

**Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte e Laser
de Baixa Intensidade na regeneração periodontal.
Revisão de literatura.**

ALUNA: PAULA KARINE JORGE

ORIENTADORA: PROF^a ADJUNTO MARIA JOSÉ HITOMI NAGATA

Araçatuba - SP

2009

PAULA KARINE JORGE

**Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte e Laser
de Baixa Intensidade na regeneração periodontal.
Revisão de literatura.**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte
dos requisitos para a obtenção do título de
Bacharel em Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ORIENTADORA: PROF^a ADJUNTO MARIA JOSÉ HITOMI NAGATA

ARAÇATUBA - SP

2009

Dedicatória

Dedicatória

À Deus, por me mostrar sempre o caminho.

Aos meus pais, José Paulo e Thina, por fazerem o que estava e o que não estava ao alcance para me proporcionar uma ótima educação fraternal e escolar.

Aos meus irmãos e cunhado, por me ajudarem nos dias mais difíceis dessa caminhada.

Aos meus amigos, por sempre me apoiarem até mesmo nos dias mais difíceis, por estarem sempre comigo fisicamente ou não, por me falarem a verdade mesmo que fossem doloridas, por sempre me mostrarem opiniões divergentes que me guiaram pelo melhor caminho.

Agradecimentos

Agradecimentos

À Prof.^a Adjunta Maria José Hitomi Nagata que muito me ensinou, contribuindo para meu crescimento científico e intelectual, pela atenção e apoio durante o processo de definição e orientação.

Aos professores Álvaro e Valdir, por estenderem sempre a mão nesta caminhada de estudos e aprendizados, e também pelo carinho.

Aos meus amigos da pós-graduação de Periodontia que muito me ensinaram, tanto no crescimento científico, laboratorial, quanto na atenção e paciência, em especial à Dr^a. Michyele Cristina Sbrana.

À professora Sandra Rahal, por não me deixar desistir da Odontologia, por me dar bronca quando achava necessário, e por me contagiar quando me mostrou sua paixão por essa profissão.

À minha família e amigos por me ajudarem e me apoiarem sempre. Pelos bons momentos, por me estenderem a mão quando eu mais precisava, pelos abraços, pelos sorrisos, pela compreensão, pelo amor e pela paciência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica.

À Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de realização do curso de Odontologia.

Επίγραφε

Epígrafe

“Pegue um sorriso e doe-o a quem jamais o teve.

Pegue um raio de sol e faça-o voar lá onde reina a noite.

Descubra uma fonte e faça banhar-se quem vive no lodo.

Pegue uma lágrima e ponha-a no rosto de quem jamais chorou.

Pegue a coragem e ponha-a no ânimo de quem não sabe lutar.

Descubra a vida e narre-a a quem não sabe entendê-la.

Pegue a esperança e viva na sua luz.

Pegue a bondade e doe-a a quem não sabe doar.

Descubra o amor e faça-o conhecer ao mundo”.

Mahatma Gandhi

Resumo

JORGE, PAULA KARINE. **Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte e Laser de baixa Intensidade na regeneração periodontal. Revisão de literatura.** 2009. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

Resumo

A regeneração periodontal está relacionada com alguns elementos básicos como arcabouços, moléculas sinalizadoras, células e suprimento sanguíneo adequados. Cada um desses elementos representa papel fundamental no processo de regeneração, atuando de forma simultânea e em sequência temporal para a regeneração tecidual (TABA et al., 2005). Uma modalidade terapêutica disponível para promover a regeneração periodontal é a utilização das proteínas derivadas da matriz de esmalte (EMD). Essas proteínas são utilizadas com intuito de mimetizar eventos específicos que ocorrem no desenvolvimento natural dos tecidos de suporte dentários durante a odontogênese (GIANNOBILE et al., 2003; HAMMARSTRÖM, 1997a; HAMMARSTROM et al., 1997b), atuando na inserção do cimento à dentina radicular (TEN CATE, 1996), início da cementogênese (HERITIER, 1982) e indução na diferenciação de células do folículo dental em cementoblastos (HAMMARSTROM, 1997a). Existem evidências de que as proteínas de esmalte têm a capacidade de promover regeneração periodontal verdadeira por induzir a formação de novo cimento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar (KAWASE et al., 2000). Outra técnica proposta para a regeneração tecidual que tem sido muito estudada e discutida recentemente é o uso do laser de baixa intensidade (LBI). O LBI atua na biomodulação tecidual (NICOLAU et al., 2003), propiciando alterações metabólicas intra-celulares, além de acelerar a divisão celular, migração e proliferação fibroblástica (KHADRA, 2005; KHADRA 2005a; KREISLER, 2002). Tanto a utilização do LBI como a da EMD têm demonstrado atributos potenciais que podem contribuir na regeneração periodontal. Este trabalho tem por objetivo abordar a utilização da EMD e do LBI na regeneração periodontal.

Abstract

JORGE, PAULA KARINE. **Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte e Laser de baixa Intensidade na regeneração periodontal. Revisão de literatura** 2009. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

Abstract

The regeneration of the periodontal tissues is dependent on four basic componetes such as appropriate signals, cells, blood supply and scaffold. Each of these elements plays a fundamental role on the healing process in a simultaneous and temporal time frame and is interconnected into the generation of new tissues (TABA et al., 2005). One therapeutic modality available to promote periodontal regeneration is the use of enamel matrix derivative proteins (EMD). These proteins are used with the purpose to mimic specific events that occur in the natural development of the periodontal supporting tissues during odontogenesis (GIANNOBILE et al., 2003; HAMMARSTROM, 1997a; HAMMARSTRÖM et al., 1997b) such as the attachment of cementum to root dentin (TEN CATE, 1996), initiation of cementogenesis (HERITIER, 1982) and induction of the differentiation of the dental follicle cells to cementoblasts (HAMMARSTRÖM, 1997a). There are evidences that enamel proteins have the capacity to promote true periodontal regeneration by inducing the formation of new acellular cementum, periodontal ligament and alveolar bone (KAWASE et al., 2000). Another terapheutic modality proposed to promote tissue regeneration that has been recently evaluated is the use of low level intensity laser irradiation (LLLI). LLLI acts on tissue biomodulation (NICOLAU et al., 2003), inducing intra-cellular metabolic alterations, as well as accelerating cell division, migration and proliferation of fibroblasts (KHADRA, 2005; KHADRA 2005a; KREISLER, 2002). The use of LLLI as well as of EMD have demonstrated potential attributes that may contribute to periodontal regeneration. The purpose of this study is to discuss the use of both terapheutic modalities for periodontal regeneration.

Sumário

Sumário

1. Introdução	15
2. Proposição	18
3. Revisão de Literatura	19
3.1. Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte (EMD)	19
3.2. Laser de Baixa Intensidade	26
4. Conclusão	31
5. Referências Bibliográficas	32

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A regeneração periodontal está relacionada com alguns elementos básicos como arcabouços, moléculas sinalizadoras, células e suprimento sangüíneo adequados. Cada um desses elementos representa papel fundamental no processo de regeneração, atuando de forma simultânea e em seqüência temporal para a formação de novos tecidos (TABA et al., 2005).

Várias modalidades terapêuticas, incluindo o uso de diferentes tipos de enxertos ósseos, desmineralização da superfície radicular, fatores de crescimento, ou aplicação de proteínas da matriz de esmalte têm sido empregadas com variados graus de sucesso e previsibilidade na terapia periodontal regenerativa (BOWERS et al., 1989; BRUNSVOLD et al., 1993; HAMMARSTRÖM, 1997a; KARRING et al., 1993; LYNCH et al., 1989; LOWENEGUTH et al., 1993).

Uma modalidade terapêutica disponível para promover a regeneração periodontal é a utilização das proteínas derivadas da matriz de esmalte. Essas proteínas são utilizadas com intuito de mimetizar eventos específicos que ocorrem no desenvolvimento natural dos tecidos de suporte dentários durante a odontogênese (GIANNOBILE et al., 2003; HAMMARSTRÖM, 1997a; HAMMARSTRÖM et al., 1997b), atuando na inserção do cimento à dentina radicular (TEN CATE, 1996), início da cementogênese (HERITIER, 1982) e indução da diferenciação de células do folículo dental em cementoblastos (HAMMARSTRÖM, 1997a).

Uma mistura de proteínas derivadas da matriz de esmalte de origem suína (EMD), constituída principalmente pela amelogenina, com estrutura e função conservadas, associada a um carreador de alginato propilenoglicol (PGA) representa uma opção para o tratamento periodontal regenerativo, por possuir características celulares e moleculares que fundamentam sua utilização sem induzir reações alérgicas ou imunológicas quando utilizadas em estudos animais e clínicos (COCHRAN et al., 2003; GESTRELIUS et al., 2000).

Existem evidências de que as proteínas de esmalte têm a capacidade de promover regeneração periodontal verdadeira por induzir a formação de novo cimento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar. A aplicação da EMD também reduz a migração do epitélio juncional sobre a superfície radicular, processo

que geralmente interfere na formação de nova inserção conjuntiva (KAWASE et al., 2000).

A EMD também estimula a inserção e proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal *in vitro* (CHANO et al., 2003; GESTRELIUS et al., 2000), além de acelerar a cicatrização tecidual inicial (HOANG et al., 2000) e promover vascularização (YUAN et al., 2003). Existem relatos da atuação da EMD na via de sinalização para secreção de fatores de crescimento como o Fator de Crescimento Transformador $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) e o Fator de Crescimento Derivado da Insulina-1 (IGF-1) (GESTRELIUS et al., 2000; LYNGSTADAAS et al., 2001).

Estudos em animais demonstraram que a EMD promoveu completa regeneração óssea e do ligamento periodontal em defeitos de fenestração periodontal em pré-molares de mini-porcos (CRAIG et al., 2004). Em defeitos de deiscência em cães, maior extensão de novo cemento foi observada em áreas tratadas com EMD comparadas às tratadas apenas com debridamento em campo aberto. Porém, não foram encontradas diferenças significativas nos outros parâmetros histométricos (SALLUM et al., 2004). Por outro lado, em estudo realizado em ratos, a EMD em defeitos de fenestração periodontal não exerceu efeito na espessura do cemento, volume ósseo e deposição osteóide, bem como na identificação de marcadores como osteopontina, sialoproteína óssea ou osteocalcina (CHANO et al., 2003).

