO E PACIÊNCIA RECEBIDA NO DIFÍCIL PERÍODO DE HABILITAÇÃO PRÁTICA NA CLÍNICA DA FOP-UNICAMP.

AOS COLEGAS PELAS HORAS DE CONVIVÊNCIA E FINALMENTE A TODOS AQUELES QUE DE FORMA DIRETA OU INDIRETA CONTRIBUÍRAM PARA O SUCESSO DESTES CURSOS.

*“À GLÓRIA DE DEUS E AO PROGRESSO HUMANO”.*

*SAMUEL GAMMON*

## SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 HISTOLOGIA DO PERIODONTO	12
2.2 DESENVOLVIMENTO DENTAL	14
2.3 PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DO ESMALTE	19
2.4 ESTUDOS HISTOLÓGICOS	29
2.5 EMDOGAIN® E REGENERAÇÃO TECIDUAL GUIADA	31
2.6 EMDOGAIN® E TERAPIA MUCOGENGIVAL	36
2.7 EMDOGAIN® E ENXERTO ÓSSEO	37
2.8 INDICAÇÕES E ESPECIFICAÇÕES	39
3 DISCUSSÃO	42
4 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

## RESUMO

A utilização de proteínas derivadas da matriz do esmalte tem sido indicada para o tratamento da doença periodontal. O uso destas proteínas baseia-se na descoberta de sua atividade durante a embriogênese do cemento, do ligamento periodontal e do osso alveolar. O isolamento e caracterização destas proteínas vêm permitindo sua investigação *"in vivo"* e *"in vitro"* e a viabilidade de se promover a regeneração dos tecidos periodontais de suporte. A variabilidade biológica e a necessidade de se estabelecer a eficácia e a previsibilidade de resultados favoráveis em seres humanos, conduziu ao presente trabalho que tem como objetivo uma revisão da literatura para se estabelecer critérios sobre as bases biológicas, histológicas, radiográficas e clínicas relativas a aplicação de proteínas da matriz do órgão do esmalte como tratamento regenerativo periodontal.

## ABSTRACT

Enamel matrix proteins has been indicated for periodontal diseases treatment. The use of these proteins is based on observations about the activities during the cementum, periodontal ligament and bone embriogenesis. Isolation and characterization of these proteins has been allowing "*in vivo*" e "*in vitro*" investigation and the viability in promoting regeneration of periodontal tissue. Biological variability and the need of establishing the efficacy and the previsibility of favorable results in humans has showing about the importance of a study concerned to this issue. The current pazer aims to a bibliographic revision trying to establish criteria about biological, histological, radiographic and clinical related to the application of enamel matrix protein as a regenerative periodontal treatment.

## 1 INTRODUÇÃO

A incidência de doença periodontal é alta, estando presente em cerca de 20% dos indivíduos com mais de 65 anos. O aumento da longevidade da população mundial vem acarretando uma maior demanda para o tratamento dessa doença. Novas modalidades terapêuticas têm permitido, em situações específicas, a regeneração dos tecidos de suporte periodontal perdidos com a progressão das doenças periodontais. Esses métodos podem mudar o prognóstico de dentes afetados pela doença periodontal.

Cada vez mais tem se buscado, como objetivo do tratamento periodontal, não apenas o restabelecimento da saúde mas, também, a regeneração do aparato de inserção, ou seja, formação de novo ligamento periodontal com fibras inseridas em um cemento e osso alveolar neoformados (VAN DER PAUW *et al.*, 2000). Nas últimas décadas, diferentes modalidades de tratamento de defeitos localizados têm sido relacionados com este propósito, incluindo-se vários tipos de enxertos ósseos, desmineralização da superfície radicular, Regeneração Tecidual Guiada ou diferentes fatores de crescimento, sendo que, o sucesso e a previsibilidade dos resultados variam significativamente. (SCULEAN *et al.*, 1999; HEDEN *et al.*, 1999; PONTORIERO *et al.*, 1999). Entretanto, nenhum destes tratamentos reproduziu o desenvolvimento natural do periodonto.

Recentemente, proteínas derivadas da matriz do esmalte têm sido pesquisadas como uma nova modalidade terapêutica regenerativa (HAMMARSTROM, 1997).

Os princípios biológicos que suportam o uso das proteínas derivadas da matriz do esmalte estão baseados na sua capacidade em promover uma nova formação de cemento acelular. A deposição do EMDOGAIN® (Enamel Matrix Derivative Organ + GAIN) sobre a superfície radicular previamente instrumentada parece estimular a deposição de novo cemento acelular em torno do qual será desenvolvido novo ligamento periodontal e osso alveolar, proporcionando uma regeneração parcial do periodonto (HEIJL *et al.*, 1997). Estudos realizados em espécies de animais vêm demonstrando que, durante o desenvolvimento da raiz dental, uma camada fina de material semelhante à matriz do esmalte, possivelmente produzido por células da bainha radicular epitelial de Hertwig, é depositada sobre a superfície radicular. Existem evidências que as proteínas da matriz do esmalte podem estar relacionadas com a formação do cemento acelular, estimulando a diferenciação de células mesenquimais em cementoblastos que, por sua vez, produzem o cemento acelular de fibras extrínsecas.

Proteínas da matriz do esmalte, disponibilizadas comercialmente, têm a finalidade de promover formação de nova inserção em dentes com comprometimento periodontal. Evidências histológicas, em animais e humanos, sugerem que a regeneração do aparato de inserção periodontal é possível após o uso do derivado da matriz do esmalte (HAMMARSTROM *et al.*, 1997; HEIJL, 1997; MELLONING, 1999). Resultados de testes clínicos controlados e alguma documentação de casos clínicos do tratamento de defeitos periodontais intra-ósseos também têm revelado ganhos significativos no nível de inserção clínica e na formação óssea observada radiograficamente (HEIJL *et al.*, 1997; ZETTERSTROM *et al.*, 1997; RASPERINI *et al.*, 1999).

Apesar da potencialidade de resultados clínicos e histológicos favoráveis, a utilização das proteínas da matriz do esmalte como uma terapia regenerativa, existem poucas informações disponíveis referentes à sua aplicabilidade, eficácia e previsibilidade clínica.

Além da necessidade de estabelecer a eficácia e a previsibilidade em seres humanos, face à inerente variabilidade biológica, buscou-se uma revisão da literatura para tentar estabelecer-se critérios sobre as bases biológicas, histológicas, radiográficas e clínicas a aplicação de proteínas da matriz do esmalte como tratamento regenerativo periodontal.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HISTOLOGIA DO PERIODONTO

Segundo CARRANZA & NEWMAN (1997), existe, entre a dentina e a primeira camada de cimento, uma fina camada de cimento afibrilar, amorfo ou intermediário, na qual estão presentes amelogeninas - proteínas da matriz do esmalte - de origem ectodérmica, em contraposição aos demais tecidos periodontais, os quais possuem origem mesenquimal. Esta camada de cimento amorfo pode estar contida em dentes com remanescentes celulares da bainha epitelial de Hertwig, aprisionados numa substância fundamental amorfa e calcificada. Já que a perda da porção cervical do epitélio reduzido do órgão do esmalte, no momento da erupção do dente, pode colocar em contato porções de esmalte maduro com o tecido conjuntivo. Este, por sua vez, depositará este cimento acelular e afibrilar, contendo somente substância fundamental mineralizada.

Esta camada de cimento amorfo impermeabiliza a superfície externa da dentina e as fibras colágenas se orientam em direção ao osso, onde há nutrição sanguínea. Com exceção deste cimento afibrilar, os outros tipos de cimento, celular ou acelular, crescem durante toda a vida. Com o acúmulo do cimento em camadas, ocorre a incorporação de fibras do ligamento, chamadas de fibras de Sharpey.

Os cimentos celular e acelular possuem origem mesenquimal e compõem uma matriz interfibrilar calcificada com fibrilas colágenas. As fibrilas extrínsecas, formadas por fibroblastos, são chamadas de Sharpey e as intrínsecas,

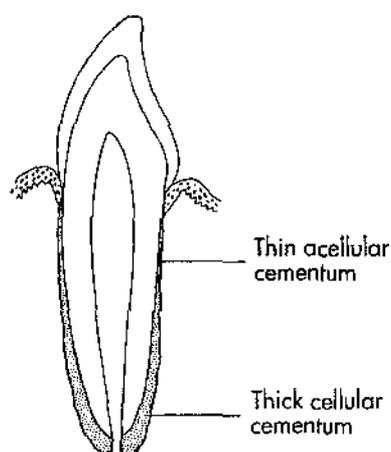


Figura 01 – Localização do cemento acelular na região cervical e cemento celular no ápice radicular.

FONTE: AVERY, J. K. *Essentials of oral histology and embryology*. 2000

que pertencem à matriz do cemento, são produzidas por cementoblastos. O cemento acelular é formado antes do celular e recobre o terço cervical ou cerca da metade da raiz. O cemento acelular é formado antes que o dente atinja o plano oclusal e sua espessura varia de 30 a 230 micrômetros (Figura 01). As fibras de Sharpey estão, em sua maioria, inseridas perpendicularmente à raiz e penetram

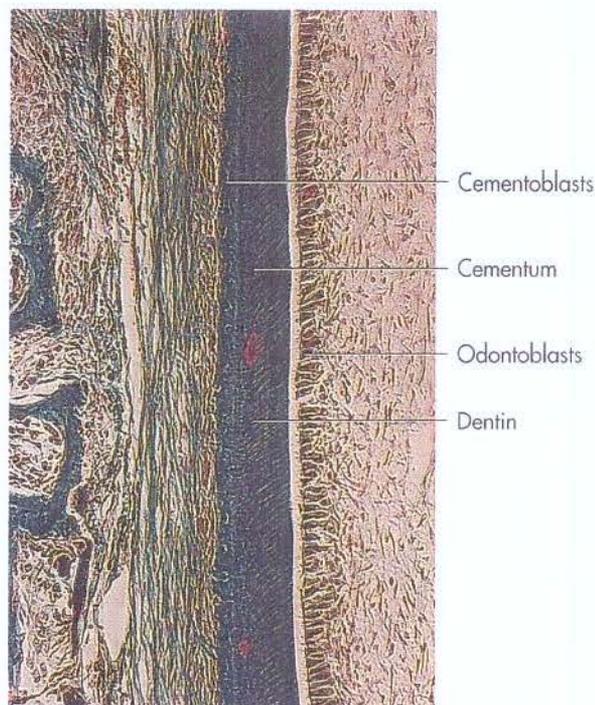
profundamente no cemento. Após a raiz alcançar o plano oclusal, forma-se o cemento celular contendo cementócitos no interior da matriz, que se comunicam por lacunas com anastomoses, ao contrário do cemento acelular, no qual os cementócitos produziram fibras e recuaram para a superfície (Figura 02). O cemento celular é menos calcificado que o acelular. Entre as linhas de crescimento do cemento há uma substância amorfa (“cola”) produzida por cementoblastos que se mineraliza mais do que as camadas de cemento (CARRANZA & NEWMAN, 1997).

