

Primjena proteinskog derivata matriksa cakline (Emdogain®) pri regenerativnom liječenju parodonta: koji se oblici primjene zasnivaju na dokazima?

Anton Sculean
Adrian Kašaj
Britta Willershausen

Odjel za konzervativnu
stomatologiju i
parodontologiju
Sveučilišta Johannes
Gutenberg, Mainz

Sažetak

Cilj je regenerativnog liječenja parodonta ponovno uspostaviti izgublenu građu parodonta (t.j. obnova korijenskoga cementa, parodontnoga ligamenta i alveolarne kosti). Rezultati temeljnih istraživanja upućuju na važnu ulogu proteinskog derivata matriksa cakline (enamel matrix protein derivative, EMD) u cijeljenju oštećenja parodonta. Histološki rezultati pokusa na životinjama i izvješća o slučajevima u ljudi, pokazuju da se primjenom EMD-a pospješuje obnova parodonta. Štoviše, klinička istraživanja upućuju na zaključak da se primjenom EMD-a pozitivno utječe na cijeljenje parodontnih rana u čovjeka. Cilj je ovoga preglednog rada, na osnovi postojećih podataka iznijeti koje su kliničke indikacije za regenerativnu primjenu EMD-a.

Ključne riječi: proteinski derivat matriksa cakline, cementogeneza, liječenje parodonta, regeneracija parodonta.

Acta Stomat Croat
2004; 215-222

STRUČNI RAD
Primljeno: 8. prosinca 2003.

Adresa za dopisivanje:

Dr. Anton Sculean, M.S.
Department of Conservative
Dentistry and Periodontology
Augustusplatz 2
D-55131 Mainz, Germany
tel.: 0040/6131/17-3052
tel./faks: 0049/6131/17-3406

Uvod

Rezultati temeljnih istraživanja upućuju na ulogu različitih vrsta cementa u pričvršćivanju zuba i u procesima obnove u cijelom parodontu. Bezstanični cement najvažnije je tkivo za prihvaćanje kolagenih vlakana (1) i stoga igra najvažniju ulogu u pričvršćivanju zuba u alveolarnu jamu. Istraživanja SLAVKINA i BOYDA (2) i SLAVKINA (3) pokazuju da proteini koji se tijekom razvoja zuba luče iz Hertwigove korijenske ovojnice, igraju ključnu ulogu u stvaranju bezstaničnog korijenskoga cementa. Ti proteini, koji se nazivaju proteini matriksa cakline, čine najveći dio matriksa cakline (1, 4). To je cijela obitelj proteina, od kojih 90% čini amelogenin, a preostalih

10% čine prolinom bogati neamelogenini, tufelin i ostali serumski proteini (1). Pokazalo se da je kemijska građa amelogenina tijekom evolucije ostala više-manje nepromijenjena, pa čak i u pojedinih životinjskih vrsta postoje samo male razlike u građi (5). U nizu istraživanja razvoja korijena u štakora, majmuna i svinja, imunohistokemijski je dokazano da se koncentracija amelogenina dramatično povećava tijekom razvoja zuba (1). Uz to postoji i tijesna povezanost između bezstaničnog cementa i amelogenina (1). Ti su rezultati potvrđeni i istraživanjima zuba u čovjeka, gdje je na nekim histološkim rezovima uočen tanak sloj visoko mineralizirane cakline između dentina i korijenskoga cementa. Na temelju toga nalaza može se pretpostaviti da se matriks ca-

kline mora na površinu dentina prihvatiti prije pojave bezstaničnog cementa (1). Ti su rezultati potaknuli izvođenje nekoliko pokusa *in vivo* u životinjskih modela (1). U jednom od njih, izvađeni su lateralni sje-kutići dvama majmunima. Odmah nakon vađenja, načinjene su na površini zuba standardizirane šupljine mezijalno i distalno. Pokusne su šupljine ispunjene derivatom matriksa cakline, a one kontrolne ostavljene su netaknute. Potom su svi zubi reimplantirani u svoje izvorne alveole. Histološkom evaluacijom osam tjedana nakon implantacije, dokazano je stvaranje bezstaničnog cementa u defektima u koje je unesen derivat matriksa cakline; u kontrolnim defektima, bez derivata matriksa cakline, razvio se samo reparativni, stanični cement (1). Na temelju tih nalaza, u mladim je svinja, iz zubnih vrećica zuba koji još nisu niknuli, izdvojen derivat matriksa cakline (enamel matrix derivative, EMD), te je pročišćen i liofiliziran. Budući da je EMD krajnje hidrofoban, prije negoli je uporabljen za regenerativno liječenje parodonta, doveden je u topljivo stanje vezanjem na nosač od propilenglikolnog alginata (PGA) (1). Međutim, da bi se metoda ili materijal svrstali u skupinu onih koji "pospješuju regeneraciju", moraju zadovoljiti sljedeća mjerila (6):

