



1290005141

TCE/UNICAMP
P926u
FOP

CAROLINA SCHIBINSKI PRESTES

UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DERIVADA DA MATRIZ DO ESMALTE
(EMDOGAIN®) EM DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS COM TÉCNICAS ASSOCIADAS

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

PIRACICABA
2004

25/137

CAROLINA SCHIBINSKI PRESTES

UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DERIVADA DA MATRIZ DO ESMALTE
(EMDOGAIN®) EM DEFEITOS INFRA-ÓSSEOS COM TÉCNICAS ASSOCIADAS

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. Enilson
Antonio Sallum

311

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

PIRACICABA
2004

Unidade FOP/UNICAMP	
N. Chamada	P926u
Vol.	Ex.
Tombo BC/	

Unidade - FOP/UNICAMP

TCE/UNICAMP

P926u

Ed.

Vol.

Ex.

Tombo 5141

C ☐

D ☒

Proc 16P-134/2010

Preço R\$ 11,00

Data 03/12/10

Registro 776799

Ficha Catalográfica

P926u

Prestes, Carolina Schibinski.

Utilização da proteína derivada da matriz do esmalte (Emdogain®) em defeitos infra-ósseos com técnicas associadas. / Carolina Schibinski Prestes. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2004. 37f.

Orientador : Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum.

Monografia (Especialização) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Regeneração periodontal. 2. Emdogain® 3. Defeitos infra-ósseos. I. Sallum, Enilson Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Alfredo e Marilda,
e ao Fernando,
grandes incentivadores
desse processo.

Aos meus pais, Alfredo e
Marilda e ao Fernando grandes
incentivadores desse processo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu diretor, Prof Dr. Thales Rocha de Mattos Filho Diretor desta instituição.

Ao Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum, coordenador do Curso de Especialização.

Aos Profs. Antônio Wilson, Edwil, Enilson, Jorge, Márcio, Vinicius pelos conhecimentos científicos e práticos transmitidos com dedicação, amizade e paciência.

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr., coordenador do departamento de Prótese e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao meu orientador Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum pelo exemplo científico.

Aos meus co-orientadores Antonieta, Suzana, Fernando e Bruno pela confiança em mim depositada, amizade e ensinamentos científicos e clínicos.

Aos Profs. Drs. Fábio André dos Santos e Gibson Luis Pillati (UEPG), amigos e exemplos a quem atribuo o início de minhas atividades na Periodontia.

Ao meus amigos e companheiros (PERIOPIRA) de curso pelos bons momentos vividos, por toda a alegria que sentia em nossos dias de aula devido a grandes amizades que estavam se formando.

A meus amigos de Doutorado Bruno, Robert, Renatão, João, Poliana, Ângela, Suzana, Antonieta, Patrícia, Juliana e Luciana e do Mestrado Benatti, Goiano, Cléverson, Daia, Érica, Sandro, Guilherme, Fabíola.

A Eliete, secretária da disciplina, pela sua paciência, amizade, eficiência.

A Dona Cida, Fernando e Danelon por todo o apoio durante as clinicas.

As minhas Amigas Madelon, Krischina, Simone, Tais, Amanda, Liana, Fernada, Emilena, Carina.

A minha Família pela compreensão, apoio, amizade e confiança depositados.

Ao meu sobrinho Cauã pela grande alegria transmitida.

A Deus por esta oportunidade de aprender com meus erros e acertos.

EPÍGRAFE

“Nunca te é concedido um desejo sem que te seja concedida também a faculdade de torná-lo realidade. Entretanto, é possível que tenhas que lutar por ele”

Richard Bach

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	08
RESUMO	09
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1. EMDOGAIN®	13
2.2. EMDOGAIN® associado à Regeneração Tecidual Guiada	
2.3. EMDOGAIN® associado à Enxerto Ósseo Bovino	
2.4. EMDOGAIN® associado à Regeneração Tecidual Guiada e Enxerto Ósseo Bovino	
2.5. EMDOGAIN® associado ao Enxerto Ósseo Bovino e à Fibrinogênio Autógeno e Fibronectina Sistêmica	
2.6. EMDOGAIN® associado ao Vidro Bioativo	
2.7. EMDOGAIN® associado ao DFDBA e FDBA	
2.8. EMDOGAIN® associado ao Enxerto Ósseo Autógeno	
2.9. EMDOGAIN® associado ao Laser Er:YAG	
3 DISCUSSÃO	27
4 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EMDOGAIN®	-	EMD
FIBRINOGENIO AUTÓGENO/ FIBRONECTINA SISTÊMICA	-	FAFS
ÍNDICE GENGIVAL	-	IG
ÍNDICE DE PLACA	-	IP
NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO	-	NIC
OSSO ALÓGENO DESMINERALIZADO LIOFILIZADO	-	DFDBA
OSSO ALÓGENO LIOFILIZADO	-	FDBA
OSSO BOVINO MINERAL POROSO	-	OBMP
PROFUNDIDADE DE SONDFAGEM	-	PS
RECESSÃO GENGIVAL	-	RG
REGENERAÇÃO TECIDUAL GUIADA	-	RTG
SANGRAMENTO A SONDAGEM	-	SS
VIDRO BIOATIVO	-	BG

RESUMO

As proteínas derivadas da matriz do esmalte ocupam, atualmente, uma posição de destaque dentre as técnicas de regeneração periodontal e fundamenta-se no conhecimento do papel destas proteínas durante o desenvolvimento da raiz dental. A proteína da matriz do esmalte atualmente disponível comercialmente, EMDOGAIN[®] (EMD) tem como componente principal da formulação, a amelogenina que é o constituinte hidrofóbico do agregado de proteínas da matriz do esmalte, causando assim, uma agregação protéica em áreas úmidas. Estudos mostram que a deposição temporária de proteínas da matriz do esmalte sobre a superfície radicular é um passo essencial e prévio à formação do cimento acelular, e que, a formação do ligamento periodontal e osso alveolar é dependente da formação do cimento acelular. O presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura a respeito de todos os aspectos envolvidos no processo de formação do cimento dental, a aplicação das proteínas derivadas do esmalte e sua utilização clínica na terapia periodontal associadas a outras técnicas regenerativas com o objetivo de formar cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. As técnicas associadas relatadas são Regeneração Tecidual Guiada, Enxerto Ósseo Bovino, Regeneração Tecidual Guiada e Enxerto Ósseo Bovino, Enxerto Ósseo Bovino e à Fibrinogênio Autógeno e Fibronectina Sistêmica, Vidro Bioativo, DFDBA e FDBA, Enxerto Ósseo Autógeno, Laser Er:YAG.

ABSTRACT

The enamel matrix proteins derivative (EMD) have been considered, recently, an important tool in regeneration techniques and are fundamented in the importance of these proteins in natural root enbriogenesis. The EMD, comercially available as EMDOGAIN[®], has as its important component amelogenin, which is the hydrophobic components of enamel agregate proteins, capable of proteins agregation in wet surfaces. Researches show that the temporally deposition of enamel matrix over root surface is an essential and necessary step to acelular root cementun formation, and that periodontal ligament and alveolar bone are dependent of its formation. The aims of the present study is to elucidate in a literature review the processes involved in root cementun formation and the clinical aplication of EMD associated with periodontal regeneration with the purpose of new cementun, periodontal ligament and alveolar bone formation. And the use of EMD with others regenerative techniques such as Guided Tissues Regeneration, Bovine Bone Grafts, Autogenous Fibrinogen and Sistemic Fribonectin, DFDBA, FDBA, Autogenous Bone Graft and Er:YAG laser.

1. INTRODUÇÃO

O biofilme dental é um ecossistema microbiano aderido à superfície do dente e consiste no fator etiológico primário tanto da doença periodontal como da cárie; seu acúmulo pode ser favorecido e potencializado por fatores locais (Bergman, 1987; Løe *et al.*, 1965). As modificações patológicas que acompanham a gengivite estão associadas à presença deste biofilme no sulco gengival. Esses microrganismos são capazes de sintetizar endotoxinas que causam danos às células epiteliais e ao tecido conjuntivo, assim como, aos constituintes intercelulares; como por exemplo, colágeno, substância fundamental e glicocálice (revestimento celular). O alargamento resultante dos espaços entre as células do epitélio juncional durante o início da gengivite pode permitir que agentes nocivos derivados das bactérias ou a própria bactéria tenham acesso ao tecido conjuntivo, podendo evoluir para um quadro de periodontite (Saglie *et al.*, 1974).

Page & Schroeder (1977) descreveram a sequência de eventos da gengivite em três estágios diferentes, sendo que um estágio evolui para o seguinte sem um limite bem definido. O primeiro estágio foi definido como lesão inicial e estão presentes os seguintes componentes: vasculite clássica dos vasos subjacentes ao epitélio juncional e sulco gengival; presença de proteínas séricas, especialmente fibrina; alteração da parte mais coronal do epitélio juncional e perda do colágeno perivascular. Clinicamente, a resposta inicial da gengiva ao biofilme não é evidente (gengivite subclínica).