O cemento acelular afibrilar não contém nem células ou fibras e pode ser encontrado como cemento coronal em humanos e, também, como parte das fibras extrínsecas do cemento acelular (HAMMARSTROM *et al.*, 1997).

Cemento afibrilar acelular é encontrado, freqüentemente, na região cervical de dentes humanos normais (LISTGARTEN, 1967).

Existe, ainda, o cemento chamado cementóide ou pré-cemento, que é a camada mais próxima ao tecido ósseo, constituído de cemento não mineralizado. Tem função protetora já que, em sua ausência, ocorre reabsorção radicular.

Quanto às fibras do ligamento periodontal, pode-se afirmar que são mais volumosas próximas ao tecido ósseo do que ao cimento, já que o osso alveolar possui maior nutrição e metabolismo. No ligamento periodontal podem ser encontrados restos epiteliais de Malassez, que são considerados restos da bainha epitelial de Hertwig, que se desintegra durante o desenvolvimento radicular.



**Figura 02** – Desenvolvimento do cimento celular.  
 FONTE: AVERY, J. K. *Essentials of oral histology and embryology*, 2000.

## 2.2 DESENVOLVIMENTO DENTAL

No segundo mês de vida embrionária, a espessura do epitélio bucal sofre um aumento correspondente ao bordo da mandíbula. Este se funde ao tecido mesenquimatoso subjacente para constituir a crista dentária, em forma de ferradura. A partir da crista dentária formam-se espessamentos que constituem os esboços dos futuros dentes decíduos. Por baixo destes, desenvolve-se tecido mesenquimatoso para constituir a papila. Nesta fase inicial do desenvolvimento, cada esboço dental possui uma parte mesenquimatosa – a papila dentária - e uma espécie de capuz epitelial que a recobre, o órgão do esmalte (SCHUMACHER, 1995).

O cordão que une o esboço do dente à crista dentária vai atrofiando-se assim como a crista dentária. No órgão do esmalte, somente a camada celular mais

superficial e a mais profunda conservam sua disposição epitelial, transformando-se em epitélios externo e interno do esmalte, respectivamente. As células epiteliais situadas entre esses dois estratos adquirem forma estrelada e formam um retículo epitelial. Com o crescimento do esboço do dente, o tecido conjuntivo que o rodeia condensa-se para formar o saco dentário.

Dentre as substâncias duras do dente, somente o esmalte é de origem epitelial. A dentina e o cemento, com exceção do cemento amorfo, se desenvolvem às expensas do mesênquima. As células mesenquimatosas transformam-se em odontoblastos na superfície das papilas. Os odontoblastos produzem a pré-dentina, que logo se calcifica e é convertida em dentina autêntica. Posteriormente, inicia-se a produção do esmalte pela atividade do epitélio externo do esmalte, situado na parte

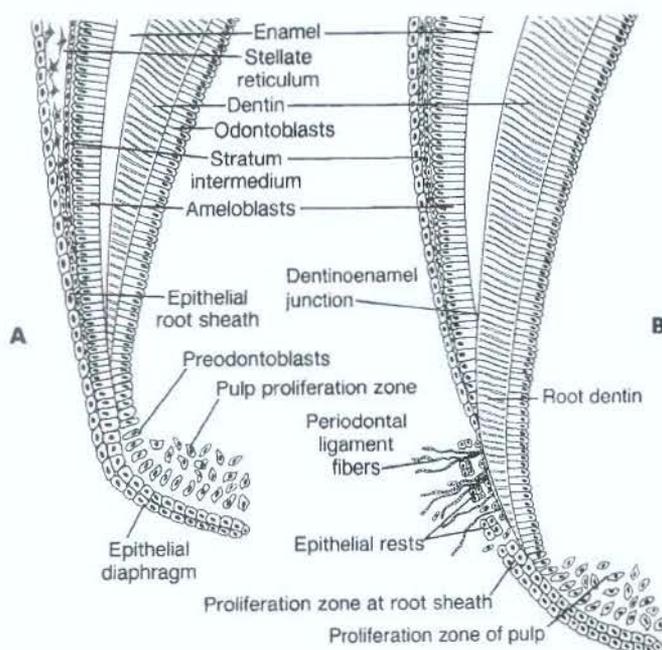


Figura 03 – Bainha Epitelial de Hertwig. A) Estágio inicial de formação radicular. Estágio avançado, formação de dentina abaixo do esmalte cervical.

FONTE:: AVERY, J. K. *Essentials of oral histology and embryology*. 2000.

correspondente à coroa do dente e composto por células prismáticas altas, os ameloblastos. O epitélio correspondente à futura raiz do dente não produz esmalte. A bainha epitelial de Hertwig, responsável pela rizogênese e pela formação do cemento amorfo (Figura 03). Com o crescimento do esboço do dente a polpa do esmalte se reduz para colocar o

extremo do dente em contato com os epitélios interno e externo do esmalte. A polpa do esmalte é apenas um órgão de sustentação para o dente em vias de crescimento (HAMMARSTROM *et al.*, 1997).

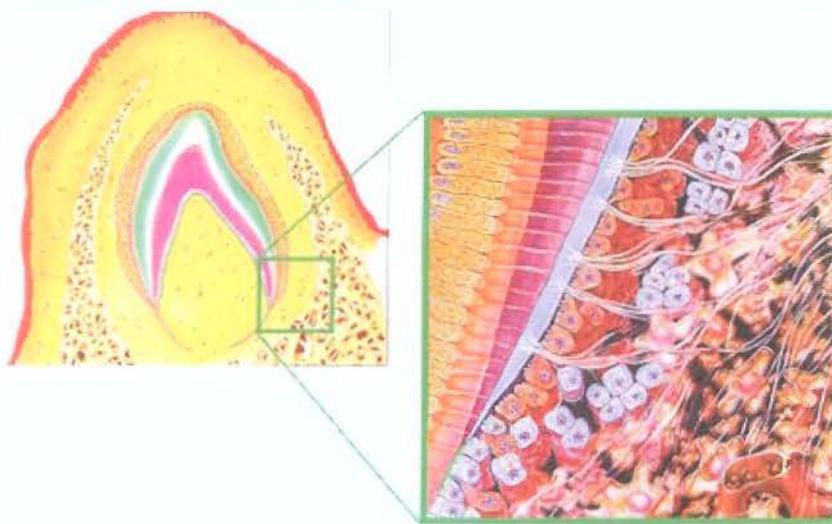
Logo após a erupção do dente inicia-se a proteção do cimento, através da produção de substância fundamental óssea pelas células do saco dentário e suas imediações, antes de sua transformação em osteoblastos.

A formação dos dentes permanentes é igual a dos dentes decíduos e inicia-se a partir do resíduo, que persiste, da crista dentária. Na região superficial da dentina existem massas de substância fundamental que não chegam a calcificar-se e formam espaços de contornos irregulares ou espaços interglobulares. Na raiz são muito pequenos e recebem o nome de Camada Granulosa de Tomes, devido ao aspecto granuloso que apresentam (SCHUMACHER, 1995).

No cimento coronário, separando ou impermeabilizando o cimento acelular da dentina, existe um cimento afibrilar ou amorfo. Este último possui origem ectodérmica, diferentemente dos outros tipos de cimento. Provavelmente, o cimento amorfo advém do órgão do esmalte. A idéia de formação deste cimento antes da formação do cimento acelular e do ligamento periodontal é a base para a utilização de proteínas derivadas do órgão do esmalte para regeneração (HEIJL *et al.*, 1997).

Segundo HEIJL *et al.* (1997), fibras extrínsecas de cimento acelular são compostas de densas fibras de Sharpey numa substância não celular que cobre de um a dois terços da região cervical das raízes. O cimento acelular é encontrado como cimento coronário em humanos e como parte das fibras extrínsecas de cimento acelular. SLAVKIN & BOYDE (1975) propuseram que proteínas do esmalte

da bainha epitelial de Hertwig estão envolvidas na formação de cimento acelular. Existe uma camada na bainha epitelial da raiz que possui um estágio secretório de matriz do esmalte. Esta foi formada na superfície radicular antes da formação do



**Figura 04** – Detalhe da fase em que as células da Bainha Epitelial de Hertwig (azul) secretam proteínas da matriz do esmalte (setas).  
**FONTE:** Catálogo BIORA, 2000.

cimento, como um passo inicial neste processo (Figura 4).

SLAVKIN *et al.* (1989)

demonstraram que este cimento acelular contém proteínas que são imunologicamente

relacionadas às proteínas presentes na matriz do esmalte.

O cimento coronário, situado sobre a coroa dentária, é uma estrutura normalmente encontrada em herbívoros. O cimento acelular, do tipo afibrilar, é comumente encontrado na região cervical de dentes humanos normais. As maiores proteínas da matriz do esmalte são conhecidas como amelogeninas e constituem 90% da matriz. Elas são extremamente hidrofóbicas. Muitos trabalhos reconhecem que o cimento acelular primário é essencial para verdadeira regeneração (HAMMARSTROM *et al.*, 1997; GESTRELIUS *et al.*, 1997; HEIJL *et al.*, 1997; ZETTERSTROM *et al.*, 1997).

HEIJL *et al.* (1997) obtiveram um tecido semelhante ao cimento, quando células do folículo dental foram expostas à matriz do esmalte experimentalmente,

sugerindo que esta matriz tem um efeito indutivo sobre algumas células do folículo dental. A matriz do esmalte é uma estrutura temporária no desenvolvimento da coroa e sua maior parte é degradada e eliminada em associação com a mineralização final do esmalte. Entretanto, em lugares específicos na dentina da raiz, foram encontradas proteínas do esmalte que, provavelmente, se originaram da camada granulosa de Tomes. Esta camada não existe na dentina coronária, fato que ainda

não possui explicação científica (Figura 04).5



**Figura 05** – Camada Granulosa de Tomes e lacunas no cimento.  
 FONTE: AVERY, J. K. *Essentials of oral histology and embryology*, 2000.