1. Istraživanjima *in vitro* treba potvrditi mehanizam djelovanja.
2. Treba provesti kontrolirana histološka istraživanja u životinja, kojima će se pokazati stvaranje novog korijenskoga cementa, parodontnog ligamenta i alveolarne kosti.
3. Mora postojati ljudski biopsijski materijal, koji pokazuje stvaranje parodontnog ligamenta i alveolarne kosti na površini inficiranoj plakom.
4. Moraju se provesti klinička istraživanja, koja će klinički potvrditi pričvršćivanje i radiološki pokazati stvaranje kosti. U tekstu niže iznose se dosadašnji rezultati kliničke primjene EMD-a.

Istraživanja *in vitro*

Provedeno je nekoliko istraživanja *in vitro*, kojima je istražen mehanizam djelovanja EMD-a na gingivne i koštane stanice dezmodonta (7-17). Stoga su nizom laboratorijskih istraživanja provjereni migracija, prihvaćanje, proliferacija, sposobnost biosinteze i stvaranje mineraliziranih čvorića nakon pri-

mjene EMD-a. Moguća prisutnost postojećih polipeptidnih čimbenika provjerena je imunotestovima (8, 9). Rezultati su pokazali: a) da EMD pospješuje proliferaciju fibroblasta parodontnog ligamenta, no ne i proliferaciju epitelnih stanica, b) da se povećava ukupna sinteza proteina u fibroblastima parodontnog ligamenta, te c) da se pospješuje stvaranje mineraliziranih čvorića posredovano fibroblastima parodontnog ligamenta. Nadalje, nije se mogla dokazati prisutnost specifičnih polipeptidnih čimbenika poput IGF-1 i 2, PDGF, TNF, TGF- β i IL-1 β . Daljim se istraživanjima pokazalo da su se, nakon dodavanja EMD-a staničnim kulturama, statistički znatno povećali sposobnost prihvaćanja, rast i metabolička aktivnost dezmodontnih fibroblasta (8-11, 13). Štoviše, u fibroblastima parodontnog ligamenta dokazana je, nakon inkubacije s EMD-om, povećana koncentracija unutarstaničnog cAMP i autokrino oslobađanje TGF-1 β , IL-6 i PDGF u usporedbi s kontrolnom skupinom (bez dodavanja EMD-a) (13). Premda su epitelne stanice, nakon dodatne primjene EMD-a, pokazale pojačano oslobađanje cAMP i PDGF, njihova proliferacija i rast bili su zakočeni (11, 13). Zaključeno je da EMD pospješuje rast mezenhimskih stanica, istodobno kočeci rast epitelnih stanica. Također je zaključeno da EMD pospješuje oslobađanje autokrinih čimbenika rasta iz dezmodontnih fibroblasta (13). Nadalje, dezmodontni su fibroblasti pokazali statistički znatan porast aktivnosti alkalne fosfataze nakon dodavanja EMD-a (17). Najnovija su istraživanja pokazala da EMD statistički znatno pojačava sintezu mRNA matriksnih proteina versikana, biglikana i dekorina, te se pojačava i sinteza hijaluronana u gingivnim i dezmodontnim fibroblastima (10). Valja, međutim, istaknuti da je EMD u svim istraživanjima pokazao znatno jače djelovanje na dezmodontne negoli na gingivne fibroblaste. Dalja su istraživanja pokazala da se primjenom EMD-a može regulirati ekspresija gena povezanih s cementoblastima, što pak ključno utječe na proces mineralizacije (16). Kawase i sur. (18) su istražili djelovanje EMD-a na proliferaciju stanica oralnoga epitela (SCC25). Nakon tri dana inkubacije s EMD-om zakočena je dioba stanica i istodobno je stanični ciklus zaustavljen u fazi G1. Uz to, pokazalo se da se dodavanjem EMD-a statistički znatno ograničila ekspresija citokeratina-18 (CK 18). Autori su zaključili da EMD ne djeluje citostatski na epitelne stanice, već citotoksično (18).

