

Proteína derivada da matriz do esmalte: Revisão de literatura

Enamel matrix proteins derivative: Literature review

José Marcos Alves FERNANDES*

Joni Augusto CIRELLI* *

*Prof. Adj. da Disc. de Periodontia, do Dep.de Ciências Estomatológicas, da Faculdade de Odontologia - UFG

**Prof. Assist. do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O estudo procura discutir, baseado em evidências científicas, o emprego de um novo produto – proteínas derivadas da matriz de esmalte (PDME), no tratamento de defeitos ósseos periodontais, dando ao clínico noções dos reais benefícios alcançados.

RESUMO

Estudos têm demonstrado que proteínas derivadas da matriz de esmalte, mais especificamente, a amelogenina, tem um importante papel na formação e desenvolvimento do cimento e demais tecidos periodontais. O objetivo deste estudo foi discutir, através de uma revisão de literatura incluindo estudos *in vitro*, histológicos e clínicos, a aplicação desta proteína como um novo material para tratamento regenerativo em defeitos periodontais.

PALAVRAS-CHAVE

Defeitos da furca; regeneração óssea; regeneração tecidual guiada; proteínas do esmalte dentário.

INTRODUÇÃO

O restabelecimento dos tecidos periodontais perdidos em decorrência das diferentes formas da doença periodontal tem levado a extensas discussões. Segundo a Academia Americana de Periodontia dois tipos de resposta ao tratamento têm sido distinguidos: regeneração e reparação. Regeneração pode ser definida como um processo biológico pelo qual a arquitetura e função dos tecidos perdidos são completamente renovadas. Reparação, por outro lado, é um processo biológico pelo qual a continuidade do tecido rompido é restabelecida por novos tecidos, que não reproduzem a estrutura e/ou função daqueles perdidos¹.

Várias técnicas têm sido propostas com o intuito de se obter a regeneração dos tecidos destruídos pela doença periodontal. Diferentes agentes ditos osteoindutores com potencial para promoverem a formação de novo osso e

regeneração têm sido estudados³, dentre estes, as proteínas ósseas morfogenéticas e diversos tipos de fatores de crescimento, que possuem função osteopromotora, auxiliando o restabelecimento e regeneração dos tecidos.

Proteínas derivadas da matriz de esmalte (PDME) supostamente apresentam este potencial de ação⁴. Estas proteínas do esmalte são responsáveis pelo desenvolvimento de cimento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar ainda no estado embrionário^{6,9}.

Atualmente a utilização de um complexo de proteínas derivado da matriz de esmalte de dentes de suínos, com idade de dois a seis meses^{17,26}, tem sido pesquisado como um material para regeneração tecidual. Este produto, com nome comercial de Emdogain® (BIORA AB, Malmö Sweden) é composto principalmente por amelogenina que constitui 90% da matriz protéica do esmalte⁴. O restante desta matriz é constituído por outras proteínas, identificadas por sequência de DNA, denominadas ameloblastina e amelina⁹.

O Emdogain® é apresentado contendo proteínas de esmalte liofilizadas, que quando associadas a um veículo, possuem propriedades ideais para a aplicação sobre a superfície radicular previamente condicionada com EDTA 24%^{12,16}, durante procedimentos cirúrgicos periodontais regenerativos.

PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi revisar a literatura de estudos *in vitro* e *in vivo* e discutir a utilização do complexo de proteínas derivadas da matriz de esmalte (PDME) como um novo material regenerativo para tratamento de defeitos periodontais.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Estudos *in vitro*.

Grestelius et al.⁸, em 1997, avaliaram *in vitro* a capacidade da matriz derivada do esmalte influenciar propriedades específicas das células do ligamento periodontal. Os resultados obtidos demonstraram que a (PDME) favoreceu a formação de agregados protéicos e levou a um aumento na proliferação, produção de proteínas e formação de nódulos

minerais pelas células do ligamento periodontal. Este estudo suporta a hipótese que a (PDME) pode agir como uma matriz para as células regenerativas periodontais favorecendo sua proliferação e diferenciação.