Alguns estudos clínicos demonstraram que a utilização da EMD, quando comparada ao debridamento em campo aberto, levou a ganho adicional nos níveis de inserção clínica (CORTELLINI et al., 1996; SCULEAN et al., 2001; TONETTI et al., 2002). Uma revisão sistemática evidenciou que, quando comparada ao debridamento em campo aberto, a utilização clínica da EMD no tratamento de defeitos ósseos periodontais apresentou maior ganho no nível de inserção clínica e maior redução na profundidade de sondagem. Entretanto, resultados a longo prazo ainda não foram estabelecidos (GIANNOBILE et al., 2003). Outros estudos não demonstraram diferenças entre a utilização da EMD ou Regeneração Tecidual Guiada (RTG) em defeitos intra-ósseos (SANZ et al., 2004; SCULEAN et al., 1999; ZUCHELLI et al., 2002).

Outra técnica proposta para a regeneração tecidual que tem sido muito estudada e discutida recentemente é a utilização do laser. Os lasers podem ser classificados em de alta intensidade (lasers cirúrgicos) ou de baixa intensidade

(lasers não-cirúrgicos). Os Lasers de Baixa Intensidade (LBI) são usados para estimular e promover a cicatrização tecidual (AMORIM et al., 2006; NICOLAU et al., 2003) e também possuem efeito analgésico e antiinflamatório (ENWEMEKA et al., 2004; TAM, 1999; WELDLOCK et al., 1996). Resultados positivos têm sido obtidos no tratamento de gengivite (QADRI et al., 2005) e periodontite (ALMEIDA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008; QADRI et al., 2005).

O LBI pode ser utilizado com finalidade de regeneração dos tecidos periodontais, uma vez que atua na biomodulação tecidual (NICOLAU et al., 2003), propiciando alterações metabólicas intra-celulares, além de acelerar a divisão celular, migração e proliferação fibroblástica (KHADRA, 2005; KHADRA 2005a; KREISLER, 2002). Contudo, estudos avaliando o efeito do LBI na regeneração periodontal são ainda escassos.

Um estudo *in vitro* demonstrou que o LBI possui capacidade estimulatória na proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal (KREISLER, 2003). O LBI também parece apresentar papel importante na cicatrização e regeneração periodontal através de seus efeitos no aumento da produção de fatores de crescimento. O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), entre outros fatores que são produzidos em maior quantidade quando o LBI é usado, pode aumentar a regeneração periodontal, estimulando a formação de tecidos moles, osso e cemento (MATSUDA et al., 1992; SAYGUN et al., 2008). Tanto a utilização do LBI como o da EMD têm demonstrado atributos potenciais que podem contribuir na regeneração periodontal.

2. PROPOSIÇÃO

Este estudo tem por finalidade abordar a literatura relacionada à utilização das Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte (EMD) e do Laser de Baixa Intensidade (LBI) na regeneração periodontal.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Proteínas Derivadas da Matriz de Esmalte (EMD)

Estudos *in vitro* indicam que células do ligamento periodontal expostas a EMD apresentam maior produção autócrina de TGF- β , Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF-AB) e Interleucina 6 (IL-6) (LYNGSTADAAS et al., 2001; VAN DER PAUW et al., 2000). A atuação da EMD em fibroblastos do ligamento periodontal estimula a proliferação, a síntese de proteína e de colágeno e, também, induz mineralização (GESTRELIUS et al., 1997; PALIOTO et al., 2004; VAN DER PAUW et al., 2000), aumentando a atividade da fosfatase alcalina (RODRIGUES et al., 2007).

O TGF- β 1 é um peptídeo multifuncional que regula várias atividades celulares, incluindo a proliferação, diferenciação e expressão de proteínas da matriz de esmalte (KINGSLEY, 1994). Foi demonstrado que este peptídeo também aumenta a adesão celular (RODRIGUES et al., 2007). Alguns estudos relataram que o TGF- β 1 facilita o reparo e a regeneração tecidual (ASSOIAN et al 1983; TERRANOVA et al., 1989). Além disso, vários estudos têm demonstrado que o TGF- β 1 é um potente inibidor da proliferação de células epiteliais, enquanto aumenta a proliferação de células mesenquimais, como fibroblastos e osteoblastos (CRABB et al., 1990; GRAVES & COCHRAN, 1991; ROYCE & BAUM, 1991; SPORN et al., 1987). O TGF- β 1 aumenta a síntese de RNA e proteínas em culturas de células como fibroblastos gengivais e do ligamento periodontal (MAILHOT et al., 1995).

Hama et al. (2008) ao avaliarem o efeito da EMD em cultura de células de calvárias de ratos, confirmaram a presença da forma ativa de TGF- β 1 na EMD e também em culturas não tratadas, mostrando uma quantidade 4 vezes maior de TGF- β 1 nas culturas tratadas com EMD. Os autores relataram que 3/4 do TGF- β 1 foi derivado do EMD, enquanto 1/4 foi derivado de conteúdos do soro e/ou TGF- β 1 endógeno das células da calvária. A EMD inibiu a diferenciação de células da calvária e esse efeito foi parcialmente induzido pelo TGF- β 1 como um componente da EMD. Este efeito inibitório sugere que a EMD pode ter uma função inicial de inibir

a diferenciação de osteoblastos para permitir a formação predominante de outros tecidos periodontais.

A EMD também tem a capacidade de reduzir a produção de mediadores inflamatórios como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) produzido por monócitos estimulados pelo lipopolissacarídeo (LPS), indicando um mecanismo potencial para a remoção de uma influência negativa no processo de cicatrização da ferida periodontal (WENNSTRÖM & LINDHE, 2002). Além disso, a capacidade da EMD em regular os fatores inflamatórios dos monócitos pode ser uma hipótese para acelerar o processo de cicatrização periodontal (SATO et al., 2008). Este efeito antiinflamatório pode contribuir para um menor desconforto pós-operatório em sítios em que a EMD foi utilizada (WENNSTRÖM & LINDHE, 2002).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória que estimula a diferenciação e a ativação de osteoclastos, células envolvidas na reabsorção óssea (AZUMA et al., 2000; RIFAS, 1999) e induzem a síntese de matriz de metaloproteinases (MMP-1, MMP-3 e MMP-9) envolvidas na remodelação e degradação de tecidos conjuntivos (SAKAI et al., 2001; ZHANG et al., 1998).

Na periodontite, prostaglandinas (PGs) têm sido envolvidas na ativação de osteoclastos e reabsorção óssea (OFFENBACHER, 1996) e a importância das PGs na destruição dos tecidos periodontais tem sido demonstrada pela capacidade dos inibidores de PGs em reduzir a perda óssea alveolar na periodontite (WILLIAMS et al., 1985). Contrariamente, a PGE₂ pode exercer efeito antiinflamatório por suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-12 e Interferon - γ (HILKENS et al., 1996; VAN DER POUW et al., 1995). Sato et al. (2008) demonstraram que a EMD aumenta a produção de PGE₂ em monócitos estimulados pelo LPS, o que pode contribuir, em parte, para diminuir os mediadores pró-inflamatórios (tais como TNF- α). Os autores sugeriram que o aumento da produção de PGE₂ em resposta à EMD pode contribuir para a inibição da reação inflamatória bem como para a promoção de tecido mineralizado como, por exemplo, formação de osso e/ou cimento após tratamento com EMD.

A EMD também atua na indução de um importante mediador da formação e reabsorção óssea, a Ciclooxygenase 2 (COX2) (SIMON et al., 2002; ZANG et al., 2002). Takayanagi et al. (2006) relataram a indução de COX2 pelo EMD. A COX2 estimula a formação óssea e tem sido associada com a indução do “core binding factor alpha 1” (Cbfa1) (KOMORI et al., 1997; OTTO et al., 1997). O Cbfa1 pode ser

um fator essencial de transcrição em células do ligamento periodontal que regula não somente a diferenciação de osteoblastos, mas também a de cementoblastos. De fato, uma recente investigação sugeriu que a diminuição de Cbfa1 em tecidos periodontais pode ser um importante passo regulatório na manutenção da homeostasia do ligamento periodontal (KATO et al., 2005).

O Receptor Ativador de Fator Nuclear kappa-B (RANKL) é essencial para a formação e ativação dos osteoclastos. Takayanagi et al. (2006), em estudo *in vitro*, demonstraram uma diminuição nos níveis de RNA(m) de RANKL em células do ligamento periodontal humano tratadas com EMD. Os autores sugeriram que a EMD estimula a regeneração dos tecidos mineralizados do aparato de inserção periodontal, em parte, através da regulação aumentada de COX2 e possivelmente osteoprotegrina (OPG) e regulação diminuída de RANKL. Isto fundamenta os efeitos relatados da EMD na estimulação da formação de tecidos mineralizados, isto é, na diminuição da atividade reabsortiva (HAMMARSTRÖM et al., 1997; HEIJL, 1997; YUKNA & MELLONIG, 2000).

Galli et al. (2006) demonstraram que a EMD foi capaz de aumentar o crescimento de células osteoblásticas e a expressão de marcadores dos fenótipos osteoblásticos e diferenciação celular. EMD também parece ser capaz de criar um microambiente osteogênico favorável por reduzir a liberação de RANKL e aumentar a produção de OPG osteoblástico. Foi demonstrado que a OPG é um potente inibidor da osteoclastogênese com atividade antagônica à da RANKL (SIMONET et al., 1997; YASUDA et al., 1998).