U istraživanju *in vitro*, dokazana je pojačana indukcija stvaranja kosti kombinacijom 4 mg EMD i aktivne demineralizirane liofilizirane alogenske kosti (demineralized freeze-dried allogenic bone, DFDBA) (7). Zaključeno je da EMD, kad se primijeni u određenim koncentracijama, iskazuje više osteopromocijska negoli osteoindukcijska svojstva (7). Schwartz i sur. (15) su pokazali da EMD, pospješujući proliferaciju stanica, stimulira sazrijevanja osteoblasta u ranim stadijima. Kada se, međutim, doda kulturama zrelih stanica, djeluje uglavnom na diferencijaciju stanica. Nedavno se pokazalo da EMD djeluje i protubakterijski i da remeti adheziju bakterija (19-22). U 24 bolesnika s kroničnim parodontitisom, uzeti su uzorci plaka četiri dana od početka njegova nakupljanja i podijeljeni u pet jednakih dijelova (21). Svaki je dio pomiješan s 5 μl sljedećih otopina: 1) NaCl, 2) EMD otopljen u vodi, 3) EMD otopljen u nosaču PGA, 4) nosač PGA, 5) klorheksidin-diglukonat (chlorohexidine digluconate, CHX). Potom se vitalnost flore plaka provjeravala fluorescentnim mikroskopom. Rezultati su pokazali vrlo snažno protubakterijsko djelovanje EMD-a otopljenog u nosaču PGA. Zaključeno je da se protubakterijsko djelovanje EMD-a može pripisati pretežno djelovanju nosača PGA. Iduće je istraživanje pokazalo da EMD koči rast parodontnih patogenih bakterija *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia*. Dvadesetčetiri sata nakon primjene EMD-a nije više bilo živih kolonija patogenih bakterija. Štoviše, EMD nije negativno utjecao na gram-pozitivne bakterije (22). Inhibicijsko djelovanje EMD-a na parodontne patogene bakterije potvrdili su i drugi autori (20).

U zaključku, podatci istraživanja *in vitro* upućuju na zaključak da EMD utječe na važne mehanizme cijeljenja.

Kontrolirana histološka istraživanja u pokusnih životinja

U kontroliranom histološkom istraživanju načinjeni su recesijski defekti i na njih se djelovalo s EMD (23). Standardizirani su defekti načinjeni kirurškim uklanjanjem cijele bukalne koštane plohe i korijenskog cementa. Na pokusne je defekte nanesen EMD, a kontrolni su defekti prekriveni koronalno

postavljenim režnjem. Životinje su žrtvovane osam tjedana nakon kirurškog zahvata, te su histološki evaluirani odgovarajući dijelovi čeljusti. Rezultati su pokazali da se u svih defekata razvila nova alveolarna kost i novi parodont, t.j. bezstanični cement s prihvaćenim kolagenim vlaknima, a proces cijeljenja bio je obilježen pojavom dugog veznog epitela s vrlo ograničenim cementom i stvaranjem nove kosti. Ako se u kontrolnim defektima i stvarao novi cement, on je uglavnom bio više bezstaničan i samo djelomice učvršćen za površinu korijena. Zanimljiv aspekt ovoga istraživanja je i otkriće da u pokusnim defektima nije bilo resorpcije korijena, dok je u kontrolnim defektima resorpcija korijena bila vrlo česta pojava. Važno je spomenuti da se za cijelog trajanja pokusa nisu provodile nikakve mjere održavanja higijene usne šupljine. U dva iduća istraživanja u majmuna, kirurški su načinjeni unutarkoštani defekti (24, 25). Njih se liječilo jednim od sljedećih terapijskih pristupa: a) vođenom regeneracijom tkiva (guided tissue regeneration, GTR, b) EMD, c) EMD + GTR, ili d) konvencionalnim kirurškim debridmanom režnja (kontrola). Histološka je raščlamba pokazala da je cijeljenje nakon kirurškog debridmana bilo obilježeno stvaranjem dugog veznog epitela i ograničenom regeneracijom parodonta, dok je liječenje primjenom GTR, EMD i EMD+GTR rezultiralo stvaranjem cementa s uraslim kolagenim vlaknima, kao i stvaranjem alveolarne kosti (24, 25).

Rezultati histoloških istraživanja u ljudi

Prve rezultate histološke raščlambe bioptičkog materijala u ljudi objavio je Heijl (26). Kirurški je načinjen recesijski defekt na donjem sjekutiću i liječen primjenom EMD-a. Nakon razdoblja cijeljenja od četiri mjeseca, izvađen je zub zajedno s okolnim mekim i tvrdim tkivom i histološki evaluiran. Histološka je raščlamba pokazala da je novim slojem bezstaničnog korijenskoga cementa bilo prekriveno 73% izvorne dubine defekta. Alveolarna se kost obnovila na 65% svoje izvorne visine. U drugom su istraživanju Yukna i Mellonig (27) liječili s EMD-om deset unutarkošanih defekata u osam bolesnika. Histološka raščlamba obavljena šest mjeseci nakon liječenja pokazala je potpunu obnovu parodonta u tri bioptička uzorka (tj. stvaranje novog korijenskoga cementa, parodontnog ligamenta i al-

