



D. Rodrigo Gómez

## Evidencias científicas del uso clínico de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte (Emdogain®)

Licenciado en Odontología por la Universidad Europea de Madrid.  
Master en Periodoncia e Implantes por la U.C.M

**Correspondencia:**

Dr. D. Rodrigo Gómez  
Urb. Rinconada 12 ,1ºD  
28023 Madrid  
E-mail: daniperio23@hotmail.com

### RESUMEN

En este trabajo se presentan de forma actualizada la justificación científica e indicaciones para el uso clínico de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte. Para ello se ha realizado una revisión de los artículos publicados sobre este tema, haciendo un análisis de los mismos con el propósito de presentar de forma esquemática los resultados por ellos obtenidos en regeneración periodontal. Se presentan también los fundamentos biológicos para su uso y se comentan otras aplicaciones clínicas en investigación.

### PALABRAS CLAVE

Proteínas de la matriz de esmalte; Regeneración periodontal; EMD; Emdogain; Regeneración tisular guiada.

### INTRODUCCIÓN

El objetivo de la terapia periodontal es conseguir mantener en salud y confort la dentición durante la

vida de nuestros pacientes. El objetivo más deseable de nuestra terapia cuando los tejidos han sido destruidos por la enfermedad periodontal es la regeneración del aparato de inserción perdido. Regeneración periodontal se define como la reproducción o reconstrucción de una parte perdida o dañada del periodonto para restaurar su arquitectura o función. Las características histológicas de un periodonto regenerado incluyen la formación de hueso, cemento y ligamento periodontal nuevos<sup>(1)</sup>. El término regeneración implica, por tanto, que la arquitectura y función de los tejidos destruidos ha sido restaurada. En contraste, reparación indica que el tejido ha curado o cicatrizado (ausencia de enfermedad) aunque las localizaciones tratadas no hayan retornado a su estado original. El tratamiento quirúrgico y no quirúrgico convencionales resultan en la reparación del periodonto con la formación de un epitelio largo de unión y una pequeña inserción conectiva<sup>(2)</sup>.

Varias modalidades de tratamiento regenerativo como injertos óseos, substitutos de hueso, desmineralización de la superficie radicular, regeneración tisular guiada (RTG), acondicionadores radiculares o desbridamiento radicular con o sin elevación de colgajos

186 así como diferentes factores de crecimiento se han utilizado con diversos niveles de éxito para regenerar el aparato de inserción perdido en los defectos intra-óseos<sup>(3,4)</sup>. Aunque las observaciones y los datos de los estudios histológicos y ensayos clínicos controlados han demostrado que algunos de estos procedimientos regenerativos son capaces de obtener regeneración periodontal<sup>(5-9)</sup>, una verdadera regeneración, completa y predecible es aún difícil de obtener<sup>(10)</sup>. Los procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos habitualmente consiguen una reparación del periodonto con la formación de un epitelio largo de unión y una pequeña inserción conectiva<sup>(2)</sup>. La neoformación de hueso con injertos óseos, substitutos de hueso o técnicas de RTG, apreciado radiográficamente, en muchas ocasiones va también acompañado de un epitelio largo de unión y/o inserción conectiva<sup>(11)</sup>. El uso de factores de crecimiento polipeptídicos y otras biomoléculas están cobrando hoy en día una relevancia especial, pero para la mayor parte de ellos, su uso en regeneración periodontal está siendo investigada.

Un acercamiento reciente en el campo de la regeneración es el uso de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte (MDE) comercializadas con el nombre de Emdogain®. El constituyente dominante de este producto son unas proteínas entre las que predomina la amelogenina, expresada durante la formación natural de la raíz y capaz de inducir el desarrollo de las estructuras de soporte del diente<sup>(12)</sup>.

En este trabajo se analizan las evidencias científicas que respaldan el uso de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte en su forma comercial (Emdogain®) durante la terapia regenerativa periodontal y se discuten sus aplicaciones clínicas.

#### **BASES BIOLÓGICAS DEL USO DEL EMDOGAIN®**

A comienzos de los años 80 se introdujo por primera vez el concepto de regeneración tisular guiada (RTG). En esas fechas se realizaron una serie de estudios experimentales<sup>(7,8)</sup> encaminados a regenerar el aparato de inserción perdido. El procedimiento con-

sistió en la colocación de una membrana situada entre el defecto infraóseo y el colgajo para evitar el crecimiento y migración apical del epitelio y conectivo, con mayor capacidad y velocidad de proliferación, creando así, un ambiente y un espacio necesarios para la regeneración de los tejidos responsables de una nueva inserción periodontal (hueso, cemento y ligamento periodontal). Su eficacia fue demostrada en diferentes publicaciones<sup>(3,8,9)</sup>. Inicialmente se utilizaron membranas no reabsorbibles que debían eliminarse en una segunda intervención<sup>(8,9)</sup> lo que suponía una mayor morbilidad para los pacientes además de un traumatismo potencial para los tejidos periodontales inmaduros que se estaban regenerando. En un intento por resolver estos problemas, en los años 90 se desarrollaron procedimientos de una sola fase con membranas reabsorbibles sobre los que se han comunicado resultados favorables<sup>(10,14)</sup>. Sin embargo, en muchos de los casos en los que se analizan las características histológicas estructurales del tejido regenerado al emplear técnicas de RTG se observa que el tejido duro neoformado sobre la superficie radicular es a menudo celular y de frágil unión a la dentina<sup>(7,8,15)</sup>. Esta circunstancia ha animado a la ciencia a seguir investigando nuevos procedimientos para lo que se ha denominado regeneración periodontal verdadera<sup>(16)</sup>, caracterizada por la formación de cemento acelular de fibras extrínsecas firmemente unidas a la dentina que se prolongan con el ligamento periodontal (fibras de Sharpey) y con el hueso regenerado.

La tecnología Emdogain® se basa en su potencial para inducir, además de hueso y ligamento periodontal, la formación de cemento acelular de fibras extrínsecas. Este tipo de cemento, que cubre 2/3 de la raíz, es el responsable del anclaje del diente. El desarrollo de este producto se basa en estudios morfológicos realizados a finales de los años 70 en los que se pudo constatar que células de la vaina epitelial de Hertwig (VEH), que es una extensión del órgano del esmalte responsable de la formación de la raíz durante el desarrollo dentario, tenían una fase secretora durante la cual se depositaban temporalmente proteínas derivadas de la matriz de esmalte sobre la superficie de la

raíz en formación, dando un paso inicial, y en apariencia esencial para la formación del cemento acelular<sup>(12,17,20,21)</sup>. De forma cronológica Slavkin y Boyde 1975<sup>(22)</sup> y Slavkin 1976<sup>(17)</sup> fueron quienes propusieron tras sus investigaciones, que las proteínas de la matriz de esmalte estaban involucradas en la formación de cemento acelular. Owens<sup>(23)</sup> en sus estudios siguió este camino y encontró células de la VEH en molares de ratas que mostraban organelas que sugerían una actividad secretora. Posteriores trabajos con microscopio electrónico de barrido y estudios autorradiográficos en incisivos de monos confirmaron que la capa interna de la VEH posee un estado secretorio y que la matriz de esmalte por ella secretada se dispone en la superficie radicular como paso previo a la formación de cemento acelular<sup>(18, 19)</sup>. Posteriormente, a finales de los años 80 Slavkin y cols.<sup>(24)</sup> mostraron que el cemento acelular contenía proteínas que inmunológicamente se relacionaban con proteínas de la matriz de esmalte.

Emdogain® está compuesto por proteínas derivadas de la matriz de esmalte, principalmente por amelogeninas y otras proteínas relacionadas que se derivan de gérmenes dentarios porcinos. Durante los procesos evolutivos, las proteínas derivadas de la matriz de esmalte han permanecido esencialmente inalteradas en los mamíferos existiendo por tanto una gran homogeneidad estructural y funcional entre las humanas (endógenas) y porcinas (exógenas)<sup>(55)</sup>.

Tras el desarrollo inicial del concepto biológico de Emdogain®, recientemente se ha determinado con un mayor número de investigaciones la capacidad de la matriz derivada del esmalte (MDE) para influir sobre propiedades fisiológicas específicas de las estructuras del periodonto tales como la formación mineral, migración, inserción, proliferación y actividad de síntesis del ligamento periodontal, así como sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación de los osteoblastos<sup>(25,26,96)</sup> y cementoblastos<sup>(27, 94)</sup> además de estimular ciertos factores de crecimiento como el TGF-beta o el PDGF AB<sup>(28, 95)</sup> o inhibir la acción de ciertas metaloproteínas<sup>(91)</sup>. Estudios experimentales han demostrado además la capacidad de Emdogain® para, durante las fases

iniciales de cicatrización, actuar de forma selectiva en el crecimiento y colonización de estirpes celulares sobre las superficies radiculares expuestas, reduciendo en los estadios iniciales la colonización de fibroblastos gingivales y estimulando los del ligamento periodontal<sup>(95, 96)</sup>. En este sentido, también se ha comprobado su capacidad para inhibir el crecimiento epitelial<sup>(28,102)</sup> colaborando, de esta forma, a dar tiempo a la sucesión de las condiciones y fenómenos necesarios para promover el desarrollo y regeneración de los tejidos periodontales.