Schlueter et al. (2007) demonstraram que a EMD melhora a proliferação e a quimiotaxia de células endoteliais e aumenta a taxa de formação do tubo de células endoteliais *in vitro*. Esses resultados são compatíveis com o conceito de que, quando usado clinicamente, a EMD estimula a angiogênese, acelerando, dessa forma, o processo de cicatrização por promover o fluxo de nutrientes e oxigênio no sítio da ferida. Os autores concluíram que é provável que a EMD estimule a angiogênese diretamente por estimular células endoteliais e indiretamente por estimular a produção de fatores angiogênicos (Fator de Crescimento Endotelial Vascular - VEGF) por células do ligamento periodontal.

Tem sido relatado que a EMD inibe o crescimento de bactérias gram-negativas associadas a doenças periodontais destrutivas, tais como *Porphyromonas*

gingivalis, *Prevotella intermedia*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (SPAHR et al., 2002).

Sallum et al. (2004), em um estudo em cães, relataram que o tratamento de defeitos de deiscência periodontal com EMD pode ser preferível à regeneração tecidual guiada (RTG), especialmente quando a cobertura de tecido mole é difícil de realizar. Os autores observaram, ainda, que o grupo tratado com EMD apresentou maior formação óssea em relação ao debridamento cirúrgico e à RTG, enquanto a terapia combinada assumiu uma posição intermediária. Essa é uma indicação que o tecido ósseo pode ser influenciado pela EMD como previamente relatado nos níveis histológico (HAMMARSTRÖM et al., 1997; HEIJL, 1997), clínico (MELLONIG et al., 1997) e celular (BOYAN et al., 2000; GESTRELIUS et al., 1997; HOANG et al., 2000). Os achados histomorfométricos demonstraram que os sítios tratados com EMD, com ou sem a utilização de membranas, apresentaram formação superior de cemento quando comparado ao debridamento cirúrgico. Esses achados estão de acordo com estudos prévios, que relataram a possibilidade do uso da EMD para promover a formação de uma nova inserção de tecido conjuntivo (novo cemento com inserção de fibras colágenas) (HAMMARSTRÖM et al., 1997; HEIJL, 1997). Considerando a qualidade do novo cemento formado, os autores demonstraram que uma mistura de cemento celular e acelular formou-se nos sítios tratados com EMD (com ou sem membranas) e cemento do tipo celular foi o tipo predominante nos sítios tratados com RTG. Essa observação não corrobora os resultados de estudos prévios, que relataram que o tratamento com EMD resulta exclusivamente na formação de cemento acelular (HAMMARSTRÖM, 1997; HAMMARSTRÖM et al., 1997). Os autores concluíram que a combinação das terapias pode não promover benefícios adicionais.

Donos et al. (2003) avaliaram a cicatrização de defeitos de furca grau III criados cirurgicamente em macacos e tratados com debridamento cirúrgico (controle), RTG, EMD ou a terapia combinada (RTG/EMD). Os achados histológicos demonstraram que os sítios tratados com RTG ou RTG/EMD apresentaram formação de nova inserção em quase toda a circunferência do defeito de furca e o novo osso preencheu quase todo o defeito nos casos em que não ocorreu exposição da membrana. Áreas tratadas com EMD isoladamente exibiram formação de nova inserção e novo osso em extensões variadas, enquanto limitada formação de nova inserção foi observada nos sítios controle. Os autores concluíram que o tratamento

tanto com RTG quanto com EMD pode resultar em regeneração periodontal verdadeira e sugeriram que este tipo de cicatrização poderia ser favorecido por tais tratamentos em comparação com cirurgia a retalho.

Alguns autores discutem os efeitos celulares da EMD comparados aos efeitos dos fatores de crescimento. Fatores de crescimento tipicamente têm um mecanismo de ação predominantemente único, tal como a promoção do crescimento (proliferação), visto com o PDGF, ou como um agente de maturação (diferenciação) como observado com as Proteínas Morfogenéticas Ósseas (WIKESJÖ et al., 2001). Tem sido sugerido que a EMD pode atuar tanto na proliferação como na diferenciação celular (SCHWARTZ et al., 2000), o que pode caracterizar esse material como um agente terapêutico único (COCHRAN et al., 2003). A EMD possui efeito tanto nas células do tecido duro (osso) quanto do ligamento periodontal (HOANG et al., 2000; SCHWARTZ et al., 2000).

Nemcovsky et al. (2006) relataram que a EMD melhora a cicatrização de defeitos periodontais combinados (supra e infra-ósseos) induzidos cirurgicamente em molares superiores de ratos, com redução da recessão gengival e formação de um epitélio juncional mais curto ao longo da superfície radicular instrumentada, maior formação de novo cemento, e redução na extensão de anquilose. Contudo, em defeitos de fenestração periodontal em ratos, a EMD não exerceu nenhum efeito na espessura do cemento, volume ósseo, taxas de deposição óssea, ou na marcação para osteopontina, sialoproteína óssea e osteocalcina extracelular (CHANO et al., 2003).

Um estudo imunoistoquímico realizado em humanos com periodontite crônica avaliou a expressão de moléculas da matriz associadas com tecidos periodontais remodelados após tratamento com a EMD. Os autores demonstraram maior marcação para colágeno tipo III em relação ao colágeno tipo I do ligamento periodontal (SCULEAN et al., 2003). Os colágenos tipo I e III são expressos em todos os tecidos periodontais, particularmente nos tecidos neoformados (IVANOVSKY et al., 2000; MATSUURA et al., 1995; SCULEAN et al., 2002; TUNG et al., 1985). O colágeno tipo III desenvolve um papel importante na regulação da composição da matriz extracelular e também serve como marcador para as células e tecidos que ainda estão em diferenciação e/ou em processo de modificação (TUNG et al., 1985). Portanto, os autores sugeriram que o tratamento de defeitos infra-ósseos com EMD cria um ambiente favorável para a regeneração periodontal.

A aplicação da EMD em humanos tem mostrado melhora significativa nos níveis de inserção através da redução da profundidade de sondagem e menor recessão gengival comparada com a cirurgia a retalho isoladamente (ESPÓSITO et al., 2004; SCULEAN et al., 2004; VENEZIA et al., 2004). Menor recessão gengival também foi demonstrada por Yilmaz et al. (2003) após aplicação da EMD quando comparada ao debridamento cirúrgico, no tratamento de defeitos periodontais com perda óssea horizontal. A aplicação de EMD também reduz o crescimento do epitélio juncional na superfície radicular, um processo que freqüentemente interfere na formação de uma nova inserção conjuntiva (KAWASE et al., 2000).

Estudos clínicos e histológicos (HEDEN & WENNSTRÖM, 2006; OKUDA et al., 2000; TONNETI et al., 2002) têm demonstrado que o tratamento com EMD leva a uma regeneração periodontal previsível clinicamente. Em estudos controlados (SCULEAN et al., 1999; SCULEAN et al., 2001) comparando o uso da EMD com membranas absorvíveis (RTG), ambas as técnicas levaram a um maior ganho no nível de inserção clínica que o debridamento cirúrgico apenas. De acordo com estudos prévios (BOSSHARDT et al., 2006; HEIJL, 1997; MELLADO et al., 1995; YUKNA & MELLONG, 2000), pode ser considerado que o uso da EMD poderia levar à formação de um tecido mais parecido com o aparato de inserção natural, que poderia ser mais resistente à destruição adicional.

Crea et al. (2008), em um estudo clínico randomizado, demonstraram que o uso da RTG ou EMD resultou em uma melhora significativa na profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e mensuração radiográfica da profundidade do defeito. Entretanto, os autores sugeriram a realização de estudos com maior número de defeitos tratados para verificar esses achados.

Estudos clínicos que compararam RTG com EMD geralmente não relataram nenhuma diferença em parâmetros clínicos no tratamento de defeitos intra-ósseos (PONTORIERO et al., 1999; SCULEAN et al., 1999; SCULEAN et al., 2001). Além disso, a associação da RTG à EMD não apresentou efeito adicional nos parâmetros clínicos quando comparada às modalidades de tratamento isoladas (SCULEAN et al., 2001).

Estudos prévios demonstraram que a aplicação de osso autógeno cortical particulado (OACP) associada à EMD resultou em significativos ganho de inserção clínica e redução da profundidade de sondagem em defeitos infra-ósseos profundos com um componente predominante de 1 ou 2 paredes intra-ósseas (TROMBELLI et

al., 2006). Contudo, Guida et al. (2007) demonstraram ausência de benefícios adicionais no grupo tratado com EMD/OACP comparado com o grupo tratado somente com EMD. Esses resultados parecem confirmar o potencial biológico da EMD *per se* em favorecer a reconstrução clínica do aparato de inserção perdido e limitar a aplicação adicional de um osso autógeno particulado para melhorar a reconstrução periodontal induzida pela EMD.

Existem evidências que a EMD sozinha ou em combinação com enxertos pode ser efetivamente utilizado para tratar defeitos intra-ósseos e os resultados clínicos parecem ser estáveis a longo prazo. O uso adicional de um enxerto (osso autógeno, osso alógeno desmineralizado seco e congelado, enxerto xenógeno e vidro bioativo) parece melhorar os resultados clínicos da EMD em relação à EMD sozinha. Entretanto, evidências disponíveis sugerem nenhum efeito adjunto da EMD combinada a enxertos (osso bovino ou vidro bioativo) em relação ao enxerto sozinho (TROMBELLI & FARINA, 2008).

Algumas revisões sistemáticas indicam que todos os tratamentos reconstrutivos com EMD produzem uma melhora clínica mais favorável nos parâmetros de resposta de cicatrização de tecidos duros e moles (por exemplo, ganho de inserção clínica, redução da profundidade de bolsa e preenchimento ósseo) comparados com procedimento convencional de cirurgia a retalho (ESPÓSITO et al., 2003; TROMBELLI et al., 2000; VENEZIA et al., 2004). Contudo, benefícios a longo prazo da EMD não têm sido demonstrados, incluindo aqueles relacionado à sobrevivência do dente (GIANNOBILE & SOMERMAN, 2003).