veolarne kosti), dok je u tri druga bioptička uzorka proces cijeljenja bio obilježen stvaranjem novih pričvrstaka vezivnog tkiva (t.j. stvaranjem novog cementa s uraslim kolagenim vlaknima). U četiri bioptička uzorka proces cijeljenja bio je obilježen stvaranjem dugog veznog epitela, bez ikakvih znakova obnove parodonta. Usporedbenim kliničkim i histološkim istraživanjem evaluirano je cijeljenje unutarkoštanah parodontnih defekata nakon primjene EMD-a ili nakon vođene regeneracije tkiva (GTR) s bioapsorbirajućom zaprekom (28). Šest mjeseci nakon liječenja, klinička je procjena razine pričvrstaka (clinical attachment level, CAL) pokazala prosječni prirast od $3,2 \pm 1,2$ mm u skupini liječenoj primjenom EMD-om, u odnosu na $3,6 \pm 1,7$ mm u skupini liječenoj metodom GTR. Histološka je analiza pokazala da je u obje skupine proces cijeljenja bio pretežno obilježen regeneracijom parodonta (28). Srednja vrijednost prirasta novog cementa i parodontnoga ligamenta iznosila je $2,6 \pm 1,0$ mm u skupini liječenoj primjenom EMD, u usporedbi s $2,1 \pm 1,0$ mm u skupini liječenoj metodom GTR. Srednja vrijednost prirasta nove alveolarne kosti iznosila je $0,9 \pm 1,0$ mm u skupini liječenoj primjenom EMD, a $2,1 \pm 1,0$ mm u skupini liječenoj metodom GTR. Reparativno cijeljenje obilježeno rastom dugog veznog epitela uočeno je u samo jednom biopsijskom uzorku iz skupine liječene primjenom EMD-a. Rezultati istraživanja pružili su dokaze da se primjenom EMD-a pospješuje obnova parodonta u ljudi, te da se tim pristupom mogu postići slični klinički i histološki rezultati kao i primjenom GTR. Ti su rezultati kasnije potvrđeni istraživanjima drugih autora, ne samo na unutarkoštanah defektima već i na onima recesijskog tipa (29-32). Najnovija imunohistološka istraživanja u ljudi također su pokazala da se EMD na površini korijena zadržava do četiri tjedna nakon kirurškog zahvata, te da se proces cijeljenja rane i/ili remodeliranja može pratiti tijekom razdoblja do šest mjeseci nakon primjene EMD-a (33, 34). Međutim, obnova parodonta nije uočena kad se EMD na defekte parodonta nanosio bez kirurškog zahvata (35).

Kontrolirana klinička istraživanja

Ni u jednom od objavljenih kliničkih istraživanja nisu uočene nuspojave poput, na primjer, nekompatibilnosti i alergijskih reakcija, čak ni nakon opeto-

vane primjene EMD (36-38). Podatci prikupljeni u kontroliranim kliničkim istraživanjima pokazali su da se primjenom EMD-a unutarkoštanah defekata statistički znatno smanjuje dubina džepova pri provjeri sondom i pojačava kliničko učvršćivanje. U randomiziranom, placebo kontroliranom, multicentričnom istraživanju provjerena je djelotvornost primjene EMD-a metodom split-mouth u 33 bolesnika. Rezultati nakon 36 mjeseci pokazali su srednji prirast CAL od 2,2 mm u pokusnoj skupini, a 1,7 u kontrolnoj skupini (liječenoj debridmanom otvorenog režnja). Radiološki procijenjen prirast koštanog tkiva iznosio je 2,6 mm u pokusne skupine, uz 66% ispune koštanah defekata. U kontrolnih zuba, međutim, nije uočen nikakav prirast koštanog tkiva. U drugom su kontroliranom kliničkom istraživanju Froum i sur. (40) usporedili liječenje dubokih unutarkoštanah defekata operacijom režnja i primjenom EMD-a. U 23 bolesnika s najmanje po dva unutarkoštanah defekata, ukupno su 53 defekata liječena kombinacijom operacije režnja + EMD, a 31 je defekt liječen samo operacijom režnja. Nakon razdoblja cijeljenja od 12 mjeseci, defekti su ponovno otvoreni i procijenjena je njihova ispunjenost. Rezultati su pokazali da je kombinacijom kirurškog zahvata i EMD-a postignuto tri puta veće ispunjavanje defekata negoli samim kirurškim zahvatom (ispuna defekata od 74% pri kombinaciji kirurški zahvat + EMD u odnosu na ispunu defekata od 23% pri samom kirurškom zahvatu) (40). U idućem je prospektivnom, kontroliranom kliničkom istraživanju ukupno 40 bolesnika liječeno kirurškim zahvatom u kombinaciji s EMD ili s GTR, te bez ili s biološki neapsorbirajućom ili s dvije biološki apsorbirajuće zapreke i uspoređeno s kontrolnom skupinom liječenom samo operacijom režnja (kontrola) (41). Sva četiri regenerativna postupka pokazala su se jednako djelotvornima s obzirom na smanjenje dubine džepova izmjerene sondom (probing depth, PD) i prirast CAL-a, te je i u jednom i u drugom pokazatelju uočena statistički znatna razlika u odnosu na kontrolno liječenje. U prospektivnom, randomiziranom, multicentričnom kliničkom istraživanju provjereno je liječenje unutarkoštanah defekata metodom očuvanja papile uz istodobnu primjenu EMD-a ili bez nje (42). Liječena su ukupno 83 pokusna i 83 kontrolna defekta. Nakon godine dana rezultati su pokazali statistički veći prirast CAL-a u pokusnoj skupini u odnosu na kontrolnu (42). Provedbom uporedbenih istraživanja, dobiveni su usporedivi rezul-