Independientemente de la habilidad de la MDE para inducir los procesos que conllevan a la regeneración del aparato de inserción, se han observado otras cualidades o características que pueden ayudar o facilitar dicho proceso. Estudios *in vitro*<sup>(29)</sup> e *in vivo*<sup>(30)</sup> indican que la MDE puede tener influencia tanto cuantitativa como cualitativa en la flora bacteriana inmediatamente tras su aplicación debido a su bajo pH y, una vez precipitado sobre la superficie radicular debido a sus propiedades hidrofóbicas. Por tanto, su influencia sobre las bacterias periodontopatógenas podría ser otro de los factores que contribuyen a mejorar la cicatrización temprana de las zonas tratadas<sup>(30)</sup>. Esta aceleración en la cicatrización inicial de los tejidos blandos ha sido confirmada por otros trabajos<sup>(31, 32)</sup>.

Un aspecto importante concerniente a la utilización de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte es, por ser un producto de origen animal, su seguridad. La seguridad clínica de Emdogain® ha sido evaluada en varios estudios *in vitro*<sup>(33)</sup> e *in vivo*<sup>(34, 35)</sup>. Los resultados de estas investigaciones sugieren que su potencial inmunogénico es sumamente bajo cuando se combina con cirugía periodontal y que la ausencia de reacciones adversas, es decir, reacciones alérgicas, abscesos o procesos inflamatorios importantes tras su aplicación no es menor que con otras técnicas convencionales<sup>(36,86)</sup>.

La tecnología Emdogain® se basa, por tanto, en los avances en el conocimiento de los estadios iniciales del desarrollo dental. El descubrimiento de la capa de matriz de esmalte entre la dentina periférica y el cemento en formación así como su función propor-

188 cionaron el concepto fundamental para su uso en la terapia regenerativa periodontal, de forma que el empleo de su forma comercial, Emdogain®, en combinación con la cirugía reconstructora periodontal puede proporcionar las proteínas necesarias para desencadenar los diferentes eventos que desembocan en la regeneración del aparato de inserción.

### ESTUDIOS EN ANIMALES

Una vez comprobada la eficacia de la MDE en estudios experimentales, se han llevado a cabo varios estudios en modelos animales para comprobar su capacidad regenerativa desde un punto de vista clínico. En 1997, Hammarström<sup>(12)</sup> publicó una investigación con ratas encaminada a explorar si la exposición de las células del folículo dental a las proteínas de la matriz de esmalte podía inducir la neoformación de cemento. Los resultados histológicos mostraron una matriz de tejido duro acelular cuando las células del folículo eran expuestas a la matriz de esmalte, lo cual daba a entender que dicha matriz tenía un efecto inductivo en algunas de las células del folículo dental. En ese mismo año, el mismo equipo<sup>(37)</sup> realizó un estudio controlado sobre un modelo de dehiscencias en monos para analizar si la aplicación de matriz de esmalte podría promover la regeneración de los tejidos periodontales. Se hicieron colgajos mucoperiosticos bilaterales y se eliminó con una fresa hueso alveolar vestibular junto con el ligamento expuesto y el cemento. En la zona test, después del grabado ácido de las superficies radiculares se aplicó la MDE para cubrir las superficies de las raíces. En las zonas control después del grabado ácido, el colgajo se recolocó de inmediato y se suturó sin aplicar la MDE. Tras 8 semanas se realizó el estudio histológico. Las dehiscencias test, donde se utilizó la MDE, apenas presentaron recesión gingival ni formación de un epitelio largo de unión. Además se observó una regeneración del 60 al 70% del cemento acelular firmemente insertado en la dentina radicular y de donde las fibras se extendían al tejido alveolar regenerado. Las zonas control presentaron

recesión gingival, y el cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar se regeneraron en mucho menor grado (10%).

Araujo y cols.(1998)<sup>(38)</sup>, en un estudio controlado evaluaron el efecto de la matriz derivada de esmalte en furcaciones de tipo III en perros. Las cantidades de hueso y ligamento periodontal conseguido fueron iguales en los grupos test (Emdogain®) y control (placebo); sin embargo, en el análisis histológico se observó que el cemento neoformado en la parte apical de los defectos era diferente: en el grupo test el cemento contenía cemento acelular con fibras insertadas y estaba unido firmemente a la dentina subyacente mientras que en los defectos control lo encontrado fue una gruesa capa de cemento celular.

En otro estudio controlado<sup>(39)</sup> realizado en monos, se evaluó histológicamente el efecto del tratamiento de defectos intraóseos con MDE, RTG o la combinación de ambos procedimientos. Las tres modalidades favorecieron la regeneración periodontal y resultaron en parámetros clínicos comparables. En cuanto a los resultados histológicos se obtuvo una mayor proporción de cemento acelular en los defectos tratados con MDE respecto a los tratados con RTG. En las localizaciones donde se combinaron ambos procedimientos la histología no difería con respecto a las localizaciones con MDE. El hecho de que el cemento formado tras el tratamiento combinado tiene una apariencia similar al obtenido con la aplicación de MDE sólo, sugiere que el MDE es el responsable de la formación de este tipo de cemento.

### EFICACIA EN LA REGENERACIÓN DE DEFECTOS INTRAÓSEOS HUMANOS Y VARIABLES QUE INFLUYEN EN SU ÉXITO

Los estudios previos llevados a cabo en animales resultaron en evidencias histológicas que mostraban que la MDE facilitaba la regeneración periodontal<sup>(12,37-39)</sup>. Sin embargo la información obtenida de los resultados en modelos animales no puede ser extrapolada directamente a humanos.

El primer estudio experimental en humanos fue publicado por Heijl en 1997<sup>(16)</sup>. El trabajo se realizó sobre un incisivo lateral izquierdo mandibular al que previamente se eliminó hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento para crear un defecto experimental. Transcurridos cuatro meses el diente se extrajo en bloque para su estudio histológico. El cemento regenerado cubría el 73% del defecto artificial y estaba firmemente unido a la superficie radicular; además, un 65% de éste estaba relleno de hueso alveolar regenerado. Se pudo observar además la presencia de fibras de colágeno que se extendían desde el cemento al hueso regenerado.

El primer estudio controlado<sup>(40)</sup> con MDE en humanos se realizó sobre una muestra de treinta y tres defectos periodontales de una y dos paredes con un componente intraóseo de al menos 4 mm de profundidad y 2 de anchura. Tras la instrumentación y acondicionamiento de las superficies radiculares se aplicó Emdogain® en las zonas test y un placebo en las zonas control. Los pacientes fueron evaluados a los 8, 16 y 36 meses tras la cirugía. Las ganancias en el NIC en las localizaciones test fueron significativamente mayores que las obtenidas con la cirugía periodontal convencional (colgajo de Widman modificado), obteniéndose niveles de inserción clínica a los 36 meses de 2,2 mm y 1,7 mm, respectivamente. En otro estudio controlado<sup>(34)</sup> realizado sobre 214 defectos test (Emdogain®) y 33 como control (Widman modificado), la ganancia ósea radiográfica fue de 1,2mm a los 8 meses y de 2,4 mm a los 3 años en las localizaciones test; el grupo control mostró 0,3mm a los 8 meses y se redujo a 0 a los 36 meses. Estos resultados junto a los obtenidos en otras investigaciones controladas<sup>(32, 41)</sup> demuestran que el tratamiento de defectos intraósseos con Emdogain® obtiene mejores resultados respecto al tratamiento convencional de cirugías con colgajo.

Son varios los trabajos que han tratado de comparar la eficacia de Emdogain® con técnicas de RTG, bien con membranas no reabsorbibles<sup>(32, 42)</sup> o reabsorbibles<sup>(43, 44)</sup>. Las diferencias, no fueron clínicamente significativas entre uno u otro procedimiento ni en los

parámetros clínicos observados ni en los radiológicos. Sin embargo, a nivel histológico se observó una nueva inserción de mayor calidad, basada en cemento acelular de fibras extrínsecas, cuando los procedimientos regenerativos se realizaron con MDE<sup>(44, 45)</sup>.

