

**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

DEPARTAMENTO DE Especialidades Clínicas Odontológicas

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**



**TÍTULO**

Aplicación no quirúrgica de Emdogain® en periodontitis avanzada  
(estadio III)

Estudiante: Basma Dardabi

Tutor: Dra. Margarita Isabel Iniesta Albentosa

Curso: 2023-2024



## **MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

### **COMPROMISO DEONTOLÓGICO PARA LA ELABORACIÓN, REDACCIÓN Y POSIBLE PUBLICACIÓN DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER (TFM)**

#### **FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ESTUDIANTE:** Basma Derdabi

#### **TUTOR/TUTORA DEL TFM:**

Dra. Margarita Isabel Iniesta Albentosa

#### **TÍTULO DEL TFM:**

Aplicación no quirúrgica de Emdogain® en periodontitis avanzada (estadio III)

**FECHA DE PRIMERA MATRÍCULA:** 22-09-2023

**FECHA DE SEGUNDA MATRÍCULA** (en caso de producirse):

### **1. Objeto**

El presente documento constituye un compromiso entre el estudiante matriculado en el Máster en Ciencias Odontológicas y su Tutor/tutora y en el que se fijan las funciones de supervisión del citado trabajo de fin de máster (TFM), los derechos y obligaciones del estudiante y de su/s profesor/es tutor/es del TFM y en donde se especifican el procedimiento de resolución de potenciales conflictos, así como los aspectos relativos a los derechos de propiedad intelectual o industrial que se puedan generar durante el desarrollo de su TFM.

### **2. Colaboración mutua**

El/la tutor/a del TFM y el autor del mismo, en el ámbito de las funciones que a cada uno corresponden, se comprometen a establecer unas condiciones de colaboración que permitan la realización de este trabajo y, finalmente, su defensa de acuerdo con los procedimientos y los plazos que estén establecidos al respecto en la normativa vigente.

### **3. Normativa**

Los firmantes del presente compromiso declaran conocer la normativa vigente reguladora para la realización y defensa de los TFM y aceptan las disposiciones contenidas en la misma.

### **4. Obligaciones del estudiante de Máster**

- Elaborar, consensuado con el Tutor del TFM un cronograma detallado de trabajo que abarque el tiempo total de realización del mismo hasta su lectura.
- Informar regularmente al Tutor del TFM de la evolución de su trabajo, los problemas que se le planteen durante su desarrollo y los resultados obtenidos.
- Seguir las indicaciones que, sobre la realización y seguimiento de las actividades formativas y la labor de investigación, le hagan su tutor del TFM.
- Velar por el correcto uso de las instalaciones y materiales que se le faciliten por parte de la Universidad Complutense con el objeto de llevar a cabo su actividad de trabajo, estudio e investigación.

### **5. Obligaciones del tutor del TFM**

- Supervisar las actividades formativas que desarrolle el estudiante; así como desempeñar todas las funciones que le sean propias, desde el momento de la aceptación de la tutorización hasta su defensa pública.
- Facilitar al estudiante la orientación y el asesoramiento que necesite.

### **6. Buenas prácticas**

El estudiante y el tutor del TFM se comprometen a seguir, en todo momento, prácticas de trabajo seguras, conforme a la legislación actual, incluida la adopción de medidas necesarias en materia de salud, seguridad y prevención de riesgos laborales.

También se comprometen a evitar la copia total o parcial no autorizada de una obra ajena presentándola como propia tanto en el TFM como en las obras o los documentos literarios, científicos o artísticos que se generen como resultado del mismo. Para tal, el estudiante firmará la Declaración de No Plagio del ANEXO I, que será incluido como primera página de su TFM.

## **7. Procedimiento de resolución de conflictos académicos**

En el caso de producirse algún conflicto derivado del incumplimiento de alguno de los extremos a los que se extiende el presente compromiso a lo largo del desarrollo de su TFM, incluyéndose la posibilidad de modificación del nombramiento de tutor, la coordinación del máster buscará una solución consensuada que pueda ser aceptada por las partes en conflicto. En ningún caso el estudiante podrá cambiar de Tutor directamente sin informar a su antiguo Tutor y sin solicitarlo oficialmente a la Coordinación del Máster.

En el caso de que el conflicto persista se gestionará según lo previsto en el SGIC de la memoria verificada.

## **8. Confidencialidad**

El estudiante que desarrolla un TFM dentro de un Grupo de Investigación de la Universidad Complutense, o en una investigación propia del Tutor, que tenga ya una trayectoria demostrada, o utilizando datos de una empresa/organismo o entidad ajenos a la Universidad Complutense de Madrid, se compromete a mantener en secreto todos los datos e informaciones de carácter confidencial que el Tutor del TFM o de cualquier otro miembro del equipo investigador en que esté integrado le proporcionen así como a emplear la información obtenida, exclusivamente, en la realización de su TFM.

Asimismo, el estudiante no revelará ni transferirá a terceros, ni siquiera en los casos de cambio en la tutela del TFM, información del trabajo, ni materiales producto de la investigación, propia o del grupo, en que haya participado sin haber obtenido, de forma expresa y por escrito, la autorización correspondiente del anterior Tutor del TFM.

## **9. Propiedad intelectual e industrial**

Cuando la aportación pueda ser considerada original o sustancial el estudiante que ha elaborado el TFM será reconocido como cotitular de los derechos de propiedad intelectual o industrial que le pudieran corresponder de acuerdo con la legislación vigente.

## **10. Periodo de Vigencia**

Este compromiso entrará en vigor en el momento de su firma y finalizará por alguno de los siguientes supuestos:

- Cuando el estudiante haya defendido su TFM.
- Cuando el estudiante sea dado de baja en el Máster en el que fue admitido.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más sincera gratitud a mi tutora, la Dra. Margarita Iniesta Albentosa, cuyo conocimiento experto y consejo crítico han sido insustituibles. Ha sido un honor y un privilegio aprender bajo su tutela, su ayuda oportuna, fue crucial en cada etapa de esta investigación. No puedo expresar con palabras cuánto valoro su apoyo y orientación a lo largo de este año académico.

A mis padres, Laila y Aziz, mi hermano Ayman, y mi abuela Farida, les debo una deuda de gratitud eterna, su fe en mis capacidades ha sido una fuente de motivación y fuerza durante todo mi recorrido académico, agradezco su amor y sacrificios que han sido el pilar de mi vida. Gracias por creer en mí y por darme la libertad de perseguir mis pasiones.

También, quiero agradecer a todos los profesores del equipo de investigación de la sección de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid por haberme permitido participar en este proyecto de investigación, por proporcionar los recursos y el apoyo constante, y también por sus valiosos comentarios.

Y, por último, me gustaría agradecer a mis amigos que me apoyaron desde el principio de esta aventura académica y me demostraron que la amistad verdadera no se pierde con la distancia. Gracias por estar ahí siempre.

A todos, gracias.

## INDICE

Declaración de no plagio .....	1
Compromiso deontológico .....	2
El visto bueno del tutor .....	6
Agradecimientos .....	7
Abstract .....	9
1. Introducción.....	10
1.1 <i>Definición de periodontitis</i> .....	10
1.2 <i>Estadios de la periodontitis</i> .....	10
1.3 <i>Tratamiento de la periodontitis</i> .....	11
1.4 <i>Tratamiento periodontal convencional</i> .....	12
1.5 <i>Proteínas de la matriz del esmalte</i> .....	15
1.6 <i>Justificación del estudio</i> .....	22
1.7 <i>Objetivo del estudio</i> .....	22
2. Material y métodos.....	23
2.1 <i>Diseño del estudio</i> .....	23
2.2 <i>Sujetos del estudio</i> .....	23
2.3 <i>Aleatorización y ocultación de la secuencia</i> .....	24
2.4 <i>Visitas</i> .....	25
2.5 <i>Variables del estudio</i> .....	26
2.6 <i>Análisis estadístico</i> .....	26
3. Resultados.....	27
3.1 <i>Características de la muestra</i> .....	27
3.2 <i>Cambios en la profundidad de sondaje</i> .....	28
3.3 <i>Cambios en la categoría de bolsas periodontales</i> .....	28
3.4 <i>Cambios en el nivel de inserción</i> .....	29
3.5 <i>Cambios en índice de placa</i> .....	29
3.6 <i>Cambios en índice de sangrado al sondaje</i> .....	30
4. Discusión.....	30
5. Conclusión.....	32
6. Tablas .....	33
7. Bibliografía .....	40

## ABSTRACT

**Objetivos:** El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial del uso complementario de un derivado de la matriz de esmalte (EMD) en la cicatrización periodontal después de la instrumentación subgingival periodontal no quirúrgica en casos de periodontitis estadio III para reducir la necesidad de tratamiento quirúrgico.

**Material y métodos:** Es un ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico y controlado de grupos paralelos: un grupo control (instrumentación subgingival) y un grupo test (instrumentación subgingival + Emdogain®) de pacientes con periodontitis generalizada, estadio III. 12 pacientes que acudieron al Master de Periodoncia y a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontológica de la Universidad de Complutense de Madrid fueron seleccionados para este trabajo. Tras la exploración periodontal inicial (periodontograma), los pacientes recibieron el tratamiento correspondiente en las localizaciones  $\geq 6$  mm. Se hizo una reevaluación periodontal a los 3, con retratamiento test o control en las localizaciones  $\geq 5$  mm. A los 6 y 12 meses, se volvió a realizar la reevaluación periodontal y una terapéutica periodontal de mantenimiento.

**Resultados:** Se observó una reducción estadísticamente significativa en la profundidad del sondaje en el grupo test a los 3 meses con respecto a basal [0,14mm; IC 95% (0,05; 0,23);  $p = 0,002$ ], y los 12 meses versus basal [0,23mm; IC 95% (0,11; 0,36);  $p = 0,001$ ]. Sin embargo, en el grupo control solo se observó una reducción estadísticamente significativa a los 12 meses con respecto a basal [0,17mm; IC 95% (0,02; 0,32);  $p = 0,019$ ]. También, se observó una ganancia estadísticamente significativa en el nivel de inserción clínico en el grupo test a los 3 meses con respecto a basal [0,08mm; IC 95% (0,02; 0,14);  $p = 0,005$ ], y los 12 meses versus basal [0,16mm; IC 95%(0,05; 0,26);  $p = 0,003$ ]. Por otro lado, en el grupo control solo se observó una ganancia estadísticamente significativa a los 12 meses con respecto a basal [0,12 mm; IC 95% (0,00; 0,25);  $p = 0,041$ ].