tati nakon liječenja unutarkoštanah defekata primjenom EMD-a i GTR-a, pri čemu vrsta zapreke GTR (biološki neapsorbirajuća ili biološki apsorbirajuća) nije igrala ulogu (41, 43-45). U prospektivnom, kontroliranom kliničkom istraživanju, provjereno je liječenje unutarkoštanah defekata primjenom EMD, GTR, kombinacijom EMD+GTR i operacijom režnja (44). Rezultati su pokazali da su sva tri regenerativna postupka rezultirala statistički znatnim poboljšanjem kliničkih pokazatelja u usporedbi s konvencionalnom operacijom režnja, no kombinacijom EMD+GTR nije postignuto dodatno poboljšanje. Podatci prikupljeni kontroliranim kliničkim istraživanjima općenito pokazuju da se dodatnom primjenom EMD-a, uz kirurško liječenje dubokih unutarkoštanah defekata parodonta, mogu postići statistički znatno bolji klinički rezultati u usporedbi s debridmanom režnja (39, 41, 42, 44-47). Klinički su rezultati takva pristupa usporedivi s onima koji se postižu metodom GTR-a. Najnoviji podatci pokazuju i da se klinički rezultati postignuti liječenjem unutarkoštanah defekata primjenom EMD-a mogu održavati tijekom dugog vremenskog razdoblja (4 i/ili 5 godina) (48-50).

Kombinirani oblici liječenja

Rezultati eksperimentalnih i kliničkih istraživanja uputili su na mogućnost da je stupanj regeneracije zadan dostupnim prostorom ispod mukoperiostnog režnja (28, 51). Kolapsom mukoperiostnog režnja može se ograničiti područje nužno za proces obnove, a time i utjecati na rezultat liječenja. Da bi se izbjegao taj nedostatak, provjerene su moguće koristi od kombiniranog pristupa EMD i GTR i/ili EMD i nadomještanja kosti u liječenju defekata. Histološke analize u pokusnih životinja i u ljudi pokazale su da se nekima od tih kombinacija može postići regeneracija parodonta unutarkoštanah defektima. Podatci prikupljeni kontroliranim kliničkim istraživanjima su proturječni i ne upućuju jasno na prednosti kombiniranog liječenja u odnosu na dokazanu primjenu samog EMD-a (24, 25, 44, 52-58).

Liječenje recesijskih defekata

Rezultati histološke raščlambe u pokusnih životinja i ljudi pokazali su da se liječenjem bukalnih re-

cesijskih defekata koronalno položenim režnjem i primjenom EMD-a može postići ne samo prekrivanje gingivne recesije, već i stvaranje cementa, parodontnog ligamenta i kosti (23, 24, 26, 29, 31). U dva nadzirana klinička istraživanja istražena je djelotvornost liječenja gingivnih recesija razreda I i II po Milleru, s koronalno smještenim režnjem i s EMD u odnosu na samo koronalno smješteni režanj, služeći se metodom split-mouth (59, 60). Nisu uočene razlike u načinu liječenja, sudeći po prekrivenosti korijena. Dodatnom primjenom EMD postignuto je, međutim, statistički znatno jače stvaranje keratiniziranog tkiva negoli pri primjeni same tehnike koronalno smještenog režnja (59). U nedavno objavljenom kontroliranom kliničkom istraživanju u 17 bolesnika, uspoređeno je liječenje bukalnih recesija razreda I i II po Milleru, koronalno smještenim režnjem i EMD metodom split-mouth (pokusna skupina), u odnosu na koronalno smješteni režanj i presadak vezinog tkiva (61). Godinu dana nakon provedenog liječenja, prekrivenost korijena iznosila je 95,1% u pokusnoj skupini, a 93,8% u kontrolnoj skupini. Stopostotna prekrivenost korijena postignuta je u 89,5% slučajeva u pokusnoj skupini i u 79% slučajeva u kontrolnoj skupini. Dodatna histološka evaluacija dvaju bioptičkih uzoraka pokazala je da je liječenje recesijskih defekata koronalno položenim režnjem i EMD-om rezultiralo stvaranjem korijenskog cementa, parodontnog ligamenta i alveolarne kosti, dok je liječenje koronalno položenim režnjem i presadkom vezivnog tkiva bilo obilježeno stvaranjem dugog spojnog epitela, pa i znacima resorpcije korijena (29).