A imunorreatividade para amelogenina, nesta camada em dentes humanos, sugere que esta estrutura seja formada pela deposição e retenção parcial de matriz de proteínas do esmalte

hidrofóbicas, na dentina periférica (TEM CATE, 1971). Em macacos, o uso de matriz de esmalte exógena formou um tecido histologicamente idêntico ao cimento acelular com fibras extrínsecas, o mesmo tecido que a matriz de esmalte endógena observado por HEIJL *et al.*, em 1997. Em cavidades onde não se usou a matriz derivada do esmalte formou-se um tecido celular duro e pobremente aderido, que parecia osso imaturo. Um tecido semelhante ao cimento acelular foi formado na superfície da matriz do esmalte, quando esta foi exposta às células foliculares mesenquimais.

### 2.3 MATRIZ DERIVADA DO ÓRGÃO DO ESMALTE

A matriz derivada do órgão do esmalte possui papel fundamental na formação do cemento acelular e, conseqüentemente, do periodonto. Entretanto, suas funções precisas não são bem definidas (ROBINSON *et al.*, 1998).

A matriz orgânica é muito heterogênea, com proteínas derivadas de um grande número de diferentes genes, incluindo amelogenina, enamulina, ameloblastina, tuftelin, dentina sialofosfoproteína, enzimas e proteínas do soro como a albumina. Cada uma dessas aparenta passar por uma degradação seqüencial pós-secretória, que contribui para a heterogeneidade da matriz. Possíveis funções dessas proteínas incluem a iniciação/nucleação mineral (dentina sialofosfoproteína, tuftelin), íon mineral ligado como percussores de cristais (amelogenina, enamulina), controle do crescimento do cristal (amelogenina, enamulina, ameloblastina), suporte dos cristais em crescimento (amelogenina, enamulina), determinação da estrutura prismática (ameloblastina), marcação celular (tuftelin, ameloblastina), controle da secreção (produtos de quebra) e proteção da fase mineral (amelogenina, enamulina). Falha nestes mecanismos pode levar à maturação incompleta do esmalte e a erupção de um tecido displásico (ROBINSON *et al.*, 1998).

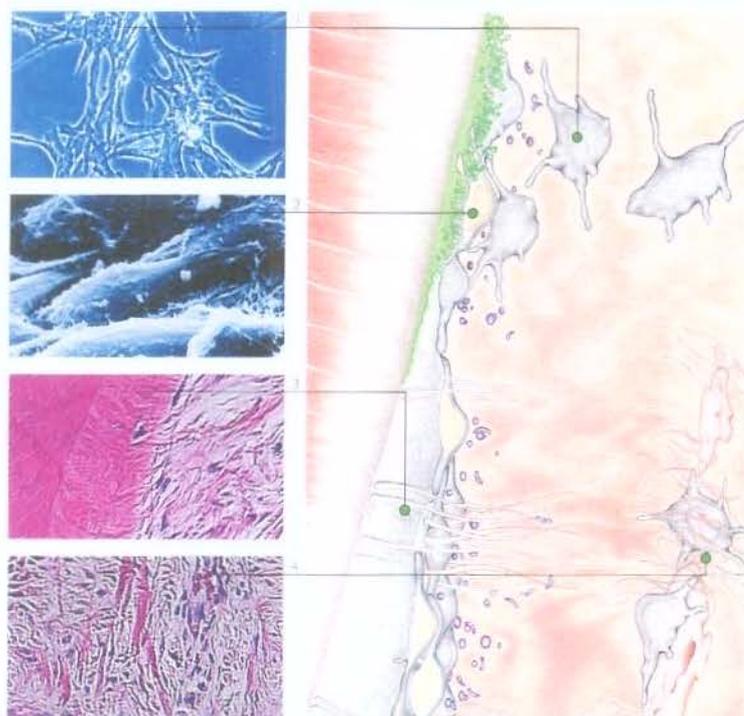
Três classes distintas de proteínas derivadas do esmalte foram clonadas e produzidas por ameloblastos. São compostas por amelogeninas, tuftelin e ameloblastina, com implicação da ameloblastina durante a cementogênese. A matriz orgânica extracelular do esmalte passa por uma montagem para proporcionar uma disposição tridimensional protéica que executa a função fisiológica de guiar a formação dos cristais de hidroxiapatita do esmalte (PAINE *et al.*, 1998).

Segundo GESTRELIUS *et al.* (1997) as proteínas do esmalte se agregam e ficam praticamente insolúveis em pH fisiológico e temperatura corporal. A solubilidade aumenta em pH ácido ou alcalino sob baixa temperatura. A formulação de um líquido ideal, para uso na periodontia, deve possuir um pH não neutro e proporcionar reprecipitação da matriz, quando condições fisiológicas são restabelecidas. Propilenoglicol Alginato (PGA) é um éster propilenoglicol de ácido algínico, comumente usado na indústria alimentícia e farmacêutica, como um agente espessante. A matriz do órgão do esmalte pode ser dissolvida em PGA em pH ácido, resultando numa solução de alta viscosidade. Em pH neutro e temperatura corporal, a viscosidade cresce e a matriz precipita-se.

A presença de quantidades detectáveis de matriz derivada do esmalte no local da aplicação por mais de duas semanas, parece ser suficiente para permitir recolonização das células do ligamento periodontal (GESTRELIUS *et al.*, 1997).

GESTRELIUS *et al.* (1997) realizaram um trabalho *in vitro* para confirmar a viabilidade do uso de matriz derivada do esmalte na regeneração do periodonto. Neste estudo, a estimulação da proliferação celular, produção de proteína e colágeno e a formação de nódulos mineralizados em culturas de células do ligamento periodontal expostas às proteínas derivadas do órgão do esmalte, foram compatíveis com os resultados de regeneração obtidos *in vivo*. Um agregado proteico foi notado quando proteínas derivadas do esmalte foram adicionadas à cultura celular média, em concentração de 5 microgramas/ml ou mais. Os resultados mostraram que a matriz do esmalte seria uma matriz viável para células e/ou resultado de uma interação célula-matriz. Isto é análogo ao ambiente normal *in vivo*, onde a maioria das células requer uma matriz extracelular para ser viabilizada.

Estudos sobre inserção celular indicaram que a matriz do esmalte era bem aceita pelas células do ligamento, mas esta matriz tinha um efeito mínimo sobre o “attachment” celular ou difusão celular. Quando comparada à fibronectina, o efeito da matriz do esmalte foi muito menor e mais lento. A proteína do esmalte não contém seqüência de “attachment” conhecida e o “attachment” incrementado é causado pela adição média ou substâncias produzidas pelas células do ligamento, do que por um efeito direto da matriz do esmalte. A adição da matriz à cultura celular acarretou muitas mudanças, que incluíram aumento na proliferação de células do ligamento, produção de colágeno e promoção da mineralização. Não houve efeito



**Figura 06** – Os estágios da terapia com o uso de Emdogain®.  
1)Atração, 2)Proliferação 3)Diferenciação e 4) Formação de novo osso periodontal.  
FONTE: Catálogo BIORA, 2000.

significativo na proliferação das células de epitélio *in vitro*. Nenhum fator de crescimento pode ser encontrado na matriz do esmalte. Provavelmente a matriz do esmalte atue como uma matriz para as células em um sítio periodontal regenerativo. Os resultados sugeriram que agregados formados pela matriz do esmalte, em

um pH e temperatura fisiológicos, são responsáveis pela criação de um ambiente positivo para as células se proliferarem e se diferenciarem, como requerido para a regeneração do periodonto (GESTRELIUS *et al.*, 1997) (Figura 6).

HOANG *et al.* (2000) também demonstraram, *in vitro*, que a aplicação clínica de proteínas derivadas da matriz do esmalte pode acentuar o processo de regeneração periodontal, especialmente pela proliferação e migração das células do ligamento periodontal.

SCHWARTZ *et al.* (2000), examinaram a resposta dos osteoblastos em 3 estágios osteogênicos das proteínas derivadas da matriz do esmalte. A proliferação, diferenciação, síntese de matriz e a produção de fatores locais como prostaglandinas, fator de crescimento beta 1, foram mensuradas em culturas. Os resultados demonstraram que as proteínas derivadas da matriz do esmalte afetavam os estágios de maturação osteoblástica e estimulavam a proliferação e diferenciação, sendo estes os mecanismos de atuação na regeneração periodontal.

SCULEAN *et al.* (2001a) avaliaram o potencial antimicrobiano do Emdogain®. Biofilme bacteriano foi coletado de 24 pacientes e diluídos em 5 amostras para os determinados grupos: 1) NaCl, 2) EMD e água, 3) Emdogain® e alginato propileno glicol (PGA), 4) PGA e 5) clorexidina a 0,2%. Os grupos 3, 4 e 5 mostraram uma significativa redução na vitalidade do biofilme quando comparados aos grupos 1 e 2. Os resultados indicaram que o Emdogain® poderia ter um efeito antimicrobiano na vitalidade de placa dental supragengival.

As proteínas do esmalte foram testadas por HAMMARSTROM *et al.* (1997) em macacos, num modelo de deiscência vestibular, para verificar a promoção de terapia regenerativa e se uma fração específica das proteínas da matriz do esmalte poderia ser associada à regeneração periodontal. Outro propósito deste estudo foi encontrar um veículo apropriado para facilitar a aplicação das preparações sobre a superfície radicular. Diferentes preparações foram testadas. Em adição à

matriz do esmalte homogeneizada, as duas maiores frações (amelogeninas e enamelinas) foram seletivamente extraídas e estudadas para sua capacidade de induzir a formação de cemento e de regeneração periodontal. Propilenoglicol Alginato (PGA), hidroxietil celulose (HEC) e dextrano foram testados como veículos. Estes foram escolhidos devido à sua viscosidade, capacidade para dissolver as preparações da matriz do esmalte e sua biocompatibilidade.