No segundo estágio, sinais clínicos de eritema podem aparecer como um aumento na taxa de destruição do colágeno, alterações nas características morfológicas dos vasos sanguíneos e nas configurações dos leitos vasculares. Page & Schroeder (1977) chamaram esse estágio de lesão precoce. No terceiro estágio uma inflamação de moderada a severa, pode ser observada. Em secções histológicas desse tecido há a presença de uma intensa reação inflamatória crônica, tal estágio foi denominado lesão estabelecida; a extensão da lesão dentro do osso alveolar caracteriza um quarto estágio chamado de lesão avançada, a qual Lindhe *et al.* (1974) denominaram fase de destruição periodontal.

Løe *et al.* (1965), por meio da gengivite experimental em humanos, demonstraram que o acúmulo de biofilme dental supragengival induz à gengivite. Já Lindhe *et al.* (1975) demonstraram que a periodontite pode se desenvolver a partir de gengivites localizadas. Essa perda de suporte periodontal seria o resultado não só de um crescimento em longo prazo do biofilme na margem gengival, mas também em virtudes das mudanças ecológicas,

quantitativas e qualitativas da microbiota subgengival e da resposta do próprio hospedeiro frente a esse desafio microbiano (Loesche, 1976; Kornman, 1985; Marsh, 1994). Os objetivos da terapia periodontal são controlar a infecção e regenerar a perda do aparato de suporte dos dentes.

As técnicas regenerativas englobam diversas técnicas com o intuito de devolver os tecidos periodontais de suporte perdidos com a progressão da doença periodontal, como o cimento, osso e ligamento periodontal. A utilização dos enxertos ósseos foi inicialmente descrita com o objetivo de preencher os defeitos ósseos remanescentes. Posteriormente, a aplicação de membranas, sejam reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, por meio da técnica da Regeneração Tecidual Guiada, a qual exclui as células provenientes dos tecidos gengivais, assumiu um importante papel dentro das técnicas regeneradoras. As proteínas derivadas da matriz do esmalte ocupam, atualmente, uma posição de destaque dentre tais técnicas e consiste na aplicação das proteínas presentes durante o desenvolvimento da raiz dental. Esse princípio fundamentou-se em estudos que descreveram a cementogênese clássica, a qual apresenta íntima relação entre a bainha radicular epitelial de Hertwig e a cementogênese inicial.

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura a respeito de todos os aspectos envolvidos no processo de formação do cimento dental, a aplicação das proteínas derivadas do esmalte e sua utilização clínica na terapia periodontal associadas a outras técnicas regenerativas com o objetivo de formar cimento, ligamento periodontal e osso alveolar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. EMDOGAIN®

A bainha radicular de Hertwig consiste em uma extensão apical do órgão dental, e sua camada mais interna representa uma extensão da camada de ameloblastos da coroa (Heijl *et al.*, 1997). Existem grandes evidências de que a bainha radicular secreta proteínas da matriz do esmalte durante a formação radicular e este tipo de proteína está, possivelmente envolvida na formação do cimento acelular durante o processo de desenvolvimento dental. Vários estudos realizados nos últimos 20 anos já suportavam cientificamente esta hipótese (Slavkin & Boyde, 1975; Slavkin, 1976; Lindskog, 1982 a, b).

Em 1982, numa série de três trabalhos Lindskog, 1982 a, b; Lindskog & Hammarstrom, 1982 demonstraram através de estudos *in vitro* e com microscopia eletrônica de varredura que a camada mais interna da bainha radicular epitelial de Hertwig tem um estágio secretor e que, um material semelhante à matriz do esmalte é formado sobre a superfície radicular previamente à formação do cimento.

A utilização de proteínas da matriz do esmalte para obter regeneração periodontal tem sido descrita recentemente e fundamenta-se no conhecimento do papel destas proteínas durante o desenvolvimento da raiz dental. Desde os estudos que descreveram a cementogênese clássica onde se demonstrou íntima relação entre a bainha radicular epitelial de Hertwig e a cementogênese inicial. A proteína da matriz do esmalte atualmente disponível comercialmente, EMDOGAIN® (EMD) tem como componente principal da formulação, a amelogenina que é o constituinte hidrofóbico do agregado de proteínas da matriz do esmalte, causando assim, uma agregação protéica em áreas úmidas (Zetterstrom *et al.*, 1997).

Mais recentemente Bosshardt & Schroeder, em 1996, demonstraram através de estudos ultraestrutural e imunohistoquímico que, de fato, proteínas da matriz do esmalte são depositadas sobre a superfície dentinária da parte apical de dentes humanos em desenvolvimento e também em dentes de porco. Antes disso, Slavkin *et al.*, 1989 b, mostraram que o cimento acelular contém proteínas que são imunologicamente relacionadas com as proteínas na matriz do esmalte.

Parece então, que a deposição temporária de proteínas da matriz do esmalte sobre a superfície radicular é um passo essencial e prévio à formação do cimento acelular, e que, a formação do ligamento periodontal e osso alveolar é dependente da formação do cimento acelular (Hammarstrom, 1997 a, b; Hammarstrom *et al.*, 1997; Heijl, 1997). Este fato também

está de acordo com o estudo de Ten Cate que, em 1975, demonstrou que o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar não constituem apenas uma unidade funcional que ancora os dentes nas maxilas, mas o desenvolvimento destes três tecidos também ocorre simultaneamente.

Com base nessas informações obtidas através de muitas investigações que esclarecem, ainda que parcialmente, os eventos biológicos que caracterizam o desenvolvimento dental, um grupo de pesquisadores suecos, a partir de 1997, demonstrou em uma série de publicações, a indução de regeneração periodontal através da reprodução desses eventos em estudos *in vitro* e *in vivo*.

Num primeiro estudo, composto por três experimentos, Hammarstrom, em 1997b, identificou, inicialmente *in vitro*, a presença e distribuição de amelogenina no ápice em formação de pré-molares humanos e de molares de ratos em desenvolvimento.

No segundo experimento (Hammarstrom, 1997b), depois de propiciar uma exposição experimental da matriz do esmalte às células do folículo dental, observou a formação de uma matriz de tecido duro acelular sugerindo que a matriz do esmalte teve um efeito indutivo sobre algumas células do folículo dental.

No último expediente deste estudo (Hammarstrom, 1997 b), foi investigado histologicamente, o tipo de tecido neofomado após a aplicação de matriz do esmalte exógena, em cavidades experimentais produzidas na superfície radicular de incisivos de macacos, removidos de seus respectivos alvéolos. As cavidades foram preparadas na superfície mesial de incisivos laterais, sendo que nas cavidades teste, foi aplicada a matriz do esmalte, e nas cavidades controle nada foi aplicado. Os dentes foram, então, reimplantados e após 8 semanas observou-se nas cavidades teste a formação de um tecido histologicamente idêntico ao cimento acelular de fibras extrínsecas. Este tecido era firmemente aderido à dentina subjacente e fibras colágenas se estendiam a partir do cimento. Já nas cavidades controle, houve formação irregular de uma camada espessa de tecido duro, celular, fracamente aderido à dentina e parecido com osso imaturo.

Com o objetivo de avaliar se a aplicação da matriz do esmalte sobre uma superfície radicular desnudada pode promover regeneração de todos os tecidos periodontais, Hammarstrom *et al.* (1997), realizaram um estudo em deiscências vestibulares experimentais em macacos. Retalhos mucoperiostais foram elevados do canino até o primeiro molar em cada um dos lados da maxila, e defeitos padronizados foram criados nos pré-molares e na raiz mesial do primeiro molar. Após o condicionamento radicular com ácido orto-fosfórico a 37%, foi aplicada a solução contendo as proteínas da matriz do esmalte, e só então, os retalhos

foram reposicionados e suturados. Os dentes do quadrante contra-lateral foram usados como controle, sendo que após o condicionamento ácido foi aplicada apenas uma solução veículo, sem o conteúdo protéico. A avaliação em microscopia óptica e comparação morfométrica revelaram que houve regeneração periodontal quase completa do cemento acelular firmemente aderido à dentina, do ligamento periodontal e do osso alveolar.

Quanto à capacidade da dentina em adsorver estas proteínas, Gestrelus *et al.*, em 1997, por meio de Análise Espectroscópica Eletrônica, verificaram, *in vitro*, que as superfícies mais externas das raízes, após o condicionamento ácido, apresentavam um caráter mais protéico do que mineral. A partir dessa informação foi testada a capacidade de adsorção das proteínas da matriz do esmalte a superfícies minerais e protéicas. Segundo os autores, o derivado da matriz do esmalte formou multicamadas tanto sobre superfície mineral como protéica.