Existen trabajos que han comparado Emdogain® con otras técnicas o materiales regenerativos como cristales bioactivos<sup>(46)</sup>, hueso liofilizado<sup>(47)</sup> bio-oss®<sup>(48)</sup> o la efectividad de la conjunción de varios materiales a la vez<sup>(49)</sup> y/o junto a membranas<sup>(50, 51)</sup>. En todos los casos los tratamientos mejoraron significativamente los parámetros clínicos investigados sin diferencias estadísticamente significativas en la mayor parte de los casos. Algunos autores, no obstante<sup>(52)</sup> sí encontraron diferencias significativas en cuanto a la recesión gingival y relleno óseo a favor de la combinación MDE y Bio-oss® respecto a la MDE sólo. La mayor parte de estos estudios controlados obtienen resultados favorables con todos los materiales o técnicas regenerativas utilizadas con pequeñas variaciones que pueden ser más o menos relevantes desde un punto de vista clínico.

#### VARIABLES QUE INFLUYEN EN EL ÉXITO DE LA REGENERACIÓN CON MDE

Existen múltiples variables que pueden afectar a los resultados obtenidos durante los procedimientos regenerativos. La mayoría de las investigaciones o trabajos realizados sobre este tema se han centrado en procedimientos regenerativos con membranas. La predictibilidad de los procedimientos de RTG ha sido evaluada en varios estudios<sup>(13, 53)</sup>. En una extensa revisión realizada por Cortellini y Tonetti la ganancia de inserción clínica media encontrada para procedimientos de RTG fue de 3,8 mm. Muchos de estos trabajos han observado que el nivel de inserción clínica conseguido en procedimientos regenerativos con membranas está fuertemente asociado a las características del defecto, número de paredes, anchura y profundidad inicial del defecto intraóseo que se va a tratar variables que parecen ser características especialmente relevantes

190 en la predicibilidad de nuestros tratamientos<sup>(5)</sup>. De hecho, existen evidencias de que la configuración del defecto puede ser un factor determinante no sólo en la cantidad de hueso neoformado, sino también en la calidad histológica de los tejidos regenerados<sup>(38)</sup>.

En procedimientos regenerativos existen otros 2 factores determinantes: el hábito tabáquico y el sangrado al sondaje (como medición indirecta del grado de inflamación)<sup>(82)</sup>. En un estudio controlado con MDE<sup>(54)</sup> se evaluaron los resultados conseguidos al cabo de un año en pacientes fumadores/no fumadores, y en los que sangraban/no sangraban al sondarlos. Los resultados obtenidos fueron mucho peores en los fumadores y más decepcionantes aún en los que además sangraban durante el sondaje. En los pacientes no fumadores y en los que además no sangraban al sondaje, se evidenció un aumento del NIC de 4,4 mm y 4,5 mm (41% y 44%) respectivamente y un aumento de la altura ósea radiográfica de 3,3 y 3,2 mm (relleno del defecto de 76% y 75%) respectivamente. En los pacientes que fumaban y con sangrado al sondaje el aumento del NIC fue de 3,8 mm y 3,0 mm, respectivamente y el aumento de la altura ósea en las radiografías de 2,6 mm y 2,7 mm (relleno del defecto de 60% y 62%). Estas conclusiones confirman las obtenidas en otras publicaciones tanto para técnicas de RTG convencionales<sup>(5)</sup> como para Emdogain®<sup>(36)</sup>.

Por otro lado la eficacia y potencial regenerador de Emdogain® puede verse incrementada optimizando la descontaminación por saliva y sangre de la superficie radicular<sup>(6,55,56)</sup>. La cobertura total del área interproximal y la adaptación óptima del tejido blando mediante cierre primario son también elementos esenciales para estabilizar la herida y prevenir su contaminación<sup>(6)</sup>. El control de los niveles de placa en procedimientos regenerativos también ha mostrado tener una significación de extrema importancia en los resultados finales<sup>(82,84)</sup>.

Finalmente la administración de antibióticos sistémicos no parece ser una cuestión relevante en los resultados regenerativos con Emdogain®. Sculean y cols.<sup>(57)</sup> concluyeron tras un estudio controlado realizado en 34 sujetos que la administración de amoxicilina y metronidazol junto al uso de la MDE para el tra-

tamiento de defectos infraóseos no mejora de una manera estadísticamente significativa los parámetros observados cuando se la compara con el tratamiento con MDE sólo. Los resultados de otras publicaciones apoyan esta cuestión<sup>(54)</sup>.

## OTRAS APLICACIONES DE EMDOGAIN

### Tratamiento de recesiones

La adición de los injertos de tejido conjuntivo subepitelial a las opciones terapéuticas mucogingivales ha mejorado significativamente la predicibilidad de la cirugía dirigida a cubrir las superficies radiculares expuestas como consecuencia de una recesión gingival, especialmente en los casos más comprometidos y difíciles<sup>(58)</sup>. Algunos trabajos también han conseguido resultados clínicos<sup>(59)</sup> e histológicos<sup>(60)</sup> satisfactorios con regeneración tisular guiada mediante membranas.

El proceso de selección del tratamiento se basa en variables tales como el tipo de recesión<sup>(61)</sup>, la profundidad y la amplitud de la recesión y el tratamiento de dos o más dientes contiguos con defectos de recesión similares<sup>(62)</sup>.

Desde un punto de vista histológico, Rasperini y cols.<sup>(63)</sup> evaluaron clínica e histológicamente una recesión que fue tratada con un injerto de tejido conectivo y MDE. En los cortes histológicos se evidenciaron ganancias en los niveles de inserción, hueso y cemento acelular neoformados; clínicamente se obtuvieron 3 mm más de encía queratinizada. Otros estudios<sup>(62)</sup> han comparado el colgajo de reposicionamiento coronal para cubrir recesiones con o sin MDE, encontrando mejores resultados en el primer grupo, aunque las diferencias no fueron clínicamente relevantes.

Estos primeros estudios en recesiones gingivales junto con EMD demuestran que se pueden obtener resultados al menos tan predecibles como los obtenidos con las técnicas convencionales. Sin embargo, deben realizarse más estudios controlados con muestras más amplias y con mayor fuerza estadística para apoyar estos primeros resultados y determinar la jus-

tificación para emplear en el tratamiento de recesiones MDE en una relación de coste-beneficio.

### Tratamiento de furcaciones

En la actualidad es poca la bibliografía de la que disponemos acerca de la eficacia del Emdogain en el tratamiento de furcaciones. Los primeros trabajos en humanos<sup>(64)</sup> y animales<sup>(38, 65)</sup> sugieren que los resultados clínicos con MDE en el tratamiento de este tipo de lesiones son similares a los obtenidos con técnicas de RTG convencionales con membranas reabsorbibles y que la diferencia con uno u otro procedimiento radicaría de nuevo en la calidad histológica del tejido periodontal regenerado<sup>(38)</sup>.

### Autotransplantes

Los dientes reimplantados inmediatamente tras una avulsión, normalmente muestran una buena evolución y pronóstico. Cuando el tiempo es inferior a 15-20 minutos la regeneración del ligamento periodontal es predecible; si los tiempos de espera aumentan la predictibilidad de la reimplantación disminuye y son frecuentes los fenómenos de anquilosis y reabsorción radicular que empeoran la supervivencia del diente a largo plazo<sup>(66)</sup>.

Estudios histológicos en animales<sup>(66, 67)</sup> y clínicos en humanos<sup>(68, 69)</sup> han mostrado la eficacia del Emdogain® en la prevención y tratamiento de fenómenos de anquilosis y reabsorción radiculares con una regeneración completa y funcional de la inserción periodontal.

### Endodoncia

En una investigación en cerdos recientemente publicada<sup>(70)</sup> se examinó la capacidad de la matriz derivada del esmalte para inducir dentina reparativa en dientes tratados con pulpotomía en comparación con el hidróxido de calcio. Los parámetros observados fueron significativamente superiores en el grupo tratado con Emdogain®, además no se observaron efectos adversos de ningún tipo, como estrechamiento de los

conductos, circunstancia que sí ocurrió en algunas muestras tratadas con hidróxido de calcio. El estudio, por tanto, demostraba el potencial del MDE como un agente biológico activo con capacidad para inducir la cicatrización de la lesión pulpar y la capacidad formar dentina en dientes pulpotomizados sin afectación de la pulpa remanente.