A matriz do esmalte homogeneizada foi produzida da matriz do esmalte mecanicamente retirada de pré-molares mandibulares em desenvolvimento (não erupcionados) de porcos com 6 meses de idade. Como cobaias foram utilizados macacos de 3 e 4 anos com pré-molares completamente erupcionados e com ápices fechados. Foi rebatido retalho vestibular e criada deiscência óssea de 6 mm, removendo-se também o ligamento e cemento, na vestibular dos pré-molares e raiz mesial do 1º molar. As raízes expostas foram condicionadas por 15 segundos com ácido cítrico (pH 1,0) ou ácido fosfórico 37% (pH 1,0) e, posteriormente, irrigadas com solução salina. As várias preparações de matriz de esmalte, com ou sem veículos, foram aplicadas cobrindo-se totalmente a superfície vestibular das raízes expostas e realizada sutura. Após 8 semanas, os macacos foram sacrificados e os segmentos foram removidos em bloco, juntamente com o tecido ósseo. Os resultados demonstraram que apenas o propilenoglicol alginato, em combinação com frações de amelogenina, resultaram em regeneração dos tecidos periodontais.

HEIJL *et al.*, (1997) analisaram o efeito em longo prazo do tratamento cirúrgico de defeitos intra-ósseos associado com aplicação de proteínas de matriz de esmalte e aplicação de um gel placebo. O estudo multicêntrico envolveu 33 pacientes que apresentavam 34 pares de sítios na mesma arcada (*splith-mounth*). Avaliou-se, clínica e radiograficamente aos 8,16 e 36 meses. Os ganhos médios de

inserção clínica do grupo teste, em relação ao controle, aos 8 meses foram, de 2,1 mm e 1,5 mm; aos 16 meses, foi de 2,3 mm e 1,7 mm e aos 36 meses, foi de 2,2 mm e 1,7 mm. As diferenças entre os grupos foram significativas entre cada período. Para o nível ósseo radiográfico, o grupo teste apresentou, em média, um ganho de 0,9 mm, enquanto que o grupo controle apresentou, em média, 0,1 mm aos 8 meses. Aos 16 meses, o grupo teste apresentou um ganho médio de 2,2 mm contra uma perda média de 0,2mm do grupo controle. Aos 36 meses, o grupo teste continuou apresentando um ganho ósseo médio de 2,6 mm comparados ao controle. Houve diferença significativa entre os grupos para o ganho de inserção e o nível radiográfico.

ZETTERSTRÖM *et al.* (1997) analisaram os parâmetros clínicos e radiográficos aos 8 meses e 3 anos de pós-operatório em pacientes tratados com proteínas da matriz de esmalte (Emdogain®) associados à cirurgia periodontal. Dois sítios cirúrgicos foram utilizados por paciente sendo que, no total, foram utilizados 214 sítios testes e 33 sítios controle. Amostragens sorológicas foram realizadas nos pacientes do grupo teste para avaliar os níveis de anticorpos totais e específicos. Em 10 pacientes as amostras foram feitas antes e depois da primeira cirurgia, 56 outras amostras foram feitas após o tratamento com Emdogain®, e 63 após os dois tratamentos. Os resultados demonstraram que o potencial imunogênico do Emdogain® foi baixo quando aplicado em conjunto com cirurgia periodontal. Comparação entre os grupos teste e controle demonstrou o mesmo tipo e frequência de eventos pós-cirúrgicos. Sondagem clínica e avaliação radiográfica foram realizadas no início e 8 meses pós-cirúrgicos. Metade dos pacientes foi avaliada após três anos. Os ganhos nos níveis de inserção e ósseo foram significativamente

maiores no grupo teste aos 8 meses pós-cirúrgicos, mantendo-se estas diferenças ainda mais expressivas após três anos.

PETINAKI *et al.* (1998), avaliaram, *in vitro*, o efeito do Emdogain® sobre o sistema imune. Linfócitos periféricos sanguíneos, isolados de 10 doadores, foram colocados em culturas, na presença de várias concentrações de EMD. O índice de proliferação celular, a expressão antigênica e a produção de citocinas e imunoglobulinas foram determinados. Os resultados sugerem que Emdogain® induz, ligeiramente, uma resposta imune, restrita a ativação de frações dos linfócitos-T CD4, *in vitro*.

Para avaliar os efeitos adversos e a cicatrização após a aplicação de Emdogain®, HEARD *et al.* (2000), selecionaram 32 pacientes, sistemicamente saudáveis, para responder a um questionário diário sobre: presença e severidade de dores de cabeça, hipersensibilidade radicular, dor de dente, urticária e edema após o tratamento cirúrgico com Emdogain®. Foi constatado que EMD é um produto clinicamente seguro para ser usado em defeitos periodontais e que não tem impacto negativo na cicatrização periodontal, além de promover uma redução da profundidade de sondagem de  $3,8 \pm 1,5$  mm e um ganho de inserção clínica de  $2,8 \pm 1,7$  mm.

As alterações nos parâmetros clínicos e radiográficos de defeitos ósseos angulares tratados com proteínas derivadas da matriz do esmalte, também foram investigados por HEDEN *et al.*, (1999) em uma série de casos clínicos. O estudo compreendeu 108 pacientes e um total de 145 defeitos intra-ósseos profundos, com 2 a 3 paredes ósseas (com profundidade de sondagem  $\geq 5$ mm, perda de inserção  $\geq 6$ mm e evidência radiográfica de defeito ósseo interproximal  $\geq 3$ mm de componente

intra-ósseo), no entanto, nenhum procedimento controle foi incluído neste estudo. Os resultados obtidos 1 ano após a terapia regenerativa revelaram um ganho médio de inserção de 4,6 mm e uma redução da profundidade de sondagem de 5,2 mm. 87% de todos os sítios tratados exibiram um ganho de inserção > 2mm e um ganho ósseo radiográfico de 2,9 mm em média ou equivalente a uma média de 69% de preenchimento ósseo do defeito original.

RASPERINI *et al.* (1999) analisaram o nível de inserção, profundidade de sondagem e formação óssea clinicamente e com reentradas cirúrgicas em três casos de defeitos intra-ósseos tratados com Emdogain®. O primeiro paciente apresentava um defeito ósseo circunferencial de uma parede, o segundo um defeito de 3 paredes ósseas e o terceiro um defeito combinado de uma e três paredes. Após um ano do tratamento obtiveram os seguintes ganhos de nível de inserção 7 mm, 8 mm e 7mm respectivamente. No terceiro paciente, após um ano do processo cirúrgico, um tratamento ortodôntico foi realizado. Após 6 meses, os tecidos moles ao redor do dente apresentavam estética satisfatória e a altura da papila foi mantida. 18 meses após a cirurgia, a reentrada cirúrgica demonstrou uma significativa regeneração óssea.

SCULEAN *et al.* (1999c) avaliaram clinicamente a aplicação de Emdogain® em 32 defeitos periodontais intra-ósseos (2 e 3 paredes ósseas). Os parâmetros avaliados foram: profundidade de sondagem, recessão da margem gengival e nível de inserção clínica. Após 8 meses houve uma redução na profundidade de sondagem de  $8,7 \pm 1,5$  mm para  $4,3 \pm 1,6$  mm, no nível de inserção de  $10,6 \pm 1,9$  mm para  $7,6 \pm 1,8$  mm. Houve a formação de tecido ósseo observado radiograficamente em 26 dos 32 defeitos.

OKUDA *et al.* (2000) analisaram 16 pacientes com 1 ou 2 pares de defeitos intra-ósseos localizados na mesma arcada, em um estudo randomizado, duplo-cego, *split-mouth* e com controle placebo. 36 defeitos intra-ósseos foram tratados com cirurgia a retalho e Emdogain® ou apenas cirurgia. Ao final de 12 meses, foram analisados sangramento à sondagem, redução de profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e densidade óssea radiográfica. Os autores concluíram que o tratamento com Emdogain® comparado ao placebo, produziu uma significativa melhora clínica nos defeitos periodontais intra-ósseos.

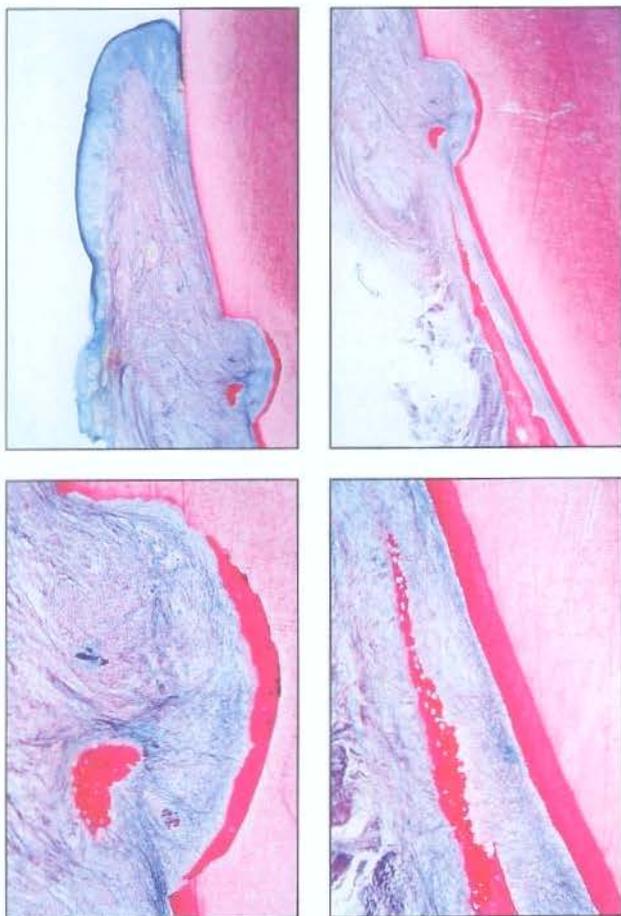
Entretanto, YUKNA & MELLONIG (2000), pesquisando o uso de matriz derivada do órgão do esmalte em 10 defeitos intra-ósseos chegaram a um resultado histológico diferente: regeneração em 3 casos, nova inserção de tecido conjuntivo em 3 casos e reparação (epitélio juncional longo) em 4 casos. Nenhuma evidência de reabsorção radicular e anquilose foi detectada. Estes autores, portanto, chegaram a conclusão de que o uso de Emdogain® pode resultar em regeneração do periodonto em raízes de dentes humanos previamente expostas à doença periodontal, porém sobre bases inconsistentes.