Numa segunda parte desse estudo (Gestrelus *et al.*, 1997a), os autores descreveram o efeito das proteínas da matriz do esmalte em uma solução veículo de alginato de propilenoglicol sobre células do ligamento periodontal ao longo do tempo *in vivo*. Incisivos de macacos foram extraídos e 2/3 do cemento foi removido longitudinalmente na superfície mesial. Após o condicionamento ácido, foi aplicada a matriz do esmalte em alginato de propilenoglicol nas superfícies dos dentes testes, e nas de controle nada foi aplicado. Os dentes eram, então, imediatamente reimplantados. Para avaliação em microscopia eletrônica de varredura, os dentes foram progressivamente extraídos nos 3º, 7º, 14º dias. De acordo com os resultados obtidos, as superfícies testadas ficaram inicialmente cobertas por uma rede de fibras protéicas e foram continuamente colonizadas por células semelhantes a fibroblastos até atingirem uma média de cobertura celular correspondente a $\frac{3}{4}$ da superfície. Já as superfícies controle tornaram-se continuamente cobertas por placa bacteriana e atingiram uma cobertura celular equivalente à $\frac{1}{8}$ da superfície.

Com o propósito de obter maiores esclarecimentos sobre mecanismos e fatores necessários para que ocorra a regeneração periodontal, Gestrelus *et al.*, 1997b desenvolveram modelos de estudo *in vivo* para avaliar a capacidade da matriz do esmalte em influenciar propriedades específicas de células do ligamento periodontal. Dentro dos limites dos sistemas de avaliação, constataram: aumento na proliferação de células do ligamento periodontal, sem, contudo, haver proliferação de células epiteliais, usando o mesmo protocolo; aumento na produção total de proteínas pelas células do ligamento periodontal e uma maior formação de nódulos minerais também pelas células do ligamento periodontal. Entretanto, não teve efeito significativo sobre a migração e adesão celular.

Considerando a dificuldade de estudos experimentais em modelo animal em interpretar previsibilidade em humanos, Heijl, em 1997, realizou um estudo para avaliar histologicamente o efeito das proteínas da matriz do esmalte na regeneração periodontal de um defeito de deiscência vestibular, criado experimentalmente em humanos. A avaliação em microscopia ótica polarizada e transmitida revelou um processo de reparo caracterizado pela formação de cemento acelular associado com ligamento periodontal e osso alveolar.

Mellonig, em 1999, mostrou um outro caso de histologia humana após terapia regenerativa com proteínas da matriz do esmalte. Neste estudo, o derivado da matriz do esmalte foi aplicado em um defeito periodontal intra-ósseo de 3 paredes na face mesial de um canino inferior esquerdo, apresentando um componente intra-ósseo de 5,0 mm. Clinicamente, foi observada uma redução de 5,0 mm na profundidade de sondagem, um ganho de inserção clínica de 4,0 mm e um preenchimento ósseo radiográfico limitado, 6 meses após o procedimento cirúrgico. A avaliação histológica, no mesmo período de avaliação, demonstrou uma fina camada de cemento acelular sobre o cemento original, áreas de osso maduro e lamelar com poucas áreas de formação óssea imatura e fibras do ligamento periodontal paralelas à superfície radicular.

2.2. EMDOGAIN[®] associado à Regeneração Tecidual Guiada (RTG)

Estudos clínicos e histológicos têm demonstrado que o uso de membranas absorvíveis e não absorvíveis resultam com razoável previsibilidade em regeneração de defeitos infra-ósseos de 2 ou 3 paredes e de furcas mandibulares de grau II (Gottlow *et al.* 1986, Becker *et al.* 1988, Pontoriero *et al.* 1992, Cortellini *et al.* 1993, 1996, Karring *et al.* 1993, Caffesse *et al.* 1988, 1994, Hürzeler *et al.* 1997).

A regeneração tecidual guiada é atualmente uma das técnicas regenerativa mais bem documentada e estudada e baseia-se na colocação de uma barreira física sobre a superfície desnuda da raiz do defeito periodontal, permitindo uma exclusão seletiva das células epiteliais e conjuntivas e facilitando uma seletiva repopulação do defeito por células do ligamento, cemento e osso alveolar objetivando uma regeneração dos tecidos perdidos (Nyman *et al.*, 1982).

Observando os resultados positivos da proteína derivada da matriz do esmalte e da técnica de regeneração tecidual guiada desenvolveram-se estudos utilizando a associação das técnicas.

Sculean *et al.* 2000 avaliaram histologicamente o tratamento de defeitos intra-ósseos em macacos com RTG, EMD ou EMD mais RTG. Os defeitos tratados com RTG apresentaram regeneração periodontal quando as membranas não foram expostas, os tratados com EMD apresentaram regeneração periodontal em diferentes graus, já a associação das técnicas não apresentou um aumento da regeneração periodontal.

Quando o acontecimento observado foi à exposição da membrana ocorreu à formação de epitélio juncional longo. Já quando a membrana não foi exposta ocorreu regeneração periodontal com formação de cemento celular com fibras colágenas inseridas orientadas perpendicularmente a raiz dental, o nível de formação de inserção clínica variou de 2,95 mm a 3,61 mm e de formação óssea esteve entre 2,25 mm e 3,45mm. Em sítios tratados com EMD ocorreu a formação de cemento acelular na porção mais apical do defeito e na porção mais coronal observou-se um cemento misto, ambos com fibras colágenas inseridas e orientadas perpendicularmente a superfície radicular, o nível de formação de inserção clínica variou entre 0,40 mm e 3,85 mm e formação óssea entre 0,58 mm e 2,88 mm. Na combinação das terapias quando ocorreu exposição da membrana pode-se observar um aumento de inserção clínica variando entre 1,20 mm e 1,80 mm e a formação óssea de 0,73 mm a 1,92 mm. Já nos casos onde a membrana não foi contaminada o aumento de inserção clínica variou de 2,31 mm a 3,68 mm e a formação óssea de 2,77 mm a 3,67 mm e as características do cemento formado foram semelhantes ao do formado apenas com EMD.

Sculean *et al.* 2001 avaliaram clinicamente em estudo cego a associação de EMD e RTG, EMD apenas, RTG e Controle em 56 pacientes. Os fatores avaliados pré-operatório e um ano pós-cirúrgico foram índice de placa (IP), índice gengival (IG), sangramento a sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS), recessão gengival (RG) e nível de inserção clínica (NIC). Após um ano da intervenção cirúrgica o grupo tratado com EMD apresentou principalmente redução da profundidade de sondagem de $4,1 \pm 1,7$ mm e um ganho de inserção clínica de $3,4 \pm 1,5$ mm ($p < 0,001$). Os sítios tratados com RTG apresentaram principalmente uma redução da PS de $4,2 \pm 1,9$ mm e um ganho de NIC de $3,1 \pm 1,5$ mm ($p < 0,001$). A associação dos tratamentos resultou principalmente na redução da PS de $4,3 \pm 1,4$ mm e um ganho de NIC de $3,4 \pm 1,1$ mm ($p < 0,001$). O grupo controle apresentou principalmente uma redução da PS de $3,7 \pm 1,4$ mm ($p < 0,001$) e um ganho de NIC de $1,7 \pm 1,5$ mm ($p < 0,01$). Todos os tratamentos resultaram em redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínico significativos. Os tratamentos regenerativos levaram a um alto ganho de inserção clínica comparado ao controle ($p < 0,05$). A associação dos tratamentos demonstrou não proporcionar melhoras na regeneração periodontal.

Minabe *et al.* 2002 também avaliaram a associação dos tratamentos regenerativos em defeitos infra-ósseos (EMD e RTG) e compararam com o tratamento apenas com EMD e o tratamento apenas com RTG. Os fatores avaliados em 61 pacientes com 69 defeitos foram profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e ganho ósseo radiográfico. Estes foram coletados pré-cirúrgico, imediatamente após, 6 meses e 1 ano pós-cirúrgico. As medições com relação ao defeito foram realizadas durante a cirurgia. Com relação aos fatores avaliados inicialmente não houve diferença estatística inter e intra-grupo. Os resultados deste estudo mostraram não ocorrer diferenças significativas com relação à diminuição da profundidade de sondagem, ao ganho de inserção clínica e ao ganho ósseo radiográfico entre os três grupos.

2.3. EMDOGAIN[®] associado ao Enxerto Ósseo Bovino

Enquanto o uso do EMD é um novo conceito em regeneração periodontal, enxertos ósseos representam uma técnica bem conhecida por clínicos e pesquisadores. Vários materiais de enxerto ósseo têm sido avaliados na periodontia com diferentes graus de sucesso. Estudos clínicos normalmente avaliam enxertos ósseos comparando com raspagem em campo aberto. Os resultados destes estudos mostram invariavelmente que sítios tratados com enxerto obtiveram melhores resultados que o controle.