Ainda em 1997, Gestrelius et al.⁷, verificaram ser o alginato propileno glicol (PGA) um veículo apropriado para aplicação local da (PDME). Quando é dissolvido neste veículo com pH ácido, a (PDME) resulta em uma solução altamente viscosa, enquanto que após aplicado no ambiente bucal, em pH neutro e à temperatura do corpo, perde a viscosidade, sofrendo precipitação. Testes *in vitro* mostraram que a (PDME) adsorve tanto a hidroxiapatita quanto ao colágeno das raízes dentais expostas. Já os testes *in vivo*, realizados em ratos e porcos, mostraram que quantidades detectáveis do material permanecem sobre as superfícies radiculares, nos sítios de aplicação, por até duas semanas, tempo que parece ser suficientemente longo para permitir a recolonização por células do ligamento periodontal. Estudos em dentes de macacos, utilizando microscopia eletrônica de varredura, indicaram ainda, que a (PDME), em alginato propileno glicol, pode promover repopulação da superfície radicular por fibroblastos durante as primeiras semanas de aplicação.

Posteriormente, novos estudos avaliaram o efeito da (PDME), *in vitro*, sobre as células do ligamento periodontal. Lyngstadaas et al.¹⁵ (1999), Hoang et al.¹³ (2000) e Van Der Pauw²⁴ et al. (2000) observaram que os níveis de inserção, crescimento e produção de fatores de crescimento por essas células foram estimulados pela (PDME), sugerindo que a aplicação clínica deste produto pode aumentar a capacidade de regeneração periodontal pela migração e proliferação das células do ligamento periodontal.

2. Estudos em animais.

O primeiro estudo clínico com as (PDME) foi realizado por Hammarström et al.¹⁰, em 1997, no tratamento de deiscências ósseas criadas cirurgicamente em caninos e pré-molares de macacos. O complexo protéico foi aplicado sobre as superfícies radiculares expostas associado a diferentes veículos. Os melhores resultados foram alcançados com o alginato propileno glicol, resultando em uma regeneração periodontal quase completa, com formação de cimento acelular, firmemente inserido na dentina e com fibras colágenas estendendo-se até o novo osso formado.

Araújo & Lindhe², em 1998, avaliaram o efeito da (PDME) na cicatrização periodontal de defeitos de furca grau III, criados cirurgicamente em pré-molares de cães. Após cronificação das lesões, uma parte foi tratada cirurgicamente com (PDME) e Regeneração Tecidual Guiada. As superfícies radiculares foram previamente condicionadas com ácido fosfórico a 37%. A (PDME) foi aplicada sobre as raízes posteriormente recobertas com membrana absorvível (Resolut XT, W. L. Gore & Associates, INC. Arizona, U.S.A). Nos pré-molares utilizados como controle, realizou-se o mesmo tratamento, com exceção da aplicação do ácido e da (PDME). Quatro meses após o tratamento, em ambos os grupos, os defeitos de furca apresentaram-se histologicamente fechados, havendo semelhança quanto à regeneração com formação de tecido ósseo, ligamento periodontal e nova formação de cimento radicular. Observou-se apenas uma diferença na qualidade do novo cimento formado, que apresentou características acelular na porção mais apical dos defeitos tratados com a (PDME). Os autores concluíram que a (PDME), quando aplicada sobre uma

superfície radicular instrumentada e condicionada, pode criar um ambiente propício para a formação de cimento acelular. Um estudo semelhante foi realizado por Rocha¹⁹ (1999) em lesões de furca grau II de cães. Houve formação de novo cimento e preenchimento ósseo parcial das lesões, independente do tratamento realizado. Não houve fechamento da furca em nenhum dos elementos tratados, demonstrando que a (PDME) não apresentou superioridade ao tratamento de RTG em lesões de furca grau II.

Boyan et al.³, em 2000, avaliaram a capacidade da (PDME) de induzir nova formação óssea, ou de aumentar o potencial de indução óssea de um enxerto de osso desmineralizado liofilizado (DFDBA). Os autores observaram que os implantes de DFDBA, associados ou não à (PDME), induziram a formação de novo osso. Porém, implantes de DFDBA com maiores quantidades de (PDME) resultaram em um aumento da indução óssea. Os autores concluíram que a (PDME) não é osseointegrador. Porém, pode aumentar o potencial osseointegrador de outro material, quando em associação, sendo portanto, considerado um material osseopromotor.