A exposição do paciente a EMD durante a cirurgia periodontal pode induzir a produção de anticorpos contra certas isoformas da amelogenina de porcos. Entretanto, os anticorpos produzidos não inibem a secreção de TGF- β 1 em cultura de células humanas do ligamento periodontal. A imunoglobulina G (IgG) de porcos, possivelmente um remanescente após o processamento, existe no produto comercial de EMD e seus efeitos clínicos necessitam de mais investigações (YUAN et al., 2006). Entretanto, de um modo geral, a EMD parece ser segura para administrações únicas ou múltiplas em termos de falta de indução de respostas de anti-corpos ou outros eventos inflamatórios locais/sistêmicos (GIANNOBILE & SOMERMAN, 2003).

3.2 Laser de Baixa Intensidade

O LBI também tem sido utilizado na regeneração tecidual. Muitos estudos experimentais e clínicos sugerem que o LBI modula processos metabólicos celulares levando a um aumento do potencial regenerativo dos tecidos biológicos (MESTER et al., 1985; KAMALI et al., 2007; KHADRA et al., 2005). Recentemente, tem sido demonstrado que o LBI aumenta a proliferação de células mesenquimais e células tronco cardíacas (TUBY et al., 2007). Existem relatos que correlacionam à cicatrização melhorada da ferida induzida pelo LBI à expressão aumentada de RNA(m) de procolágeno tipo I e III (SAPERIA et al., 1986) e à síntese aumentada de colágeno (MESTER & JASZSAGI-NAGY, 1973). O uso do LBI está bem estabelecido na Odontologia devido aos seus efeitos antiinflamatório, analgésico e regenerativo.

Estudos *in vitro* relataram que o LBI aumentou significativamente a proliferação celular, formação de nódulos ósseos e atividade da fosfatase alcalina em células de calvária de ratos (OZAWA et al., 1998) e aumentou, também, a diferenciação osteogênica de células tronco mesenquimais de ratos (ABRAMOVITCH-GOTTLIB et al., 2005).

Um possível efeito estimulatório do LBI está relacionado com o aumento da síntese de RNA (RIBARI, 1981) e possível ativação de componentes da cadeia respiratória (KARU, 1987) ou de componentes extracelulares (SURINCHAK et al., 1983), o que pode levar à bioestimulação.

Além de aumentar a síntese de RNA, o LBI pode aumentar também a síntese de DNA (KARU et al., 1991; SAPERIA et al., 1986), indicando um efeito no crescimento celular e síntese protéica. Tem sido sugerido que a irradiação do laser de baixa intensidade resulta em uma pequena quantidade de oxigênio livre, o qual age como um radical livre que influencia na formação de Adenosina Trifosfato (ATP), que desempenha um papel importante no metabolismo (KUDOH et al., 1989).

Existem evidências de que efeitos bioenergéticos, bioelétricos e bioestimulatórios da terapia com laser aumentam a produção de ATP para facilitar o processo de reparo celular. Além disso, esses efeitos levam à normalização do potencial iônico da membrana celular, revitalizando as funções celulares, e promovendo a síntese de ATP sintetase para a produção de ácido nucléico e

aceleração da divisão celular (BENEDICENTE, 1982; PASSARELA et al., 1984; YAAKOBI et al., 1996).

A magnitude do efeito biomodulatório depende do estado fisiológico das células no momento da irradiação. Isto pode explicar porque o efeito biomodulatório não é sempre detectável. Efeitos estimulantes da energia laser ocorrem durante as fases iniciais da proliferação e diferenciação de células indiferenciadas, mas não ocorrem durante estágios mais avançados do crescimento celular (GERBI et al., 2008). O efeito da energia do laser infravermelho pode ser visto nos estágios mais precoces da cicatrização, talvez indicando que os efeitos da biomodulação do laser são exacerbados nos estágios precoces da cicatrização, quando a proliferação celular está mais ativa (PINHEIRO & GERBI, 2006). Esses resultados foram também corroborados por estudos prévios (LIMEIRA JUNIOR, 2004; LOPES et al., 2005; GERBI et al., 2005; PINHEIRO et al., 2001; PINHEIRO et al., 2003a; PINHEIRO et al., 2003b; PINHEIRO & GERBI, 2006; SILVA JUNIOR et al., 2002; WEBER et al., 2006).

Mester et al. (1968) demonstraram que cultura de células e tecidos podem ser estimulados por meio de doses adequadas. Uma dose muito baixa não tem efeito nenhum e uma dose muita alta é menos efetiva, enquanto uma dose alta demais pode levar a efeitos inibitórios. Dörtbudak et al. (2000) relataram uma maior produção de matriz óssea de células da medula óssea de ratos após irradiar as células três vezes com uma dose de laser de $1,6 \text{ J/cm}^2$ (laser diodo, comprimento de onda de 690 nm). Stein et al. (2007) alcançaram os melhores resultados com uma dose de laser de 1 J/cm^2 . As células tratadas com essa dose mostraram um leve aumento na proliferação e níveis aumentados da atividade específica da fosfatase alcalina. Ueda et al. (2003) e Ozawa et al. (1998) também relataram um aumento na proliferação e na atividade específica da fosfatase alcalina nas células da linhagem osteoblástica.

A atividade da fosfatase alcalina sugere que a exposição ao laser pode estimular osteoblastos. A atividade da fosfatase alcalina é considerada um bom marcador para a atividade osteoblástica (BARUSHKA et al., 1995), é correlacionada com DNA e estimulação protéica em osteoblastos (KUSAKARI et al., 1992) e aumenta diretamente a recuperação da massa óssea.

Grainger et al. (1995) sugeriram que um mecanismo não térmico mediado por oxirredução pela irradiação laser produz uma alteração conformacional no

complexo de TGF- β 1 latente, tornando este mais ameno para as modalidades de rotina físico-químicas como o pH local alterado e proteases que estão geralmente presentes em feridas. Deste modo, o aumento *in vivo* da expressão do TGF- β 1 após a irradiação laser poderia ser uma combinação de ambos, os efeitos da ativação e os efeitos iniciais nos tecidos lesados. De acordo com o estudo *in vitro* de Arany et al. (2007), a expressão aumentada de TGF- β 1 e β 3, em 14 dias, correlaciona-se com o aumento do infiltrado inflamatório, sugerindo que essas células poderiam ser uma provável fonte dessas citocinas aumentadas. Os mecanismos exatos que mediam esse aumento no número de células inflamatórias na ferida que recebeu laser, assim como sua capacidade de induzir-secretar TGF- β 1 e β 3 aumentadas, necessitam ser explorados, embora tenha sido demonstrado que a expressão de TGF- β 3 pode ser induzida pela TGF- β 1 de maneira autócrina.

Estudos *in vitro* que avaliaram a aplicação de laser nos osteoblastos em diferentes estágios do desenvolvimento têm demonstrado que a ação estimulatória da irradiação do laser somente ocorre durante os estágios de proliferação e diferenciação de precursores imaturos, nenhum efeito é observado durante estágios celulares tardios (OZAWA et al., 1998). Um estudo em calvária de ratos demonstrou que a irradiação a laser não teve efeitos nas atividades proliferativa e osteogênica celulares após o décimo quinto dia, porque essas células já estavam em estágios avançados de diferenciação (SILVA & CAMILLI, 2006).

Nicolau et al. (2003) observaram que a superfície do osteoclasto aumentou significativamente no 5º dia pós-cirúrgico em animais tratados com LBI e propuseram dois mecanismos envolvidos. Primeiro, o comprimento de onda do laser influenciou diretamente o osteoclasto. Os osteoclastos são células multinucleares com muitas mitocôndrias de alta atividade (SCHENK, 1994). De acordo com Karu et al. (1999) os citocromos r mitocondriais absorvem a energia do fóton na parte visível do espectro eletromagnético e esta absorção aumenta a síntese de ATP e melhora a atividade potencial das células. Segundo, a atividade osteoclástica pode influenciar na atividade osteoblástica posterior e vice-versa (BERGMANN, 1989; MACDONALD & GOWEN, 1993).

Alterações mitocondriais também têm sido sugeridas como responsáveis pelos resultados positivos do LBI. A luz do laser poderia induzir várias alterações no ciclo respiratório da mitocôndria. A luz do laser de λ 352 nm e λ 458 nm poderia danificar a membrana mitocondrial, enquanto λ 514,5 nm pode aumentar levemente a

síntese de ATP (MORIMOTO et al., 1993). A resposta fotobiológica tem sido sugerida como uma resposta de absorção de um comprimento de onda específico por algum fotorreceptor molecular desconhecido (VAN BRUEGEL & DOP BAR, 1992). Esses fotorreceptores moleculares usualmente participam nas reações metabólicas da célula, os quais podem não necessariamente serem diretamente ligados às respostas do laser por si mesmo. Após a absorção de um comprimento de onda específico e a excitação resultante dos processos moleculares primários, que ocorrem nos receptores moleculares, pode levar à resposta fotobiológica (WEBER et al., 2006).

O aumento da vascularização após a utilização do LBI é um dos possíveis mecanismos para a efetividade clínica desta modalidade de tratamento, que tem sido utilizada para o controle da dor ou para melhorar a cicatrização da ferida (MAEGAWA et al., 2000).

Khadra et al. (2004) confirmaram o efeito bioestimulatório positivo do LBI em calvárias de ratos, o qual depende principalmente da capacidade dos tecidos em responder à energia da luz. Os mecanismos de estimulação da cicatrização óssea não são bem entendidos, mas podem ser multifatoriais e incluem a promoção da angiogênese (ORON et al., 2001), produção de colágeno (BOSATRA et al., 1984; LAM et al., 1986), proliferação e diferenciação de células osteogênicas (YAAKOBI et al., 1996), respiração mitocondrial, e síntese de ATP (MORIMOTO et al., 1994; YU et al., 1997). O LBI pode também aumentar o fluxo sanguíneo local, melhorando o suprimento de células circulantes, nutrição, oxigênio e sais inorgânicos para o defeito ósseo (CHEN & ZHOU, 1989).