Hutchens, em 1999 relatou um ganho de inserção clínica de 1,63 mm com enxerto ósseo bovino mineral poroso e Heijl *et al.* 1997 descreveu que com EMD o ganho foi de 2,1-2,3 mm.

O osso bovino mineral poroso (OBMP) é um enxerto relativamente novo utilizado em procedimentos de regeneração periodontal. Este material é preparado por extração de osso bovino, mas todos os seus componentes orgânicos são removidos e assim o OBMP torna-se incapaz de produzir reações alérgicas e torna-se muito tolerado clinicamente. Mantém a arquitetura natural do osso o que resulta em uma estrutura trabecular de hidroxiapatita semelhante à estrutura do osso humano. Apresentam também uma excelente ação osteocondutora, boa integração com o tecido ósseo e é reabsorvido lentamente pela atividade osteoclástica (Gross 1997).

Osso bovino mineral poroso promove formação óssea em procedimentos de elevação de seio (Valentini & Abensur 1997), ao redor de implantes (Berglundh & Lindhe 1997) e em defeitos ósseos de tamanho crítico. (Schmitt *et al.* 1997). Na regeneração periodontal tem mostrado melhorar os níveis de inserção e redução das profundidades de sondagem quando

aplicado sozinho (Hutchens 1999) ou em combinação com membranas absorvíveis (Hutchens 1999, Camargo *et al.* 2000).

A combinação das propriedades do osso bovino mineral e da cicatrização tecidual promovida pelo EMD apresenta o potencial de resultar em um efeito sinérgico dos produtos. Esta hipótese é baseada no fato de dois princípios distintos de cicatrização poderem ser aplicados juntos em uma situação clínica. Enquanto o material enxertado apresenta a habilidade de promover osteocondução e/ou osteoindução além de manter o espaço do defeito, EMD pode induzir a formação de novo ligamento e novo cemento promovendo nova inserção.

Camargo *et al.* 2001 realizaram um estudo de boca dividida com 24 pacientes, sendo destes 18 fumantes e 6 não-fumantes, com defeitos intra-ósseos bilaterais com profundidade de sondagem ≤ 6 mm e evidentes radiograficamente após a terapia inicial. Os sítios teste eram tratados com a associação de EMD e OBMP e o controle com raspagem em campo aberto. Os fatores avaliados pré-cirúrgico e após seis meses foram profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e preenchimento ósseo do defeito. Os resultados – após seis meses - revelaram que nos sítios teste ocorreu uma significativa redução na profundidade de sondagem (diferença de $2,35 \pm 0,86$ mm por vestibular e de $2,28 \pm 0,90$ mm por lingual) e um significativo ganho de inserção clínica (diferença de $2,04 \pm 0,28$ mm por vestibular e $1,99 \pm 0,26$ mm por lingual). Com relação ao fechamento dos defeitos a associação mostrou um significativo fechamento apresentando diferenças de $2,85 \pm 0,28$ mm por vestibular e de $2,67 \pm 0,33$ mm por lingual. Concluindo assim que a associação de Emdogam e de osso bovino mineralizado poroso apresentou resultados significativos tanto estatisticamente quanto clinicamente quando comparada à raspagem em campo aberto.

Sculean *et al.* 2002 realizaram um estudo paralelo com vinte e quatro pacientes sendo 14 mulheres e 10 homens sem doenças sistêmicas que poderiam apresentar influências sobre o processo cicatricial, com uma boa higiene oral e baixos índices de placa, com profundidade de sondagem maior ou igual a 6 mm e defeito intra-ósseo constatado radiograficamente com profundidade de no mínimo de 4 mm. Quatro destes pacientes eram fumantes e foram divididos entre os dois grupos, 5 dentes receberam tratamento endodôntico prévio a regeneração para eliminar a possibilidade de contaminação pulpar. O tratamento realizado no grupo teste foi EMD + osso bovino e o controle recebeu para preenchimento dos defeitos o osso bovino. Dados como índice gengival, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival, nível de inserção clínica, preenchimento ósseo dos defeitos foram avaliados uma semana antes (*baseline*), e um ano após a terapia em seis sítios por

dente. Para a avaliação destes dados foram utilizadas a sonda periodontal e a técnica radiográfica de paralelismo. Nenhuma diferença nos parâmetros investigados foi observada entre os dois grupos no *baseline*. Um ano após a terapia o grupo teste mostrou uma redução da profundidade de sondagem entre $10,0 \pm 1,5$ mm e $4,3 \pm 1,4$ mm e um ganho de inserção clínica entre $10,9 \pm 2,0$ mm e $6,2 \pm 1,9$ mm ($P < .0001$). O grupo controle apresentou redução da profundidade de sondagem entre $9,7 \pm 2,4$ mm e $3,2 \pm 0,7$ mm e um ganho de inserção clínica entre $10,1 \pm 2,3$ mm e $5,2 \pm 1,2$ mm ($P < .0001$). Radiograficamente ocorreu o preenchimento de todos os defeitos. Ambos os tratamentos resultaram em significativa redução da profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica. Mas diferenças estatísticas não foram encontradas entre os grupos.

Plata *et al.* 2002 realizaram um estudo de boca dividida para comparar o uso de EMD com a associação EMD e osso bovino, em 16 pacientes adultos com idade variando entre 36 e 65 anos (9 mulheres, 7 homens; 4 fumantes e 12 não-fumantes), com no mínimo dois defeitos intra-ósseos com profundidade de sondagem ≥ 5 mm 6 semanas após a terapia inicial não cirúrgica, índice de placa $< 20\%$, sistemicamente saudáveis e sem contra-indicações para a terapia periodontal. Os fatores com relação ao tecido mole avaliados foram profundidade de sondagem, nível de inserção, retração gengival. Estes anotados para o *baseline* no dia da cirurgia com sonda periodontal da Universidade da Carolina do Norte em 4 pontos de cada dente. Já com relação ao tecido duro foram medidos durante a cirurgia a distância da junção cimento – esmalte até o osso alveolar, profundidade e composição de paredes do defeito.

Os resultados mais significativos deste estudo foram com relação a diminuição da retração gengival para o grupo controle (EMD – $0,8 \pm 0,8$ mm) comparado com o grupo teste (EMD + osso bovino – $0,3 \pm 0,6$ mm) ($P = 0,04$) e com relação ao preenchimento ósseo favorecido pelo grupo teste ($4,0 \pm 0,8$ mm) comparado ao controle ($3,1 \pm 1,0$ mm) ($P = 0,02$). Os mensuramentos para redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica, reabsorção da crista óssea, % de preenchimento ósseo, % de resolução do defeito não apresentaram resultados estatisticamente significantes ($P > 0,10$) entre os grupos.

Sculean *et al.* 2003 realizaram um estudo de relato de casos analisando clínica e histologicamente três mulheres acometidas por periodontite crônica com idades de 45, 49 e 55 anos. Cada uma delas apresentava um dente indicado para extração por motivos protéticos devido a grande perda do aparato de inserção com defeito profundo intra-ósseo. Os critérios de inclusão eram ausência de problemas sistêmicos, bom nível de higiene oral (índice de placa < 1) e concordância com o programa de manutenção do estudo. O tratamento realizado em dois casos foi a associação de EMD e osso bovino e no caso restante apenas osso bovino. Os

fatores avaliados no pré-cirúrgico e 6 meses após foram: profundidade de sondagem, recessão gengival, nível clínico de inserção e nível ósseo radiográfico. Durante o procedimento cirúrgico eram realizados nichos nas partes mais apicais das raízes e no nível da crista óssea para servirem de referencia para as avaliações histológicas.

Os resultados histológicos de Sculean *et al.* 2003 para os casos tratados com a associação revelaram a formação de um novo cemento com fibras colágenas inseridas e neo-formação óssea. O novo cemento era constituído de uma mistura de cemento acelular e de cemento celular. Muitas partículas de osso bovino ainda podiam ser observadas, mas nenhum contato direto deste material de enxerto com a superfície radicular foi visto. A migração epitelial foi até o nível de formação do novo cemento. No caso tratado apenas com osso bovino ocorreu a formação de um novo cemento com fibras colágenas inseridas ao longo das superfícies delimitadas entre os nichos. A migração epitelial parou coronariamente ao nicho mais coronal. Fibras colágenas inseridas perpendicularmente ao novo cemento celular foram identificadas, assim como ao redor destas partículas do enxerto. Com relação aos dados clínicos diferenças estatísticas não foram identificadas.