### Implantes

En un reciente ensayo clínico en perros<sup>(71)</sup> se comparó mediante histomorfometría la eficacia de RTG, EMD o la combinación de ambos en dehiscencias inducidas alrededor de implantes. En el estudio se observó que la combinación de EMD+RTG puede influir de forma positiva en la formación de un mayor porcentaje de hueso en dehiscencias alrededor de implantes cuando se comparaba con el control. Los resultados evidenciaron además la capacidad de la MDE para la formación de hueso en ausencia de células del ligamento periodontal.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Muchos estudios han mostrado que el tratamiento de defectos intraóseos con técnicas de RTG con membranas reabsorbibles y no reabsorbibles tiene un alto porcentaje de éxito<sup>(53,72-74)</sup>. Sin embargo, los procedimientos de RTG tienen algunas desventajas. La aplicación de membranas conlleva tiempo y es un procedimiento muy sensible a la técnica debido a que la sutura y adaptación de estos materiales es difícil, especialmente en los sectores posteriores. Además cuando se usa una membrana no reabsorbible es necesaria una segunda intervención quirúrgica para retirarla. La exposición de membranas y la consecuente colonización bacteriana es probablemente la mayor complicación o riesgo con este tipo de procedimientos<sup>(75, 76)</sup>. De hecho la prevalencia de exposición de membranas según algunas publicaciones varía entre el 70-80%<sup>(77)</sup> aunque esta exposición se ha visto fuertemente reducida (30-50%) con el uso de colgajos espe-

Tabla 1 Resumen de los estudios de series de casos de casos tratados con EMD

	Técnica	Muestra	CACTS defecto	Tiempo	Grabado	ATBs	Mant.	PSi	NiCi	PSf	NiCf	Dism PS	Gan NIC	RG	Hueso
Sculean y cols. 1999	M+EMD	14 defectos	1, 2 y 3	6 meses	EDTA 24%	Amox 2'	2/sem 1 g/día 7 días	11,3	12,1	5,6	9	5	3,2		1 mm
Sculean y cols. 1999	WM+EMD	32 defectos 28 pac	2 y 3	8 meses	Ac. Ortof. 37% 15''	Amox 1,5 g/día 7 días	2/ sem	8,7	10,6	4,3	7,6	4,4	3	1,5	Tej. duro nuevo en 26/32 defectos
Yukna y cols. 2000	WM+EMD	10 defectos	1,2 y 3 3 mm	6 meses	Ac. cítrico 1'	Doxicic 100 mg/día 14 días	1/mes	7,6	10	3,7	7,6	4	2	2	Variable
Heard y cols. 2000	WM+EMD	64 defectos 32 pac	4mm	6 meses	Ac. cítrico 15''	Doxicic 100 mg/día 7 días	7, 14,2 8, 42 días 3 meses	7,1	7,4	3,3	4,7	3,8	2,8		-
Parashis y cols. 2000	WM+EMD	25 defectos 15 pac	2 y 3 3 mm	12 meses	Nada?	Doxicic 200 mg/día 8 días	1/2sem (2 meses) 1/mes	8,4	10,2	4,0	6,6	4,4	3,6	0,8	61% relleno
Heden y cols. 2000	TPP+EMD	72 defectos 61 pac	1 y 2 3 mm	12 meses	Ac Ortof 37% 10-15'	Variable según pac	2,4,6 sem 2-4 meses	8,3	10	3,6	5,9	4,7	4,4		3,1 70%
Sculean y cols. 2001	WM+EMD	34 defectos	1, 2 y 3 3 mm	12 meses	EDTA 24% 2'	Amox 1g + Metro 750 mg 7días o nada	1/2 sem (2 meses) 1 mes	9,1	10,8	4,4	7,4	3,8	2,8	1,3	
Brathall y cols. 2001	WM+EMD	176 defectos 88 pac	1,2 y 3 4 mm	16 meses	Ac. Ortof 37% 15'	-	6 sem 4, 6, 12 meses	8	-	4	3	4	3	0,8	1 mm
Cardasopoly y cols. 2002	WM+EMD	10 defectos	1, 2 y 3 5 mm	12 meses	EDTA 24% 2'	-	2/seman (6 meses) 1/mes (6 meses)	10,3	11,5	3,1	5	7,1	6,4		4,7 mm 77%
Trombelli y cols. 2002	TPP+EMD	35 defectos	1, 2 y 3 4 mm	12 meses	Ac. Ortof. 37% 15' o EDTA 24% 2'	Augmentine 2 g/día 7 días	1/mes	8,9	10,1	3,5	5,4	5	4,7	0,7	3,9 mm 65%

MANT: Mantenimiento. PSi: Profundidad de sondaje inicial. NiCi: Nivel clínico de inserción inicial. PSf: Profundidad de sondaje final. NiCf: Nivel clínico de inserción final. Dism PS: Disminución de la profundidad de sondaje. Gan NIC: Ganancia de los niveles clínicos de inserción. RC: Recesión.

cialmente diseñados para preservar los tejidos interdetales<sup>(32)</sup>. Estudios clínicos<sup>(78)</sup> e histológicos<sup>(75,76,79)</sup> han mostrado una marcada disminución de la regeneración y niveles de inserción clínica cuando las membranas quedan expuestas. De este modo las dificultades asociadas con técnicas de RTG motivaron el inte-

rés por procedimientos regenerativos alternativos. La ausencia de complicaciones postoperatorias importantes en los pacientes tratados con Emdogain® sugiere que el uso de este producto puede solucionar algunas de las complicaciones que pueden aparecer con técnicas de RTG.



**Tabla 2** Resultados clínicos de los defectos tratados con Emdogain® en referencia a la profundidad de sondaje inicial (PS Inicial)

PS Inicial	Dism PS	Gan NIC
6-8 mm(7) 382	3,6	2,8
8-10 mm(9) 426	4,4	3,5
+10 mm(2) 24	6	4,8

Entre paréntesis número de estudios seguido del n° total de defectos incluidos en dichos estudios. Dism PS: disminución de la profundidad de sondaje. Gan NIC: ganancia de inserción clínica.

Respecto a las variables que influyen en procedimientos regenerativos, numerosos estudios en regeneración periodontal se han centrado en defectos de 3 paredes. Este tipo de defectos tienen unas características anatómicas que parecen aumentar la predictibilidad de la regeneración en pacientes con buena higiene<sup>(80, 81)</sup>. Los defectos intraóseos de 1 y 2 paredes no han sido habitualmente incluidos en estudios de regeneración periodontal; la principal razón es que normalmente no responden bien a este tipo de terapia<sup>(81,82,87)</sup>. Los resultados favorables obtenidos en este tipo de defectos (1 y 2 paredes) con Emdogain®<sup>(40, 47)</sup> evidencian el potencial regenerador de este material (Tabla 1). Dentro de las características del defecto, el componente intraóseo parece ser un factor importante en la predictibilidad de los procedimientos regenerativos<sup>(53,82)</sup> habiéndose demostrado mayor ganancia a partir de 4 mm de componente intraóseo con técnicas de RTG<sup>(53)</sup>. No obstante otras publicaciones han puesto en duda esta cuestión<sup>(32, 87)</sup>. De hecho es probable que la significación del componente intraóseo del defecto en las ganancias finales de inserción clínica se deba realmente al impacto de la profundidad de sondaje inicial en esas localizaciones<sup>(27,32,87)</sup> ya que la profundidad de sondaje y el mayor o menor componente intraóseo del defecto están íntimamente relacionados<sup>(83)</sup>. En el análisis de los artículos revisados para este trabajo se observa una clara correlación tanto para el componente intraóseo, como para la profundidad de sondaje con los niveles de inserción clínica conse-

**Tabla 3** Resultados clínicos de los defectos tratados con Emdogain® en referencia a la profundidad inicial del defecto intraóseo (P defect intraóseo)

P. Défect intraóseo	Dism PS	Gan NIC
3 mm (6) 163	4,2	3,1
4 mm (7)	4,2	3,4
5 mm (1) 10	7,1	6,4
6 mm (1) 30	5,1	4,2

Entre paréntesis número de estudios seguido del n° total de defectos incluidos en dichos estudios. Dism PS: disminución de la profundidad de sondaje. Gan NIC: ganancia de inserción clínica.

guidos (Tabla 2 y 3). La anchura o angulación del defecto ha sido citado en la literatura como otro factor relevante en procedimientos regenerativos, más predecible cuanto más estrecho o angulado<sup>(83)</sup>.

Otros dos factores, referente éstos a las características del paciente, que tienen especial importancia en los niveles de inserción clínica<sup>(5)</sup> y de hueso<sup>(27,84)</sup> conseguidos tras procedimientos de RTG son los niveles de placa y el hábito tabáquico. Este hecho se corresponde con los buenos resultados de algunas investigaciones con Emdogain®<sup>(43)</sup> cuando se comparan con otras donde las condiciones iniciales fueron semejantes pero el mantenimiento postquirúrgico no fue tan estricto<sup>(40)</sup>. A lo largo de los parámetros observados en diferentes publicaciones<sup>(27,32,57,87)</sup>, el hábito tabáquico se ha asociado fuertemente con menores niveles de ganancia de inserción clínica tras el uso de Emdogain®.

La consecución de un adecuado cierre primario es otro factor importante durante los procedimientos regenerativos; de hecho los buenos resultados de algunos trabajos podrían ser explicados en parte por los colgajos especialmente diseñados para conservar los tejidos interdetales<sup>(32)</sup>, afirmación ésta avalada por el hecho de que en los controles de estas publicaciones se diseñó el mismo tipo de colgajo que para las zonas test las cuales ganaron mayor inserción que las zonas control de otros trabajos donde no se realizaron dise-

196 ños de colgajo especiales<sup>(34,40,43)</sup>. Algunos trabajos han observado que el colapso del colgajo mucoperióstico puede limitar el uso exclusivo de este material, especialmente en defectos extensos y profundos<sup>(44,45,85)</sup>. La combinación de este material junto a otros que eviten el colapso del colgajo como Bio-Oss®<sup>(48,50,51,86)</sup>, hueso liofilizado<sup>(47)</sup> o cristales bioactivos<sup>(46, 48)</sup> o en combinación con membranas<sup>(32,42,43)</sup> pueden ayudarnos a resolver este problema (Tabla 4).