Weber et al. (2006) relataram um efeito biomodulatório positivo na cicatrização de defeitos ósseos em fêmur de ratos submetidos a enxertos ósseos autólogos. Este efeito foi mais evidente quando a irradiação laser foi realizada no leito cirúrgico, no período trans-operatório, antes da colocação do enxerto ósseo autólogo, e no pós-operatório.

Walsh (1997) concluiu que o LBI pode influenciar o comportamento de muitos tipos de células e que efeitos múltiplos podem ocorrer simultaneamente. O ambiente de uma ferida em cicatrização é uma questão em discussão, e existem dados consideráveis de estudos de cultura de células e modelos animais que indicam efeitos positivos do LBI.

Alguns estudos in vitro demonstraram efeitos positivos do LBI em determinados tipos de células dos tecidos periodontais, sugerindo possíveis respostas biológicas favoráveis quando da utilização desta terapia na prática clínica (KREISLER et al., 2003; LOPES-ALMEIDA et al., 2001). O LBI parece estimular a proliferação fibroblástica e o aumento da produção de fatores de crescimento (SAYGUN et al., 2007).

Alguns fatores de crescimento como o IGF são produzidos em maior quantidade quando o LBI é utilizado, podendo aumentar a regeneração periodontal por estimular a formação de tecidos moles, osso e cemento (MATSUDA et al., 1992; SAYGUN et al., 2007). Apenas alguns estudos histológicos foram realizados em animais, demonstrando os efeitos desta terapia no contato osso-implante (KHADRA et al., 2004) e associado a drogas fotossensibilizadoras para o tratamento de doenças periodontais (ALMEIDA et al., 2007) ou periimplantares (SHIBLI et al., 2006).

4. CONCLUSÃO

Clinicamente, a aplicação da EMD tem demonstrado que a mesma facilita a regeneração e é superior ao debridamento cirúrgico apenas em defeitos infra-ósseos. Foi estabelecido, por alguns estudos em humanos, que a aplicação da EMD sobre uma superfície radicular previamente debridada e condicionada melhora a cicatrização da ferida (CORTELLINI & TONETTI, 2007; HAGENAARS et al., 2004; OZCELIK et al., 2007; TONETTI et al., 2004b; WENNSTRÖM & LINDHE, 2002) e a formação de uma nova inserção de tecido conjuntivo (novo cemento com fibras colágenas inseridas) (SCULEAN et al., 1999; WINDISCH et al., 2002; YUKNA & MELLONIG, 2000) e de novo osso alveolar (CORTELLINI & TONETTI, 2007; FRANCETTI et al., 2004; HEIJL et al., 1997; SCULEAN et al., 2003, 2005, 2006, 2007a; TONETTI et al., 2002; TSITOURA et al., 2004).

Algumas recentes meta-análises da literatura referentes ao potencial da terapia com laser de baixa intensidade revelaram um efeito positivo altamente significativo na cicatrização de feridas em geral e uma diminuição significativa no tempo de cicatrização (BOUNELO et al., 2000; WOODRUFF et al., 2004). Entretanto, existem poucos estudos histológicos que avaliaram o potencial do LBI na regeneração periodontal.

Portanto, tanto a utilização do LBI como a da EMD têm demonstrado atributos potenciais que podem contribuir para a regeneração dos tecidos periodontais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMOVITCH-GOTTLIB, L.; GROSS, T.; NAVEH, D.; GERESH, S.; ROSENWAKS, S.; BAR, I.; VAGO, R. Low level laser irradiation stimulates osteogenic phenotype of mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix. **Lasers Med. Sci.**, v. 20, p. 138-146, 2005.
- ALMEIDA, J. M. et al. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 78, n. 3, p. 566-575, mar. 2007.
- ALMEIDA, J.M. et al. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. **J. Periodontol.**, v.79, n.6, p.1081-1088, 2008.
- AMORIM, J.C. et al. Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. **Photomed. Laser Surg.**, v.24, n.5, p.588-594, Oct. 2006.
- ARANY, P. R.; NAYAK, R. S.; HALLIKERIMATH, S.; LIMAYE, A. N.; KALE, A. D.; KONDAIAH, P. Activation of latent TGF- β 1 levels in laser-enhanced oral wound healing. **Wound Rep. Reg.**, v.15, p. 886-874, 2007.
- ASSOIAN, R. K.; KOMORIYA, A.; MEYERS, C. A.; MILLER, D. M. & SPORN, M. B. Transforming growth factor-beta in human platelets. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, p. 7155-7160, 1983.
- AZUMA, Y.; KAJI, K.; KATOGLI, R.; TAKESHITA, S.; KUDO, A. Tumor necrosis factor-alpha induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 4858-4864, 2000.
- BARUSKA, O. YAAKOBI, T.; ORON, U. Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiation on the processo f bone repair in the rat tibia. **Bone**, v. 16, p. 47-55, 1995.
- BENATTI, B.B. et al. Periodontal healing may be affected by aging: a histologic study in rats. **J. Periodontal Res.**, v.41, n.4, p.329-333, Aug. 2006.
- BENEDICENTI, A. Manuale di Laser-Terapia del Cavo Orale. **Ed. Maggioli, Rimini**, 1982.
- BERGMANN, P. Contrôle local du remaniement osseux. **Rev. Med. Brux.**, v. 10, p. 419-423, 1989.

- BOSATRA, M.; JUCCI, A.; OLLIARO, P.; QUACCI, D.; SACCHI, S. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy. **Dermatologica**, v. 165, p. 157-162, 1984.
- BOSSHARDT, D. D.; SCULEAN, A.; DONOS, N.; LANG, N. P. Pattern of mineralization after regenerative periodontal therapy with enamel matrix proteins. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 114(Suppl. 1): 225-231, discussion 254-256, p. 381-382, 2006.
- BOUNEKO, J. M.; et al. The efficacy of laser therapy in the treatment of wounds: a meta-analysis of the literature. **Proc. Third Congress World Assn for Laser Therapy**, Athens, Greece, May 10-13, p. 79, 2000.
- BOWERS, G.G., CHADORFF, B., CARNEVALE, R., et al. Histologic evaluation of new human attachment apparatus formation in humans. Part I. **J Periodontol** v.60, p.664-674, 1989.
- BOYAN, B. D.; WEESNER, T. C.; LOHMANN, C. H., et al. Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft in vivo. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 1278-1286, 2000.
- BRUNSVOLD, M.A., MELLONG, J.T. Bone grafts and periodontal regeneration. **Periodontol 2000** v.1, p.80-91, 1993.
- CHANO, L.; TENENBAUM, H. C.; LEKIC, P. C.; SODEK, J.; MCCULLOCK, C. A. Emdogain regulation of cellular differentiation in wounded rat periodontium. **J. Periodontal Res.**, v. 38, p. 164-174, 2003.
- CHEN, J. W.; ZHOU, Y. C. Effect of low level carbon dioxide laser radiation on biochemical metabolism of rabbit mandibular bone callus. **Laser Therapy**, v. 2, p. 83-87, 1989.
- COCHRAN, D.L., KING, G.N., SCHOOLFIELD, J., VELAZQUEZ-PLATA, D., MELLONING, G.T., JONES, A. The effect of enamel matrix proteins on periodontal regeneration as determined by histological analyses. **J Periodontol** v.74, p.1043-1055, 2003.
- CORTELLINI, P. & TONETTI, M. S. A minimally invasive surgical technique with an enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intra-bony defects: a novel approach to limit morbidity. **J. Clin. Periodontol.**, v. 34, p. 87-93, 2007.

- CORTELLINI, P., PINI PRATO, G., TONETTI, M.S. Periodontal regeneration on human intrabony defects with bioresorbable membranes. A controlled clinical trial. *J Periodontol* v.67, p.217-223, 1996.
- CRABB, I. D.; O'KEEFE, R. J., PUZAS, J. E. & ROSIER, R. N. Synergistic effect of transforming growth factor on DNA synthesis in chick growth plate chondrocytes. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 5, p. 1105-1112, 1990.
- CRAIG, R.G., KALLUR, S.P., INOUNE, M., ROSENBERG, P.A., LEGEROS, R.Z. Effect of enamel matrix proteins on the periodontal connective tissue-material interface after wound healing. *J Biomed Mater Res A* v.69, p.180-187, 2004.
- CREA, A.; DASSATTI, L.; HOFFMANN, O.; ZAFIROPOULOS, G-G; DELI, G. Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration or enamel matrix derivative: A 3-year prospective randomized clinical study. **J. Periodontol.**, v. 79, n. 12, dec. 2008.
- DONOS, N.; SCULEAN, A.; GLAVIND, L.; REICH, E.; KARRING, T. Wound healing of degree III furcation involvements following guided tissue regeneration and/or Emdogain®. A histologic study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, p. 1061-1068, 2003.
- DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; MAILATH-POKORNY, G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. **Clin. Oral. Impl. Res.**, v. 11, p. 540-545, 2000.
- ENWEMEKA, C. S. J. et al. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed. Laser Surg.*, v.22, n.4, p.323-329, 2004.
- ESPOSITO, M.; COULTHARD, P.; THOMSEN, P.; WORTHINGTON, H. V. Enamel matrix derivative for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects: A Cochrane systematic review. **J. Dent. Educ.**, v. 68, p. 834-844, 2004.
- ESPOSITO, M.; COULTHARD, P.; WORTHINGTON, H. V. Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. **Cochrane Database Sys. Rev.**, v. 2, p. CD003875, 2003.