Liječenje furkacijskih defekata

Rezultati histološke analize u majmuna pokazuju da se liječenjem furkacijskih defekata u gornjoj čeljusti primjenom EMD-a ne može postići predvidljiv stupanj obnove parodonta (62). Za sada nema histoloških podataka u čovjeka o cijeljenju furkacijskih defekata nakon primjene EMD-a. Dosad nije bilo ni kontroliranih kliničkih istraživanja kojima bi se procijenila djelotvornost liječenja furkacijskih defekata operacijom režnja, sa i bez istodobne primjene EMD-a. Jednim je multicentričnim, randomiziranim, kliničkim istraživanjem metodom split-mouth, upoređeno liječenje mandibularnih furkacijskih defekata

II. razreda primjenom EMD-a i GTR-a (63). Rezultati su pokazali da primjenom EMD-a nije postignut statistički znatno veći CAL ni ispuna kosti, negoli primjenom GTR-a.

Zaključci

Na temelju postojećih podataka mogu se izvesti niže navedeni zaključci.

- a. Kirurškim liječenjem dubokih unutarkoštanah defekata uz primjenu EMD-a pospješuje se regeneracija parodonta. Primjenom EMD-a u kontekstu nekirurškog liječenja parodonta nije se uspjelo pospješiti regeneraciju parodonta.
- b. Kirurškim liječenjem dubokih unutarkoštanah defekata uz primjenu EMD-a može se postići znatnije poboljšanje kliničkih pokazatelja negoli samim debridmanom reznja. Rezultati koji se dobiju nakon primjene EMD-a usporedivi su s onima koji se postižu primjenom GTR-a.
- c. Za sada još nema jasnih dokaza koji bi davali prednost kombiniranom liječenju primjenom EMD-a i GTR-a ili EMD-a i koštanih nadomjestaka, u odnosu na primjenu samo jednog od tih postupaka.

Literatura

1. HAMMARSTRÖM L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 658-68.
2. SLAVKIN HC, BOYDE A. Cementum: An epithelial secretory product? *J Dent Res* 1975; 53: 157 (abstr. 409).
3. SLAVKIN HC. Towards a cellular and molecular understanding of periodontics: Cementogenesis revisited. *J Periodontol* 1976; 47: 249-55.
4. LINDSKOG S, HAMMARSTRÖM L. Formation of intermediate cementum III: 3H-tryptophane and 3H proline uptake into the epithelial root sheath of Hertwig *in vitro*. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1982; 2: 172-7.
5. BROOKES SJ, ROBINSON C, KIRKHAM J, BONASS WA. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Arch Oral Biol* 1995; 40: 1-4.
6. WORLD WORKSHOP IN PERIODONTOLOGY. The American Academy of Periodontology. *Ann Periodontol* 1996; 1: 618-70.
7. BOYAN BD, WEESNER TC, LOHMANN CH, ANDREACCHIO D, CARNES DL, DEAN DD, COCHRAN DL, SCHWARZ Z. Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft *in vivo*. *J Periodontol* 2000; 71: 1278-86.
8. GESTRELIUS S, ANDERSSON C, JOHANSSON AC, PERSSON E, BRODIN A, RYDHAG L, HAMMARSTRÖM L. Formulation of enamel matrix derivative surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 678-84.
9. GESTRELIUS S, ANDERSSON C, LIDSTRÖM D, HAMMARSTRÖM L, SOMMERMAN M: *In vitro* studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 685-92.
10. HAASE HR, BARTOLD PM. Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast cells. *J Periodontol* 2001; 72: 341-8.
11. HOANG AM, OATES TW, COCHRAN DL. *In vitro* wound healing responses to enamel matrix derivative. *J Periodontol* 2000; 71: 1270-7.
12. HOANG AM, KLEBE RJ, STEFFENSEN B, RYU OH, SIMMER JP, COCHRAN D L. Amelogenin is a cell adhesion protein. *J Dent Res* 2002; 81: 497-500.
13. LYGSTADAAS SP, LUNDBERG E, EKDAHL H, ANDERSSON C, GESTRELIUS S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 181-8.
14. OKUDA K, MIYAZAKI A, MOMOSE M, MURATA M, NOMURA T, KUBOTA T, WOLFF LF, YOSIE H. Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDOGAIN). *J Periodont Res* 2001; 36: 309-16.
15. SCHWARTZ Z, CARNES DL JR, PULLIAM R, LOHMANN, C H, SYLVIA V, LIU Y, DEAN DD, COCHRAN DL, BOYAN BD. 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* 2000; 71: 1287-96.
16. TOKIYASU Y, TAKATA T, SAYGIN E, SOMMEMANN M. Enamel factors regulate expression of genes associated with cementoblasts. *J Periodontol* 2000; 71: 1829-39.
17. VAN DER PAUW MT, VAN DEN BOS T, EVERTS V, BEERTSEN W. Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblast and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor β 1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 2000; 71: 31-43.
18. KAWASE T, OKUDA K, YOSHIE H, BURNS D M. Cytostatic action of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) on human oral squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells. *J Periodont Res* 2000; 35: 291-300.
19. ARWEILER NB, AUSCHILL TM, DONOS N, SCULEAN A. Antibacterial effect of an enamel matrix protein deriv-