La eficacia y potencial regenerador de Emdogain® puede verse incrementada optimizando la descontaminación por saliva y sangre de la superficie radicular<sup>(6,55,56)</sup> aumentando el contacto y la persistencia del producto en la superficie radicular y permitiendo de esta forma la precipitación de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte sobre dicha superficie<sup>(55)</sup>. Estudios experimentales en modelos animales han mostrado que no se puede detectar el producto durante más de 2 semanas sobre la superficie radicular<sup>(55)</sup>. Por consiguiente, este periodo activo puede no ser siempre suficiente para garantizar un entorno óptimo que permita obtener una regeneración periodontal predecible, especialmente en defectos grandes<sup>(84,85)</sup>. Por consiguiente es importante recordar que en el momento de aplicar el producto hay que evitar la contaminación de la herida con saliva o sangre para que se produzca un íntimo contacto entre la superficie radicular y el producto.

Como se ha comentado, la exposición de las membranas durante procedimientos de RTG se ha mostrado como una de sus principales complicaciones obteniéndose, cuando esto sucede, peores resultados<sup>(79)</sup>. Esta circunstancia ha justificado el empleo de terapia antibiótica con este tipo de procedimientos<sup>(75,76)</sup>. En muchos estudios con Emdogain® se ha seguido un protocolo de administración de antibióticos sistémicos en los que se incluían doxiciclina, amoxicilina, metronidazol o una combinación de los 2 últimos (Tablas 1 y 4). Sin embargo Sculean y cols.<sup>(57)</sup> en un ensayo clínico controlado no observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros observados entre el grupo test (antibiótico) y el control (placebo) datos estos que confirman los obtenidos en otras publi-

caciones<sup>(27,87)</sup>. Una posible explicación a este hecho es el bajo poder antigénico de este producto, su capacidad para inhibir tanto cuantitativa como cualitativamente especies periodontopatógenas *in vitro*<sup>(29)</sup> e *in vivo*<sup>(30)</sup> y que, al ser un producto y no un material, su contaminación por bacterias se ve limitada.

Únicamente el examen histológico es capaz de ofrecer una visión real del tipo de curación o regeneración acontecido tras cualquier procedimiento quirúrgico. En los resultados histológicos tras el uso de Emdogain®, técnicas de RTG, o diferentes tipos de injertos se observan discrepancias. Debido a esto, se ha definido un nuevo concepto denominado «regeneración periodontal verdadera»<sup>(16)</sup>; este término implica un proceso de curación periodontal en donde se forman estructuras periodontales idénticas a las destruidas por los procesos patológicos: cemento acelular firmemente unido a la dentina con fibras colágenas morfológica y funcionalmente ensambladas en un ligamento periodontal sano y nuevo hueso alveolar.

De acuerdo con algunos autores, el cemento habitualmente producido bajo la influencia de diferentes injertos es de tipo celular<sup>(88)</sup>. Tras tratamientos con técnicas de RTG se forman con frecuencia artefactos entre la capa de cemento recién formada y la dentina, y la nueva unión cementodentinaria es menos resistente que la original<sup>(7)</sup>.

Uno de los fundamentos biológicos de Emdogain® es la calidad histológica de los tejidos regenerados (Tabla 5) con la formación de un cemento de tipo acelular firmemente unido a la superficie radicular<sup>(6,12,16,37)</sup>. Hay que señalar a este respecto que aunque no todos los estudios histológicos con Emdogain® hayan resultado en una regeneración completa con cemento acelular<sup>(38,44)</sup>. En casi todos ellos este tipo de cemento estaba presente en mayor o menor medida salvo en un caso<sup>(89)</sup> (Tabla 5). Esta reproducibilidad en cuanto a la calidad de los tejidos regenerados no ha podido ser constatada con otros procedimientos regenerativos de forma tan predecible. No obstante, hay que destacar en este sentido que en los estudios histológicos con resultados más esperanzadores los defectos fueron muy agudos, algunos creados quirúrgicamente e inme-

**Tabla 4 Resumen de los estudios controlado.**

	Técnica	(n)	Defec.	Tiempo	Grabado	ATBs	PSi	NiCi	PSf	NiCf	DismPS	GanNIC	Rec	Hueso
Heijl y cols. 1997	EMD+WM (34)	68 33pac	1 y 2 4mm	36 meses	Ac ortof. 37% 15'	Doxicic 200 mg/día	7,8	9,4	4,6	7,1	3,1	2,2		2,6 (66%)
	WM (34)						7,8	9,3	5,2	7,1	2,3	1,7	0	
Zetterstrom y cols. 1999	EMD+WM (214)	247	4mm	36 meses	Ac ortof. 37% 15'	Amox + Metro	7,4	8,7	4,6	7,1	3,8	2,9		2,4 (31%)
	WM (33)										3,2	2,2	0	
Sculean y cols. 1999	EMD+WM 7	14	5mm	6 meses	EDTA 24% 2'	Amox	11,3	12,1	5,6	9,1		3,2		0,9
	GTR 7													
Pontoriero y cols. 1999	EMD(10)	40	3mm	12 meses	EDTA 24% 2'	3 g Amox 1 h antes	8	9,1	3,6		4,4	2,9	0,8	
	RTGr(Guidor)10						7,8	8,9		4,8	3,4			
	RTGr(Resolut)10						7,9	8,5	3,3	5,6	4,1	3,0	0,9	
	RTGnr(PTF-E)10						7,5	8,6		4,7	2,9			
Lekovic y cols. 2000	EMD(21)	42	2 y 3	6 meses	EDTA 24% 2'	Penicilina 2 g/día	7,2				1,9	3,1	1,2	3,8
	EMD+BIO-OSS(21)										2 semanas	7,4		3,8
Silvestry y cols. 2000	GTRnr(10)	30	4mm	12 meses	EDTA 17% 20'	Augmentine 2 g/día					5,9	4,8		
	EMD(10)										4,8	4,5		
	WM(10)										1,4	1,2		
Froum y cols. 2001	EMD+WM (23)	76 (23pac)	4mm	12 meses	Ac. Cítrico 15'	Tetraciclinas 1 g/día	7,9			4,9	4,9	4,2	0,6	3,8 (83%)
	WM (53)									14 días	7,3		2,2	2,2
Lekovic y cols. 2001	EMD+BIO-OSS+RTGr (18)	36	2 y 3	6 meses	EDTA 24% 2'	Penicilina 2 g/día	8,4		3,5		4,8	3,8		4,8
	WM (18)									2 semanas	8,4		5,5	
Pietruska y cols. 2001	EMD (12)	24	3mm	12 meses	EDTA 24% 2'	Amox 2 g/día	8	9,8	4	6,8	4	3	1,4	2,6
	BIO-OSS + RTGr(12)									7 días	7,8	9,3	3,4	5,8
Sculean y cols. 2002	EMD + BIO-OSS(12)	24	4mm	12 meses	EDTA 24% 2'	Amox. 1,5 g/día	10	10	4,3	6,2	5,7	4,7	0,8	
	BIO-OSS(12)									7 días	7,8	9,3	3,4	5,8
Zuchelli y cols. 2002	EMD+PPT(30)	90	6mm	12 meses	EDTA 24% 2'	Amox + clav 1 g día	9,2	9,9	4	5,8	5,1	4,2	1,9	
	RTGnr +PPT(30) PPT(30)									7 días	8,9	10,3	2,4	5,5
Rosen y cols. 2002	EMD+DFDBA+RTG (10)	22	1 y 2	6 meses	AC cítrico 1'	Doxiciclina Amox	8,4	9,2	3,0	4,7	5,4	4,5		
	EMD+FDDBA+RTG(12)										8,9	9,1	3,2	3,8
Sculean y cols. 2002	EMD+BIO-GLASS	28	1,2 y 3 3 mm	12 meses	EDTA 24% 2'	Amox 1,5 g/día	8,1	9,6	3,9	6,4		2,7	1	
	PERIO-GLASS									7 días	8,1	9,7	3,8	6,7
Velásquez Plata y cols. 2002	EMD(16)	16x2	2 y 3	6-8 meses	EDTA 24% 2'	Doxiciclina 200 mg/día	6,6		2,6		3,8	2,9	0,8	3,1
	EMD + BIO-OSS(16)									10 días	6,8		2,9	
Scheger y cols. 2002	EMD + BIO-OSS(17) 17x2	17x2	2 y 3 4mm	6 meses	EDTA 24% 2'	Doxiciclina 200 mg/día	7,5	7,9	3,2		4,2	3,8	0,4	3,2 (63%)
	BIO-OSS(17)									10 días	7,1	7,5	3,2	
Windish y cols. 2002	EMD(6)	14		6 meses							5	2,6		0,7
	GTRr(8)											5,6	3,8	

(n) Muestra. (DEFEC) Características del defecto. (ATBs) Antibióticos. (MANT) Mantenimiento. (PSi) Profundidad de sondaje inicial. (NiCi) Nivel clínico de inserción inicial. (PSf) Profundidad de sondaje final. (NiCf) Nivel clínico de inserción final. (Dism PS) Disminución de la profundidad de sondaje. (Gan NIC) Ganancia de los niveles clínicos de inserción. (RC) Recesión. (PPT) Técnicas de preservación de papila. (GTRr) membranas reabsorbibles. (GTRnr) membranas no reabsorbibles.