**Conclusión:** A corto plazo, la instrumentación subgingival más EMD fue efectivo para reducir las necesidades de tratamiento quirúrgico a los 3 meses mientras que, al largo plazo, los dos procedimientos presentaron las mismas necesidades quirúrgicas para los pacientes con periodontitis estadio III.

**Palabras claves:** Emdogain®, periodontitis, instrumentación subgingival, derivado de la matriz del esmalte, coadyuvante.

## **1. Introducción**

### **1.1. Definición de periodontitis**

En 2017, en el Taller Mundial realizado entre la Academia Americana de Periodoncia (AAP) y la Federación Europea de Periodoncia (EFP) se propuso la nueva Clasificación de las Enfermedades y Condiciones Periodontales y Peri implantarias, para mejorar las desventajas que tenía la clasificación anterior de 1999, como un importante solapamiento entre las distintas categorías (Papapanou et al., 2018).

Según esta nueva clasificación, la periodontitis se define como una enfermedad crónica multifactorial asociada con una disbiosis del biofilm dental y caracterizada por una destrucción progresiva de los tejidos que soportan el diente. Se manifiesta clínicamente por una pérdida de inserción clínica (PIC), pérdida de hueso radiográfica, presencia de bolsas periodontales y sangrado al sondaje (Papapanou et al., 2018).

Una ventaja de esta clasificación es que la periodontitis se categoriza según estadios basados en la severidad de la enfermedad y la complejidad del manejo, mientras que el grado nos aporta información suplementaria sobre las características biológicas de la enfermedad incluyendo la tasa de progresión (Papapanou et al., 2018).

### **1.2. Estadios de la periodontitis**

La periodontitis se puede clasificar según los estadios de I a IV. Estos estadios nos proporcionen información sobre la pérdida de dientes asociada a periodontitis y la complejidad del tratamiento, basándose en la profundidad de sondaje, los defectos infraóseos, la afectación de furca, la movilidad de los dientes y la disfunción masticatoria.

Estos cuatro estadios se caracterizan por (Papapanou et al., 2018):

– Estadio I:

Una PIC interdental entre 1 y 2 mm, una pérdida de hueso menor del 15 % del tercio coronal de la raíz sin pérdida de dientes por periodontitis. Al nivel local, se caracteriza por una profundidad del sondaje (PS)  $\leq$  4 mm, con un patrón horizontal de pérdida ósea.

– Estadio II:

Una PIC interdental entre 3 y 4 mm, una pérdida de hueso entre el 15 % y 33% del tercio coronal de la raíz sin pérdida de dientes por periodontitis. La PS es  $\leq$  5 mm, con un patrón horizontal de la pérdida ósea.

– Estadio III:

La PIC interdental es  $\geq 5$  mm, la pérdida de hueso afecta al menos al tercio medio de la raíz y la pérdida dental es de  $\leq 4$  dientes por periodontitis. Además de la complejidad del estadio II, el estadio III presenta una profundidad de sondaje  $\geq 6$  mm, presencia de furcas tipo II y III, y un defecto óseo moderado.

– Estadio IV:

La PIC interdental es  $\geq 5$  mm, la pérdida de hueso afecta al menos al tercio medio de la raíz y la pérdida dental es de  $\leq 5$  dientes por periodontitis. Además de la complejidad de estadio III, el estadio IV presenta una necesidad de rehabilitación compleja debido a: disfunción masticatoria, trauma oclusal secundario (movilidad  $\geq 2$ ), defectos óseos severos, colapso de mordida, desplazamiento y abanicamiento de los dientes y presencia de menos de 10 pares de dientes en oclusión.

### **1.3. Tratamiento de la periodontitis**

Como se ha desarrollado una nueva clasificación de periodontitis, igualmente era necesario establecer una nueva guía de tratamiento específica de la dicha enfermedad. En 2020, se publicó la Guía de Práctica Clínica para el tratamiento de la periodontitis estadios I, II y III (Sanz et al., 2020); y, en 2022 se publicó la Guía de Práctica Clínica para la periodontitis estadio IV (Herrera et al., 2022). En la guía clínica se estableció la siguiente secuencia para el tratamiento de la periodontitis.

#### **Paso 1:**

Incluye el control del biofilm dental supragingival por parte del paciente y del profesional, la motivación y la instauración de cambios de comportamiento en los pacientes para lograr prácticas de higiene oral adecuadas y autónomas, terapias coadyuvantes para el tratamiento de la inflamación gingival, así como también el control de los factores de riesgo modificables locales y sistémicos que influyen significativamente en la periodontitis.

Tras el paso 1 se reevalúa la compliance del paciente con la higiene oral y el control de los factores de riesgo.

#### **Paso 2:**

Se basa en la instrumentación subgingival con curetas o ultrasonidos, o combinación de ambos junto con el uso de coadyuvantes como pueden ser agentes físicos o químicos, agentes moduladores del huésped (locales o sistémicos) y antimicrobianos sistémicos.

Tras la reevaluación del paciente se ofrecen dos posibilidades:

1. Pasar directamente a la fase de tratamiento periodontal de soporte (mantenimiento periodontal) si se alcanza el éxito en el tratamiento.
2. Continuar con el paso 3.

**Paso 3:**

Se tiene por objeto tratar regiones que no han respondido adecuadamente al segundo paso del tratamiento, con el fin de obtener acceso a las superficies radiculares en bolsas profundas (Sanz et al., 2020). En este paso se valora la necesidad de repetir la instrumentación sub-gingival con o sin terapias coadyuvantes, cirugía periodontal con colgajo de acceso, cirugía periodontal resectiva, y/o cirugía periodontal regenerativa.

Tras la finalización del tratamiento periodontal activo, los pacientes pueden haber alcanzado el éxito en el tratamiento y pasar al paso 4.

**Paso 4:**

En esta fase, los sujetos son sometidos a un tratamiento de soporte periodontal diseñado de forma específica, consistente en una combinación de intervenciones preventivas y terapéuticas realizadas a diferentes intervalos (Sanz et al., 2020), como son:

- ✓ Reevaluación y monitorización de la salud sistémica y periodontal
- ✓ Refuerzo de las instrucciones de higiene oral
- ✓ Motivación del paciente sobre el control continuado de los factores de riesgo
- ✓ Eliminación mecánica profesional de biofilm dental e instrumentación subgingival localizada en bolsas residuales.

**1.4 Tratamiento periodontal convencional**

**1.4.1. Tratamiento no quirúrgico**

Partiendo de que la periodontitis es el resultado de una compleja interacción entre la agresión bacteriana y la respuesta del huésped, modificada por factores de riesgo locales y sistémicos, solo los tratamientos que logran la interrupción mecánica del biofilm subgingival han demostrado ser exitosos (Jepsen et al., 2011).

Una de las técnicas más tradicionales para lograr la disrupción del biofilm subgingival es la instrumentación subgingival. Este tratamiento tiene como objetivo final conseguir la restauración de la salud gingival mediante la reducción de la PS y la ganancia del nivel de inserción clínica junto con la eliminación de la inflamación (Tomasi & Wennström, 2017). Este tratamiento se puede realizar con instrumentos manuales, como las curetas, y con instrumentos motorizados, tipo sónicos

y ultrasónicos (Sanz et al., 2020). Según (Suvar et al., 2020) los 2 tipos de instrumentación son igualmente eficaces, y se pueden combinar o usarlos por separado.

Este tratamiento es capaz de mejorar significativamente los niveles de inserción clínica entre 0.55y 1.29 mm, y de reducir la PS entre 1.29 y 2.16 mm. Estos resultados dependen principalmente de la extensión y gravedad de la enfermedad (Sanz et al., 2012).

#### **1.4.2. Coadyuvantes al tratamiento no quirúrgico**

Existen numerosos sistemas coadyuvantes que se han aplicado junto con la instrumentación subgingival para mejorar los resultados de esta.

Tratamientos coadyuvantes con agentes físicos, como el láser o la terapia fotodinámica. El láser se beneficia de propiedades antimicrobianas y de ablación; y, dependiendo de la longitud de onda, que oscila entre 635 nm y 10600 nm, tiene unas propiedades u otras (Aoki et al., 2004). Según la Guía de Práctica Clínica de 2020 (Sanz et al., 2020), no hay suficiente evidencia científica que avale su uso.

Existen también tratamientos moduladores del huésped coadyuvantes a la instrumentación que pueden ser locales o sistémicos. De uso local se podrían utilizar estatinas como, atorvastatina, simvastatina, rosuvastatina; y, de uso local/sistémico, los bifosfonatos. Otros productos pueden ser los antiinflamatorios locales/sistémicos no esteroideos, el omega 3 polinsaturado y la metformina de uso local. Sin embargo, no hay evidencia que apoye el uso de estos productos como coadyuvantes a la instrumentación subgingival, como tampoco se sugiere el uso de probióticos y de doxiciclina subgingival (Donos et al., 2020; Sanz et al., 2020).

Por otro lado, se pueden usar también otros tratamientos coadyuvantes con agentes químicos como los antisépticos. El uso de estos productos debe ser considerado por el clínico según el caso (Herrera et al., 2020). Lo mismo ocurre con el uso de antibióticos de liberación local como coadyuvantes al tratamiento no quirúrgico (Herrera et al., 2020).

En cuanto al uso de los antibióticos sistémicos, no se recomienda utilizarlos rutinariamente por el hecho de tener un impacto sobre la salud pública, salvo en el caso de periodontitis estadio III en pacientes jóvenes que su uso puede ser considerado (Teughels et al., 2020).

#### **1.4.3. Tratamiento quirúrgico**

Después de la reevaluación, si las bolsas periodontales no responden adecuadamente al tratamiento no quirúrgico, se recomienda repetir la instrumentación subgingival con o sin tratamientos coadyuvantes en bolsas residuales moderadas (4-5 mm) (Sanz-Sánchez et al., 2020); mientras que se sugiere hacer cirugía resectiva en las bolsas periodontales residuales profundas ( $\geq$

6mm) (Polak et al., 2020).