- ative on *in vivo* dental biofilm vitality. Clin Oral Invest 2002; 6: 205-9.
20. NEWMAN SE, COSCIA SA, JOTWANI R, IACONO VJ, CUTLER CW. Effects of enamel matrix derivative on Porphyromonas gingivalis. J Periodontol 2003; 74: 1191-5.
 21. SCULEAN A, AUSCHILL TM, DONOS N, BRECX M, ARWEILER N. Effect of an enamel matrix derivative (Emdogain®) on ex vivo dental plaque vitality. J Clin Periodontol 2001; 28: 1074-8.
 22. SPAHR A, LYGSTADAAS SP, BOECKH C, ANDERSSON C, PODBIELSKI A, HALLER B. Effect of the enamel matrix derivative Emdogain® on the growth of periodontal pathogens *in vitro*. J Clin Periodontol 2001; 29: 62-72.
 23. HAMMARSTRÖM L, HEIJL L, GESTRELIUS S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. J Clin Periodontol 1997; 24: 669-77.
 24. SCULEAN A, DONOS N, REICH E, BRECX M, KARRING T. Healing of recession-type defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. A pilot study in monkeys. J Parodontol Implant Orale 2000; 19: 19-31.
 25. SCULEAN A, DONOS N, BRECX M, REICH E, KARRING T. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. An experimental study in monkeys. J Clin Periodontol 2000; 27: 466-72.
 26. HEIJL L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. J Clin Periodontol 1997; 24: 693-6.
 27. YUKNA RA, MELLONIG J. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. J Periodontol 2000; 71: 752-9.
 28. SCULEAN A, DONOS N, WINDISCH P, GERA I, BRECX M, REICH E, KARRING T. Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. J Periodont Res 1999; 34: 310-22.
 29. MCGUIRE MK, COCHRAN DL. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 2: Histological evaluation. J Periodontol 2004; 74: 1126-35.
 30. MELLONIG JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report. Int J Periodontics Restorative Dent 1999; 19: 9-19.
 31. RASPERINI G, SILVESTRI M, SCHENK RK, NEVINS ML. Clinical and histological evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain): a case report. Int J Periodontics Restorative Dent 2000; 20: 269-75.
 32. SCULEAN A, CHIANTELLA GC, WINDISCH P, DONOS N. Clinical and histologic evaluation of treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative (Emdogain®). Int J Periodont Rest Dent 2000; 20: 375-81.
 33. SCULEAN A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, FABI B, LUNDGREN E, LYGSTADAAS P S. Presence of an enamel matrix protein derivative on human teeth following periodontal surgery. Clin Oral Invest 2002; 6: 183-7.
 34. SCULEAN A, JUNKER R, DONOS N, WINDISCH P, BRECX M, DÜNKER N. Immunohistochemical evaluation of matrix molecules associated with wound healing following treatment with an enamel matrix protein derivative in humans. Clin Oral Invest 2003; 7: 167-74.
 35. SCULEAN A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, GERA I. Histologic evaluation of human intrabony defects following non-surgical periodontal therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative. J Periodontol 2003; 74: 153-60.
 36. PETINAKI E, NIKOPOULOS S, CASTANAS E. Low stimulation of peripheral lymphocytes, following *in vitro* application of Emdogain. J Clin Periodontol 1998; 25: 715-20.
 37. NEBGEN DR, INOUE H, SABSAY B, WEI K, HO CS, VEIS A. Identification of the chondrogenic-inducing activity from bovine dentin (bCIA) as a low-molecular-mass amelogenin polypeptide. J Dent Res 1999; 78: 1484-94.
 38. NIKOPOULOS S, PETINAKI E, CASTANAS E. Immunologic effects of Emdogain in Humans: One-year results. Int J Periodontics Restorative Dent 2002; 22: 269-77.
 39. SCULEAN A, DONOS N, REICH E, BRECX M, KARRING T. Healing of recession-type defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. A pilot study in monkeys. J Parodontol Implant Orale 2000; 19: 19-31.
 40. FROUM SJ, WEINBERG MA, ROSENBERG E, TARNOW D. A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-month re-entry study. J Periodontol 2001; 72: 25-34.
 41. 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 1999; 26: 833-40.
 42. TONETTI MS, LANG NP, CORTELLINI P, SUVAN JE, ADRIAENS P, DUBRAVEC D, FONZAR A, FOURMOUSIS I, MAYFIELD L, ROSSI R, SILVESTRI M, TIEDEMANN C, TOPOLL H, VANGSTED T, WALLKAMM B. Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2002; 29: 317-25.
 43. SCULEAN A, DONOS N, BLAES A, LAUERMAN M, REICH E, BRECX M. Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. J Periodontol 1999; 70: 255-62.
 44. SCULEAN A, WINDISCH P, CHIANTELLA GC, DONOS N, BRECX M, REICH E. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. J Clin Periodontol 2001; 28: 397-403.