2.4. EMDOGAIN® associado à Regeneração Tecidual Guiada e Enxerto Ósseo Bovino

Lekovic *et al.* 2001 realizaram um estudo de boca dividida para avaliar a efetividade da combinação nos sítios teste de EMD + osso bovino + RTG com membrana reabsorvível para o tratamento de defeitos intra-ósseos em humanos comparando com a técnica de raspagem em campo aberto nos sítios controle. Foram selecionados 18 pares de defeitos intra-ósseos, (dos quais 8 mulheres e 10 homens com idade variando de 42± 12 anos, 12 fumantes e 6 não fumantes) com profundidade de sondagem >6 mm após terapia inicial, os quais foram submetidos ao tratamento cirúrgico e a reentradas 6 meses pós-cirúrgico. Os fatores avaliados foram profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e preenchimento do defeito. No pós-operatório a avaliação revelou uma significativa redução da profundidade de sondagem no grupo experimental ($4,95 \pm 1,52$ mm sítios vestibulares e $4,74 \pm 1,47$ mm em sítios linguais) quando comparados com o grupo controle ($2,83 \pm 0,83$ mm em sítios vestibulares e $2,90 \pm 0,91$ mm em sítios linguais). Os sítios experimentais também apresentaram significativo ganho de inserção clínica ($3,89 \pm 1,16$ mm nos sítios vestibulares e $3,78 \pm 1,14$ mm em sítios linguais) comparados com o controle ($1,52 \pm 0,83$ mm em sítios vestibulares e $1,48 \pm 0,78$ mm em sítios linguais). Nas reentradas cirúrgicas para verificar o

fechamento dos defeitos pode-se anotar uma melhora significativa em favor do grupo teste ($4,76 \pm 1,36$ mm em sítios vestibulares e $4,81 \pm 1,37$ mm em linguais) comparando com o grupo controle ($1,78 \pm 0,92$ mm em sítios vestibulares e $1,67 \pm 0,90$ mm em linguais). Então os resultados indicam que a combinação dos tratamentos apresenta melhores resultados clínicos e de resolução dos defeitos quando comparado com a raspagem em campo aberto.

2.5. EMDOGAIN[®] associado ao Enxerto Ósseo Bovino e ao Fibrinogênio Autógeno e Fibronectina Sistêmica

Lekovic *et al.* 2001 realizaram um estudo para comparar a efetividade clínica da utilização de osso bovino mineral associado a matriz de proteínas do esmalte e dele associado ao fibrinogênio autógeno e fibronectina sistêmica (FAFS) em defeitos intra-ósseos em humanos. Para isto utilizaram 23 pares de defeitos, os quais foram cirurgicamente tratados utilizando o modelo de estudo de boca dividida. Os parâmetros clínicos avaliados foram nível de inserção, profundidade de sondagem e preenchimento do defeito. Estes avaliados pré /trans cirúrgico e 6 meses pós – cirúrgico clinicamente e com reentradas. Os resultados revelaram que ambos os tratamentos eram clínica e estatisticamente significantes e que não apresentavam diferenças significantes.

Então a adição de EMD ou de FAFS ao osso bovino mineral apresentou resultados semelhantes para a redução da profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica e preenchimento dos defeitos intra-ósseos em humanos apesar de apresentarem supostamente mecanismos de atuação diferentes. FAFS, também conhecido como selante ou cola de fibrina, é um derivado do plasma humano o qual mimetiza o último passo da cascata de coagulação através da ativação do fibrinogênio pela trombina, comandando a formação de um coágulo de fibrina. Quando aplicado na ferida é capaz de sustentar os tecidos ou materiais na configuração necessária. A fibronectina, um dos componentes da cola de fibrina, tem demonstrado exercer uma função na adesão fibroblástica e pode também exercer uma função na migração celular. Ambos os fenômenos, o desenvolvimento de um coágulo estável e migração celular, são desejáveis na regeneração periodontal. FAFS tem mostrado ser seguro quando utilizado em procedimentos de regeneração periodontal.

2.6. EMDOGAIN[®] associado ao Vidro Bioativo

O uso de enxertos aloplásticos pode resultar em resultados clínicos satisfatórios, mas histologicamente, a cura normalmente ocorre por tecido conjuntivo, encapsulação do material e epitélio juncional longo sem ocorrer à regeneração periodontal. Entre os enxertos ósseos aloplásticos sintéticos, o vidro bioativo (BG) apresenta a prosperidade de promover adsorção e concentração de proteínas utilizadas pelos osteoblastos para formar uma matriz extracelular mineralizada e, além disso, promover osteogênese por permitir formação óssea. Resultados de estudos clínicos e histológicos têm indicado que o BG apresenta bons resultados clínicos, propriedades hemostáticas e além de promover a osteocondução promove também osteopromoção (Hench & West 1996). Resultados histológicos recentes de um estudo em macacos apresentam que o tratamento de defeitos intra-ósseos com BG pode resultar em melhoras significantes para nova inserção clínica e novo osso alveolar comparado com raspagem a campo aberto (Karatzas *et al.* 1999).

Entretanto, até agora existe apenas um estudo histológico em humanos na literatura, avaliando o reparo realizado pelo BG em defeitos intra-ósseos e este mostra que além de osteocondução parece ter um potencial limitado para a migração epitelial (Nevins *et al.*, 2000).

Sculean *et al.* 2002 realizaram um estudo para comparar o tratamento de defeitos intra-ósseos profundos com a associação de EMD e de um vidro bioativo (BG) e com apenas o vidro bioativo. Para isto selecionaram vinte e oito pacientes com periodontite crônica e cada um deles apresentava um defeito intra-ósseo com profundidade de sondagem ≥ 6 mm e componente intra-ósseo ≥ 3 mm identificado radiograficamente. Os dados avaliados foram profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice gengival, sangramento a sondagem, recessão gengival, estes verificados em 6 sítios por dente. Após um ano da terapia os sítios tratados com EMD e BG mostraram uma redução principalmente na profundidade de sondagem de $8,07 \pm 1,14$ mm para $3,92 \pm 0,73$ e também um ganho de inserção clínica de $9,64 \pm 1,59$ mm para $6,42 \pm 1,08$ mm ($P < 0,0001$). No grupo tratado com BG a profundidade de sondagem reduziu de $8,07 \pm 1,32$ mm para $3,85 \pm 0,66$ mm e a profundidade de sondagem e o ganho de inserção clínica foi de $9,78 \pm 1,71$ para $6,71 \pm 1,89$ mm ($P < 0,0001$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre o grupo teste e o grupo controle, concluindo que a associação EMD e BG não gera melhoras nos resultados.

2.7. EMDOGAIN[®] associado a Enxerto Ósseo Alógeno Desmineralizado e Liofilizado (DFDBA) e Enxerto Ósseo Alógeno Liofilizado (FDBA)

Rosen & Reynolds (2002) realizaram uma série de casos, em suas clínicas particulares, e avaliaram a eficácia do ENDOGAIN[®] associado ao osso alógeno desmineralizado e liofilizado (DFDBA) e osso alógeno liofilizado (FDBA) no tratamento de defeitos intra-ósseos profundos. Todas as lesões foram recobertas com o uso de membranas de ácido polilático de rápida absorção para melhorar os resultados. Um total de 22 casos, cada um contendo pelo menos uma lesão intra-óssea, foram tratados com abertura de retalho, raspagem radicular e condicionamento com ácido cítrico posteriormente, foram aleatoriamente selecionados para receberem DFDBA associado ao ENDOGAIN[®] perfazendo um total de 10 casos, enquanto 12 associaram FDBA ao ENDOGAIN[®]. Todos os pacientes seguiram um restrito protocolo pós-operatório e foram avaliados a cada 6 meses. Os resultados clínicos foram avaliados por mudanças do nível de inserção clínica (NIC) e na profundidade de sondagem (OS). O NIC avaliado no pré-operatório foi de $9,2 \pm 1,3\text{mm}$ e $9,1 \pm 1,9\text{mm}$ para os grupos DFDBA-EMD e FDBA-EMD respectivamente, a PS era de $8,4 \pm 1,6\text{mm}$ e $8,9 \pm 2,0$ para os respectivos grupos. Após 6 meses a redução do NIC foi de $4,7 \pm 1,3$ para o DFBA-EMD e $3,8 \pm 1,0\text{mm}$ para FDBA-EMD e a redução na OS foi de $3,0 \pm 0,8\text{mm}$ e $3,2 \pm 1,0\text{mm}$ respectivamente.

Então analisando esta serie de casos pode-se observar uma grande melhora no nível de inserção clínica em defeitos intra-ósseos quando da utilização do EMD associado ao FDBA comparado com o EMD associado ao DFDBA.

2.8. EMDOGAIN[®] associado a Enxerto Ósseo Autógeno

Cochran *et al.* 2003 realizaram um estudo para avaliar a regeneração periodontal em defeitos intra-ósseos de vários tamanhos tratados com a combinação de EMD e enxerto ósseo autógeno. Defeitos periodontais de 1 a 6 mm foram criados bilateralmente em 3 dentes mandibulares de babuínos, através da colocação de ligaduras por 2 meses. Os defeitos localizados em um lado da mandíbula recebiam pós raspagem e alisamento radicular a aplicação de EMD e adição de enxerto ósseo autógeno (lado teste), já o outro lado (controle) recebia apenas condicionamento radicular com EDTA. Após 5 meses os animais foram sacrificados e os dentes enviados para avaliação histológica.