En cuanto a la cirugía periodontal regenerativa, está recomendada en casos de defectos óseos  $\geq 3$ mm, con bolsas residuales profundas, y en furcas tipo II maxilares y mandibulares (Sanz et al., 2020). Como materiales de regeneración se recomienda el uso de vario tipos de materiales, como membranas y matriz derivada del esmalte, con o sin el uso de injertos de hueso desmineralizado (Nibali et al., 2020). Dentro de las técnicas quirúrgicas utilizadas para regeneración, la técnica quirúrgica de preservación de papila se ha visto que maximiza el beneficio de los resultados en la regeneración periodontal (Graziani et al., 2012; Nibali et al., 2020).

En general, se recomienda tratar las bolsas residuales de molares con furcas clase II y III, ya que la presencia de este tipo de furcas no es una razón válida para la extracción de los molares (Sanz et al., 2020). En el caso de furcas clase II mandibulares, se recomienda tratarlas con regeneración periodontal utilizando solo proteínas de la matriz del esmalte o en combinación con injertos de hueso desmineralizado, y con/sin el uso de membranas reabsorbibles. Se sugiere el mismo tratamiento en el caso de furcas maxilares vestibulares. Sin embargo, en el tratamiento de furcas interdentes maxilares, según la Guía de Práctica Clínica (Sanz et al., 2020), se deja a la consideración del operador decidir que tratamiento aplicar (tratamiento no quirúrgico, cirugía de acceso, regeneración periodontal, sección o amputación radicular). En el caso de furcas clase III o múltiples furcas de clase II en el mismo diente, tanto en arcadas maxilares como mandibulares, se debería tomar en consideración la instrumentación no quirúrgica, la cirugía de acceso, la sección radicular, amputación radicular y la tunelización (Jepsen et al., 2020).

#### **1.4.4 Biomateriales de regeneración y agentes biológicos**

Los enfoques terapéuticos para el tratamiento de la periodontitis generalmente se dividen en dos principales categorías, aquellas diseñadas para detener la progresión de la pérdida de inserción periodontal (instrumentación subgingival, cirugía de acceso y cirugía resectiva), cuyo resultado es una reparación que se caracteriza por la presencia de un epitelio largo de unión (reinserción); y, aquellos diseñados para regenerar o reconstruir tejidos periodontales perdidos (cirugía regenerativa) (Pihlstrom & Ammons, 1997).

Existen numerosos procedimientos quirúrgicos que contribuyen a obtener una regeneración periodontal. Según la anatomía del defecto, el diseño del colgajo para acceder a los defectos intraóseos y o furcas puede ser un colgajo extendido en caso de edentulismo, cirugía mínimamente invasiva (*Minimally Invasive Surgical Technique*; MIST) o cirugía mínimamente invasiva modificada (*Modified Minimally Invasive Surgical Technique*; M-MIST). Dependiendo del espacio de acceso a los

defectos, la técnica quirúrgica puede ser un colgajo de preservación papila simplificada, un colgajo de preservación de papila modificada o una incisión crestal (Cortellini & Tonetti, 2015). En cuanto a materiales regenerativos, existen varias alternativas como las proteínas de la matriz del esmalte (*Enamel Matrix Proteins*; EMP), el autoinjerto, aloinjerto, xenoinjerto y las membranas barrera para la regeneración tisular guiada (Caton & Greenstein, 1993; Cortellini & Tonetti, 2015).

## **1.5 Proteínas de la matriz del esmalte**

Aunque histológicamente se ha demostrado que se pueden regenerar los tejidos periodontales después de un abordaje quirúrgico regenerativo, obtener resultados predecibles sigue siendo un objetivo difícil de lograr (Bowers et al., 1989). Sin embargo, el uso de factores de crecimiento como las EMP ha demostrado conseguir una regeneración de los tejidos periodontales significativa; por lo que fue introducida como una alternativa para obtener regeneración periodontal (Hammarström, 1997).

### **1.5.1 Mecanismo de acción**

La hipótesis de que las células del órgano dental están involucradas en la formación del cemento acelular fue respaldada en los años ochenta por los estudios in vitro de Owens (1979), donde se examinaron las superficies radiculares en ratas mediante microscopía óptica y electrónica de transmisión, y se observó la existencia de una capa delgada de matriz dentinaria externa no mineralizada (aproximadamente de 1,5 µm de anchura) y revestida por epitelio. Se concluyó que la capa inicial de cemento acelular en las ratas es, por tanto, una matriz dentinaria con células epiteliales secretoras (células de la vaina de Hertwig) responsables de la formación del cemento (Owens, 1979).

Sin embargo, se ha demostrado en estudios posteriores que la dentina radicular no es la responsable de la cementogénesis, sino que la deposición de proteínas de la matriz del esmalte sobre la superficie dentinaria, estimula la cementogénesis. Esta segunda hipótesis fue investigada en 1997 por un equipo sueco (Lars Hammarström, Sven Lindskog y Leif Blomloff), quienes indujeron la formación del cemento en molares de ratas. Las células que formaron el tejido similar al cemento eran células foliculares dentales en contacto con la matriz del esmalte expuesta; y su producto era principalmente acelular. El mecanismo en sí ocurría en la fase del crecimiento radicular, donde las células del órgano dental (dentina y esmalte) cubiertas por una doble capa de células de la vaina de Hertwig, proliferan hacia la zona más apical. Las células de la vaina de Hertwig son la extensión apical del órgano del esmalte, e inducen a las células mesenquimales de la papila dental para formar

la predentina. Posteriormente, como resultado de la apoptosis de estas células, se van a producir dos fenómenos: *a)* se elimina la barrera física entre las células mesenquimales del folículo dentinario y la predentina; y, *b)* por otro lado, se secretan EMPs. Como las células mesenquimales se diferencian en cementoblastos y son responsables de la cementogénesis, se concluyó que las EMPs están involucradas en el desarrollo del cemento y, por lo tanto, se podrían utilizar como agentes biológicos capaces de regenerar el periodonto (Hammarström, 1997).

Slavkin (1976) también observó que el cemento acelular contenía proteínas que inmunológicamente estaban relacionadas con las EMPs (Slavkin, 1976).

El proceso de deposición del cemento es un requisito previo para la formación del ligamento periodontal (LP) y el hueso alveolar. Numerosos estudios respaldan la implicación de las EMPs en la formación del cemento; por lo que estas proteínas son potentes candidatas para estimular la regeneración periodontal (Bosshardt, 2008) y la nueva formación del cemento, LP y hueso alveolar (Miron et al., 2016).

### **1.5.2 Proteínas de la matriz del esmalte versus proteínas derivadas del esmalte**

Las EMPs están compuestas principalmente por amelogenina, que es el componente más abundante, constituyendo más del 90% de la matriz orgánica (Spahr & Hammarström, 1999). Además de la amelogenina, también contienen ameloblastina, esmalteína, tuftelina, proteasas como MMP-20, EMSP1 y albúmina.

Por otro lado, los productos comercialmente disponibles se suelen denominar proteínas derivadas de la matriz del esmalte (*Enamel Matrix Derived*; EMD), ya que contienen varias proteínas y enzimas de las mencionadas anteriormente, además de disponer en su composición de agua y propilenglicol (PGA). El PGA mejora la precipitación del EMD, exponiéndose así al LP permitiendo que se produzcan interacciones EMD-célula (Spahr et al., 2002).

### **1.5.3 Modo de acción de EMD**

Varios estudios han explorado el papel del EMD en células del LP. Uno de los primeros estudios fue realizado por Gestrelus et al. (1997), quienes observaron que la aplicación del EMD en los medios de cultivo celular dio lugar a una serie de cambios, como la proliferación de proteínas y de colágeno, la proporción de los factores de crecimiento (TGF- $\beta$ - and BMP-like) se mantuvo en dosis efectivas durante un período largo de tiempo, y contribuyeron a la biomineralización durante la regeneración periodontal. También observaron una proliferación de fibroblastos y el aumento de la síntesis total de células del LP. Por el otro lado, no observaron ningún efecto significativo en cuanto a la proliferación de células epiteliales. Se ha comprobado que el EMD, en un medio con un Ph y una

temperatura fisiológicos son los responsables de crear un ambiente positivo para la diferenciación y la proliferación periodontal (Gestrelus et al., 1997).

A nivel histológico, el EMD actúa absorbiendo la hidroxiapatita y el colágeno de la raíz dental expuesta, formando así un complejo de moléculas esféricas en la superficie. Se ha demostrado que un periodo de dos semanas es suficiente para que se produzca una recolonización por parte de las células indiferenciadas del LP (Gestrelus et al., 1997). Por otro lado, el efecto sobre los osteoblastos es controvertido. Un estudio observó que el producto no tiene efecto directo en cuanto a diferenciación osteoblástica, pero sí que estimula los factores de crecimiento celular del LP, como pueden ser la IGF-1 y TGF-1 (Okubo et al., 2003) y BMP-like (Suzuki et al., 2005); pero otros autores han observado un efecto osteoprogenitor mediante la activación de la fosfatasa alcalina y la diferenciación de las células mesenquimales pluripotenciales (C2C12) a osteoblastos y/o condroblastos (Reseland et al., 2006).

También se ha observado que el EMD es capaz de estimular a los fibroblastos (Van Der Pauw et al., 2002), inducir la cementogénesis y que posee unas propiedades antiinflamatorias y antibacterianas (Tokiyasu et al., 2000). El efecto antiinflamatorio se debe a la atenuación de la expresión genética de los receptores involucrados en la inflamación durante la cicatrización, como la IL-8 y TNF (Parker & Tonetti, 2004). El efecto antibacteriano es menor que el de la clorhexidina al 0.2% (Arweiler et al., 2018), pero se ha demostrado la inhibición de especies como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* 24 horas después de la aplicación del producto (Spahr et al., 2002). El efecto sobre *P. gingivalis* es bidireccional puesto que las gingipainas disminuirían el efecto regenerativo del EMD en el LP (Inaba et al., 2004).