- FRANCETTI, L.; DEL FABBRO, M.; BASSO, M.; TESTORI, T.; WEINSTEIN, R. Enamel matrix proteins in the treatment of intrabony defects. A prospective 24-month clinical trial. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 52-59, 2004.
- GALLI, C.; MACALUSO, G. M.; GUIZZARDI, S.; VESCOVINI, R.; PASSERI, M. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappa b ligand modulation by enamel matrix derivative in human alveolar osteoblasts. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 7, p. 1223-1227, jul. 2006.
- GERBI, M. E. M. M.; PINEHIRO, A. L. B.; MARZOLA, C.; et al. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830nm. **Photomed. Laser Surg.**, v. 23, p. 382-388, 2005.
- GERBI, M. E. M.; MARQUES, A. M. C.; RAMALHO, L. M. P.; PONZI, L. A. C.; CARVALHO, C. M.; SANTOS, R. C.; OLIVEIRA, P. C.; NÓIA, M.; PINHEIRO, A. L. Infrared laser light further improves bone healing when associated with bone morphogenic proteins: Na *in vivo* study in a rodent model. **Photomed. Laser Surg.**, v. 26, n. 1, p. 55-60, 2008.
- GESTRELIUS, S., LYGSTADAAS, S.P., HAMMARSTRÖM, L. Emdogain—periodontal regeneration based on biomimicry. *Clin Oral Investig* v.4, p.120-125, 2000.
- GESTRELIUS, S.; ANDERSSON, C.; LIDSTROM, D.; HAMMARSTROM, L.; SOMERMAN, M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 685-692, 1997.
- GIANNOBILE, W. V.; SOMERMAN, M. J. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing: A systematic review. **Ann. Periodontol.**, v. 8, n. 1, p. 193-204, dec. 2003.
- GRAINGER, D. J.; WAKEFIELD, L.; BETHELL, H. W.; FARNDAL, R. W.; METCALFE, J. C. Release and activation of platelet latent TGF-beta in blood clots during dissolution with plasmin. **Nat Med.**, v. 1, p. 932-937, 1995.
- GRAVES, D. T. & COCHRAN, D. L. Biologically active mediators: platelet-derived growth factor, monocyte chemoattractant protein-1, and transforming growth factor-beta. **Current Opinion in Dentistry.**, v. 1, p. 809-815, 1991.
- GUIDA, L.; ANNUNZIATA, M.; BELARDO, S.; FARINA, R.; SCABBIA, A.; TROMBELLI, L. Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects. **J. Periodontol.**, v. 78, n. 2, feb. 2007.

HAGENAARS, S.; LOUWERSE, P. H. G.; TIMMERMAN, M. F.; VAN DER VELDEN, U.; WEIJDEN, G. A. Soft-tissue wound healing following periodontal surgery and Emdogain application. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 850-856, 2004.

HAMA, H.; AZUMA, H.; SETO, H.; KIDO, J-I.; NAGATA, T. Inibitory effect of enamel matrix derivative on osteoblastic differentiation of rat calvaria cells in cultures. **J. Periodont. Res.**, v. 43, p. 179-185, 2008.

HAMMARSTROM, L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 658-668, 1997.

HAMMARSTRÖM, L.; HEIJL, L.; GESTRELLIUS, S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 669-677, 1997.

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

HEDEN, G.; WENNSTRÖM, J. L. Five-year follow-up of regenerative periodontal therapy eith enamel matrix derivative at sites with angular bone defects. **J. Periodontol.**, v. 77, p. 295-301, 2006.

HEIJL, L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 693-696, 1997.

HEIJL, L.; HEDEN, G.; SVARDSTRÖM, G.; OSTGREN, A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal treatment. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 705-714, 1997.

HERITIER, M. Experimental induction of cementogenesis on the enamel of transplanted mouse germs. *Arch Oral Biol* v.27, p.87-89, 1982.

HILKENS, C.; SNIJDERS, A.; VERMEULEN, H.; VAN DER MEIDE, O.; WIERENGA, E.; KAPSENBERG, M. Accessory cell-derived interleukin-12 and prostaglandin E2 determine the level of interferon-gamma produced by activated human CD4+ T cells. **Ann. N. Y. Acad. Scie.**, v. 795, p. 349-350, 1996.

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

- IVANOVSKY, S.; DALEY, T.; BARTOLD, P. M. Na Immunohistochemical study of matrix molecules associates with barrier membrane-mediated periodontal wound healing. **J. Periodonta Res.**, v. 35, p. 115-126, 2000.
- KAMALI, F.; BAYAT, M.; TORKAMAN, G.; EBRAHIMI, E.; SALAVATI, M. The therapeutic effect of low-level laser on repair of osteochondral defects in rabbit knee. **J. Photochem. Photobiol. B.**, v. 88, p. 11-15, 2007.
- KARRING, T., NYMAN, S., GOTTOLOW, J., LAURELL, L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration – Animal and human studies. *Periodontol 2000* v.1, p.26-35, 1993.
- KARU, T. I. Photobiological fundaments of low power laser therapy. **IEEE Journal of Quantum Eletronics**, v. 23, p. 1703-1717, 1987.
- KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiations on cells. **J. Photochem. Photobior. B.**, v. 49, p. 1-17, 1999.
- KARU, T.; SMOLYANINOVA, N.; SELENIN, A. A Long-term and short-term responses of human lymphocytes to He-Ne laser irradiation. **Lasers Life Sci.**, v. 4, p. 167-168, 1991.
- KATO, C.; KOJIMA, T.; KOMAKI, M.; et al. S100A4 inhibition by RNAi up-regulates osteoblast related genes in periodontal ligament cells. **Biochem. Biophys. Res. Comum.**, v. 326, p. 147-153, 2005.
- KAWASE, T.; OKUDA, K.; YOSHIE, H.; BURNS, D. M. Cytostatic action of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) on human squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells. **J. Periodontal Res.**, v. 35, p. 291-300, 2000.
- KHADRA, M. et al. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. **Clin Oral Implants Res.**, v. 15, n. 3, p. 325-332, jun. 2004.
- KHADRA, M. The effect of low level laser irritation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. *Swedish Dental J. (Suppl)*, v.172, p.1-63, 2005.
- KHADRA, M., Kansen, N., Lyngstadaas, S.P., Haanaes, H.R., Mustafa, K. Laser therapy accelerates initial attachment and subsequent behavior of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. *Clinical Oral Implant Res.*, v.16, p.168-175, 2005a.

- KHADRA, M.; KASIM, N.; HAANAES, H. R.; ELLINGSEN, J. E.; LYGSTADAAS, S. O.; NORWAY, O. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. **Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 97, p. 693-700, 2004.
- KHADRA, M.; LYGSTADAAS, S. P.; HAANAES, H. R.; MUSTAFA, K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultures on titanium implant material. **Biomaterials**, v. 26, p. 3503-3509, 2005.
- KINGSLEY, D. M. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors and new genetic tests of function in different organisms. **Genes and Development**, v. 8, p. 133-146, 1994.
- KOMORI, T.; YAGI, H.; NOMURA, S.; et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturation arrest of osteoblasts. **Cell**, v. 89, p. 755-764, 1997.
- KREISLER, M. et al. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 4, p. 353-358, apr. 2003.
- KREISLER, M. et al. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. **Laser in Surgery and Medicine**, v.30, p.365-369.
- KUDOH, C.; INAMATA, K.; OKAJIMA, K.; MOTEGI, M.; OHSHIRO, T. Effects of 830nm gallium aluminium arsenide diode laser radiation on rat saphenous nerve sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity: A possible pain attenuation mechanism examined. **Laser Therapy**, v. 1, p. 63-67, 1989.
- KUSAKARI, H.; ORIKASA, N.; TANI, H. Effects of low-power laser on wound healing of gingiva and bone. In: Galletti G, Bolognani L, Ussia G (eds) **Proceedings of the 3rd World Congress of the International Society for Low Power Laser Applications in Medicine. Bologna: Monduzzi Editore**, p. 49-56, 1992.
- LAM, T. S.; ABERGEL, R. P.; MEEKER, C.A.; CASTEL, J. C.; DWYER, R. M.; Uitto, J. Laser stimulation of collagen synthesis in human skin fibroblast cultures. **Lasers Life Sci.**, v. 1, p. 61-77, 1986.

- LIMEIRA JÚNIOR, F. A. Estudo do Reparo ósseo após irradiação com laser 830nm associado a implante de hidroxiapatita e membrana de osso **[PhD thesis]**. Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.
- LOPES, C. B.; PINHEIRO, A. L. B.; SATHIAH, S.; et al. Infrared laser ligh reduces loading time of dental implants: A Raman spectroscopic study. **Photomed. Laser Surg.**, v. 23, p. 27-31, 2005.
- LOPES-ALMEIDA, L. et al. Comparison of the Low Level Laser Therapy Effects on Culture Human Gingival Fibroblasts Proliferation Using Different Irradiance and Same Fluence. **Lasers Surg. Med.**, v. 29, n. 2, p. 179-184, 2001.
- LOWENGUTH, R.A., BLIEDEN, T.M. Periodontal regeneration: Root surface demineraçization. *Periodontol* 2000 v.1, p.54-68, 1993.
- LYNCH, S.E., WILLIAMS, R.C., POLSON, A.M. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* v.16, p.545-548, 1989.
- LYNGSTADAAS, S. P.; LUNDBERG. E., EKDAHI, H., ANDERSSON, C., GESTRELIUS, S. Autocrine growth factos in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, p. 181-188, 2001.
- MACDONALD, B. R.; GOWEN, M. The cell biology of bone. **Baillières Clin. Rheumatol.**, v. 7, p. 421-443, 1993.
- MAEGAWA, Y.; ITOH, T.; HOSOKAWA, T.; et al. Effects of near infrared low-level laser irradiation. **Lasers Surg. Med.**, v. 27, p. 427-437, 2000.
- MATSUDA, N. et al. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. **J. Periodontol.**, v. 63, n. 6, p. 515-525, jun. 1992.
- MATSUURA, M.; HERR, Y.; HAN, K. Y.; LIN, W. L.; GENCO, R. G.; CHO, M. I. immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the bealge dog. **J. Periodontol.**, v. 66, p. 579-593, 1995.
- MELLADO, J. R.; SALKIN, L. M.; FREEDMAN, A. L.; STEIN, M. D. A comparative study of rPTFE periodontal membranes with and without decalcified freeze-dried boné allografts for regeneration of interproximal intraosseous defects. **J. Periodontol.**, n. 66, p. 751-755, 1995.

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

MESTER, E.; JASZSAGI-NAGY, E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. **Studia Biophysica**, v. 35, p. 227-230, 1973.