3. Estudos em humanos.

Pesquisas clínicas em humanos foram iniciadas por Sculean et al.²⁰, em 1999, ao realizarem um estudo em 16 pacientes para investigar a combinação de técnicas no tratamento de defeitos periodontais intraósseos contralaterais. Um grupo recebeu raspagem cirúrgica, condicionamento radicular com EDTA 24% por 2 minutos e aplicação de (PDME). O outro, o mesmo tratamento, associado ao emprego de uma membrana absorvível (Resolut XT, W. L. Gore & Associates, INC. Arizona, U.S.A). Após seis meses de tratamento, os autores não encontraram diferença estatisticamente significativa entre as técnicas cirúrgicas para os parâmetros clínicos avaliados, havendo, em média, redução da profundidade de sondagem de 3,9 mm e um ganho no nível de inserção clínica de 3,1 mm. Resultados similares foram observados em outro estudo de Sculean et al.²¹, (1999) quando compararam o tratamento de defeitos intraósseos com (PDME) e Regeneração Tecidual Guiada (RTG), ao tratamento apenas com RTG (em média, 2,5mm de nova inserção conjuntiva em novo cimento e 1,5 mm de novo osso).

Yukna & Mellonig²⁵, em 2000, avaliaram histologicamente o restabelecimento periodontal após terapia regenerativa com (PDME), em defeitos intraósseos. Durante os procedimentos cirúrgicos o tecido de granulação foi cuidadosamente removido ao redor do defeito, sem remoção do cálculo. Ácido cítrico, pH=1, foi aplicado por 1 minuto e lavado com solução salina seguido por aplicação da (PDME). Aos seis meses pós-operatórios os resultados mostraram evidências de regeneração, formação de novo cimento, novo osso e ligamento periodontal em 30% dos espécimes, na porção localizada coronariamente à base do cálculo. Os resultados deste estudo permitiram concluir que o uso da (PDME) pode resultar em regeneração periodontal na superfície de raiz previamente infectada.

Ainda em 2000, Lekovic et al.¹⁴ compararam a eficiência clínica da (PDME) aplicado isoladamente ou associado com osso mineral poroso bovino (BPBM), no tratamento de defeitos periodontais intraósseos. Medidas clínicas seis meses após o tratamento mostraram uma redução significativa na profundidade de sondagem no grupo de PDME/BPBM (3,4mm) quando comparado somente ao grupo de (PDME) (1,88 mm).

O grupo de PDME/BPBM também apresentou um ganho significativamente maior de inserção (3,12 mm) e preenchimento do defeito (3,78 mm) quando comparado ao grupo com (PDME) (1,74 mm e 1,37 mm, respectivamente). Os autores concluíram que o osso mineral poroso bovino (BPBM) tem a habilidade de aumentar os efeitos clínicos obtidos pela (PDME).

Em 2002, Cardaropoli e Leonhardt⁵ avaliaram a cicatrização de defeitos ósseos periodontais profundos tratados com (PDME) e condicionamento radicular prévio com EDTA 24%. Após 1 ano, em média, houve ganho de inserção clínica de 6,5mm, redução na profundidade de sondagem de 3,2 mm e preenchimento ósseo radiográfico de 4,7 mm. Os autores concluíram que a (PDME) apresenta consideráveis ganhos clínicos no tratamento de defeitos intraósseos profundos.

Tonetti et al.²³, (2002) compararam os resultados clínicos de cirurgia a retalho para preservação de papila com e sem aplicação da (PDME). Foram utilizados 172 pacientes com no mínimo um defeito intra-ósseo ≥ 3 mm. Durante a cirurgia a retalho, em parte das lesões, as raízes foram condicionadas com EDTA 24% e aplicado a (PDME). Após um ano, os autores concluíram que a aplicação da (PDME) ofereceu um grande benefício adicional em termos de ganho no nível de inserção clínica no grupo teste ($3,1 \pm 1,5$ mm), comparado ao controle ($2,5 \pm 1,5$ mm) e na redução da profundidade de sondagem ($3,9 \pm 1,7$ mm para o grupo teste e $3,3 \pm 1,7$ mm para o controle).

DISCUSSÃO

As (PDME) foram introduzidas recentemente como opção no tratamento regenerativo dos defeitos periodontais. O mecanismo pelo qual elas contribuem para a formação do cimento e regeneração periodontal tem sido estudado por diversos pesquisadores.

Estudos *in vitro* têm mostrado que a (PDME) influencia algumas propriedades específicas das células do ligamento periodontal, como proliferação celular, produção de colágeno, formação de nódulos mineralizados e aumento de proteínas^{8,13,24}.