En resumen, se ha demostrado que el EMD ejerce una influencia significativa en la unión, propagación, proliferación, diferenciación y supervivencia de las células del LP, así como en la expresión de diversos factores de transcripción, factores de crecimiento, citoquinas, constituyentes de la matriz extracelular y otras moléculas involucradas en la regulación de la remodelación ósea (Bosshardt, 2008). También desempeña un papel importante en la cicatrización de las heridas, favoreciendo la regeneración de los tejidos blandos y la actividad angiogénica (Miron et al., 2015). En estudios en animales, se han observado resultados prometedores en defectos óseos, como las dehiscencias, consistentes en mayores valores de regeneración periodontal en comparación con colgajo de reposición coronal (Hammarström, 1997), y en furcas clase II (Regazzini et al., 2004). Este efecto regenerador fue comparable al de la membrana (Sculean et al., 2000).

#### **1.5.4 Estudios histológicos**

En estudios experimentales en humanos, se ha observado un efecto regenerador para el tratamiento de las recesiones (Heijl, 1997) y de los defectos infraóseos (Yukna & Mellonig, 2000). Se observó también que el tipo de cemento regenerado era en principio cemento celular intrínseco (Bosshardt et al., 2005). También, se ha demostrado que el EMD se mantiene en posición durante 4 semanas después de su colocación, por lo tanto, permite una recolonización de las células del LP en la superficie de la raíz, durante una exposición de tiempo más larga (Sculean et al., 2002).

Por el otro lado, en algunos casos, la colocación de EMD por sí solo no mejora algunos defectos periodontales, y es necesario la colocación de una membrana para obtener una ganancia en el nivel de inserción, como por ejemplo en el caso de las fenestraciones (Sculean et al., 2000) y de las furcas clase III (Donos et al., 2003).

#### **1.5.5 Efectos inmunológicos**

Varios estudios demostraron que el EMD es un material muy seguro, y muy poco probable que actúe como antígeno, ya que las proteínas del esmalte están expuestas en el cuerpo humano desde las primeras etapas del desarrollo. In vitro, se demostró que el EMD no modifica las células ni la respuesta inmune humoral. Incluso en concentraciones muy altas, el EMD solo indujo un ligero aumento en la proliferación de linfocitos CD25+ (receptor IL2) y linfocitos T CD4+. Al mismo tiempo, se producía una disminución de linfocitos B, mientras que otras células (como células T CD8+, células B y células *natural killer*) no se afectaron. Tampoco los niveles de IL6, IL2 (TH1) fueron afectados (Petinaki et al., 1998).

Además, se demostró que el EMD atenuó la liberación del TNF $\alpha$  y IL8, y adenosin monofosfatocíclico (cAMP), sin afectar a la IL10 (Sculean, Junker, et al., 2003).

#### **1.5.6 Estudios clínicos controlados**

La investigación se ha centrado principalmente en el uso quirúrgico de los preparados de EMD. De hecho, los resultados han sido muy prometedores. El uso de EMD junto con el **tratamiento quirúrgico** ha demostrado múltiples beneficios (Hamp et al., 1975). Además, se ha comprobado la seguridad del producto, es decir, la ausencia de reacciones inmunológicas y de sensibilización después de un segundo contacto con el agente (Heard et al., 2000).

##### ***A) Defectos supraóseos***

El uso de EMD como coadyuvante al colgajo de acceso para el tratamiento de defectos supraóseos conlleva una mayor ganancia en el nivel de inserción clínica, con una reducción de la profundidad

del sondaje, una menor recesión, y un menor sangrado al sondaje comparado con el colgajo de acceso solo (Iorio-Siciliano et al., 2021; Jentsch & Purschwitz, 2008; Yilmaz et al., 2003). Esta mejoría de los parámetros clínicos se hace más relevante en defectos profundos ( $\geq 7\text{mm}$ ) (Iorio-Siciliano et al., 2021; H. Jentsch & Purschwitz, 2008). Los mismos resultados fueron obtenidos cuando se usó EMD combinado con el colgajo de preservación de papila (Di Tullio et al., 2013). En un metaanálisis realizado por Graziani y cols. (2014), se concluyó que el EMD tiene un gran potencial para modular la cicatrización, lo que conlleva a obtener mejores resultados clínicos (Graziani et al., 2014).

### ***B) Defectos infraóseos***

Los estudios han observado que los defectos infraóseos profundos tratados con EMD obtienen mayores ganancias significativas en el nivel de inserción clínica en comparación con el colgajo de acceso solo (Esposito et al., 2005; Heijl, 1997; Okuda et al., 2000; Trombelli et al., 2002). Radiológicamente, también se observó un mayor relleno del defecto infraóseo en el grupo test que en el grupo control (Heijl et al., 1997; Froum et al., 2001). Histológicamente, se observó una nueva formación de fibras de inserción compatible con regeneración periodontal (Yukna & Mellonig, 2000).

Por el otro lado, parece ser que la **técnica quirúrgica** podría tener algún efecto sobre los resultados. Por ejemplo, al principio se observó que el EMD mejoraba la ganancia en los niveles de inserción clínica de los defectos infraóseos cuando se combinaba con una técnica de preservación de papila (Tonetti et al., 2002). Sin embargo, en un estudio aleatorizado controlado con tres brazos, en el cual se analizó el potencial adicional que aportaba el EMD y/o xenoinjerto de hueso a la cirugía M-MIST (Cortellini & Tonetti, 2011), se demostró que se puede llegar a la misma mejoría clínica y radiológica con la técnica M-MIST sola. Los mismos resultados se han observado con la cirugía MIST (Ribeiro et al., 2011).

En cuanto a tratamientos combinados, se ha observado que la combinación de EMD y membranas no reabsorbibles no presentaba mejorías clínicas significativas en comparación con su uso por separado (Pietruska, 2001; Sipos et al., 2005), por lo que el uso combinado de estos dos productos no proporcionaba ninguna ventaja significativa (Sculean et al., 2001). En general, se ha demostrado que el tratamiento con EMD es comparable con la regeneración tisular guiada (Esposito et al., 2009; Sculean et al., 2006; Silvestri et al., 2000). Sin embargo, sí se observan mejores resultados cuando se combinaba EMD con injertos óseos (Lekovic et al., 2000), ya que el injerto óseo tardaría más en reabsorberse, lo que ayudaría a mantener el espacio suficiente para que el EMD actuara (Zucchelli

et al., 2003). Estos resultados se han conseguido tanto con el xenoinjerto (Zucchelli et al., 2003) como con hueso autólogo (Guida et al., 2007).

Hay que tener en cuenta que la **habilidad del operador** y la **severidad del defecto** son factores que influyen en estos resultados. De hecho, en un estudio de Sanz y col. (2004) y tras un análisis multivariante, se observó que los factores “centro” y “profundidad de sondaje inicial” influían en los resultados tras el uso de membranas comparado con EMD. Aunque los casos tratados con EMD presentaban una ganancia en el nivel de inserción clínica de más de 4 mm en el 46% de los casos comparado con el 28% de los casos tratados con membranas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos tipos de regeneración (Sanz et al., 2004). Lo que sí se ha observado fue que existen menores complicaciones con el uso de EMD que con el uso de membranas, debido a la exposición de las mismas (Cortellini et al., 1996; M. Sanz et al., 2004).

Por el otro lado, la **morfología del defecto** infraóseo también juega un papel importante en el éxito del tratamiento, ya que se ha demostrado que el EMD actúa mejor en defectos  $\leq 22^\circ$  de angulación que en los  $\geq 37^\circ$  (Tsitoura et al., 2004). Otros factores que influyen en la morfología del defecto infraóseo y por lo tanto en los resultados regenerativos del EMD son: la profundidad del defecto (Zucchelli et al., 2002) y el número de paredes óseas (Tonetti et al., 2002).

### ***C) Defectos de furca***

Se ha podido demostrar que el uso de EMD proporcionaba mejores resultados en las furcas clase II mandibulares que la regeneración tisular guiada (Jepsen et al., 2004). Estos mejores resultados se basan en una mayor reducción del componente horizontal del defecto furcal (Jepsen et al., 2004; Koop et al., 2012), y en la mayor reducción del componente vertical (1,47 veces más comparado con el colgajo de acceso) (Chitsazi et al., 2007). Sin embargo, Meyle y col. (2004) observaron resultados similares con EMD y membrana (Meyle et al., 2004). En las furcas clase II maxilares, también se observó una mejoría en la profundidad de sondaje y una mayor ganancia en el nivel de inserción clínica horizontal con EMD que con colgajo de acceso (Casarin et al., 2010). En cuanto a las furcas clase III, es más difícil obtener una regeneración completa que en las furcas con un tamaño más pequeño (límite alrededor de 4 cm<sup>2</sup>) (Donos et al., 2003).

### ***D) Cirugía mucogingival***

En casos de las recesiones gingivales, los estudios han demostrado que, a largo plazo, la aplicación de EMD ofrece mejores resultados en la ganancia de encía queratinizada que el colgajo de reposición coronal (Hägewald et al., 2002). También, la estabilidad del recubrimiento radicular en

las recesiones clase I y II se mantiene en el 53% de los casos durante más de dos años cuando se usa EMD, comparando con el colgajo de reposición coronal (en el 23% de los casos) (Spahr et al., 2005).

En el metaanálisis de Koop et al. (2012), el cual solo incluyó recesiones clase I y II, el uso combinado de EMD con colgajo de reposición coronal obtenía resultados similares al uso de injerto de tejido conectivo solo (Koop et al., 2012), observando una mayor ganancia en el nivel de inserción de 0.41mm (límite inferior: -0,13; límite superior: 0,95) cuando se usaba en combinación con un colgajo de reposición coronal. Por otro lado, Aroca et al. (2010) no observó diferencias significativas entre el uso de EMD con o sin injerto conectivo modificado (técnica de túnel) en recesiones clase III de Miller (Aroca et al., 2010).

#### ***E) Resultados comunicados por los pacientes***

El uso de Emdogain® en cirugía ha reportado mejores resultados desde el punto de vista del paciente en cuanto al cierre de la herida, ausencia de hematoma, edema, dolor (Cortellini & Tonetti, 2007, 2009; Jepsen et al., 2004). Además, el uso de EMD junto con el colgajo de preservación de papila obtuvo mejores resultados que el colgajo de preservación de papila solo en cuanto a mayor rapidez de cicatrización, analizada por densitometría, y menores molestias e hipersensibilidad radicular (Tonetti et al., 2004). También, se ha observado mayor satisfacción estética (Ribeiro et al., 2010). En cuanto al EMD como coadyuvante al tratamiento no quirúrgico, los pacientes también reportaron menores molestias durante la primera semana postoperatoria (Wennström & Lindhe, 2002).