FROUM *et al.*, (2001) compararam sítios tratados com retalho de acesso e raspagem – grupo controle - e retalho de acesso e raspagem associado à aplicação de proteínas da matriz do esmalte (Emdogain®) – grupo teste – durante doze meses de tratamento. Foram tratados vinte e três pacientes, sendo 31 defeitos no grupo controle e 23 no grupo teste. Foram avaliados o índice gengival (IG), índice de placa bacteriana, profundidade de sondagem (PS), posição da margem gengival e nível de inserção clínica (NIC). Reentradas cirúrgicas foram realizadas após um ano do tratamento. Medidas de tecidos duros em relação ao nível da crista óssea e profundidade do defeito foram avaliadas durante a cirurgia inicial e durante a

reentrada cirúrgica. Os resultados demonstraram que a resposta no grupo teste foi superior em todos os parâmetros avaliados. A redução da profundidade de sondagem foi 2.7 mm maior no grupo teste e o ganho médio no nível de inserção clínica foi 1.5 mm maior, também no grupo teste. A média de preenchimento do defeito foi três vezes maior no grupo teste (74% e 23%, respectivamente). Os autores concluíram que o tratamento de defeitos intra-ósseos com a utilização de Emdogain® é superior em todos os parâmetros avaliados.

PARASHIS *et al.* (2000) avaliaram clínica e radiograficamente 25 defeitos intra-ósseos em 15 pacientes. Os critérios utilizados no estudo foram: profundidade de sondagem  $\geq 6$  mm, nível de inserção  $\geq 6$  mm, associado com defeito intra-ósseo  $\geq 4$  mm de profundidade e  $\geq 2$  mm de largura mensurados durante a cirurgia. Um ano após a cirurgia e aplicação do gel Emdogain® foram encontrados os seguintes resultados: diminuição na profundidade de sondagem média de 8,4 mm para 4,0 mm e no nível de inserção clínica de 10,2 mm para 6,6mm; um aumento nas recessões de 1,8 mm para 2,6 mm. Profundidade de sondagem residual maior que 4 mm foram observados apenas em 7 sítios. 14 sítios demonstraram um ganho de inserção clínica de 2-3 mm, 9 sítios de 4-5 mm e 2 sítios um ganho de 6 mm. Radiograficamente houve um ganho ósseo de 22,9% se mensurado da base do defeito até a junção cimento-esmalte e de 61% se mensurado da base do defeito até a crista óssea. Os autores concluíram que a aplicação do Emdogain® em defeitos de 2 ou 3 paredes intra-ósseas resultam em um ganho significativo radiográfico e de inserção clínica.

## 2.4 ESTUDOS HISTOLÓGICOS



**Figura 07** – Formação de novo ligamento periodontal, cimento e osso alveolar acima do "note".  
**FONTE:** RASPERINE et al. *Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix protein derivative (Fmdonain): a case report*. 2000

Para maior credibilidades, fizeram-se necessários estudos em humanos para se comprovar a viabilidade do uso das proteínas derivadas do órgão do esmalte. HEIJL *et al.* (1997) estudou histologicamente o efeito da matriz do esmalte em um defeito experimental em humano. Para tanto selecionou um paciente que, por razões ortodônticas, teria o seu elemento dental 31 extraído. O paciente concordou com o estudo sabendo que posteriormente o seu dente seria extraído em bloco (conjuntamente com os tecidos de suporte adjacentes,

inclusive pequena porção de osso alveolar).

O estudo foi iniciado com cirurgia a retalho, de espessura total, criando uma deiscência óssea na vestibular do referido dente, com o uso de brocas. Posteriormente, foi realizado condicionamento ácido da raiz com ácido orto-fosfórico por 15 segundos e aplicada a matriz na superfície radicular, com posterior sutura do retalho. Após 4 meses, o dente experimental juntamente com os tecidos mole e duro adjacentes foi removido. A análise microscópica revelou formação de um novo tecido

com fibras extrínsecas de cimento acelular, que estavam firmemente inseridas na dentina adjacente. Um novo ligamento periodontal com fibras de colágeno inseridas e funcionalmente orientadas e um osso alveolar associado também estavam presentes. O novo cimento cobriu 73% do defeito original. O ganho ósseo foi de 65%.

MELLONING (1999) avaliou histologicamente o tratamento com Emdogain® em um canino humano com profundidade de sondagem de 8 mm, recessão gengival de 1 mm e nível de inserção de 9 mm. Após 6 meses de tratamento o dente e o tecido ao seu redor foram removidos e avaliados. O tratamento com Emdogain® demonstrou, histologicamente, formação de novo osso, cimento e ligamento periodontal acima do "note". Os achados histológicos demonstraram uma fina camada de cimento acelular recobrendo o cimento antigo, osso maturado e lamelar, com algumas porções de osso imaturo e fibras do ligamento periodontal posicionadas paralelamente a superfície radicular (Figura 7).

SCULEAN *et al.*, (2000b) avaliaram clinicamente e histologicamente o processo de cura dos tecidos periodontais em defeitos intra-ósseos, em



**Figura 08** – Porção apical tratado com Emdogain®. Novo Cimento Acelular (NC) está depositado sobre o cimento original (OC). Fibras colágenas se inserem no novo cimento e conectam-se ao novo osso (NB.). NPL: novo ligamento periodontal, N: note e D: dentina.

**FONTE:** SCULEAN, A. *et al.* *Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration*, 2000.

humanos. Foram selecionados para o experimento dois pacientes com defeitos intra-ósseos adjacentes a dentes selecionados para extração que foram tratados com proteínas da matriz do esmalte. Aos seis meses de pós-operatório, a análise histológica demonstrou a formação de novo cemento com fibras colágenas inseridas em ambos os defeitos. Em um dos casos a formação de nova inserção foi acompanhada da formação de novo cemento. Os resultados encontrados demonstraram que o Emdogain® possui o potencial de estimular a formação de nova inserção conjuntiva em defeitos intra-ósseos humanos (Figuras 8).

## **2.5 EMDOGAIN E REGENERAÇÃO TECIDUAL GUIADA**

Apesar de o princípio do uso de Regeneração Tecidual Guiada ser diferente do princípio da matriz do órgão do esmalte, que mimetiza o desenvolvimento natural do periodonto, há um ponto de semelhança entre ambos. Foi provado que, ao contrário das células do ligamento, células gengivais não se proliferam com o uso da matriz do esmalte o que faz com que imaginemos que esta técnica também conta com o impedimento da migração epitelial conseqüentemente, impedindo a formação de um epitélio juncional longo. (PAUW, 2000).

Com o avanço das pesquisas das proteínas do esmalte, alguns estudos foram realizados nos defeitos periodontais de grau III de furca, em comparação a RTG. ARAÚJO & LINDHE (1998), realizaram estudos em cachorros nos quais em um lado da mandíbula (grupo teste), foi realizada retalho e aplicado ácido fosfórico por 15 segundos sobre as raízes, o qual foi removido com irrigação de solução

salina. Subseqüentemente, um gel de matriz derivada do esmalte foi aplicado para cobrir todas as superfícies instrumentadas da raiz. Posteriormente, uma membrana reabsorvível foi ajustada para cobrir os defeitos de furca por vestibular e lingual. Do outro lado foi realizado o mesmo tratamento, mas não se realizou condicionamento ácido e não se aplicou a matriz previamente à colocação da barreira. Quatro meses após a cirurgia, os animais foram sacrificados e biópsias foram realizadas. Os defeitos de furca de ambos os grupos estavam clinicamente fechados e foram encontrados osso e tecido do ligamento, os quais pareciam estar em continuidade estrutural com um cemento radicular recentemente formado. A quantidade de osso mineralizado, medula óssea e tecido do ligamento que foram formados eram similares nos dois grupos. Entretanto, no grupo teste, o cemento que foi formado na porção apical do defeito de furca era diferente do tecido correspondente na porção coronal, e também diferente do cemento observado no grupo controle. Na porção apical do defeito do grupo teste foi formado um cemento acelular fino, enquanto na porção coronal uma grossa porção de cemento celular, similar ao cemento encontrado no grupo controle, pôde ser observado.

PONTORIERO *et al.* (1999) avaliaram comparativamente várias técnicas regenerativas com o efeito do tratamento cirúrgico para acesso a raspagem radicular, em um estudo clínico controlado. Foram testados em 3 grupos distintos a colocação de três tipos diferentes de membranas e em um grupo a aplicação tópica do gel de proteínas de matriz de esmalte em defeitos ósseos angulares. As quatro modalidades regenerativas apresentaram resultados igualmente efetivos em relação à redução de profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica, sendo, contudo, superiores ao procedimento controle que foi o da raspagem com retalho aberto, após o período de 1 ano de avaliação.

SCULEAN *et al.*, (1999) compararam o tratamento de defeitos intra-ósseos profundos aplicando proteínas da matriz do esmalte com Regeneração Tecidual Guiada utilizando membranas reabsorvíveis. O estudo clínico, controlado abrangeu 16 pacientes apresentando 2 defeitos intra-ósseos contralateralmente na mesma maxila, que foram tratados aleatoriamente com as proteínas da matriz do esmalte e com membranas reabsorvíveis. Os resultados obtidos demonstraram que os sítios tratados com as proteínas de matriz do esmalte tiveram uma redução média da profundidade de sondagem de 3,8 mm, uma retração gengival média de 0,8 mm e um ganho médio no nível de inserção de 3,1 mm. Os sítios tratados com Regeneração Tecidual Guiada apresentaram médias na redução da profundidade de sondagem de 4,0 mm, na retração gengival de 1,1 mm e no ganho de inserção clínica de 3,0 mm. Os resultados indicaram que as duas modalidades terapêuticas melhoraram os parâmetros clínicos investigados de forma significativa e equivalente.