MESTER, E.; LUDANY, G.; SELLYEI, M.; SZEND, B.; GYENES, G. & TOTA, G. J. Untersuchungen über die hemmende bzw. fördernde Wirkung der Laserstrahlen. **Langenbechs Archiv für Chirurgie**, v. 322, p. 1022-1027, 1968.

MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg. Med.**, v. 5, p. 31-39, 1985.

MORIMOTO, Y.; ARAI, T.; KIKUCHI, M.; et al. Effect of low-intensity argon laser irradiation on mitochondrial respiration. **Lasers Surg. Med.**, v. 15, p. 191-199, 1994.

NEMCOVSKY, C. E.; ZAHAVI, S.; MESES, O.; KEBUDI, E.; ARTZI, Z.; BENY, L.; WEINREB, M. Effect of enamel matrix protein derivative on healing of surgical supra-infrabony periodontal defects in a rat molar: A histomorphometric study. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 6, p. 996-1002, june. 2006.

NICOLAU, A. R. et al. Effect of low-power GaAlAs laser (660nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers Med. Sci.**, v.18, p.89-84, 2003.

NICOLAU, R. A.; JORGETTI, V.; RIGAU, J.; PACHECO, M. T. T.; REIS, L. M.; ZÂNGARO, R. A. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers Med. Sci.**, v. 18, p. 89-94, 2003.

OFFENBACHER, S. Periodontal diseases: Pathogenesis. **Ann. Periodontol.**, v. 1, o. 821-878, 1996.

OKUDA, K.; MOMOSE, M.; MIYAZAKI, A.; et al. Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 1821-1828, 2000.

ORON, U.; YAAKOBI, T.; ORON, A.; HAYAM, G.; GEPSTEIN, L.; RUBIN, O.; et al. Attenuation of infarct size in rats and dogs after myocardial infarction by low-energy laser irradiation. **Lasers Surg. Med.**, v. 28, p. 204-211, 2001.

- OTTO, F.; THORNELL, A. P.; CROMPTON, T., et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. **Cell**, v. 89, p. 765-771, 1997.
- OZAWA, Y.; SHIMIZU, N.; KARIYA, G.; ABIKO, Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone**, v. 22, n.4, p. 347-354, 1998
- OZAWA, Y.; SHIMIZU, N.; KARIYA, G.; et al. Lowenergy laser irradiation stimulates boné nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone**, v. 22, p. 347-354, 1998.
- OZCELIK, O.; CENK, H. M.; SEYDAOGLU, G. et al. Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of intra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J. Clin. Periodontol.*, v.35, n.2, p.147-156, Feb. 2008.
- OZCELIK, O.; HAYTAC, M. C.; SEYDOAGLU, G. Immediate post-operative effects of different peiodontal treatment modalities on oral health-related quality of life: a randomized clinical trial. **J. Clin. Periodontol.**, v. 34, p. 788-796, 2007.
- PALIOTO, D. B.; COLETTA, R. D.; GRANER, E.; JOLY, J. C. & DE LIMA, A. F. The influence of enamel matrix derivative associated with insulin-like growth factor-I on periodontal ligament fibroblasts. **J. Periodontol.**, v. 75, p. 498-504, 2004.
- PASSARELA, S.; CASAMASSIMA, E.; MOLINARI, S.; et al. Increase of próton eletrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. **FEBS Lett.**, v. 175, p. 95-99, 1984.
- PINEHIRO, A. L. B.; OLIVEIRA, M. A. M.; MARTINS, P. P. M. Biomodulação da cicatrização óssea pós-implantar com o uso da laserterapia não-cirúrgica: Estudo por microscopia eletrônica de varredura. **Rev. FOUFBA**, v. 22, p. 12-19, 2001.
- PINHEIRO, A. L. B.; GERBI, M. E. M. M. Photobioengineering of the bone repair process. Photomed. **Laser Surg.**, v. 24, p. 169-178, 2006.
- PINHEIRO, A. L. B.; LIMEIRA JÚNIOR, F. A.; GERBI, M. E. M. M., et al. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects graftd with inorganic bovine bone. **Braz. Dent. J.**, v. 14, p. 177-181, 2003.

- PINHEIRO, A. L. B.; LIMEIRA JÚNIOR, F. A.; GERBI, M. E. M. M., et al. Effect of 830nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical bone membrane. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 21, p. 383-388, 2003.
- PONTORIERO, R.; WENNSTRÖM, J.; LINDHE, J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. **J. Clin. Periodontol.**, v.26, p. 833-840, 1999.
- QADRI, T. et al. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. **J. Clin. Periodontol.**, v.32, n.7, p.714-719, Jul. 2005.
- RIBARI, O. The stimulating effect of low laser rays: Experimental examination in otorhinolaryngology. **Revue de laryngologie Otologie Rhinologie**, v. 102, p. 531-533, 1981.
- RIFAS, L. Bone and cytokines: Beyond IL-1, IL-6 and TNF- α . **Calcif. Tissue Int.**, v. 64, p. 1-7, 1999.
- RODRIGUES, T. L. S.; MARCHESAN, J. T.; COLETTA, R. D.; NOVAES JR., A. B.; GRISI, M. F. M.; SOUZA, S. L. S.; TABA JR., M.; PALIOTO, D. B. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor- β 1 on human periodontal ligament fibroblasts. **J. Clin. Periodontol.**, v. 34, p. 514-522, 2007.
- ROYCE, L.S. & BAUM, B.J. Physiologic levels of salivary epidermal growth factor stimulate migration of an oral epithelial cell line. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1092, p. 401-403, 1991.
- SAKAI, T.; KAMBE, F.; MITSUYAMA, H.; et al. Tumor necrosis factor α induces expression of genes for matrix degradation in human chondrocyte-like HCS-2/8 cells through activation of NF- κ B: Abrogation of tumor necrosis factor α effect by proteasome inhibitors. **J. Bone Miner. Res.**, v. 16, p. 1272-1280, 2001.
- SALLUM, E. A.; PIMENTEL, S. P.; SALDANHA, J. B.; NOGUEIRA-FILHO, G. R.; CASATI, M. Z.; NOCITI JR., F. H.; SALLUM, A. W. Enamel matrix derivative and guided tissue regeneration in the treatment of dehiscence-type defects: A histomorphometric study in dogs. **J. Periodontol.**, v.75, n. 10, p. 1357-1363, oct. 2004.

- SANZ, M., TONETTI, M.S., ZABALEGUI, I., et al. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes : Results from a multicenter practice-based clinical trial. *J Periodontol* v.75, p.726-733, 2004.
- SAPERIA, D.; GLASSBERG, E.; LYONS, A. F.; ABERGEL, R. P.; DWYER, R. M.; UITTO, J. Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with Helium-Neon laser. Proposed mechanism for enhanced wound healing. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 138, p. 1123-1128, 1986.
- SATO, S.; KITAGAWA, M.; SAKAMOTO, K.; IIZUKA, S.; KUDO, Y.; OGAWA, I.; MIYAUCHI, M.; CHU, E. Y.; FOSTER, B. L.; SOMERMAN, M. J.; TAKATA, T. Enamel matrix derivative exhibits anti-inflammatory properties in monocytes. **J. Periodontol.**, v. 79; n. 23, p. 535-540, mar. 2008.
- SAYGUN, I. et al. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. **Lasers Med. Sci.**, v. 23, n. 2, p. 211-215, apr. 2008.
- SCHENK, R. K. Bone regeneration: biologic basis. In: Buser D, Dahlin, C, Schenk, RK, eds Guided bone regeneration: in implant dentistry. Chicago, **Quintessence Publishing**, p. 49-100, 1994.
- SCHLUETER, S. R.; CARNES, D. L.; CACHRAN, D. L. In vitro effects of enamel matrix derivative on microvascular cells. **J. Periontol.**, v. 78, n. 1, p. 141-151, jan. 2007.
- SCHWAETZ, Z.; CARNES, D. L.; PULLIAM, R.; et al. Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. **J. Periodontol.**, v. 71; p. 1287-1296, 2000.
- SCULEAN, A.; CHIANTELLA, G. C.; MILIAUSKAITE, A.; BRECX, M.; ARWEILER, N. B. Four-year results following treatment of intrabony periodontal defects with na enamel matrix protein derivative: a report of 46 cases. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, v. 23, p. 345-351, 2003.

SCULEAN, A.; DONOS, N.; BLAES, A.; LAUERMANN, M.; REICH, E.; BRECS, M. COMparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intra-bony periodontal defects. A split-mouth study. **J Periodontol.**, v. 70, p. 255-262, 1999.

SCULEAN, A.; DONOS, N.; MILIAUSKAITE, A.; ARWEILER, N.; BRECX, M. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or bioabsorbable membranes. A 4-year follow-up split-mouth study. **J. Periodontol.**, v. 72, p. 1695-1701, 2001.

SCULEAN, A.; DONOS, N.; SCHWARZ, F.; BECKER, J.; BRECX, M.; ARWEILER, N. B. Five-year results following treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 545-549, 2004.

SCULEAN, A.; DONOS, N.; WINDISCH, P.; BRECX, M.; GERA, I.; REICH, E.; KARRING, T. Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. **J. Periodontal Res.**, v. 34, p. 310-322, 1999.

SCULEAN, A.; JUNKER, R.; DONOS, N.; BERAKDAR, M.; BRECX, M.; DÜNDER, N. Immunoistochemical evaluation of matrix molecules associated with wound healing following regenerative periodontal treatment in monkeys. **Clin. Oral Invest.**, v. 6, p. 175-182, 2002.

SCULEAN, A.; JUNKER, R.; DONOS, N.; WINDISH, P.; BRECX, M.; DÜNKER, N. Immunohistochemical evaluation of matrix molecules associated with wound healing following treatment with enamel matrix derivative in humans, **J. Oral Invest.**, v. 7, p. 167-174, 2003.

SCULEAN, A.; PIETRUSKA, M.; ARWEILER, N. N.; AUSCHILL, T. M.; NEMCOVSKY, C. Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intra-bony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. **J. Clin. Periodontol.**, v. 34, p. 507-513, 2007a.