#### ***F) Tratamiento no quirúrgico con Emdogain®***

Varios estudios han evaluado el uso de EMD como coadyuvante a la instrumentación subgingival. Wennstrom y Lindhe (2002) observaron que el EMD mejoraba el índice gingival y el sangrado al sondaje durante las primeras semanas, mientras que en la tercera semana no hubo diferencias estadísticamente significativas (Wennström & Lindhe, 2002). Sin embargo, en dos estudios a 3 meses de seguimiento, no se observaron diferencias significativas en el sangrado al sondaje (Gutierrez et al., 2003; Wyganowska-Świątkowska et al., 2013).

En cuanto al resto de parámetros periodontales, Wehner y cols (2023) observaron una ganancia significativa en el nivel de inserción clínica pero no observaron mayores reducciones significativas en la profundidad del sondaje o en la recesión (Wehner et al., 2023). Resultados similares fueron obtenidos por otros estudios (Wennström & Lindhe, 2002; Gutierrez et al., 2003; Wyganowska-

Świątkowska et al., 2013). Por otro lado, otros estudios sí han observado reducciones significativas en la profundidad de sondaje de bolsas profundas ( $\geq 6$  mm), lo que ha llevado a hipotetizar que el uso de EMD permitiría reducir la necesidad de realizar cirugía periodontal (Graziani et al., 2019; Schallhorn et al., 2021).

### **1.6** *Justificación del estudio*

Los estudios que han comparado la aplicación del EMD como coadyuvante al tratamiento periodontal no quirúrgico han observado resultados contradictorios, como se ha mencionado anteriormente. Estos resultados podrían haber estado influidos por las características de estos estudios, como por ejemplo número reducido de pacientes (entre 20 y 49 sujetos), y ser estudios a corto-medio plazo, es decir, con seguimiento a 3 semanas (Wennström & Lindhe, 2002), 3 meses (Graziani et al., 2019; Gutierrez et al., 2003; Wyganowska-Świątkowska et al., 2013) o 6 meses (Wehner et al., 2023). Solo un estudio presentó un seguimiento a 12 meses, pero este estudio utilizó un modelo de boca partida con solo 49 pacientes (Schallhorn et al., 2021).

Basándonos en los resultados obtenidos por los estudios anteriormente mencionados tras la aplicación de EMD a nivel histológico, fisiológico e inmunológico, y considerando el hecho de que el EMD como coadyuvante a la instrumentación subgingival podría reducir las necesidades de tratamiento quirúrgico en los pacientes periodontales con bolsas profundas (Graziani et al., 2019), serían necesarios estudios con mayor número de pacientes en grupos paralelos y con seguimiento al menos a 12 meses, para evaluar su uso durante el paso 2 del tratamiento periodontal.

### **1.7** *Objetivo del estudio*

El principal objetivo de este estudio fue comparar el potencial clínico de la instrumentación subgingival periodontal no quirúrgica con o sin aplicación complementaria de EMD en casos de periodontitis estadio III para reducir la necesidad de tratamiento quirúrgico.

#### **A) Hipótesis nula**

No existirán diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las necesidades quirúrgicas entre los pacientes con periodontitis estadio III tratados con instrumentación subgingival más EMD y los pacientes tratados solo con instrumentación subgingival.

## **B) Hipótesis alternativa**

Sí existirán diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las necesidades quirúrgicas entre los pacientes con periodontitis estadio III entre los pacientes tratados con la instrumentación subgingival más EMD y los pacientes tratados solo con la instrumentación subgingival.

## **2. Material y métodos**

### **2.1 Diseño del estudio**

Se diseñó un ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico y controlado de grupos paralelos. Los dos grupos de tratamiento consistieron en un grupo control (instrumentación subgingival) y un grupo test (instrumentación subgingival + Emdogain). El presente estudio se realizó de acuerdo a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínico Universitario San Carlos (Madrid, España) con el número de referencia 20/712-EC\_P.

### **2.2 Sujetos del estudio**

Se incluyeron pacientes con periodontitis generalizada, estadio III. En España, los pacientes se seleccionaron de entre los que acudieron al Master de Periodoncia y a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Complutense de Madrid. Los pacientes tenían que cumplir los siguientes criterios:

#### **A) Criterios de inclusión**

- 1) Sujetos sistémicamente sanos;
- 2) Tener 18 años o más;
- 3) Presentar al menos 20 dientes (excluidas las muelas del juicio);
- 4) Presentar periodontitis generalizada estadio III (Papapanou et al., 2018), es decir, presentar al menos 5 mm de pérdida de inserción clínica en áreas interdetales, reabsorción ósea radiográfica de más de un tercio de la longitud radicular, pérdida dental de  $\leq 4$  dientes por periodontitis y presentar características de complejidad:
  - al menos de 4 dientes con una PS  $\geq 6$  mm;
  - defectos infraóseos;
  - defectos de furcación;
  - defecto de cresta moderado.

5) Sangrado al sondaje en al menos el 30% de las localizaciones.

### **B) Criterios de exclusión**

- 1) Mujeres embarazadas o en período de lactancia;
- 2) Personas con patologías que afecten el resultado del tratamiento periodontal (como diabetes, osteoporosis e inmunosupresión);
- 3) Personas sometidas a quimioterapia y/o tratamientos inmunosupresores;
- 4) Personas que necesiten profilaxis antibiótica (endocarditis infecciosa, uso de válvulas cardíacas protésicas, otras patologías);
- 5) Personas con tratamiento farmacológico asociado al desarrollo de hipertrofia gingival. (fenitoína, fenobarbital, lamotrigina, vigabatrina, etosuximida, topiramato, primidona, nifedipina, amlodipino, verapamilo, ciclosporina);
- 6) Personas con restauraciones implantosoportadas afectadas por periimplantitis (según la clasificación del 2018 (Berglundh et al., 2018), es decir, presencia de sangrado y/o supuración al sondaje, PS  $\geq$  6 mm, nivel óseo  $\geq$  3 mm apical a la porción más coronal de la parte intraósea del implante);
- 7) Fumadores de más de 20 cigarrillos al día;
- 8) Personas con índice de masa corporal superior a 29 (obesos);
- 9) Alergia a la anestesia o a componentes del EMD;
- 10) Instrumentación subgingival previa en los 12 meses anteriores;
- 11) Ingesta de antibióticos en los 3 meses anteriores.

### **2.3 Aleatorización y ocultación de la secuencia**

La aleatorización se realizó mediante códigos aleatorios generados por ordenador, y la asignación de los pacientes fue ocultada al paciente, al examinador y al operador hasta la finalización del estudio.

En el tratamiento periodontal estuvieron involucrados dos operadores, una persona (operador 1) realizaba la instrumentación subgingival (ciega a la aleatorización), y otra persona (operador 2) era la encargada de aplicar el EMD en los pacientes de grupo test, o el placebo en los pacientes de grupo control.

#### **Calibración**

Se hizo una calibración intra e inter examinador (con referencia al examinador del centro líder de la

Universidad de Pisa) hasta alcanzar un porcentaje de acuerdo de al menos 98% en el nivel de inserción clínico entre dos mediciones repetidas en ocasiones separadas (Graziani et al., 2010).

## **2.4 Visitas**

### **A) Visita basal**

Después de firmar el consentimiento informado, el examinador realizó una exploración periodontal consistente en radiografías periapicales (serie radiográfica periapical) y periodontograma. Se hizo también eliminación mecánica profesional de placa supragingival e instrucciones de higiene oral por parte del operador.

### **B) Segunda visita**

El operador 1 realizó el tratamiento periodontal consistente en instrumentación subgingival con punta fina de ultrasonido (PIEZON®PS EMS; Nyon, Suiza) durante una hora. Al final de la instrumentación, el operador 1 introdujo Superfloss (Oral B®; Schwalbach, Alemania) en todas las localizaciones profundas ( $\geq 6$  mm) para controlar el sangrado.

A continuación, el operador 2 aplicó EDTA en todas las localizaciones con PS  $\geq 6$  mm y se dejó in situ durante 2 minutos. Posteriormente, se realizó un enjuague minucioso y se aplicó EMD en el grupo test en todas las localizaciones con PS  $\geq 6$  mm, mientras que en el grupo control se aplicó solución salina estéril.

### **Seguimiento**

Los pacientes fueron revisados una vez por semana durante los primeros 14 días, y luego al mes y a los dos meses para profilaxis supragingival y refuerzo de la higiene oral. También se recogieron los efectos adversos.

### **C) Tercera visita**

A los 3 meses, se realizó la reevaluación periodontal de los pacientes (examinador). Los pacientes que presentaban bolsas residuales (PPD  $\geq 5$  mm) fueron reinstrumentados, tanto con puntas ultrasónicas como con curetas (Hu-Friedy®, Chicago, EE. UU.), y sin limitación de tiempo en la instrumentación (operador 1). Posteriormente, se aplicó Superfloss para luego colocar EMD o solución salina de la misma manera que en la visita del tratamiento inicial (operador 2).

### **D) Cuarta y quinta visita**

A los 6 meses y a los 12 meses, los pacientes fueron llamados para una reevaluación periodontal y

una terapéutica periodontal de mantenimiento.

## 2.5 Variables del estudio

Los parámetros clínicos fueron:

**Profundidad de sondaje (PS):** medida como la distancia entre la margen gingival y la parte más profunda de la bolsa periodontal, utilizando una sonda periodontal UNC-15 (Hu-Friedy®; Chicago, EE UU), en 6 localizaciones por diente (disto-buccal, buccal, mesio-buccal, disto-lingual, lingual, mesio-lingual).

**Recesión (Rec):** medida como la distancia desde el límite amelo-cementario (LAC) hasta el margen gingival. En caso de que no fuera visible el LAC, se utilizó uno de los siguientes puntos de referencia: margen de la corona, margen de la restauración, o un punto oclusal.