Também foi observado *in vitro* que enquanto os níveis de inserção e crescimento das células do ligamento periodontal são estimuladas pela (PDME), as células epiteliais não se proliferam quando em contato com a mesma¹⁵. Estes resultados sugerem que clinicamente a (PDME) contribui para os estágios iniciais da regeneração, bloqueando a migração epitelial, estimulando a proliferação de células do ligamento periodontal a formação cementária e óssea^{13,24}. Estudos clínicos e histológicos parecem comprovar estas sugestões, mostrando que uma nova camada de cimento com inserção de fibras do ligamento periodontal e novo osso alveolar podem ser formados com a aplicação da (PDME)^{10,11,14,19,20}.

Em defeitos periodontais intraósseos, de duas e três paredes, tratados com cirurgia periodontal e aplicação de (PDME) os estudos apresentam melhora significativa na profundidade de sondagem e nível de inserção clínica^{5,14,20,22,23}. Histologicamente, o tratamento dessas lesões com (PDME) tem levado a formação de novo cimento, novo osso e ligamento periodontal^{14,21,25}. Porém, quando comparado a tratamento cirúrgico convencional ou a outras técnicas regenerativas, os resultados são superiores em alguns estudos^{6,17} e similares em outros¹¹, sugerindo a necessidade de realização de novos estudos para confirmar a efetividade

da (PDME) no tratamento de defeitos intraósseos.

Os efeitos da (PDME) no tratamento de lesões de furca foram avaliados, por alguns autores, em defeitos criados em cães. Não foram observadas vantagens clínicas ou histológicas quando se comparou o emprego da (PDME) a outras técnicas cirúrgicas, tanto em lesões grau II quanto em grau III²⁻¹⁹. Uma diferença qualitativa no novo cimento formado, foi observada por Araújo & Lindhe² (1998), que relataram maior formação de cimento acelular na porção apical dos defeitos tratados com (PDME). Entretanto faltam estudos que determinem as reais vantagens do cimento acelular sobre o celular para a regeneração periodontal.

A combinação da (PDME) a outras técnicas regenerativas também tem sido testada. Sculean et al.^{21,22}, em 1999, avaliaram a associação da (PDME) à RTG com membrana absorvível (Resolut XT, W. L. Gore & Associates, INC. Arizona, U.S.A), comparando-a ao tratamento com as mesmas técnicas isoladamente. Os resultados foram satisfatórios independentes do tratamento realizado. As modalidades de regeneração testadas apresentaram semelhanças quanto à redução na profundidade de sondagem e ganho no nível de inserção¹⁹. Por outro lado, a associação da (PDME) a enxertos ósseos apresenta resultados clínicos superiores quando comparado ao material de enxerto ou à (PDME) isoladamente^{3,14}.

Efeitos adversos produzidos pela (PDME) também têm sido avaliados. Como a (PDME) é um material derivado de suínos, existe um potencial em estimular uma reação imune, quando usado em humanos. Embora as proteínas de suínos e humanos pareçam ser homólogas, uma resposta imune contrária ao produto não pode ser excluída, devido a pequenas divergências na estrutura das proteínas primárias. Até o presente momento não se tem conhecimento se a (PDME) pode induzir uma resposta imune sistêmica ou local⁴. Em estudos realizados para avaliar o potencial de sensibilização²⁶ e possíveis alterações de IgE, IgG, IgM, e IgA em pacientes expostos à (PDME), em múltiplas cirurgias periodontais, não foi detectado nenhum aumento na reação de anticorpos.

A vantagem da PDME é que ela pode aumentar o potencial osseointegrador de outro material, quando em associação, e a sua desvantagem é o custo benefício para o paciente que é muito alto.

Considerando os resultados promissores alcançados nos estudos iniciais realizados com a proteína derivada da matriz de esmalte, um melhor conhecimento de suas propriedades e efeitos clínicos ainda se faz necessário.

CONCLUSÃO

Com base na revisão de literatura pesquisada podemos concluir que:

1. A proteína derivada da matriz de esmalte estimula, *in vitro*, as células do ligamento periodontal, podendo contribuir para os estágios iniciais da regeneração.
2. Defeitos intraósseos tratados com a proteína derivada da matriz de esmalte apresentam resultados clínicos e histológicos satisfatórios, porém nem sempre superiores ao tratamento convencional.
3. A proteína derivada da matriz de esmalte pode constituir em mais uma opção no tratamento regenerativo dos defeitos periodontais, porém mais estudos adicionais são necessários para definir seus reais benefícios clínicos e indicações.