SCULEAN *et al.*, (1999b) compararam o tratamento de defeitos intra-ósseos profundos aplicando proteínas da matriz do esmalte ou Regeneração Tecidual Guiada utilizando membranas reabsorvíveis. O estudo clínico, controlado abrangeu 14 pacientes apresentando 1 defeito intra-ósseo cada, o qual foram tratados aleatoriamente com as proteínas da matriz do esmalte (Emdogain®) ou com membranas reabsorvíveis (Resolut®). Os resultados obtidos, após 6 meses, demonstraram que os sítios tratados com as proteínas de matriz do esmalte tiveram redução média de profundidade de sondagem de  $11,3 \pm 1,8$  mm para  $5,6 \pm 1,3$  mm e de nível de inserção clínica de  $12,1 \pm 2,0$  mm para  $9,1 \pm 1,5$  mm. Os sítios tratados com Regeneração Tecidual Guiada apresentaram médias na redução da profundidade de sondagem de  $11,4 \pm 2,2$  mm para  $5,6 \pm 1,3$  mm e nível de inserção clínica de  $13,3 \pm 2,3$  mm para  $10,1 \pm 1,5$  mm. A análise histológica mostrou que o

grupo com proteínas da matriz do esmalte tinha  $2,6 \pm 1,0$  mm de nova inserção (novo cimento com fibras colágenas inseridas) e  $0,9 \pm 1,0$  mm de novo osso. No grupo tratado com RTG houve formação de  $2,4 \pm 1,0$  mm de nova inserção e um ganho ósseo maior ( $2,1 \pm 1,0$  mm). Os resultados indicaram que as duas modalidades terapêuticas aumentam a formação de nova inserção em defeitos intra-ósseos.

Em estudo experimental em macacos, SCULEAN *et al.* (2000) avaliaram histologicamente, o processo de cicatrização em fenestrações seguidas de tratamento regenerativo com RTG ou proteínas da matriz do esmalte. Defeitos foram produzidos na vestibular dos dentes 13, 23, 33 e 43 em três macacos e posteriormente submetidos à raspagem e alisamento da superfície (removendo todo o cimento radicular) e condicionados com EDTA. Os defeitos foram tratados utilizando as seguintes terapias: 1) RTG; 2) Emdogain® e 3) Retalho Reposicionado Coronariamente (Controle). Depois de 5 meses, os resultados mostraram que nos defeitos tratados com RTG houve uma formação consistente de tecido ósseo e novo tecido de inserção conjuntiva, já os defeitos tratados com EMD ou com retalho reposicionado coronariamente tiveram uma formação óssea e inserção com uma extensão variada.(23) Os autores concluíram que o tratamento com RTG (membrana bioabsorvível) parece promover nova inserção e formação óssea enquanto que os defeitos tratados com EMD e Controle tiveram um ganho de inserção e ósseo parecidos, isso se deve provavelmente a uma falta de espaço, devido a um eventual colapso do retalho mucoperiostal. Apesar disso não se pode concluir que o tratamento com EMD seja ineficaz, não existe estudo para se comparar devido ao tipo específico de defeito (fenestração) são necessários mais estudos para se estabelecer uma conclusão.

SILVESTRI *et al.*, (2000) compararam a eficácia de três diferentes procedimentos cirúrgicos no tratamento de defeitos intra-ósseos: Regeneração Tecidual Guiada com membrana não reabsorvível, retalho de Widman modificado e proteínas da matriz do esmalte. Foram selecionados para o experimento 30 pacientes com defeitos intra-ósseos  $\geq 4$ mm, sendo 10 pacientes para cada tratamento. Os resultados analisados sugeriram que não houve diferença significativa entre os grupos que utilizaram membrana e proteínas derivadas da matriz do esmalte. O grupo tratado com retalho de Widman modificado não teve mudança significativa no ganho de inserção e redução da profundidade de sondagem quando comparado com o inicial.

SCULEAN *et al.* (2000c) avaliaram histologicamente, o tratamento de defeitos intra-ósseos em macacos, com Emdogain®, Regeneração Tecidual Guiada ou RTG e Emdogain® combinados. Defeitos periodontais intra-ósseos foram produzidos cirurgicamente na distal dos dentes 14, 11, 21, 24, 34 e 44 em três macacos. Aleatoriamente, foram divididos nos três grupos citados acima, além do grupo controle que foi tratado apenas com retalho reposicionado coronariamente e raspagem e alisamento radicular. Os resultados obtidos demonstraram que o grupo controle caracterizou-se pela formação de um epitélio juncional longo e regeneração periodontal limitada. Os defeitos tratados com RTG apresentaram regeneração periodontal consistente quando as membranas não foram expostas. Já os defeitos tratados com Emdogain® demonstraram uma regeneração de extensão variável. A terapia combinada pareceu não aumentar a regeneração se comparada às terapias separadas.

SCULEAN *et al.* (2001c), em estudo controlado, avaliaram clinicamente o efeitos de Emdogain® (EMD), EMD combinado com Regeneração Tecidual Guiada

(RTG), apenas RTG e cirurgia a retalho (controle) em 56 pacientes com 1 defeito infra-ósseo profundo de pelo menos 6 mm, que aleatoriamente foram tratados com uma das terapias citadas. Um ano após a terapia, os defeitos tratados com EMD demonstraram uma redução na profundidade de sondagem de  $4,1 \pm 1,7$  mm e um ganho de inserção de  $3,4 \pm 1,5$  mm. Aqueles tratados com RTG  $4,2 \pm 1,9$  mm e  $3,1 \pm 1,5$  mm respectivamente e a combinação dos dois tratamentos  $4,3 \pm 1,4$  mm e  $3,4 \pm 1,1$  mm. No grupo controle a redução da profundidade de sondagem foi de  $3,7 \pm 1,4$  mm e um ganho de inserção de  $1,7 \pm 1,5$  mm. Todos os quatro tratamentos tiveram uma redução de profundidade de sondagem significativa. Os três tratamentos regenerativos tiveram um ganho de inserção maior do que o controle. Não houve diferença estatística na redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica comparando os três tratamentos regenerativos.

## 2.6 EMDOGAIN E CIRURGIA MUCOGENGIVAL

MODICA *et al.*, (2000) avaliaram a influência do Emdogain® no procedimento de recobrimento radicular em 12 pacientes portadores de 40 pares de retrações gengivais classe I e II de Miller (bilaterais e comparáveis). Em cada um dos pacientes, um sítio foi designado aleatoriamente para o grupo teste (retalho posicionado coronariamente associado ao Emdogain®) e outro para o sítio controle (apenas retalho posicionado coronariamente). Foram avaliados a retração gengival, o nível clínico de inserção, profundidade de sondagem e a faixa de gengiva queratinizada, previamente ao experimento e seis meses pós-operatórios. A média inicial de retração gengival era de  $3.71 \pm 1.68$  mm para o grupo teste e  $3.50 \pm 1.56$

mm para o grupo controle. A média de recobrimento radicular foi de  $3.36 \pm 1.55$  mm, correspondendo a 91,2%, para o grupo teste, e de  $2.71 \pm 1.20$  mm correspondendo a 80,9% no grupo controle. Não foram verificadas alterações na profundidade de sondagem e faixa de gengiva queratinizada. Os resultados sugerem que a utilização do Emdogain® não promove melhora estatisticamente significativa nos parâmetros clínicos, quando associado à técnica de reposicionamento coronário do retalho.

RASPERINI *et al.* (2000) avaliaram em um canino inferior humano a resposta histológica frente à utilização de enxerto de tecido conjuntivo subepitelial associado à aplicação de Emdogain® sobre a superfície radicular. O elemento dental apresentava uma retração gengival de 6 mm, ausência de bolsa periodontal e ausência de gengiva queratinizada. Seis meses após a cirurgia o dente foi extraído em bloco e apresentou um ganho de 2 mm no nível de inserção e 3 mm na faixa de gengiva queratinizada. Foi verificada a formação de novo cemento, novo osso e fibras de tecido conjuntivo inseridas no novo cemento.

## **2.7 EMDOGAIN® E ENXERTO ÓSSEO**

LEKOVIC *et al.* (2000), compararam os resultados clínicos e radiográficos de dois procedimentos regenerativos em defeitos infra-ósseos: a) uso das proteínas derivadas do esmalte; b) uso das proteínas derivadas do esmalte em combinação com osso mineral bovino, que é preparado pela extração de proteínas do osso. Por todos os parâmetros clínicos (sondagem, radiografias e reabertura cirúrgica após 6 meses) o segundo grupo mostrou os melhores resultados (maior ganho de inserção e maior neoformação óssea) significantes tanto estatisticamente como clinicamente.

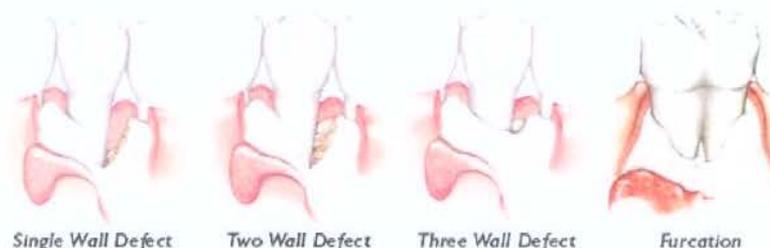
BOYAN *et al.* (2000), usaram matriz derivada de esmalte (EMD) e DFDBA para verificar o potencial osteocondutor, osteoindutor ou osteopromotor do Emdogain®. Foram implantados no músculo de 4 ratos, 8 grupos distintos: 2 mg de EMD; 4 mg de EMD; DFDBA humano inativo; DFDBA inativo + 2mg de EMD; DFDBA inativo + 4mg de EMD; DFDBA ativo; DFDBA ativo + 2 mg de EMD; e DFDBA ativo + 4 mg de EMD. Após 56 dias as amostras foram analisadas histologicamente usando uma pontuação semiquantitativa e histomorfometricamente para área de novo osso, osso cortical, osso medular e DFDBA residual. Todas as amostras que continham DFDBA inativo e apenas EMD não induziram a formação de novo osso. DFDBA e DFDBA + 2mg de EMD induziram nova formação óssea em extensão similar. Em contrapartida, DFDBA ativo + 4 mg de EMD resultaram em um aumento de indução óssea. Os autores concluíram que a matriz derivada de esmalte não é osteoindutor, contudo, tem um potencial osteopromotor, devido em parte, a sua propriedade osteocondutora, mas um limiar de concentração é necessário.

PIETRUSKA *et al.* (2001) avaliaram clínica e radiograficamente o tratamento de defeitos periodontais intra-ósseos usando duas técnicas distintas. No primeiro grupo foi utilizado Bio-Oss® combinado com membrana de colágeno reabsorvível (Bio-Gide®), no outro grupo foi utilizado apenas as proteínas derivadas da matriz do esmalte. Exames clínicos e radiográficos foram utilizados como parâmetros e comparados após 1 ano de terapia. Todos os parâmetros clínicos e radiográficos utilizados (com exceção do índice de placa e recessão gengival) diminuíram significativamente após o tratamento, nos dois grupos. Os resultados demonstraram que não houve diferenças no tratamento de defeitos intra-ósseos com qualquer das duas técnicas utilizadas, quando analisadas pelos parâmetros clínicos e histológicos.