**Nivel de inserción clínico:** calculado como la suma de PPD y REC.

**Furcación (F):** las afectaciones de furca se clasificaron según el sondaje horizontal con sonda de Nabers (Hu-Friedy®; Chicago, EE UU) en:

- Grado I cuando la sonda puede entrar en el orificio de la furca
- Grado II cuando la sonda puede entrar en la furca libremente sin pasarla por completo.
- Grado III cuando la punta de la sonda atraviesa la furca de lado a lado (Hamp et al., 1975).

**Índice de placa:** se evaluó la presencia o ausencia de placa mediante el uso de una solución reveladora de placas (eritrosina), en las 6 localizaciones del diente (O'Leary et al., 1972).

**Índice del sangrado al sondaje:** se midió en forma dicotómica, 30 segundos después de la retirada de la sonda, en 6 localizaciones por diente (Badersten et al., 1985).

## 2.6 Análisis estadístico

### Tamaño muestral

El cálculo del tamaño de la muestra se realizó de acuerdo al estudio piloto de Graziani y cols. (Graziani et al., 2019), donde se obtuvo una magnitud del efecto (casos resueltos) del 20% mayor en el grupo de EMD que en grupo control. Por lo tanto, se estimó que para encontrar una diferencia estadísticamente significativa entre grupos del 20%, con un riesgo alfa del 5% y una potencia del 80%, se necesitarían 59 sujetos por grupo. Asumiendo una posible pérdida del 20%, se seleccionaron

140 sujetos en total. Al ser un estudio multicéntrico, cada país reclutó 20 sujetos. En este trabajo se presentan los resultados de un subgrupo de 12 pacientes de la parte de España.

### **Análisis descriptivo**

Para la realización de la estadística descriptiva y analítica fue empleado el software SPSS® *Statistics* V27 (IBM®, Armonk, EEUU). Antes de la recogida de los datos, fue establecido el grado de significación estadístico con una  $p \leq 0,05$ .

Para las variables cuantitativas, se analizó la normalidad de la distribución mediante el test de Shapiro-Wilks. Se calcularon la media y la desviación estándar, y el intervalo de confianza del 95%. Para las variables categóricas, se calcularon las frecuencias para cada variable.

### **Análisis inferencial**

Las variables demográficas se compararon con t de student para muestras no pareadas y con la prueba chi cuadrado. Se realizó la transformación logarítmica de las variables clínicas para mejorar la normalidad de la distribución. Las diferencias intragrupo e intergrupo en cada una de las visitas se analizó mediante el análisis de covarianza ANOVA con un factor de medidas repetidas, con corrección post hoc de Bonferroni.

## **3 Resultados**

### **3.1 Características de la muestra**

Fueron reclutados una muestra total de 12 pacientes, 7 pacientes del grupo test, y 5 del grupo control. En el grupo test, 3 eran hombres y 4 eran mujeres, con una edad media (desviación estándar) de 55,29 (6,65); mientras que en grupo control 3 eran hombres y 2 eran mujeres, con una media de edad de 54,20 (9,23). En el grupo test, 2 sujetos eran fumadores y en el grupo control solo 1.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos de acuerdo a la edad ( $p=0.817$ ), sexo ( $p=1.000$ ) o tabaco ( $p=1.000$ ) (*Tabla 1*).

En cuanto a los parámetros clínicos en basal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en los logaritmos de las medias de la profundidad de sondaje ( $p=0,928$ ), nivel de inserción clínico ( $p=0,887$ ), índice de placa ( $p=0,750$ ), ni sangrado al sondaje ( $p=0,620$ ) (*Tabla 2, 5, 6 y 7*). Tampoco se observaron diferencias significativas entre grupos en el logaritmo del porcentaje de bolsas periodontales según categorías ( $p \geq 0.05$ ) (*Tabla 3*).

### **3.2 Cambios en la profundidad de sondaje**

De forma general, se pudo observar que la instrumentación subgingival produjo una reducción estadísticamente significativa a los 3 meses [0,12 mm; IC 95% (0,05; 0,19);  $p = 0,001$ ] y a los 12 meses [0,20mm; IC 95% (0,10; 0,30);  $p = 0,000$ ] con respecto a basal.

Se pudo observar una reducción estadísticamente significativa de la profundidad del sondaje mayor en el grupo test que en el grupo control, a los 3 meses [-0,05mm; IC 95% (-0,01; -0,00);  $p = 0,038$ ]

Con respecto al análisis intragrupo, en el grupo test, se observó una reducción estadísticamente significativa de la profundidad del sondaje a los 3 meses con respecto a basal [0,14mm; IC 95% (0,05; 0,23);  $p = 0,002$ ], y los 12 meses versus basal [0,23mm; IC 95% (0,11; 0,36);  $p = 0,001$ ]. En cambio, en el grupo control solo se observó una reducción estadísticamente significativa a los 12 meses con respecto a basal [0,17mm; IC 95% (0,02; 0,32);  $p = 0,019$ ].

### **3.3 Cambios en la categoría de bolsas periodontales**

En la comparación entre grupos (*Tabla 3*), a los 3 meses se pudo observar una mayor ganancia en el porcentaje de bolsas con una profundidad de sondaje < 4mm en el grupo test que el grupo control [0,05mm; IC 95% (0,01; 0,09);  $p = 0,015$ ]. Por otro lado, se vieron mayores reducciones significativas en el grupo test que en control en la categoría de bolsas  $\geq 4$ mm [-0,24mm; IC 95% (-0,40; -0,09);  $p = 0,005$ ] y  $\geq 5$ mm [-0,51mm; IC 95% (0,17; 0,84);  $p = 0,006$ ]. No se observaron diferencias en ninguna de las otras visitas.

En el grupo test, se observó una mayor ganancia en el porcentaje de bolsas < 4mm a los 3 meses [-0,20mm; IC 95% (-0,38; -0,03);  $p = 0,016$ ] y a los 12 meses [-0,22mm; IC 95% (-0,38; -0,05);  $p = 0,008$ ] con respecto a basal. En el grupo control, no se observaron estos cambios entre visitas para esta categoría de bolsa.

Con respecto a las bolsas  $\geq 4$ mm, se observó una reducción significativa a los 3 meses [0,53mm; IC 95% (0,28; 0,77);  $p = 0,000$ ] y a los 12 meses [0,82mm; IC 95% (0,33; 1,31);  $p = 0,002$ ] con respecto a basal. En el grupo control solo se observó esta reducción a los 12 meses [0,59mm; IC 95% (0,01; 1,16);  $p = 0,043$ ].

Para la categoría de bolsas  $\geq 5$ mm, en el grupo test, se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas a los 3 meses [0,91mm; IC 95% (0,44; 1,38);  $p = 0,000$ ] y a los 12 meses [1,09mm; IC 95% (0,60; 1,59);  $p = 0,000$ ] comparando con basal; mientras que en el grupo

control solo se pudo observar diferencias significativas a los 12 meses [0,96mm; IC 95% (0,37; 1,54);  $p = 0,002$ ].

Con respecto al logaritmo del porcentaje de bolsas  $\geq 6$ mm, se observó una reducción significativa en el grupo test a los 3 meses [0,85mm; IC 95% (0,46; 1,25);  $p = 0,000$ ] y a los 12 meses [0,99mm; IC 95% (0,58; 1,40);  $p = 0,000$ ] comparado con basal. En cuanto al grupo control también se observó una ganancia a los 3 meses [0,50mm; IC 95% (0,03; 1,97);  $p = 0,032$ ] y a los 12 meses [0,75mm; IC 95% (0,26; 1,24);  $p = 0,003$ ] con respecto a basal (*Tabla 4*).

### **3.4** Cambios en el nivel de inserción

En cuanto a los resultados obtenidos por el tratamiento en el nivel de inserción, se pudo observar una ganancia de manera estadísticamente significativa tanto a los 3 meses [0,06 mm; IC 95% (0,02; 0,11);  $p = 0,005$ ] como a los 12 meses [0,14mm; IC 95% (0,06;0,22);  $p = 0,001$ ] con respecto a basal.

En cuanto a las diferencias intergrupo, no se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas en el nivel de inserción clínico ( $p \geq 0,05$ ).

Con respecto al análisis intragrupo, en el grupo test se observó una ganancia estadísticamente significativa en el nivel de inserción clínico a los 3 meses con respecto a basal [0,08mm; IC 95% (0,02; 0,14);  $p = 0,005$ ] y los 12 meses versus basal [0,16mm; IC 95%(0,05; 0,26);  $p = 0,003$ ]. Por otro lado, en el grupo control solo se observó una ganancia estadísticamente significativa a los 12 meses con respecto a basal [0,12 mm; IC 95% (0,00; 0,25);  $p = 0,041$ ].

### **3.5** Cambios en índice de placa

De forma general, se pudo observar un efecto a lo largo del tiempo entre basal y los 12 meses en el índice de placa [0,17mm; IC 95% (0,04; 0,30);  $p = 0,010$ ].

Por otro lado, no se observaron diferencias entre grupos en los diferentes intervalos de visitas ( $p \geq 0,05$ ).

En cuanto al grupo test, se observó un cambio en el índice de placa estadísticamente significativo a los 12 meses comparado con basal [0,21mm; IC 95% (0,04; 0,38);  $p = 0,011$ ]. Sin embargo, en el grupo control no se observaron diferencias significativas a lo largo del seguimiento.

### **3.6 Cambios en índice de sangrado al sondaje (Tabla 7)**

A lo largo del tiempo se observó una reducción del índice de sangrado al sondaje, tanto a los 3 meses [0,74mm; IC 95% (0,36; 1,12);  $p = 0,000$ ] como a los 12 meses [1,28mm; IC 95% (0,75; 1,82);  $p = 0,000$ ] con respecto a basal.

En el análisis intergrupo, en el grupo test se observó una mayor reducción estadísticamente significativa a los 6 meses [-0,52mm; IC 95% (-0,91; -0,13);  $p = 0,014$ ] comparado con el grupo control.

En cuanto a diferencias intragrupo, el grupo test obtuvo una reducción del sangrado al sondaje a los 3 meses [0,93mm; IC 95% (0,41; 1,42);  $p = 0,001$ ] y a los 12 meses [1,36mm; IC 95% (0,67; 2,05);  $p = 0,000$ ] comparado con basal; y, el grupo control solo obtuvo una reducción significativa a los 12 meses con respecto a basal [1,21mm; IC 95% (0,39; 2,02);  $p = 0,004$ ].