Os resultados revelaram novo cemento, ligamento periodontal com fibras de Sharpey e novo tecido ósseo. Partículas remanescentes do enxerto ósseo autógeno foram identificadas. Além disso, a regeneração periodontal ocorreu em todos os defeitos não importando o tamanho. A associação, em geral, EMD-enxerto ósseo autógeno resulta em uma melhor formação tecidual que o controle. De fato, em muitos casos, a formação de tecidos ocorreu em toda a extensão dos defeitos. Em adição, o preenchimento ósseo horizontal dos defeitos foi predominante em defeitos com largura de 4 a 6 mm. Em defeitos de 1 a 2 mm a altura do novo cemento para a associação foi de 3,88 mm contra 2,03 mm do grupo controle, uma diferença estatisticamente significativa ($P < 0,005$). Nos defeitos de 4 a 6 mm esta diferença não foi significativa e muito menor entre grupo teste e controle com 2,78 e 2,57 mm de novo cemento respectivamente. No caso de altura de novo osso, nos defeitos menores a associação resultou em 4 mm contra 2,2 mm do controle ($P < 0,005$). Nos defeitos maiores a associação teve 3,24 mm de ganho em altura óssea comparada ao de 2,71 mm do controle, uma diferença não significativa. Em defeitos pequenos a largura do novo cemento na região das marcações foi 2 vezes maior ($P < 0,005$) para a associação comparada ao controle. A espessura do ligamento periodontal formado nos defeitos pequenos foi similar para os dois tratamentos. A combinação de EMD e enxerto ósseo autógeno estimulou a regeneração periodontal nos defeitos mais estreitos de 1 a 2 mm. Diferenças não significantes foram observadas nos defeitos com largura entre 4 e 6 mm. Em muitos dos defeitos profundos a quantidade de novo cemento, fibras de Sharpey, ligamento periodontal e tecido ósseo foram formados em todo o defeito e isto foi especialmente significativo considerando a largura dos defeitos.

2.9. EMDOGAIN[®] associado ao Laser Er:YAG

O uso do laser como uma terapia alternativa para o debridamento das raízes. O uso do laser Nd:YAG tem sido relatado como o laser mais promissor para o tratamento periodontal. Uma eficiente capacidade de remover cálculos sem promover aquecimento dos tecidos circunvizinhos (Aoki *et al.* 1994, Israel *et al.* 1997). Estudos clínicos e relatos de casos que o tratamento não cirúrgico com laser se traduz em ganho de inserção clínica (Watanabe *et al.* 1996). Outros estudos revelaram a capacidade antimicrobiana e a redução de endotoxinas (Ando *et al.* 1996, Yamaguchi *et al.* 1997). Resultados de estudos *in vitro* recentes mostraram que a superfície radicular acometida por doença periodontal e tratada com laser parece

oferecer melhores condições de aderência para o ligamento periodontal do que as tratadas com raspagem e alisamento radicular manual (Rossa *et al.* 2002, Schoop *et al.* 2002).

Schwarz *et al.* 2003 realizaram um estudo em defeitos intra-ósseos para comparar o uso do laser Er:YAG associado ao EMD comparando com a raspagem e alisamento radicular associada ao EDTA e ao EMD. Foram avaliados 22 pacientes com periodontite crônica e um defeito intra-ósseo. Os parâmetros clínicos analisados no *baseline* e 6 meses após foram índice de placa, índice gengival, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção clínica. O grupo controle foi submetido à cirurgia de acesso, raspagem e alisamento radicular em campo aberto, aplicação de EDTA e de EMD, já o grupo teste recebeu cirurgia de acesso, debridamento com laser Er:YAG e EMD. Após 6 meses o grupo tratado com EMD e laser apresentou uma redução na profundidade de sondagem de $8,6 \pm 1,2$ mm para $4,6 \pm 0,8$ mm e alteração do nível de inserção clínica de $10,7 \pm 1,3$ mm para $7,5 \pm 1,4$ mm ($P < 0,001$). Já no grupo controle a redução da profundidade de sondagem foi de $8,1 \pm 0,8$ mm para $4,0 \pm 0,5$ mm e alteração do nível de inserção clínica de $10,4 \pm 1,1$ mm para $7,1 \pm 1,2$ mm ($P < 0,001$). Diferenças significantes não foram observadas em nenhum dos parâmetros avaliados entre os dois grupos.

3. DISCUSSÃO

O exato mecanismo biológico da ação do EMD ainda não foi totalmente elucidado. Estudos *in vitro* têm demonstrado que quando o EMD é adicionado à cultura de fibroblastos periodontais a produção de proteínas e colágeno é aumentada assim como a mineralização é estimulada. Isto tem sugerido que o EMD funciona como uma matriz intensificadora de fatores, criando condições favoráveis para a proliferação celular, migração, diferenciação e síntese de matriz.

Os resultados apresentados pelas investigações com relação ao tratamento regenerativo realizado com RTG, com EMD ou com a associação dos tratamentos citados apresentam resultados previsíveis. Ambos os tratamentos apresentam considerável potencial regenerativo, mas a associação dos dois tratamentos não proporcionou uma maior formação de tecidos de suporte.

Com relação à associação de RTG e EMD uma consideração pertinente que deve ser citada é a freqüente ocorrência da exposição das membranas e subsequente colonização bacteriana e instalação de infecção referida no estudo de Sculean 2000. Este firma posição que o tratamento mais indicado é EMD em locais onde se tem dificuldades de estabilização da membrana.

Os resultados encontrados por Camargo *et al.* 2001 dão suporte a hipótese de que a associação de enxerto ósseo bovino mineralizado poroso e Emdogain® apresenta a habilidade de reduzir significativamente a profundidade de sondagem, promover um aumento de inserção clínica e promover preenchimento de defeitos infra-ósseos em humanos. Os dados deste estudo deixam claro que a associação não é mais efetiva apenas estatisticamente, mas também clinicamente com relação a áreas tratadas apenas com raspagem. Nem toda redução clínica de profundidade de sondagem da bolsa periodontal implica em regeneração, mas pode indicar uma situação compatível com saúde.

A observação deste estudo indica que EMD + OBMP reduz a profundidade de sondagem cerca de 3,82-3,99, resultando assim em uma profundidade de sondagem pós-operatória de 3,44-3,54 mm compatível com saúde. No caso dos pacientes tratados com raspagem em campo aberto ocorreu redução da profundidade, mas esta não foi compatível com saúde. Com relação ao ganho de inserção clínica no grupo teste foi de 3,41–3,48 mm, apresentando uma diferença positiva com relação ao controle de 2 mm. Confirmando assim mais uma vez que a associação é positiva, mas devido ao modelo do estudo não pode se

definir se os tratamentos isolados poderiam resultar em um mesmo resultado ou se apenas a associação é efetiva ou mais efetiva que os tratamentos isolados.

Sculean *et al* 2002 demonstraram que o tratamento de defeitos intra-ósseos com a combinação de EMD e osso bovino e apenas osso bovino podem conduzir a uma redução clínica e estatisticamente significativa da profundidade de sondagem e um ganho de inserção clínica. Nenhuma diferença com relação aos parâmetros analisados estatisticamente ou clinicamente foi observada entre os dois tratamentos.

Neste estudo nenhuma reação adversa, como alergias ou abscessos, foi observada indicando assim que a combinação destes materiais é bem tolerada pelo organismo. Esta observação concorda com os resultados de outros estudos clínicos e histológicos.

Plata *et al.* 2001 avaliaram para o tratamento de defeitos infra-ósseos em pacientes com periodontite moderada e avançada a associação EMD e osso bovino comparando com o uso apenas de EMD e os resultados das análises estatísticas revelaram melhoras em todos os parâmetros clínicos em ambos os grupos concordando com os estudos de Melloning 1999, Richardson 1999, Sculean 2000.

Os dois tratamentos clínicos responderam ao tratamento mostrando uma diferença estatística significativa para recessão gengival e preenchimento ósseo. A diminuição da recessão gengival foi melhor para o tratamento apenas com EMD comparando com a associação. Este resultado pode ser explicado pela falta de espaço mantido pelas propriedades viscosas do EMD. Considerando o preenchimento ósseo a combinação mostrou ser mais eficaz ($4,0 \pm 0,8$ mm) e isto pode ser explicado devido à presença de partículas sólidas do enxerto que podem promover resistência a penetração da sonda, pois estas são observadas após 6 a 8 meses pós tratamento.