SCULEAN, A.; PIETRUSKA, M.; SCHAWARZ, F.; WILLERSHAUSEN, B.; ARWEILER, N. B.; AUSCHILL, T. M. Healing of human intrabony defects following regenerative periodontal therapy with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. A controlled clinical study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, p. 111-117, 2005.

- SCULEAN, A.; SCHAWARZ, F.; MILLIAUSKAITE, A.; KISS, A.; ARWEILER, N. B.; BECKER, J.; BRECX, M. Treatment of intrabony defects with na enamel matrix protein derivative or bioabsorbable membrane: na 8-year follow-up slit-mouth study. **J. Priodontol.**, v. 77, p. 1879-1886, 2006.
- SCULEAN, A.; WINDISCH, P.; CHIANTELLA, G. C.; DONOS, N.; BRECS, M.; REICH, E. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. **J. CLin. Periodontol.**, v. 20, p. 397-403, 2001.
- SHIBLI, J. A. et al. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 17, n. 3, p. 273-281, jun. 2006.
- SILVA JÚNIOR, A. N.; PINHEIRO, A. L. B.; OLIVEIRA, M. G.; et al. Computadorized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 20, p. 83-87, 2002.
- SILVA, R. V.; CAMILLI, J. A. Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. Experimental study. **The Journal of Craniofacial Surgery**, v. 17, n. 2, p. 297-301, mar. 2006.
- SIMON, A. M.; MANIGRASSO, M. B.; O'CONNOR, J. P. Cyclooxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. **J. Bone Miner. Res.**, v. 17, p. 963-976, 2002.
- SIMONET, W. S.; LACEY, D. L.; DUNSTAN, C. R.; et al. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. **Cell**, v.89, p. 309-319, 1997.
- SPAHR, A.; LYGSTADAAS, S. P.; BOECKH, C.; ANDERSSON, C.; PODBIELSKI, A.; HALLER, B. Effect of enamel matrix derivative Emdogain® on the growth of periodontal pathogens in vitro. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, p. 62-72, 2002.
- SPORN, M. B.; ROBERTS, A. B.; WAKEFIELD, L. M. & CROMBRUGGHE, B. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. **The Journal of Cell Biology**, v. 105, p. 1039-1045, 1997.
- STEIN, E.; KOEHN, J.; SUTTER, W.; WENDTLANDT, G.; WANSCHITZ, F.; THURNER, D.; BAGHESTANIAN, M.; TRUHANI, D. Initial effects of low-level laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. **Wien Klin Wochenschr**, v. 120/3-4, p. 112-117, 2008.

- SURINCHAK, J. S.; ALAGO, M. L.; BELLAMY, R. F.; STUCK, B. E. & BELKIN, M. Effects of low level energy laser on healing of full thickness skin defects. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 2, p. 261-274, 1983.
- TABA, M.Jr. et al. Current cepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofacial Res.*, v.8, p.292-302, 2005.
- TAKAYANAGI, K.; OSAWA, G.; NAKAYA, H; COCHRAN, D. L.; KAMOI, K.; OATES, T. W. Effects of enamel matrix derivative on bone-related mRNA expression in human periodontal ligament cells in vitro. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 5, p. 891-898, may. 2006.
- TAM, G. Low power laser therapy and analgesic action. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.17, n.1, p.29-33, Feb. 1999.
- TEN CATE, A.R. The role of epithelium in the development, structure and function of the tissues of tooth support. *Oral Dis.* v.2, p.55-62, 1996.
- TERRANOVA, V. P.; ODZIEMIEC, C.; TWEDEN, K. S. & SPADONE, D. P. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells ans endothelial cells. Effect os basic fibroblasts growth factor. **Journal of Periodontology**, v. 60, p. 293-301, 1989.
- TONETTI, M. S.; FOURMOUSIS, I.; SUVAN, J.; CORTELLINI, P.; BRÄGGER, U.; LANG, N. P. Healing, postoperative mobility and patient perception of outcomes following regeneration therapy of deep intrabony defects. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 1092-1098, 2004b.
- TONETTI, M. S.; LANG, N. P.; CORTELLINI, P., et al. Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. A multicentre randomized controlled clinical trial. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, p. 317-325, 2002.
- TROMBELLI, L. Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect? **Periodontol.** 2000, v. 37, p. 88-105, 2005.
- TROMBELLI, L.; ANNUNZIATA, M.; BELARDO, S.; FARINA, R.; GUIDA, L. Autogenous boné graft in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of deep periodontal intraosseous defects: a reporto f 13 consecutively-treated patients. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, p. 69-75, 2006.
- TROMBELLI, L.; FARINA, R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, v. 35(Suppl. 8), p. 117-135, 2008.

- TSITOURA, E.; TUCKER, R.; SUVAN, J.; LAURELL, L.; CORTELINNI, P.; TONETTI, M. Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 643-647, 2004.
- TUBY, H.; MALTZ, L.; ORON, U. Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture. **Lasers Surg. Med.**, v. 39, p. 373-378, 2007.
- TUNG, P. S.; DOMENICUCCI, C.; WASI, S.; SODEK, J. Specific immunohistochemical localization of osteonectin and collagens type I and III in fetal and adult porcine dental tissue. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 33, p., 531-542, 1985.
- UEDA, Y.; SHIMIZU, N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 21, p. 271-277, 2003.
- VAN DER PAUW, M. T.; VAN DEN BOS, T.; EVERTS, T., BEERTSEN, W. Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor β 1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 31-43, 2000.
- VAN BREUGEL, H. H. F. I.; DOP BÄR, P. R. Power density and exposure time of HeNe laser irradiation are more important than total energy dose in photobiomodulation of human fibroblasts *in vitro*. **Lasers Surg. Med.**, v. 12 p. 528-537, 1992.
- VENEZIA, E.; GOLDSTEIN, M.; BOYAN, B. D.; SCHWARTZ, Z. The use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal defects: A literature review and meta-analysis. **Crit. Rev. Oral Bio. Med.**, v. 15, p. 382-402, 2004.
- WALSH, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. **Australian Dental Journal**, v. 42, n. 2, p. 247-254, 1997.
- WEBER, J. B. B., PINHEIRO, A. L. B.; OLIVEIRA, M. G.; OLIVEIRA, F. A. M.; RAMALHO, L. M. P. Laser therapy improves bone healing of bone defects submitted to autologous bone graft. **Photomed. Laser Surg.**, v. 24, p. 38-44, 2006.

- WEDLOCK, P. et al. Analgesic effects of cranial laser treatment in two rat nociception models. *Physiol. Behav.*, v.59, n.3, p.445-448, Mar. 1996.
- WENNSTRÖM, J. L.; LINDHE, J. Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, p. 9-14, 2002.
- WIJDENES, J.; AARDEN, L. A. Prostaglandin-E2 is a potent inhibitor of human interleukin 12 production. **J. Exp. Med.**, v. 181, p. 775-779, 1995.
- WIKESJÖ, U.; SORENSEN, R. G.; WOZNEY, J. M. Argumentation of alveolar bone and dental implant osteointegration: Clinical implications of studies with rhBMP-2. **J. Bone Joint Surg. Am.**, v. 83-A Suppl. 1(Pt 2), p. S136-S145, 2001.
- WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M. K.; KAPLAN, M. L.; GOLDBERGER, P.; JOHNSON, H. G.; WECHER, W. J. Flurbiprofen: A potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. **Science**, v. 227, p. 640-642, 1985.
- WINDISCH, P.; SCULEAN, A.; KLEIN, F.; TOTH, V.; GERA, I.; REICH, E.; EICKHOLZ, P. Comparison of clinical, radiographic, and histometric measurements following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins in human periodontal defects. **J. Periodontol.**, v. 73, p. 409-417, 2002.
- WOODRUFF, L. D.; BOUNKEO, J. M.; BRANNON, W. M.; DAWES, K. S.; BARHAM, C. D.; WADDELL, D. L.; ENWEMEKA, C. S. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. **Photomedicine and laser surgery**, v. 22, p. 241-247, 2004.
- YAAKOBI, T.; MALTZ, L.; ORON, U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. **Cal. Tiss. Intl.**, v. 59, p. 297-300, 1996.
- YASUDA, H.; SHIMA, N.; NAKAGAWA, N.; et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): A mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. **Endocrinology**, v. 139, p. 1329-1337, 1998.
- YILMAZ, S.; KURU, B.; ALTUNA-KIRAC, E. Enamel matrix proteins in the treatment of periodontal sites with horizontal type of bone loss. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, p. 197-206, 2003.

- YU, W.; MCGOWAN, M.; IPPOLITO, K.; LANZAFAME, R. J. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photobiol.*, v. 66, p. 866-871, 1997.
- YUAN, K., CHEN, C., LIN, M.T. Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model. *Journal of Clinical Periodontology* v.30, p.732-738, 2003.
- YUAN, K.; HSU, C-W.; TSAI, W-H. The induction and possible subsequent effect of human antibodies against porcine enamel matrix derivative. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 8, p. 1355-1361, aug. 2006.
- YUKNA, R. A.; MOLLONIG, J. T. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 752-759, 2000.
- ZHANG, X.; SCHWARZ, E. M.; YOUNG, D. A.; PUZAS, J. E.; ROSIER, R. N.; O'KEEF, R. J. Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. **J. Clin. Invest.**, v. 109, p. 1405-1415, 2002.
- ZHANG, Y.; MCCLUSKEY, K.; FUJII, K.; WAHL, L. M. Differential regulation of monocyte matrix metalloproteinase and TIMP-1 production by TNF- α , granulocyte-macrophage CSF, and IL-1 β through prostaglandin-dependent and -independent mechanisms. **J. Immunol.**, v. 161, p. 3071-3076, 1998.
- ZUCHELLI, G., BERNARDI, F., MONTEBUGNOLI, L., DE SANCTIS, M. Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of intrabony defects: A comparative controlled clinical trial. *J Periodontol* v.73, p.3-12, 2002.