**Tabla 5** Evaluación histológica de los defectos tratados sólo con Emdogain® y en comparación con técnicas de RTG o Widman modificado

	<i>Técnicas</i>	<i>Muestra</i>	<i>Grabado</i>	<i>Duración</i>	<i>Resultados</i>
Heijl 1997	MDE	1 (creado) (humanos)	Ac. Ortof 37% 15''	4 meses	73% C. Acelular 65% Regeneración ósea
Hammarström y cols. 1997	MDE	Monos	–	8 semanas	Regeneración periodontal con cemento acelular
Araujo y cols. 1998.	MDE RTG	10 (Perros)	EDTA 24% 2'	6 meses	Test: Predominio cemento celular + 1 mm hueso Control: Predomina cemento celular + 2 mm hueso
Sculean y cols. 1999	MDE (test) RTG (control)	2 x 7 (14 humanos)	EDTA 24% 2'	6 meses	Test: En apical c. Acelular, en coronal c. celular. 1 mm hueso Control: Predomina cemento celular + 2 mm hueso
Melloning 1999	MDE	1 (humanos)	EDTA 24% 2'	12 meses	Regeneración periodontal con predominio de cemento acelular
Yukna y cols. 2000	MDE	10 (8 humanos)	Ac. Cítrico 1'	6 meses	3 Nueva inserción conectiva 3 Regeneración periodontal- 4 Epitelio largo de unión
Sculean y cols. 2000a	MDE	2 (2 humanos)	EDTA 24% 2'	6 meses	1 caso c. Celular y acelular sin hueso
Sculean y cols. 2000b	RTG MDE RTG+MDE WM	6 x 4 (3 monos)	EDTA 24% 2'	5 meses	1 caso c. Celular y acelular con hueso RTG: predomina c. Celular + hueso RTG+EMD y EMD: predomina c. Acelular + hueso- CONTROL: Epitelio de unión

diatamente tratados sin exposición previa a la placa bacteriana. Por tanto estos defectos no representan necesariamente la situación real de pacientes con periodontitis crónica con defectos periodontales crónicos o de larga evolución infectados por placa<sup>(90)</sup>. De hecho, estudios en primates han demostrado que el 50-70% de los defectos agudos creados artificialmente se resuelven con regeneración periodontal<sup>(90)</sup>.

Araujo y cols.<sup>(38)</sup> evaluaron histológicamente en un estudio con perros la regeneración en un modelo de furcas tipo III tratados con membranas reabsorbibles junto a Emdogain® (grupo test) o sin él (grupo control). En esta investigación tanto el cemento como el ligamento periodontal regenerado eran de mayor cali-

dad en las porciones apicales de los defectos y con un mayor componente acelular donde RTG se combinó con Emdogain®. Estos resultados son apoyados por otros estudios<sup>(44)</sup>. La diferencia de los resultados clínicos de este estudio en furcas con otros en los que también se utilizó una técnica combinada de EMD +RTG en comparación con los procedimientos por separado podría radicar en que la aportación de células capaces de producir regeneración periodontal sigue patrones y dinámicas celulares diferentes en defectos angulares y furcas tipo III<sup>(92, 93)</sup>.

El análisis de los resultados clínicos obtenidos con Emdogain®, indica una reducción media de la profundidad de sondaje de 4,2 mm y una ganancia de inser-

**Tabla 6** Resultados clínicos de los defectos tratados con Emdogain®

Defectos	Dim PS	Gan NIC
EMD(20) 849 defec	4,2	3,4
Defectos	Hueso	
12 estudios	2.7	
	Rec	
12 estudios	1.1	

Parámetros recogidos para disminución profundidad de sondaje (Dism PS) y ganancia del nivel clínico de inserción (Gan NIC) para 20 estudios en un total de 849 defectos. Nivel de hueso medio recogido en 12 estudios y recesión media (Rec) recogida de otros 12 estudios.

**Tabla 7** Resultados clínicos de estudios controlados en los que se compara o combina Emdogain® con otros productos o materiales

Material	Dism PS	Gan NIC	Rec
EMD +BIO-OSS(4) 66 def	4,3	3,4	0,7
EMD +BIO-OSS+RTG(1) 18 def	4,8	4,8	
EMD + PERIO-GLASS (1)14 def		2,7	1
EMD + DFDBA + RTG 10 def	5,4	4,5	
EMD + FDBA + RTG 10 def	5,8	5,3	

Entre paréntesis número de estudios seguido del n° total de defectos incluidos en dichos estudios. (Dism PS) disminución de la profundidad de sondaje; (Gan NIC) ganancia de inserción clínica; (Rec) recesión media.

ción clínica media de 3,4 mm (Tabla 7), estos resultados son comparables a los obtenidos con técnicas de RTG<sup>(13, 53)</sup>. Cuando los estudios con Emdogain se realizaron a largo plazo se ha podido constatar que los parámetros observados pueden mejorar hasta 16 meses tras su aplicación<sup>(27)</sup> mientras que los controles o se estabilizan o empeoran<sup>(34)</sup>, lo cual hace suponer que en los estudios a medio plazo los parámetros podían haber mejorado si hubiera transcurrido más tiempo.

En todos los artículos revisados, cuando se compara Emdogain® con colgajos de acceso junto a desbridamiento, los parámetros clínicos investigados fueron siempre peores en el último caso. En los casos donde se comparaba el Emdogain® con técnicas de RTG los resultados fueron similares o ligeramente superiores para el último procedimiento (Tabla 4). Cuando se ha combinado este material con otros productos o técnicas los resultados fueron variables pero sin diferencias clínicas aparentemente significativas (Tablas 4 y 7). No obstante algunos autores recomiendan la combinación de Emdogain® con otros materiales cuando los defectos que quieren ser regenerados sean extensos con riesgo de colapso del colgajo<sup>(52)</sup>. El efecto sumatorio de diferentes materiales o procedimientos parece mejorar en algunos casos los parámetros estudiados cuando se los compara con Emdogain® sólo<sup>(47)</sup>.

<sup>51)</sup>; sin embargo estas leves mejorías no parecen justificar su empleo cotidiano por su relación coste-beneficio (Tabla 7).

Los resultados de esta revisión justifican el empleo de las proteínas derivadas de la matriz de esmalte, en su forma comercial Emdogain® en el tratamiento de defectos intraóseos. Para su utilización se ha de tener siempre en cuenta sus indicaciones, ventajas y limitaciones estableciendo una adecuada relación coste-beneficio para su empleo sólo o en combinación con otros productos o materiales que puedan mejorar sus propiedades, y por tanto, los resultados desde un punto de vista clínicamente significativo.

## CONCLUSIONES

1. El tratamiento de los defectos infraóseos con la MDE resulta en un nuevo aparato de inserción caracterizado por hueso y ligamento periodontal insertado en cemento acelular de fibras extrínsecas firmemente unido a la dentina.
2. El tratamiento de defectos infraóseos con la MDE resulta en ganancia de inserción clínica, reducción de la profundidad de sondaje y mínima recesión gingival.

- 200
3. Los resultados pueden ser mantenidos en salud y función en el tiempo.
  4. Determinados factores como los referentes a las características del paciente (control de placa, control postoperatorio o tabaco) y al defecto (profundidad sondaje inicial, número de paredes, profundidad y estrechez del componente infraóseo) pueden afectar directamente a la predicibilidad del tratamiento regenerativo. Otros factores como el diseño del colgajo y la descontaminación por saliva o sangre también pueden afectar a la predicibilidad. El uso de antibióticos sistémicos no parece ser determinante en los resultados.
  5. Los resultados tras la aplicación de la MDE pueden mejorar significativamente incluso después del año.
  6. Es un procedimiento técnicamente más simple, con

- menor riesgo (no exposición) y menos invasivo que las técnicas de RTG convencionales aunque no mejora los resultados clínicos conseguidos con éstas. Las diferencias en los parámetros observados entre uno u otro procedimiento no son clínicamente relevantes
7. En defectos grandes puede ser difícil mantener un espacio adecuado y se puede hacer necesario combinar MDE con otros productos o materiales.