## 2.8 INDICAÇÕES E ESPECIFICAÇÕES

Segundo CHAVES (1998) e a Companhia BIORA<sup>1</sup>, produtora do Emdogain®, este produto é indicado para aplicação tópica em superfície radicular exposta por cirurgia periodontal a retalho, para o tratamento de defeitos infra-ósseos causados por doença periodontal moderada a severa. Na Europa e nos Estados Unidos é aprovado para tratamento de defeitos de uma, duas ou três paredes infra-ósseas. Na Europa é também indicado para tratamento de furca Grau II (excedendo 2 mm). (Figura 9). É necessário, ainda, que os sítios possuam bolsas periodontais superiores a 6 mm e

perda óssea vertical superior a 3 mm para o melhor alojamento do produto e a maior quantidade de tecido



*Figura 09 – Tipos de defeitos intra-ósseos que possibilitam o uso do Emdogain®.  
FONTE: Catálogo BIORA, 2000.*

mole para recobri-lo. Não é recomendado para defeitos totais. Cada embalagem do Emdogain® deve ser utilizada em somente um paciente e é suficiente para o tratamento de pelo menos 3 dentes envolvidos periodontalmente.

A técnica operatória para administrar o Emdogain® é de fácil manuseio e curto tempo. Para se obter resultados favoráveis deve-se seguir corretamente e minuciosamente todas as etapas (GREENSTEIN, 2000; MELLONING, 1999).

<sup>1</sup> BIORA, catálogo do produto Emdogain®. 2000.

Quanto às contra-indicações, o fabricante sugere que o produto não seja utilizado com as seguintes desordens ou condições, mas não é totalmente limitado a estas, doenças sistêmicas ou diabetes não controlados, terapia extensa com altas doses de corticosteróides, desordens ou tratamentos que comprometam a cicatrização, doenças ósseas-metabólicas, radiação e outras terapias imunodepressivas ou, ainda, infecções ou vascularização comprometida no sítio cirúrgico. A segurança e a efetividade do produto não foram estabelecidas para pacientes submetidos à terapia anticoagulante. Podem ocorrer, ainda, alguns efeitos adversos como urticária, sensação de prurido e distúrbios gastrointestinais e urogenitais.

Os cuidados pós-operatórios são direcionados ao procedimento cirúrgico e seguem as instruções rotineiras: prescrição de analgésico moderado para o desconforto pós-operatório e antibiótico para o controle da placa bacteriana patogênica (MELLONING, 1999).

Quanto à prescrição do antibiótico pós-operatório existem controvérsias. Muitos autores descrevem a técnica cirúrgica preconizada o uso de antibioticoterapia, mas em recente estudo, SCULEAN *et al.* (2001b) avaliaram 34 pacientes com 1 defeito ósseo profundo cada, que foram tratados com Emdogain® e antibiótico (grupo teste) ou apenas Emdogain® (grupo controle). O regime antibiótico consistia numa combinação de 3 x 375 mg de amoxicilina e 3 x 250 mg de metronidazol diário durante 7 dias. Os parâmetros utilizados foram: índice de placa, índice gengival, sangramento à sondagem, recessão gengival, nível de inserção clínica e profundidade de sondagem. Após um ano, foi demonstrado que a administração sistêmica de amoxicilina e metronidazol adjacente ao uso do

Emdogain® no tratamento cirúrgico de defeitos periodontais intra-ósseos não produziram diferenças estatísticas quando comparado ao grupo controle.

### 3 DISCUSSÃO

As pesquisas, não somente na periodontia como em qualquer área da saúde, estão cada vez mais dispendendo de esforços para o avanço tecnológico. Sabe-se que o avanço neste campo deve conciliar com princípios biológicos e, portanto, é importante que se realizem descobertas e que, a partir destas, sejam criadas técnicas para o benefício dos pacientes.

Após o conhecimento que, concomitantemente à cicatrização de uma ferida periodontal, ocorre a migração do tecido epitelial e se este for barrado ou mantido mais distante do fundo da bolsa periodontal poderia ocorrer uma regeneração do periodonto, surgiram técnicas que passaram pela curetagem gengival, ENAP (Excisional New Attachment Procedure), retalho de Widman modificado, até chegar-se na Regeneração Tecidual Guiada. Descobriu-se que, impedindo a invasão do tecido epitelial, o contato de tecido conjuntivo com superfície radicular resultava em reabsorção radicular e que a interação osso/raiz resultava em anquilose associada à reabsorção radicular. Portanto, o tecido epitelial tem função protetora (LINDHE, 1992). A formação de um epitélio juncional longo é considerada como tratamento para a bolsa periodontal. A possibilidade de uma regeneração via ligamento periodontal é atualmente mais aceita pela Periodontia mundial.

Há alguns anos tem-se o conhecimento de que a formação do cemento é viável graças à ação de proteínas do esmalte. Partindo-se do princípio que o novo ligamento periodontal e novo osso alveolar poderiam ser formados pelo cemento

neoformado, surgiu a técnica de aplicação de matriz derivada do esmalte sobre superfícies radiculares previamente expostas à Doença Periodontal.

A idéia de se reproduzir a natureza é bem aceita cientificamente e parece ter um futuro promissor na Periodontia.

Estudos demonstraram ganhos no aparato de inserção com o uso do Emdogain®, através de avaliações clínicas, radiográficas e histológicas (Tabelas 1 e 2), indicando eficácia na obtenção de novo ligamento periodontal, cemento e osso alveolar, restituindo a sustentação e a função do dente. Resultados experimentais vêm demonstrando que as proteínas da matriz do esmalte promovem um ganho de inserção de 1,5 a 4,6 mm e uma redução de profundidade de sondagem de 2,7 a 5,0 mm, não regenerando completamente todo o aparato de inserção perdido.

A evidência mais marcante na terapia com Emdogain® é a fácil constatação radiográfica da neoformação óssea, já visível após 6 meses do tratamento.

A utilização do Emdogain® como um procedimento adjunto durante a terapia cirúrgica periodontal deve ser analisada pelos clínicos que tratam periodontites avançadas. Contudo, há de se considerar uma expectativa realista sobre a magnitude das terapias regenerativas adjuntas (GREENSTEIN, 2000). Apesar do potencial para obtenção de resultados clínicos e histológicos favoráveis, a utilização do Emdogain® como terapia regenerativa apresenta limitações à sua aplicabilidade para determinados defeitos ósseos, eficácia e previsibilidade clínica.

Conceitualmente, é possível um grande índice de previsibilidade em vários defeitos com a utilização de proteínas da matriz do esmalte. Contudo,

numerosos fatores clínicos podem interferir nos resultados como a microbiota, a raspagem da superfície radicular efetivo, a genética, o tabagismo, o número de paredes remanescentes ao redor da lesão, a higiene bucal do paciente, a manutenção pós-operatória, a manipulação dos tecidos moles, etc. (GREENSTEIN, 2000).

**Tabela 01** – Resultados demonstrando a redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica em estudos experimentais com Emdogain®.

	ANO	DEFEITOS	TESTE		CONTROLE		MESES
			P.S.	N.I.C.	P.S.	N.I.C.	
HEIJL <i>et al.</i>	1997	34		2,1 mm		1,5 mm	8 meses
HEIJL <i>et al.</i>	1997	34		2,3 mm		1,7 mm	16 meses
HEIJL <i>et al.</i>	1997	34		2,2 mm		1,7 mm	36 meses
ZETTERSTRÖM <i>et al.</i>	1997	247		3,1 mm		2,6 mm	8 meses
ZETTERSTRÖM <i>et al.</i>	1997	247		2,9 mm		2,2 mm	36 meses
MELLONIG	1999	1	5,0 mm	4,0 mm			6 meses
SCULEAN <i>et al.</i>	1999	14		3,2 mm			6 meses
SCULEAN <i>et al.</i>	1999	32	4,4 mm	3,0 mm			8 meses
HEDEN	1999	145	4,4 mm	3,0 mm			8 meses
HEDEN	1999	145		4,6 mm			12 meses
PONTORIERO <i>et al.</i>	1999		4,4 mm	2,9 mm			12 meses
OKUDA <i>et al.</i>	2000	36	3,0 mm	1,7 mm	2,2 mm	0,8 mm	12 meses
HEARD <i>et al.</i>	2000	64	3,8 mm	2,8 mm			8 meses
PARASHIS <i>et al.</i>	2000	25	4,0 mm	3,6 mm			12 meses
FORUM <i>et al.</i>	2001	23	2,7 mm	1,5 mm			12 meses

**Tabela 02** – Resultados demonstrando avaliações histométricas em experimentos com Emdogain®.

	ANO	CASOS	TESTE		CONTROLE		TEMPO	TIPO DE DEFEITO
			cemen.	osso	cemen	osso		
HEIJL	1997	1	73%	65%			4 meses	deiscência
SCULEAN	1999	14	2,6 mm*	0,9 mm			6 meses	intra-ósseo
FROUM	2001	23		74%		23%	1 ano	intra-ósseo

• N.I.C.

A aplicação clínica do Emdogain® apresenta vantagens como a facilidade no manuseio do gel, utilização de uma técnica cirúrgica simples e ainda a segurança, tanto clínica quanto histologicamente. O produto apresenta boa tolerância e baixo potencial imunogênico (ZETTERSTROM *et al.*, 1997). Análises

sanguíneas não indicaram alterações nos níveis de anticorpos específicos, nem mesmo em pacientes propensos a reações alérgicas, demonstrando homogeneidade entre as proteínas humanas e suínas, encontradas no Emdogain®, explicando a ausência de reações adversas.

O Emdogain® vem sendo usado desde 1997 com resultados satisfatórios em lesões infra-ósseas, mas deve ser considerado que seu alto custo vem dificultando sua utilização em larga escala.

A Regeneração Tecidual Guiada, com membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis foi demonstrada em estudos histológicos e clínicos como eficiente no processo de formação de nova inserção conjuntiva. Com o mesmo objetivo terapêutico, regeneração periodontal, RTG e Emdogain® foram analisados comparativamente para estabelecer o melhor tratamento para defeitos infra-ósseos causados por doença periodontal. Os resultados não demonstraram diferenças significativas quando se usa Emdogain® ou membranas. (Tabela 3).