Em estudo similar Lekovic *et al.* 2001 utilizaram a combinação comparando com apenas EMD. Estes autores encontraram que a adição de EMD aumenta os efeitos do enxerto na redução da profundidade de sondagem ($3,43 \pm 1,32$ mm em sítios vestibulares e $3,36 \pm 1,32$ mm em sítios linguais ou palatinos em comparação ao EMD que promove uma redução de $1,91 \pm 1,42$ mm em sítios vestibulares e $1,85 \pm 1,38$ mm em sítios linguais ou palatinos), melhoras no nível de inserção clínica (associação de $3,13 \pm 1,41$ mm em sítios vestibulares e $3,11 \pm 1,39$ em sítios linguais em comparação ao EMD com $1,72 \pm 1,33$ mm em sítios vestibulares e $1,75 \pm 1,37$ mm em linguais), fechamento do defeito (associação $3,82 \pm 1,43$ mm em sítios vestibulares e $3,74 \pm 1,38$ mm em linguais; EMD com $1,33 \pm 1,17$ mm em vestibulares e $1,41 \pm 1,19$ mm em linguais) quando comparados com as avaliações pré - cirúrgicas.

Quando o EMD é adicionado ao osso bovino, as propriedades de ambos os materiais são intensificadas. A viscosidade do EMD auxilia na distribuição das partículas de osso bovino, mantendo-as unidas e alocando-as mais facilmente dentro do defeito. O resultado superior da combinação tem sido explicado devido ao aumento da estabilização do coágulo e pelo isolamento do epitélio gengival das células do ligamento.

Os resultados estudo de relato de caso de Sculean *et al.* 2003 mostraram que o tratamento com a associação e apenas com osso bovino pode resultar não apenas em melhoras clínicas e radiográficas, mas também em uma cicatrização caracterizada pela formação de cemento, ligamento e osso alveolar. O cemento formado nos dois tratamentos foi predominantemente do tipo celular e nenhuma diferenças com relação à qualidade destes foi observada.

Os resultados do estudo de Lekovic *et al.* 2001 mostraram que defeitos intra-ósseos associados com periodontite crônica avançada (sondagem inicial > 8mm pós - terapia inicial) apresentam resultados efetivos quando tratados com a combinação de EMD, RTG e enxerto ósseo bovino. A terapia utilizada nos sítios teste reduziu a profundidade de sondagem cerca de 4,74 a 4,95 mm, resultando em uma profundidade de 3,51 a 3,58 mm. A redução observada nos sítios teste e controle apresentaram relação direta com as consultas de manutenção. Waerhaug, 1978, têm mostrado que a habilidade do profissional torna-se reduzida para a remoção de placa e cálculo em bolsas profundas. Profundidades de sondagem residuais de 3 a 4 mm, como as observadas nos pós operatórios dos sítios testes, são consideradas de fácil manutenção pela maioria dos clínicos. Com relação a bolsas residuais com profundidade maior que 5 mm a porcentagem de eliminação completa de cálculo e placa está em cerca de 11% e por esta razão estas bolsas não são consideradas ideais para se realizar terapia de manutenção. Os sítios controle deste estudo, os quais foram tratados com raspagem em campo aberto, apresentaram profundidade de sondagem residual de 5,51 a 5,53 mm sugerindo assim que esta técnica resulta em baixa resolução da doença em bolsas com periodontite avançada.

O ganho de inserção clínica observada no grupo controle foi de 1,48 a 1,52 mm concordando com a média de 1,78 mm das meta-análises que realizaram raspagem em campo aberto como o tratamento de escolha. Sítios teste apresentaram um ganho de 3,78 a 3,89 mm. A análise de dados das mudanças de inserção clínica promovida pelo EMD revela que quando utilizado sozinho, resulta em um ganho de inserção clínica de 1,72 a 1,75 mm ou de 2,1 a 2,3 mm. O ganho promovido pelo debridamento em campo aberto é de 1,78 mm, um valor não muito diferente do obtido pelo uso do EMD. Defeitos intra - ósseos tratados com a combinação EMD e enxerto ósseo bovino mostraram uma média de ganho de inserção clínica

de 3,11 a 3,13 mm, sugerindo que enxertos ósseos aumentam o ganho de inserção clínica promovida pelo EMD. Baseado nos resultados encontrados nos sítios teste do estudo de Lekovic *et al.* 2001, entretanto, é notável o ganho de inserção clínica alcançado com a combinação de EMD, RTG e enxerto ósseo bovino (3,78 a 3,89 mm) que é melhor do que a combinação de apenas duas técnicas, sugerindo assim que a superioridade da tripla associação.

Preenchimento do defeito ósseo é um dos resultados esperados pelos procedimentos regenerativos. Na ausência de novo osso, reparos clínicos de defeitos ósseos não se enquadram na definição de regeneração, mesmo na presença de nova inserção. Tem sido mostrado que quando enxertos ósseos são combinados com RTG o preenchimento dos defeitos intra-ósseos é aumentado. Apresentam-se propriedades diferentes como osteoindução e /ou osteocondução associadas com materiais de enxerto ósseo disputando uma função positiva na formação de novo osso associada com procedimentos regenerativos. O preenchimento ósseo com a associação de EMD e osso bovino foi de 3,74 a 3,82 mm comparado com 1,33 a 1,41 mm de apenas o EMD. A média de preenchimento alcançada com raspagem em campo aberto é de 1,1 mm e, mais uma vez, de baixa significância clínica quando comparada com o uso de apenas EMD.

No estudo de Lekovic *et al.* 2001 os defeitos tratados com enxerto ósseo bovino e FAFS apresentaram uma redução na profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica semelhantes estatisticamente dos observados nos defeitos tratados com a combinação EMD e osso bovino mineralizado. Enquanto o mecanismo pelo qual o EMD acentua a regeneração periodontal já foi vastamente discutido o mecanismo de atuação do FAFS apresenta poucos relatos científicos. Após a aplicação do enxerto ósseo o FAFS assume uma consistência firme como um gel e apresenta a habilidade de imobilizar o enxerto no local e também de promover um selamento ao redor do dente, funcionando assim como uma barreira e excluindo a migração de células epiteliais dentro do defeito, promovendo assim ação de regeneração tecidual guiada. A fibronectina tem mostrado ser um fator de agregação celular para a migração de fibroblastos e pode exercer uma função na migração celular. É possível que as moléculas de fibronectina presentes no defeito e na superfície radicular possam funcionar como receptores químicos para fibroblastos do ligamento periodontal e potencializar assim a formação de nova inserção. O conceito de que a fibronectina exógena exerça algum efeito na regeneração periodontal tem sido alterado. Sugere-se que a concentração de fibronectina é alta no sangue e, por esta razão, o sangue presente em sítios cirúrgicos é suficiente para exercer os efeitos citados acima. O mecanismo exato ainda não foi elucidado.

Com relação a aspectos práticos o EMD apresenta vantagem sobre o FAFS, pois está disponível comercialmente e é de fácil manipulação, já o FAFS deve-se realizar coleta de sangue do paciente, processamento laboratorial tornando o processo mais complicado. Os resultados deste estudo (Sculean *et al.*, 2002) demonstraram que o tratamento de defeitos intra-ósseos profundos com EMD associados a BG ou BG apenas podem promover redução da profundidade de sondagem e ganhos de inserção clínica significantes ($p < 0,05$). Nenhuma diferença foi encontrada entre os dois grupos. Nenhuma reação adversa como reações alérgicas, abscessos foram observados em nenhum paciente, o que permite concluir que ambas as técnicas são procedimentos bem tolerados e sem risco para os pacientes, Tais resultados corroboram com outros estudos (Hench & Wist 1996; Karatzas *et al.*, 1999) que também não observaram nenhuma reação alérgica e de corpo estranho associados ao EMD e ou BG.

Os resultados do estudo da série de casos de Rosen & Reynolds 2002 demonstraram resultados clínicos favoráveis para o DFDBA-EMD e para FBBA-EMD, com relativas melhoras no nível de inserção clínica de 49% e 57% respectivamente.

Cochran *et al.* em 2003 avaliaram o tamanho das lesões a maior regeneração foi observada nos defeitos de 2 mm. Por exemplo, em defeitos de 2mm a altura de novo cemento no grupo teste foi de 2,19 vezes (119%) maior que no grupo controle. Em defeitos de 1 mm a diferença da associação foi de 1,53 vezes 53% com relação ao controle. Considerando a altura do novo osso, defeitos de 2 mm tiveram 2,15 vezes (115%) mais osso que o grupo controle. Em defeitos de 1 mm a diferença da associação foi de 1,63 vezes ou 63% com relação ao controle. Em números reais, os defeitos de 2 mm tratados com a associação tiveram 4,52 mm de altura de novo cemento e 3,89 mm de altura de novo osso e isto foi significativo em relação ao grupo controle.