#### AGRADECIMIENTOS

A mis profesores y compañeros del Master de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid por su colaboración en esta revisión.

---

#### CIENTIFIC EVIDENCES OF THE CLINIC USE OF ENAMEL MATRIX PROTEINS (EMDOGAIN®)

##### ABSTRACT

The aim of this article is to present the scientific justification and the indications for the clinical use of the enamel matrix proteins. A review of the articles has been done analyzing them with the aim to present the results in periodontal regeneration in an esquematic way. Biologic fundaments and other clinical uses are also presented.

##### KEY WORD

Enamel matrix proteins; Periodontal rgeneration; EMD; Emdogain; Guide tissue regeneration.

---

#### ÉVIDENCES SCIENTIFIQUES DE L'UTILISATION CLINIQUE DES PROTÉINES DÉRIVÉES DE LA MATRICE DE L'ÉMAIL (EMDOGAIN®)

##### RESUMÉ

L'objectif de ce travail est celui de présenter mise à jour la justification scientifique et les indications pour l'utilisation clinique des protéines dérivées de la matrice de l'émail. Pour ceci on a fait une révision des articles publiés sur ce sujet faisant une analyse des mêmes avec le propos de présenter de façon schematique leurs résultats obtenus lors de la régénération parodontale. On présente aussi les fondements biologiques pour son utilisation et on commente les autres applications cliniques pour la recherche.

##### MOTS CLÉS

Protéines de la matrice de l'émail; Régénération parodontale; EMD; Emdogain; Régénération tissulaire guidée.

---

#### EVIDENZE SCIENTIFICHE SULL'USO CLINICO DELLE PROTEINE DERIVATE DALLA MATRICE DELLO SMALTO (EMDOGAIN®)

##### RIASSUNTO

L'obiettivo di questo lavoro è presentare di forma attualizzata la giustificazione scientifica e le indicazioni per l'uso clinico delle

proteine derivate dalla matrice dello smalto. A questo fine è stata realizzata una revisione degli articoli pubblicati su questo tema, facendo un'analisi degli stessi con il proposito di presentare di forma schematica i risultati ottenuti sulla rigenerazione parodontale. Vengono presentati anche i principi biologici per il suo uso e vengono commentate altre applicazioni cliniche in studio.

#### PAROLE CHIAVE

Proteina della matrice dello smalto; Rigenerazione parodontale; EMD; Emdogain; Rigenerazione tissutale guidata.

#### EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS DA UTILIZAÇÃO CLÍNICA DE PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE ESMALTE (EMDOGAIN®)

#### RESUMO

O objectivo deste trabalho é apresentar de forma actualizada a justificação científica e as indicações para a utilização clínica de proteínas derivadas da matriz de esmalte. Efectuou-se uma revisão dos artigos publicados sobre este tema, fazendo-se uma análise dos mesmos com o propósito de apresentar sob uma forma esquemática os resultados obtidos em termos de regeneração periodontal. São também apresentados os fundamentos biológicos da sua utilização e comentam-se outras aplicações clínicas em investigação.

#### PALAVRAS-CHAVE

Proteínas da matriz de esmalte; Regeneração periodontal; EMD; Emdogain; Regeneração tecidual guiada.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Hancock EB. Regeneración procedures. En Nevins M, Becker W, Kornman K (eds). *Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics*. Chicago: American Academy of Periodontology, 1989:IV.
2. Caton JC, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery (II). Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1980;7:224-231.
3. Caton JG, Greenstein GG. Factors related with periodontal regeneration. *Periodontology* 2000;1:9-15.
4. Karring T, Lindhe J, Cortellini P. Development of the biological concept of guide tissue regeneration – animal and human studies. *Periodontology* 2000;1:26-35.
5. Cortellini P, Bowers GM. Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment approach. *Int J Periodont Rest Dent* 1995;15:128-145.
6. Melloning J. Matriz derivada del esmalte para cirugía reconstructora periodontal: Informes técnico, clínico e histológico documentados. *Rev Int Odontología Restauradora y Periodoncia* 1999;19:9-19.
7. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982;9:290-296.
8. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennström J. New attachment formation in human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 1986;13:604-616.
9. Cortellini P, Pini Prato G and Tonetti MS. Periodontal regeneration of human intrabony defects. I. Clinical measures. *J Periodontol* 1993;64:254-260.
10. Danesh-Meyer MJ, Chen ST, Rams TE. Digital subtraction radiographic analysis of GTR in human intrabony defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;2:441-9.
11. Garret S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol* 1995;1:224-231
12. Hammarström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997;24:658-668.
13. Tonetti MS, Cortellini P, Suvan JE et al. Generalizability of the added benefits of guided tissue regeneration in the treatment of deep intrabony defects. Evaluation in a multi-center randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 1998;69:1183-1192.
14. Hugoson A, Ravald N, Formell J, Johard G, Teiwik A, Gottlow J. Treatment of class II furcation involvements in human with bioresorbable and nonresorbable guide tissue regeneration barriers. A randomised multi-center study. *J Periodontol* 1995;66:624-634.
15. Caffesse RG, Nasjleti CE, Anderson GB, Lopatin DE, Smith BA, Morrison EC. Periodontal healing following guide tissue regeneration with citric acid and fibronectin application. *J Periodontol* 1991;62:21-29
16. Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol* 1997;24:693-696.
17. Slavkin HC. Towards a cellular and molecular understanding of periodontics: Cementogenesis revisited. *J Periodontol* 1976;47:249-255.

18. Lindskog S. Formation of intermediate cementum (I). Early mineralization of aprismatic enamel and intermediate cementum in monkey. *J Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 1982a;2:147-160.
19. Lindskog S. Formation of intermediate cementum (II). A scanning electron microscopic study of the epithelial root sheath of Hertwig monkeys. *J Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 1982b;2:161-169.
20. Ten Cate RC, Mills C. The development of periodontium: The origin of alveolar bone. *Anatomical Records* 1972;173:69-78.
21. Andreasen JO. Interrelation between alveolar bone and periodontal ligament repair after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *J Periodontol Res* 1981;16:228-235.
22. Slavkin HC, Boyde A. Cementum: An epithelial secretory product? *J Dent Res* 1975;53:157(abstr.409).
23. Owens PDA. A light and electron microscopic study of the early stages of root surface formation in molar teeth in the rat. *Archives of Oral Biology* 1980;24:901-907.
24. Slavkin HC, Bringas P, Beseem C, et al. 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 Periodontol Res* 1988;23:28-40.
25. Schwartz Z, Carnes D, Pulliam RJr, et al. Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cell, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cell, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. *J Periodontol* 2000;71:1287-1296.
26. Jiang J, Safavi K, Spangberg and Zhu Q. Enamel matrix derivative prolongs primary osteoblast growth. *J Am Assoc Endod* 2001;27:110-113.
27. Bratthall G, Indberg P, Havemose-Poulsen A, Holmstrup P and Bay L. Comparison of ready-to-use EMDOGAIN®-gel and EMDOGAIN® in patients with chronic adult periodontitis. A multicenter clinical study. *J Clin Periodontol* 2001;28:923-929.
28. Lyngstadaas S, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C and Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 2001;28:181-188.
29. Spahr A, Lyngstadaas SP, Boeckh C, Andersson C, Podbielski A, Haller B. Effect of the enamel matrix derivative EMDOGAIN® on the growth of periodontal pathogens in vitro. *J Clin Periodontol* 2002;29:62-72.
30. Sculean A, Auschill TM, Donos N, Brex M and Arweiler NB. Effect of an enamel matrix protein derivative (EMDOGAIN®) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol* 2001;28:1074-1078.
31. Wennström J and Lindhe J. Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. *J Clin Periodontol* 2002;29:9-14.
32. Zucchelli G, Bernardi F, Mntegunoli Land De Sanctis. Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of infrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *J Periodontol* 2002;73:3-12.
33. Petinaki E, Nikolopoulos S and Castanas E. Low stimulation of peripheral lymphocytes, following in vitro application of EMDOGAIN®. *J Clin Periodontol* 1998;25:715-720.
34. Zetterström O, Andersson C, Eriksson L, et al. Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:697-704.
35. Nikolopoulos S, Petinaki E and Castanas E. Efectos inmunológicos de EMDOGAIN® en seres humanos: resultados de un año. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;22:269-277.
36. Heard R, Melloning J, Brunsvold M, Lasho D, Meffert R and Cochran D. Clinical evaluation of wound healing following multiple exposures to enamel matrix protein derivative in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Periodontol* 2000;71:1715-1721.
37. Hammarström L, Heijl L and Gestrelus S. Preiodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997;24:669-677.
38. Araújo M and Lindhe J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1998;23:524-530.
39. Sculean A, Donos N, Brex M, Reich E and 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.
40. Heijl L, Heden G, Svärdröm G and Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of infrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:705-714.
41. Froum SJ, Weinberg MA, Rosenberg E and Tarnow D. A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: A 12 month re-entry study. *J Periodontol* 2001;72:25-34.
42. Silvestri M, Ricci G, Rasperini G, Sartori S and Cattaneo V. Comparison of treatments of intrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membranes and widman modified flap. A pilot study. *J Clin Periodontol* 2002;27:603-610.
43. Pontoriero R, Wenström J and 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* 1999;26:833-840.
44. Sculean A, Donos N and Windisch P. Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. *J Periodontol Res* 1999;34:310-322.
45. Sculean A and Carlo G, et al. Valoración clínica e histológica de los defectos infraóseos humanos con un derivado de proteína de matriz del esmalte (EMDOGAIN®). *Rev Int Odontología Restauradora y Periodoncia* 2000;4:387-393.
46. Sculean A, Barbé G, Chiantella GC, Arweiler NB, Berakdar M and 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.
47. Rosen P, Reynolds M. A retrospective case series comparing the use of demineralized freeze-dried bone allograft and freeze-dried bone allograft combined with enamel matrix derivative for the treatment of advanced osseous lesions. *J Periodontol* 2002;73:942-949.