A ação mecânica da membrana propicia condições favoráveis para uma nova inserção através do impedimento da migração de células do epitélio. As proteínas derivadas do esmalte diminuem substancialmente a proliferação de tecido epitelial e, portanto, neste aspecto teriam ação semelhante às barreiras. Além dessas propriedades, o Emdogain® pode apresentar um efeito antimicrobiano na vitalidade de placa dental supragengival (SCULEAN *et al.*, 2001) (31), propriedade inexistente na membrana.

Os defeitos tratados com RTG apresentaram uma regeneração óssea mais consistente do que nos tratados com Emdogain®, que pode ser explicado pelo

espaço criado, pela proteção e estabilização do coágulo sanguíneo, mais eficiente quando usado membranas (SCULEAN *et al.*, 1999). (19)

O pós-operatório da técnica da Regeneração Tecidual Guiada pode apresentar desconforto maior ao paciente do que a técnica do Emdogain®. Como este último não representa uma “barreira física”, os inconvenientes de infecção, exposição da membrana e segundo ato cirúrgico para a remoção de membranas não reabsorvíveis são inexistentes.

**Tabela 03** – Resultados comparativos de terapias usando Emdogain® ou RTG

	ANO	CASOS	Emdogain		RTG		TEMPO	TIPO DE DEFEITO
			P.S.	N.I.C.	P.S.	N.I.C.		
SCULEAN	1999	14	5,7 mm	3,0 mm	5,8 mm	3,2 mm	6 meses	intra-ósseo
SILVESTRI	2000	30	4,8 mm	4,5 mm	5,9 mm	4,8 mm	12 meses	intra-ósseo
SCULEAN	2001	56	4,1 mm	3,4 mm	4,2 mm	3,1 mm	12 meses	intra-ósseo

Outro aspecto estudado foi a utilização de Emdogain® juntamente com enxertos ósseos, onde a combinação dos dois traria um aumento significativo no ganho de inserção clínica e neoformação óssea. Uma provável explicação para isto é que o acréscimo de enxerto ósseo faz com que o gel de proteínas do esmalte ganhe um arcabouço mais firme, mantendo-se o espaço necessário à regeneração, como é preconizado por muitos autores também na técnica de Regeneração Tecidual Guiada. MELLONING (1999), sugere que uma das maiores limitações das proteínas do esmalte comercializadas é a sua consistência semifluída, o que neutraliza a característica de mantenedor de espaço que possuem os materiais sólidos. Para tanto, sugeriu uma combinação de enxerto halógeno (osso seco congelado descalcificado) com as proteínas do esmalte, com o intuito de resolver o problema de fluidez.

## 4 CONCLUSÃO

- As proteínas derivadas do órgão do esmalte têm função fundamental na cementogênese;
- As amelogeninas são responsáveis, em grande parte, pela formação de cimento acelular;
- A simples formação de cimento acelular parece ter potencial para induzir a formação do ligamento periodontal;
- As proteínas derivadas do órgão do esmalte parecem inibir a proliferação epitelial;
- A aplicação de proteínas derivadas do órgão do esmalte sobre uma superfície radicular raspada e condicionada, com defeitos infra-ósseos, parece ter um potencial elevado para desenvolver regeneração;
- A combinação de proteínas derivadas da matriz de esmalte com enxertos ósseos parece contribuir para manter um adequado espaço para uma regeneração mais efetiva;
- Outras proteínas, presentes na matriz derivada do esmalte, como a ameloblastina, devem ser estudadas com maiores detalhes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

ARAUJO, M. G.; LINDHE, J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. Na experimental study in dogs. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.25, n.6, p.524-530, 1998.

AVERY, J. K. **Essentials of oral histology and embryology**. 2.ed. Boston: Mosby, 2000. 224p.

BOYAN, B. D. *et al.* Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze-dried bone allograft *in vivo*. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.8, p.1278-1286, Aug. 2000.

CARRANZA, F. A.; NEWMAN, M. G. **Periodontia clínica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1997. p.32-53.

CHAVES, E. S. Aplicação clínica de proteínas derivadas da matriz do esmalte na regeneração periodontal. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.52, n.3, p.233-235, 1998.

FROUM, S. J. *et al.* A comparative study utilizing open flap debridament with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-month re-entry study. **J Periodontol**, Chicago, v.72, n.1, p.25-34, Jan.2001.

---

\* Baseada na NBR 6023, de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

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

GREENSTEIN, G. Emdogain: evidence of efficacy. **Compend Contin Educ Dent**, Jamesburg, v.21, n.4, p.299-305, Apr. 2000.

HAMMARSTROM, L.; HEIJL, L.; GESTRELIUS, S. Periodontal regeneration in a bucal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.24, n.9, p.669-677, Sept.1997.

HEARD, R. H. *et al.* Clinical evaluation of wound healing following multiple exposures to enamel matrix protein derivative in the treatment of intrabony periodontal defects. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.11, p.1715-1721, Nov.2000.

HEDEN, G.; WENNSTROM, J.; LINDHE, J. Periodontal tissue alterations following Emdogain treatment of periodontal sites with angular bone defects. A series of case reports. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.26, n.12, p.855-860, Dec. 1999.

HEIJL, L. *et al.* Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.24, n.9, p.705-714, Sept. 1997.

HIROOKA, H. The biologic concept for the use of enamel matrix protein: true periodontal regeneration. **Quintessence Int**, Berlin, v.29, n.10, p.621-630, Oct. 1998.

HOANG, A. M.; OATES, T. W.; COCHRAN, D. L. *In vitro* wound healing responses to enamel matrix derivative. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.8, p.1270-1277, Aug. 2000.

LEKOVIC, V. *et al*. 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. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.7, p.1110-1116, July 2000.

LISTGARTEM, M. A. A mineralized cuticular tissue with connective tissue characteristics on the crowns of human unerupted teeth with amelogenesis imperfecta. A light and electron microscopic study. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.12, p.877-889, 1967.

MELLONIG, J. T. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: Technique and clinical and histologic case report. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, v.19, n.1, p.8-19, Feb. 1999.

MODICA, F. *et al*. Coronally advanced flap for the treatment of buccal gingival recessions with and without enamel matrix derivative. A split-mouth study. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.11, p.1693-1698, Nov.2000.

OKUDA, K. *et al*. Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.12, p.1821-1828, Dec. 2000.

PAINE, M. L. *et al*. Protein-to-protein interactions: criteria defining the assembly of the enamel organic matrix. **J Dent Res**, Washington, v.77, n.3, p.496-502, 1998.

PARASHIS, A.; TSIKLAKIS, K. Clinical and radiographic findings following application of enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. A series of case reports. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.27, n.9, p.705-713, Sept. 2000.

PAUW, M. T. V. *et al.* Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor  $\beta_1$  release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.3, p.31-43, Jan. 2000.

PETINAKI, E.; NIKOLOPOULOS, S.; CASTANAS, E. Low stimulation of peripheral lymphocytes, following in vitro application of Emdogain. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.25, n.9, p.715-720, Sept. 1998.

PIETRUSKA, M. D. A comparative study on the use of Bio-Oss and enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of periodontal bone defects. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v.109, n.3, p.178-181, June 2001.

PONTORIERO, R.; WENNSTROM, J.; LINDHE, J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.26, n.12, p.833-840, Dec. 1999.

RASPERINI, G. *et al.* Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix protein derivative (Emdogain): a case report. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, v.20, n.3, p.269-275, June 2000.

RASPERINI, G.; RICCI, G.; SILVESTRI, M. Surgical technique for treatment of infrabony defects with enamel matrix derivative (Emdogain): 3 case reports. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, v.19, n.6, p.578-587, Dec. 1999.

ROBINSON, C. *et al.* The developing enamel matrix: nature and function. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v.1, p.282-291, 1998.

SCHUMACHER, S. **Compendio de histologia humana**. 4.ed. Rio de Janeiro: Editora Labor, 1955. 258p.

SCHWARTZ, Z. *et al.* Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.8, p.1287-1296, Aug. 2000.

SCULEAN, A. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative (Emdogain). **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, v.20, n.4, p.374-381, Aug. 2000a.

SCULEAN, A. *et al.* Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. **J Periodontol**, Chicago, v.2, p.255-262, 1999a.

SCULEAN, A. *et al.* Effect of enamel matrix protein derivative (Emdogain) on ex vivo dental plaque vitality. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.28, p.1074-1078, 2001a.

SCULEAN, A. *et al.* The effect of postsurgical antibiotics on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins. **J Periodontol**, Chicago, v.72, n.2, p.190-195, Feb. 2001b.

SCULEAN, A. *et al.* Healing of fenestration-type defects following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins. An experimental study in monkeys. **Clin Oral Investig**, Berlin, v.4, n.1, p.50-56, Mar. 2000b.

SCULEAN, A. *et al.* Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. **J Periodont Res**, Copenhagen, v.34, n.6, p.310-322, Aug. 1999b.

SCULEAN, A. *et al.* Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.28, p.397-403, 2001c.

SCULEAN, A. *et al.* Treatment of intrabony defects with guided tissue regeneration and enamel-matrix-proteins. An experimental study in monkeys. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.27, n.7, p.466-472, July 2000c.

SCULEAN, A. *et al.* Treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain): a report of 32 cases. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, v.19, n.2, p.157-163, Apr. 1999c.

SILVESTRI, M. *et al.* Comparison of treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. A pilot study. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.27, n.8, p.603-610, Aug. 2000.

SLAVKIN, H. C.; BOYDE, A. Cementum: An epithelial secretory product? **J Dent Res**, Washington, v.53, p.157, 1975.

SLAVKIN, H. C. *et al.* Human and mouse cementum proteins immunologically related to enamel proteins. **Biochem Biophys Acta**, Amsterdam, v.991, p.12-18, 1989.

TEM CATE, R. Development of the periodontium. A transplantation and autoradiographic study. **Anat Rec**, London, v.170, p.365-380, 1971.

YUKNA, R. A.; MELLONIG, J.T. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. **J Periodontol**, Chicago, v.71, n.5, p.752-759, May 2000.

ZETTERSTROM, O. *et al.* Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.24, n.9, p.697-704, Sept. 1997.