## **4 Discusión**

Este estudio tenía como objetivo comparar el potencial clínico de la instrumentación subgingival periodontal no quirúrgica con o sin aplicación complementaria de EMD para reducir la necesidad de tratamiento quirúrgico en pacientes con periodontitis estadio III. Se pudo observar una reducción significativa en el grupo test en la profundidad del sondaje a los 3 meses y del sangrado al sondaje a los 6 meses con respecto al grupo control que luego desapareció a los 12 meses. En cuanto a las diferencias intragrupo, cada grupo se comportó internamente de la misma manera para las variables de profundidad del sondaje, nivel de inserción clínico y sangrado al sondaje, observándose una reducción en la profundidad del sondaje y en el sangrado al sondaje, y una ganancia en el nivel de inserción clínico en el grupo test a los 3 meses y a los 12 meses con respecto a basal, y en el grupo control solo a los 12 meses. En el índice de placa solo se observó una reducción significativa al año en el grupo test con respecto a basal. También en el grupo test se observó una mayor reducción en las bolsas  $\geq 4$ mm y  $\geq 5$ mm, y una mayor ganancia de bolsas  $< 4$ mm que el grupo control a los 3 meses. Estas diferencias se igualaron a los 6 y a los 12 meses, no observándose ninguna diferencia entre grupos en las bolsas  $\geq 6$ mm en ninguna visita.

En este estudio se observaron cambios estadísticamente significativos en la PS tanto en el grupo test (instrumentación subgingival + EMD) como en el grupo control (instrumentación subgingival solo) entre basal y los 12 meses. Sin embargo, a los 3 meses solo se observó esta reducción en el

grupo test. Estos resultados están en consonancia con el estudio de Sculean y cols. (Sculean et al., 2003) y de Schallhorn y cols. (Schallhorn et al., 2021), quienes no observaron diferencias significativas entre grupos a los 12 meses. La causa de estos resultados no significativos podría ser debida al hecho de que es difícil conseguir una regeneración tisular a largo plazo con EMD sin acceso quirúrgico, puesto que no hay suficiente visibilidad ni acceso a las bolsas profundas, o debido a la posibilidad de tener bacterias remanentes en las superficies de las raíces, o a la dificultad de la precipitación del EMD en un entorno húmedo (Sculean et al., 2003).

En cuanto al porcentaje de bolsas periodontales según la categoría, se observó que con el uso de EMD como coadyuvante a la instrumentación subgingival solo se consiguió un aumento significativo en el porcentaje de bolsas < 4mm, y una reducción de bolsas  $\geq 4\text{mm}$  y  $\geq 5\text{mm}$  después de 3 meses de tratamiento, con respecto al grupo control. Estas diferencias ya no se observaron a los 6 y 12 meses. Sin embargo, Schallhorn y cols. en 2021, observaron estos resultados a los 12 meses, no a los 3 meses (Schallhorn et al., 2021); y Graziani y cols., en 2019, obtuvieron mejores resultados en cuanto a la frecuencia de las bolsas periodontales  $\geq 6\text{mm}$  con el uso de EMD a los 3 meses (Graziani et al. 2019). Estas diferencias entre estos estudios pueden ser debidas a un menor tamaño muestral en el presente trabajo.

El nivel de inserción clínico tuvo un comportamiento inverso al de la profundidad de sondaje, es decir, se obtuvo una ganancia en este parámetro al tiempo que se producía una reducción en la profundidad del sondaje a los 3 y a los 12 meses en el grupo test, y a los 12 meses en el grupo control. Los mismos resultados fueron observados en el estudio de Schallhorn y cols. en 2021 (Schallhorn et al., 2021). Esta mayor ganancia en el nivel de inserción en el grupo test a los 3 meses pudo ser debida al efecto directo que tiene el EMD sobre la estimulación de los fibroblastos (Van Der Pauw et al., 2002). También podría ser debido al hecho de que el EMD mejora la estabilización del coagulo, protegiendo mejor contra la invasión bacteriana y mejorando así el potencial de la cicatrización de la herida (Gestrelius et al., 1997). Sin embargo, a los 12 meses no se observaron diferencias entre el grupo test y el grupo control porque los 2 grupos obtuvieron la misma ganancia. Estos resultados están en línea con los estudios que evalúan los resultados de la instrumentación subgingival a largo plazo (Rabbani et al., 1981).

En cuanto al índice de placa, no se observaron diferencias significativas entre los 2 grupos a lo largo del estudio. Otros estudios han observado este mismo resultado (Tonetti et al., 2002). Sin embargo, en el presente estudio se observó una reducción en este índice después de 12 meses en el grupo

test. Esto mejora del índice de placa en el grupo test es difícil de explicar, pero podría ser debido a que estos pacientes observaron una mayor reducción en el sangrado, por lo que estaban más motivados a la hora de llevar a cabo su higiene oral (Carra et al., 2020).

El índice de sangrado al sondaje también mostró una reducción significativa en ambos grupos a los 12 meses, mientras que en el grupo test hubo una mejoría significativa a los 6 meses comparado con el grupo control. Esta observación puede ser debida al efecto antimicrobiano demostrado en estudios clínicos (Wyganowska-Świątkowska et al., 2013) e in vitro (Spahr et al., 2002), los cuales han observado que el EMD inhibe el desarrollo de patógenos periodontales como *P. gingivalis* y *P. intermedia*.

Este trabajo presenta varias limitaciones, como el número reducido de pacientes utilizados en este análisis estadístico y las limitaciones propias de la instrumentación subgingival, especialmente en bolsas profundas de difícil acceso y furcaciones de molares, donde el cálculo es más complicado de eliminar a cielo cerrado (Sculean, Windisch, et al., 2003).

Se recomienda para estudios futuros analizar un mayor número de pacientes, y así poder evaluar con mayor eficacia las ventajas de usar EMD como coadyuvante al tratamiento periodontal no quirúrgico con el objetivo de reducir la necesidad quirúrgica en pacientes con periodontitis estadio III.

## **5. Conclusión**

Basado en este estudio, la instrumentación subgingival más EMD fue efectiva para reducir las necesidades de tratamiento quirúrgico a los 3 meses en pacientes con periodontitis estadio III. Sin embargo, a largo plazo las necesidades quirúrgicas son las mismas, tanto si se utiliza o no EMD como coadyuvante al tratamiento periodontal no quirúrgico.

## 6. Tablas

*Tabla 1.* Descripción de la población y comparación de los grupos de tratamiento en términos de variables demográficas.

		Test	Control	Total	<i>p</i>
	n	7	5	12	
Edad	Media (DE)	55,29 (6,65)	54,20 (9,23)	54,83 (7,44)	0,817
	Min-Max	45-63	40-65	40-65	
Sexo	Hombre [n (%)]	3 (42,9)	3 (60,0)	6 (50,0)	1,000
	Mujer [n (%)]	4 (57,1)	2 (40,0)	6 (50,0)	
Tabaco	No [n (%)]	5 (71,4)	4 (80,0)	9 (75,0)	1,000
	Sí [n (%)]	2 (28,6)	1 (20,0)	3 (25,0)	

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; n (%): número de sujetos y porcentaje.

Tabla 2. Profundidad de sondaje. ANOVA de medidas repetidas con el logaritmo de la profundidad de sondaje, y pruebas de efecto post hoc intra e inter sujetos para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

		n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
					L. inferior	L. superior	
Basal		12	0,53 (0,06)	0,12*	0,05	0,19	<b>0,001</b>
3 m		12	0,40 (0,04)	0,07†	-0,00	0,14	0,060
6 m		12	0,33 (0,07)	0,01‡	-0,03	0,06	1,000
12 m		12	0,32 (0,10)	0,20§	0,10	0,30	<b>0,000</b>
	Test	7	0,37 (0,02)	-0,04	-0,11	0,02	0,155
	Control	5	0,42 (0,02)				
Basal	Test	7	0,53 (0,07)	-0,00	-0,09	0,08	0,928
	Control	5	0,53 (0,04)				
3 m	Test	7	0,38 (0,02)	-0,05	-0,11	-0,00	<b>0,038</b>
	Control	5	0,44 (0,05)				
6 m	Test	7	0,30 (0,06)	-0,06	-0,15	0,02	0,140
	Control	5	0,37 (0,07)				
12 m	Test	7	0,29 (0,08)	-0,06	-0,20	0,06	0,297
	Control	5	0,36 (0,12)				
Test	Basal	7	0,53 (0,07)	0,14*	0,05	0,23	<b>0,002</b>
	3 m	7	0,38 (0,02)	0,07†	-0,02	0,16	0,169
	6 m	7	0,30 (0,06)	0,01‡	-0,04	0,07	1,000
	12 m	7	0,29 (0,08)	0,23§	0,11	0,36	<b>0,001</b>
Control	Basal	5	0,53 (0,04)	0,09*	-0,01	0,20	0,101
	3 m	5	0,44 (0,05)	0,06†	-0,04	0,17	0,453
	6 m	5	0,37 (0,07)	0,01‡	-0,05	0,08	1,000
	12 m	5	0,36 (0,12)	0,17§	0,02	0,32	<b>0,019</b>

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif.: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses; \*: basal versus 3 meses; †: 3 meses versus 6 meses; ‡: 6 meses versus 12 meses; §: basal versus 12 meses. Los valores p en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 3. Análisis intergrupo para la categoría de bolsas periodontales. ANOVA de medidas repetidas para el logaritmo del porcentaje de bolsas, y pruebas de efecto post hoc intergrupo para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