48. Peitruska MD. 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* 2001;109:178-181.
49. Scheyer E, Velásquez-Plata D, Brunsvold M, Lasho D and Mellonig J. A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 2002;73:423-432.
50. Lekovic V, Camargo P, Weinlaender M, Kennedy E, Nedic M, Aleksic Z. 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.
51. Lekovic V, Camargo P, Weinlaender M, Kennedy E, and 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.
52. Velasquez-Plata D, Scheyer ET and Mellonig 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.
53. Cortellini P, Carnevale G, Sanz M and Tonetti MS. Treatment of deep and shallow intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 1998;25:981-987.
54. Heden G. Estudio informe de 72 defectos periodontales intra-óseos consecutivos tratados con EMDOGAIN®: hallazgos clínicos y radiológicos después de un año. *Rev Int Odontología Restauradora y Periodoncia* 2000;2:135-147.
55. Gestrelius S, Anderson C, Johanson A-C, Persson E, Brodin A, Rydhag L and Hammarström L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol* 1997a;24:678-684.
56. Gestrelius S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L and Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 1997b;24:685-692.
57. Sculean A, Blaes A, Arweiler N, Reich E, Donos N and Brex M. The effect of postsurgical antibiotics on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins. *J Periodontol* 2001;72:190-195.
58. Ricci G, Silvestri S, Tinti C, Rasperini G. A Clinical/statistical comparison between the subpedicle connective tissue graft method and the guide tissue regeneration technique in root coverage. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16:538-45.
59. Rocuzzo M, Lungo M, Corrente G, Gandolfo S. Comparative study of a bioresorbable and a non-resorbable membrane in the treatment of human buccal gingival recessions. *J Periodontol* 1996;67:7-14.
60. Parma-Benfenati S, Tinti C. Histologic evaluation of new attachment utilizing a titanium-reinforced barrier membrane in a mucogingival recession defect. A case report. *J Periodontol* 1998;69:834-9.
61. Miller P. Root coverage using a free soft tissue autograft following citric acid application. III. A successful and predictable procedure in areas of deep wide recession. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1985;2:13-37.
62. Modica F, Del Pizzo M, Rocuzzo M, Romagnoli R. Coronally advanced flap for the treatment of buccal gingival recessions with and without enamel matrix derivative. A split-mouth study. *J Periodontol* 2000;71:1693-8.
63. Rasperini G, Silvestre M, Schenk R and Nevins M. Evaluación clínica e histopatológica de la recesión gingival tratada con un injerto de tejido conjuntivo subepitelial y derivado de matriz de esmalte (EMDOGAIN®): Informe de un caso. *Rev Int Odontología Restauradora y Periodoncia* 2000;4:281-287.
64. Donos N, Glavind L, Karring T, Sculean A. Clinical evaluation of emdogain® and resolute® in the treatment of degree III mandibular furcation involvement. *J Dent Res* 1998;77:2337(IADR Abstracts).
65. Donos N, Sculean A, Glavind L, Reich E, Karring T. Treatment of mandibular degree III furcation involvement with a bioresorbable membrane and Emdogain® in monkeys. *J Dent Res* 1998;77:2338 (IADR Abstracts)
66. Hamamoto Y, Kawasaki N, Jarnbring F and Hammarström L. Effects and distribution of the enamel matrix derivative EMDOGAIN® in the periodontal tissues of rat molars transplanted to the abdominal wall. *Dent Traumatol* 2002;18:12-23.
67. Iqbal M and Bamaas N. Effect of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) upon periodontal healing after replantation of permanent incisors in Beagle dogs. *Dent Traumatol* 2001;17:36-45.
68. Filippi A, Pohl Y and von Arx T. Treatment of replacement resorption with EMDOGAIN® – preliminary results after 10 months. *Dent Traumatol* 2001;17:134-138.
69. Filippi A, Pohl Y and von Arx T. Treatment of replacement resorption with EMDOGAIN® – a prospective clinical study. *Dent Traumatol* 2002;18:138-143.
70. Nakamura Y, Hammarström L, Matsumoto K and Lyngstadaas. The induction of reparative dentine by enamel proteins. *Inter End J* 2002;35:407-417.
71. Casati M, Sallum E, Nociti F, Caffesse R and Sallum W. Enamel matrix derivative and bone healing after guided bone regeneration in dehiscence-type defects around implants. A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol* 2002;73:789-796.
72. Cortellini P, Pini Prato G and Tonetti MS. Periodontal regeneration of human intrabony defects. I. Clinical measures. *J Periodontol* 1993;64:254-260.
73. Cortellini P, Pini Prato G and Tonetti MS. Periodontal regeneration of human intrabony defects. II. Re-entry procedures and bone measures. *J Periodontol* 1993;64:261-268.
74. Cortellini P, Pini Prato G and Tonetti MS. Long-term stability of clinical attachment following guided tissue regeneration and conventional therapy. *J Clin Periodontol* 1996;23:106-111.
75. De sanctis, Zucchelli G, Clause C. Bacterial colonization of barrier material and periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1996;67:1039-1046.
76. Nowzari H, Matias F, Slots J. Periodontal pathogens on polytetrafluoroethylene membrane for guide tissue regeneration inhibit healing. *J Clin Periodontol* 1995;22:469-474.
77. Cortellini P, Tonetti MS. Focus on intrabony defects: Guide tissue regeneration. *Periodontol* 2000;22:104-132
78. Ling LJ, Hung SL, Lee CF, Chen YT, Wu KM. The influence of

- membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: clinical and microbiological aspects. *JPeriodontol Res* 2003;38:57-63.
79. Sanders L, Karring T. Healing of periodontal lesions in monkeys following the guide tissue regeneration procedure. A histological study. *J Clin Periodontol* 1995;22:332-337.
81. Cortellini P, Pini Prato G and Tonetti MS. Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. *J Periodontol* 1993;64:934-940.
82. Tonetti MS, Pini Prato G and Cortellini P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol* 1996;23:548-556.
83. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal regeneration of human intrabony defects IV. Determinants of healing response. *J Periodontol* 1993;64:934-940
84. Rosling B, Nyman S, Lindhe J. The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. *J Clin Periodontol* 1976;3:38-53
85. Sculean A, Reich E, Chiantella G and Brex M. Tratamiento de defectos periodontales intraóseos con un derivado proteico de la matriz de esmalte (EMDOGAIN®): Informe de 32 casos. *Rev Int Odontología Restauradora y Periodoncia* 1999;2:157- 163.
86. Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Gera I and Reich E. Valoración clínica de un derivado de proteína de la matriz del esmalte (EMDOGAIN®) combinado con un xenoinjerto de origen bovino (Bio-Oss®) para el tratamiento de defectos periodontales intraóseos en seres humanos. *J Periodontics Res Dent* 2002;22:259-267.
87. Heden G, Wennström J and Lindhe J. Periodontal tissue alterations following EMDOGAIN® treatment of periodontal sites with angular bone defects. A series of case reports. *J Clin Periodontol* 1999;26:855-860.
88. Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, Mellonig J, Corio R, Emerson J, Stevens M, Romberg E. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol* 1989; 60:683-93.
89. Yukna RA and Mellonig JT. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol* 2000;71:752-759.
90. Caton J, Mota L, Gandini L, Laskaris B. Non-human primate models for testing the efficacy and safety of periodontal regeneration procedures. *J Periodontol* 1994;65:1143-50.
91. Okuda K, Miyazaki A, Momose M, Murata M, Nombra T, Kubota T, Wolf L and Yoshie H. Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative. (EMDOGAIN®). *J Periodont Res* 2001;36:309-316.
92. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 1986;13:604-16.
93. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration—animal and human studies. *Periodontol 2000* 1993;1:26-35.