ABSTRACT

It has been showed that the enamel matrix proteins derivative, specifically amelogenin, play an important role in the development of cement and other periodontal tissues. In this review we will discuss about *in vitro*, histological and clinical studies of these proteins used for regeneration treatment of periodontal defects.

KEYWORDS

Furcation defects; bone regeneration; guided tissue regeneration; dental enamel proteins.

REFERÊNCIAS

1. ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTOLOGIA **Glossary of periodontol.**, terms. 3 ed. Chicago, 1992.
2. ARAÚJO, M.G.; LINDHE, J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 25, n. 6, p. 524-530, jun. 1998.
3. BOYAN, B.D. et al. Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft. *In vivo*. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 8, p. 1278-1286, aug. 2000.
4. BROOKES, S.J. et al. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 1-14, jan. 1995.
5. CARDAROPOLI, G.; LEONHARDT, A.S. Enamel matrix proteins in the treatment of deep intrabony defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 73, n. 5, p. 501-504, may 2002.
6. FROUM, S.J. et al. 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.**, Chicago, v. 72, n. 1, p. 25-34, jan. 2001.
7. GESTRELIUS, S. et al. *In vitro* studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 3, p. 685-692, sept. 1997.
8. GESTRELIUS, S. et al. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 3, p. 678-684, sept. 1997.
9. HAMMARSTRÖM, L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 3, p. 658-668, sept. 1997.
10. HAMMARSTRÖM, L.; HEIJL, L.; GESTRELIUS, S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 4, p. 669-677, sept. 1997.
11. HEIJL, L. et al. Enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of intrabony periodontal defects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 4, p. 705-714, sept. 1997.
12. HIROOKA, H. The biologic concept for the use of enamel matrix protein: true periodontal regeneration. **Quintessence Int.**, Illinois, v. 29, n. 10, p. 621-630, oct. 1998.
13. HOANG, A.M.; OATES, T.W.; COCHRAN, D.L. *In vitro* wound healing responses to enamel matrix derivative. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 8, p. 270-277, aug. 2000.
14. LEKOVIC, V. et al. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 7, p. 1110-1116, jul. 2000.
15. LYGSTADAAS, S.P. et al. Increased TGF- β production in PDL cells grown on EMDOGAIN® matrix. **J. Dent. Res.**, Alexandria, v. 78, n. 189, p. 1999. Abstract n. 671.
16. MELLONIG, J.T. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 19, n. 1, p. 9-19, feb. 1999.
17. OKUDA, K. et al. Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 12, p. 1821-1828, dec. 2000.
18. PONTORIERO, R.; WENNSTRÖM, J.; LINDHE, J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 26, n. 12, p. 833-840, dec. 1999.
19. ROCHA, E.F. **O uso da proteína derivada da matriz do esmalte no tratamento de lesões de furca grau II: estudo histométrico em cães**. Araraquara, 1999. 103p. Dissertação (Mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho".
20. SCULEAN, A. et al. Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, n. 3, p. 255-262, mar. 1999.
21. SCULEAN, A. et al. Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v. 34, n. 7, p. 310-322, aug. 1999.
22. SCULEAN, A. et al. Treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain®): a report of 32 cases. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 19, n. 2, p. 157-163, apr. 1999.
23. TONETTI, M.S. et al. Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 29, n. 4, p. 317-325, apr. 2002.
24. VAN DER PAUW, M.T. et al. 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.**, Chicago, v. 71, n. 1, p. 31-43, jan. 2000.
25. YUKNA, R.A.; MELLONIG, J.T. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 71, n. 5, p. 752-759, may 2000.
26. ZETTERSTRÖM, O. et al. Clinical safety of enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of periodontal defects. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 24, n. 4, p. 697-704, sept. 1997.

Endereço para correspondência

José Marcos Alves Fernandes

Dep. de Ciências Estomatológicas da Faculdade de Odontologia da UFG
Praça Universitária esq. c/ 1ª Avenida - Setor Universitário
CEP: 74.605 - 220
Telefone: 521-1524
e-mail: zimaco@ig.com.br