Os resultados do estudo de Schwarz *et al.* 2003 indicaram uma resolução clínica e significativa em defeitos periodontais profundos para a profundidade de sondagem e para o nível de inserção clínica tanto no grupo controle como no grupo teste. Os resultados indicaram também que os dois tipos de tratamento são bem tolerados pelo organismo.

4. CONCLUSÃO

Dentro da diversidade de metodologias dos estudos relatados na literatura torna-se difícil a comparação de qual associação apresenta melhores resultados clínicos e histológicos tanto em humanos como em animais. Assim, a escolha da melhor associação do EMD ou seu uso isolado ainda não é possível, uma vez que, os tratamentos apresentam considerável potencial regenerativo, mas a sua associação não proporciona uma maior formação de tecidos de suporte em relação a seu uso isolado.

BIBLIOGRAFIA*

- Aoki A, Ando Y, Watanabe H, Ishikawa I. In vitro studies on laser sacaling of subgingival calculus with an erbium: YAG laser. *J Periodontology*. 1994; 65: 1097-1106.
- Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 1997; 8: 117-124.
- Bergman, B. Periodontal reactions related to removable partial dentures: a literature review. *J Prosthet Dent*. 1987; 58: 454-458.
- Bossharat DD, Schroeder HE. Cementogenesis reviewed: a comparison between human premolars and rodent molars. Review. *Anat Rec*. 1996; 245(2): 267-292.
- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Nedic M, Vasilic N, Wolinsky L, *et al*. A controlled reentry study on the effectiveness of bovine porous bone mineral used in combination with a collagen membrane of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol*. 2000; 27: 889-896.
- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB, Madzarevic M. The effectiveness of enamel matrix proteins used in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol*. 2001; 28: 1016-1022.
- Cochran DL, Jones A, Heijl L, Mellonig JT, Schoolfield J, King GN. Periodontal regeneration with a combination of enamel matrix proteins and autogenous bone grafting. *J Periodontol*. 2003; 74: 1269-1281.
- Gestrelus S, Andersson C, Johansson AC, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarstrom L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol*. 1997; 24 (9 Pt 2): 678-684.
- Gestrelus S, Andersson C, Lindstrom D, Hammarstrom L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol*. 1997; 24 (9 Pt 2): 685-692.
- Gross J. Bone grafting materials for dental applications: A practical guide. *Compendium*. 18: 1013 – 1036.
- Hammarstrom L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol*. 1997; 24 (9Pt 2): 669-677.

Hammarstrom L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. Review. *J Clin Periodontol.* 1997; 24 (9 Pt 2): 658-668.

Heijl L, Heden G, Svardström G, Östgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 705-714.

Hench LL, West JK. Biological application of bioactive glasses. *Life Chem Rep.* 1996; 13: 187-241.

Hutchens LH Jr. The use of a bovine bone mineral in periodontal osseous defects: case reports. *Compendium of Continuum Education in Dentistry.* 1999; 20: 365-378.

Israel M, Cobb CM, Rossmann JA, Spencer P. The effects of CO₂, Nd:YAG lasers and without surface coolant on tooth root surfaces. An in vitro study. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 595-602.

Karatzas S, Zavras A, Greenspan D, Amar S. Histologic observations of periodontal wound healing after treatment with PerioGlass in nonhuman primates. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 489-499.

Kornman, K.S. Antimicrobial agents. In SATATUS of the science of dental plaque control measures and oral hygiene practices. *Bethesda, National Institute of Dental Research Workshop.* 1985; :150-194.

Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Nedic M, Aleksic Z, Kenney EB. 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.* 2000; 71: 1110-1116.

Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Kenney EB, Vasilic N. Combination use of bovine porous bone mineral, enamel matrix proteins, and a bioabsorbable membrane in intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol.* 2001; 72: 583-589.

Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Djordjevic, Kenney EB. 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. *J Periodontol.* 2001; 72: 1157-1163.

Lindhe J, Schroeder HE, Page RC, Munzel-Pedrazzoli S, Hugoson A. Clinical and stereologic analysis of the course of early gingivitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1974; 9(5): 314-30.

Lindskog S. Formation of intermediate cementum. I: early mineralization of aprismatic enamel and intermediate cementum in monkey. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1982; 2 (2): 147-160.

- Lindskog S. Formation of intermediate cementum. II: a scanning electron microscopic study of the epithelial root sheath of Hertwig in monkey. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1982; 2(2): 161-169.
- Lindskog S, Hammarstrom L. Formation of intermediate cementum. III: 3H – tryptophan and 3H – proline uptake into the epithelial root sheath of Hertwig in vitro. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1982; 2(2): 171-177.
- Loe H. Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965; 36(3): 177-187.
- Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev.* 1976;9:65-107.
- Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res.* 1994; 8(2): 263-71.
- Mellonig JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 9-19.
- Mellonig J T. Human histologic evaluation of a bovine derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20: 19-29.
- Minabe M, Kodama T, Kogou T, Tekeuchi K, Fushimi H, Sugiyama T, *et al.* 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.* 2002; 22(6): 595-605.
- Nevins ML, Camelo M, Nevins M, *et al.* Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20:458-467.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976; 34(3): 235-249.
- Nyman S., Lindhe J., Karing T., Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 290-296.
- Plata DV, Scheyer ET, Melloning JT. 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. *J Periodontol.* 2002; 73: 433-440.
- Richardson C, Mellonig J, Brunsvold M, McDonell H, Cochran D. Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Clin Periodontol.* 1999; 26: 421-428.

- Rosen PS, Reynolds MA. A retrospective case series comparing the use of demineralized freeze-dred bone allograft and freeze-dried bone allograft combined with enamel matrix derivative for the treatment of advanced osseous lesions. *J Periodontol*. 2002; 73: 942-949.
- Rossa CJ, Silverio KG, Zanin IC, Brugnera AJ, JE. Root instrumentation with an erbium:yttrium-aluminum-garnet laser: effect on the morphology of fibroblasts. *Quint International*. 2002; 33: 496-502.
- Saglie R, Johansen JR, Flotra L. Scanning electron microscopic study of tooth surfaces in pathologic pockets. *Scand J Dent Res*. 1974; 82(8): 579-83.
- Schmitt JM, Buck DC, Joh SP, Lynch SE, Hollinger JO. Comparison of porous bovine mineral and biologically active glass in critical-size defects. *J Periodontol*. 1997; 68: 1043-1053.
- Schoop U, Moritz A, Kluger W, Frei U, Maleschitz P, Goharkhay K, Schöfer C, Wernisch J, Sperr W. Changes in root surface morphology and fibroblast adherence after Er:YAG laser irradiation. *J Oral Laser Application*. 2002; 2: 83-93.
- Schwars F, Sculean A, Georg T, Becker J. Clinical evaluation of the Er: YAG laser in combination with an enamel matrix protein derivative for the treatment of intrabony periodontal defects: a pilot study. *J Clin Periodontol*. 2003; 30: 975-981.
- Sculean A, Donos N, Breex M, Retch E, Karring T. Treatment of intrabony defects with guided tissue regeneration and enamel-matrix-proteins. An experimental study in monkeys. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 466-472.
- Sculean A, Windisch P, Chiantella GC, Donos N, Breex M, Reich E. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 397-403.
- Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Gera I, Reich E. 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. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2002; 22: 259-267.
- Sculean A, Barbé G, Chiantella GC, Arweiler NB, Berakdar M, Brex M. Clinical Evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol*. 2002; 73: 401-408.
- Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Chiantella GC, Gera I, Donos N. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative

combined with a bovine-derived xenograft. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003; 23: 47-55).

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

Slavkin HC. Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revised. *J Periodontol.* 1976; 47(5): 249-255.

Slavkin HC, Bringas P Jr, Bressem C, Santos V, Nakamura M, Hsu MY, Snead ML, Zeichner-David M, Fincham AG. Hertwig's epithelial root sheath differentiation and initial cementum and bone formation during long-term organ culture of mouse mandibular first molars using serumless, chemically-defined medium. *J Periodontal Res.* 1989; 24(1): 28-40.

Ten Cate AR (1994), oral histology: development, structure and function. 4th edition, St Louis: Mosby.

Valentini P, Abensur D. Maxillary sinus floor elevation for implant placement with demineralized freeze-dried bone and bovine bone (Bio-Oss): A clinical study of 20 patients. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry.* 1997; 17: 233-241.

Waerhaug J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II. As observed on extracted teeth. *J Periodontol.* 1978; 49: 119-129.

Watanabe H, Ishikawa I, Suzuki M, Hasegawa K. Clinical assessment of the erbium:YAG laser for soft tissue surgery and scaling. *J Clin Laser Med and Surg.* 1996; 14: 67-75.

Yamaguchi H, Kobayashi K, Osada R, Sakuraba E, Nomura T, Arai T, *et al.* Effects of irradiation of an erbium:YAG laser on root surfaces. *J Periodontol.* 1997; 68: 1151-1155.

*De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.