45. 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* 2002; 73: 3-12.
46. OKUDA K, MOMOSE M, MIYAZAKI A, MURATA M, YOKOHAMA S, YONEZAWA Y, WOLFF LF, YOSHIE H. Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *J Periodontol* 2000; 71: 1821-8.
47. SILVESTRI M, RICCI G, RASPERINI G, SARTORS S, CATTANEO V. Comparison of treatments of intrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. A pilot study. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 603-10.
48. SCULEAN A, DONOS N, MILIAUSKAITE A, ARWEILER N, BRECX M. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or bioresorbable membranes. A four year follow up splith-mouth study. *J Periodontol* 2001; 72: 1695-701.
49. SCULEAN A, CHIANTELLA GC, MILIAUSKAITE A, BRECX M, ARWEILER NB. Four-year results following treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix protein derivative. A report of 46 cases. *Int J Periodont Rest Dent* 2003; 23: 345-51.
50. SCULEAN A, DONOS N, SCHWARZ F, BECKER J, BRECX M, ARWEILER NB. Five year results following treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* (im Druck)
51. TONETTI MS, PINI-PRATO GP, CORTELLINI P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 548-56.
52. LEKOVIC V, CAMARGO PM, WEINLAENDER M, NEDIC M, ALEKSIC Z, KENNEY BE. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol* 2000; 71: 1695-701.
53. SCULEAN A, BARB... G, CHIANTELLA GC, ARWEILER NB, BERAKDAR M, BRECX M. Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol* 2002; 73: 401-8.
54. SCULEAN A, CHIANTELLA GC, WINDISCH P, GERA I, REICH E. Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative (Emdogain®) combined with a bovine derived xenograft (Bio-Oss®) for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Int J Periodont Rest Dent* 2002; 22: 259-67.
55. SCULEAN A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, CHIANTELLA GC, GERA I, DONOS N. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative combined with a bovine-derived xenograft. *Int J Periodont Rest Dent* 2003; 23: 47-55.
56. SCULEAN A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, GERA I. Clinical and histological evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Int J Periodont Rest Dent* (im Druck)
57. SCHEYER ET, VELASQUEZ-PLATA D, BRUNSVOLD MA, LASHO DJ, MELLONIG JT. A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 2002; 73: 423-32.
58. VELASQUEZ-PLATA D, SCHEYER ET, MELLONIG JT. Clinical comparison of an enamel matrix derivative used alone or in combination with a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 2002; 73: 433-40.
59. HfGEWALD S, SPAHR A, ROMPOLA E, HALLER B, HEIJL L, BERNIMOULLIN JP. Comparative study of Emdogain® and coronally advanced flap technique in the treatment of human gingival recessions. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 35-41.
60. MODICA F, DEL PIZZO M, ROCCUZZO M, ROMAGNOLI R. Coronally advanced flap for the treatment of buccal gingival recessions with and without enamel matrix derivative. A split-mouth study. *J Periodontol* 2000; 71: 1693-8.
61. MCGUIRE MK, NUNN M. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 1: Comparison of clinical parameters. *J Periodontol* 2004; 74: 1110-25.
62. DONOS N, SCULEAN A, GLAVIND L, REICH E, KARRING T. Treatment of mandibular degree III furcation involvements with a bioresorbable membrane and Emdogain in monkeys [Abstract 2337]. *J Dent Res* 1998; 77: 294.
63. HOFFMANN T, BOEDEKER RH, JEPSEN S. Treatment of buccal Class II furcation defects [Abstract 284]. *J Clin Periodontol* 2003; 30 [Suppl 4]: 73.