Visita	Categoría	Grupo	n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
						L. inferior	L. superior	
Basal	< 4mm	Test	7	1,73 (0,16)	-0,00	-017	0,17	0,975
		Control	5	1,73 (0,07)				
	≥ 4 mm	Test	7	1,59 (0,19)	-0,04	-0,25	0,17	0,685
		Control	5	1,63 (0,10)				
	≥ 5 mm	Test	7	1,32 (0,20)	-0,00	-0,25	0,24	0,950
		Control	5	1,32 (0,16)				
	≥ 6 mm	Test	7	1,00 (0,17)	0,00	-0,24	0,24	0,997
		Control	5	1,00 (0,20)				
3 m	< 4mm	Test	7	1,94 (0,00)	0,05	0,01	0,09	<b>0,015</b>
		Control	5	1,88 (0,05)				
	≥ 4 mm	Test	7	1,06 (0,05)	-0,24	-0,40	-0,09	<b>0,005</b>
		Control	5	1,31 (0,17)				
	≥ 5 mm	Test	7	0,40 (0,25)	-0,51	0,17	0,84	<b>0,006</b>
		Control	5	0,91 (0,24)				
	≥ 6 mm	Test	7	0,15 (0,09)	-0,34	-0,73	0,03	0,071
		Control	5	0,50 (0,45)				
6 m	< 4mm	Test	7	1,96 (0,02)	0,03	-0,02	0,09	0,238
		Control	5	1,92 (0,04)				
	≥ 4 mm	Test	7	0,81 (0,28)	-0,23	-0,61	0,14	0,198
		Control	5	1,04 (0,30)				
	≥ 5 mm	Test	7	0,18 (0,37)	-0,30	-0,89	0,28	0,273
		Control	5	0,48 (0,54)				
	≥ 6 mm	Test	7	0,02 (0,17)	-0,10	-0,58	0,38	0,647
		Control	5	0,12 (0,54)				
12 m	< 4mm	Test	7	1,95 (0,03)	-0,04	-0,25	0,17	0,685
		Control	5	1,90 (0,12)				
	≥ 4 mm	Test	7	0,77 (0,46)	-0,27	-0,84	0,30	0,318
		Control	5	1,04 (0,40)				
	≥ 5 mm	Test	7	0,22 (0,35)	-0,14	-0,80	0,51	0,634
		Control	5	0,36 (0,67)				
	≥ 6 mm	Test	7	0,01 (0,19)	-0,24	-0,75	0,26	0,315
		Control	5	0,25 (0,57)				

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses. Los valores p en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4. Análisis intragrupo para la categoría de bolsas periodontales. ANOVA de medidas repetidas para el logaritmo del porcentaje de bolsas, y pruebas de efecto post hoc intra sujeto para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

Categoría	Grupo	Visita	n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
						L. inferior	L. superior	
< 4mm	Test	Basal	7	1,73 (0,16)	-0,20*	-0,38	-0,03	<b>0,016</b>
		3 m	7	1,94 (0,00)	-0,02†	-0,08	0,04	1,000
		6 m	7	1,96 (0,02)	0,00‡	-0,04	0,05	1,000
		12 m	7	1,95 (0,03)	-0,22§	-0,38	-0,05	<b>0,008</b>
	Control	Basal	5	1,73 (0,07)	-0,14*	-0,35	0,05	0,221
		3 m	5	1,88 (0,05)	-0,04†	-0,11	0,03	0,565
		6 m	5	1,92 (0,04)	0,02‡	-0,03	0,07	1,000
		12 m	5	1,90 (0,12)	-0,16§	-0,36	0,02	0,104
≥ 4mm	Test	Basal	7	1,59 (0,19)	0,53*	0,28	0,77	<b>0,000</b>
		3 m	7	1,06 (0,05)	0,25†	-0,09	0,59	0,230
		6 m	7	0,81 (0,28)	0,03‡	-0,25	0,33	1,000
		12 m	7	0,77 (0,46)	0,82§	0,33	1,31	<b>0,002</b>
	Control	Basal	5	1,63 (0,10)	0,40*	-0,14	0,96	0,222
		3 m	5	1,31 (0,17)	0,43†	-0,37	1,24	0,666
		6 m	5	1,04 (0,30)	0,03‡	-0,25	0,33	1,000
		12 m	5	1,04 (0,40)	0,59§	0,01	1,16	<b>0,043</b>
≥ 5mm	Test	Basal	7	1,32 (0,20)	0,91‡	0,44	1,38	<b>0,000</b>
		3 m	7	0,40 (0,25)	0,22§	-0,45	0,91	1,000
		6 m	7	0,18 (0,37)	-0,04*	-0,41	0,33	1,000
		12 m	7	0,22 (0,35)	1,09†	0,60	1,59	<b>0,000</b>
	Control	Basal	5	1,32 (0,16)	0,40‡	-0,14	0,96	0,222
		3 m	5	0,91 (0,24)	0,43§	-0,37	1,24	0,666
		6 m	5	0,48 (0,54)	0,11‡	-0,32	0,56	1,000
		12 m	5	0,36 (0,67)	0,96§	0,37	1,54	<b>0,002</b>
≥ 6mm	Test	Basal	7	1,00 (0,17)	0,85*	0,46	1,25	<b>0,000</b>
		3 m	7	0,15 (0,09)	0,12†	-0,27	0,52	1,000
		6 m	7	0,02 (0,17)	0,01‡	-0,17	0,19	1,000
		12 m	7	0,01 (0,19)	0,99§	0,58	1,40	<b>0,000</b>
	Control	Basal	5	1,00 (0,20)	0,50*	0,03	0,97	<b>0,032</b>
		3 m	5	0,50 (0,45)	0,37†	-0,09	0,84	0,157
		6 m	5	0,12 (0,54)	-0,12‡	-0,34	0,08	0,483
		12 m	5	0,25 (0,57)	0,75§	0,26	1,24	<b>0,003</b>

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif.: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses; \*: basal versus 3 meses; †: 3 meses versus 6 meses; ‡: 6 meses versus 12 meses; §: basal versus 12 meses. Los valores p en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 5. Nivel de inserción. ANOVA de medidas repetidas con el logaritmo del nivel de inserción, y pruebas de efecto post hoc intra e inter sujetos para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

		n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
					L. inferior	L. superior	
Basal		12	0,57 (0,08)	0,06*	0,02	0,11	<b>0,005</b>
3 m		12	0,50 (0,08)	0,04†	-0,02	0,11	0,371
6 m		12	0,46 (0,11)	0,03‡	-0,01	0,07	0,237
12 m		12	0,43 (0,12)	0,14§	0,06	0,22	<b>0,001</b>
	Test	7	0,48 (0,03)	-0,02	-0,15	0,11	0,715
	Control	5	0,50 (0,04)				
Basal	Test	7	0,58 (0,10)	0,00	-0,10	0,11	0,887
	Control	5	0,57 (0,04)				
3 m	Test	7	0,49 (0,10)	-0,03	-0,15	-0,08	0,584
	Control	5	0,52 (0,07)				
6 m	Test	7	0,44 (0,11)	-0,03	-0,19	0,12	0,611
	Control	5	0,48 (0,10)				
12 m	Test	7	0,41 (0,13)	-0,02	-0,20	0,14	0,731
	Control	5	0,44 (0,13)				
Test	Basal	7	0,58 (0,10)	0,08*	0,02	0,14	<b>0,005</b>
	3 m	7	0,49 (0,10)	0,05†	-0,04	0,14	0,652
	6 m	7	0,44 (0,11)	0,02‡	-0,03	0,08	0,918
	12 m	7	0,41 (0,13)	0,16§	0,05	0,26	<b>0,003</b>
Control	Basal	5	0,57 (0,04)	0,04*	-0,02	0,12	0,308
	3 m	5	0,52 (0,07)	0,04†	-0,06	0,15	1,000
	6 m	5	0,48 (0,10)	0,03‡	-0,03	0,10	0,620
	12 m	5	0,44 (0,13)	0,12§	0,00	0,25	<b>0,041</b>

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif.: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses; \*: basal versus 3 meses; †: 3 meses versus 6 meses; ‡: 6 meses versus 12 meses; §: basal versus 12 meses. Los valores *p* en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 6. Índice de placa. ANOVA de medidas repetidas con el logaritmo del índice de placa, y pruebas de efecto post hoc intra e inter sujetos para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

		n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
					L. inferior	L. superior	
Basal		12	1,87 (0,12)	0,13*	-0,03	0,31	0,169
3 m		12	1,72 (0,24)	0,04†	-0,12	0,20	1,000
6 m		12	1,69 (0,16)	-0,00‡	-0,16	0,14	1,000
12 m		12	1,69 (0,15)	0,17§	0,04	0,30	<b>0,010</b>
	Test	7	1,73 (0,05)	-0,03	-0,22	0,15	0,700
	Control	5	1,76 (0,06)				
Basal	Test	7	1,88 (0,12)	0,02	-0,12	0,17	0,750
	Control	5	1,86 (0,09)				
3 m	Test	7	1,69 (0,31)	-0,08	-0,40	0,24	0,586
	Control	5	1,77 (0,07)				
6 m	Test	7	1,69 (0,19)	-0,00	-0,23	0,21	0,945
	Control	5	1,69 (0,13)				
12 m	Test	7	1,66 (0,17)	-0,07	-0,28	0,14	0,482
	Control	5	1,73 (0,13)				
Test	Basal	7	1,88 (0,12)	0,18*	-0,03	0,41	0,125
	3 m	7	1,69 (0,31)	0,00†	-0,20	0,20	1,000
	6 m	7	1,69 (0,19)	0,02‡	-0,17	0,22	1,000
	12 m	7	1,66 (0,17)	0,21§	0,04	0,38	<b>0,011</b>
Control	Basal	5	1,86 (0,09)	0,08*	-0,18	0,35	1,000
	3 m	5	1,77 (0,07)	0,07†	-0,16	0,32	1,000
	6 m	5	1,69 (0,13)	-0,03‡	-0,27	0,19	1,000
	12 m	5	1,73 (0,13)	0,12§	-0,07	0,32	0,402

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif.: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses; \*: basal versus 3 meses; †: 3 meses versus 6 meses; ‡: 6 meses versus 12 meses; §: basal versus 12 meses. Los valores *p* en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 7. Sangrado al sondaje. ANOVA de medidas repetidas con el logaritmo del sangrado al sondaje, y pruebas de efecto post hoc intra e inter sujetos para la comparación por pares (corrección de Bonferroni). Análisis por protocolo.

		n	Media (DE)	Dif. medias	IC 95%		p
					L. inferior	L. superior	
Basal		12	1,63 (0,16)	0,74*	0,36	1,12	<b>0,000</b>
3 m		12	0,85 (0,43)	0,31†	-0,00	0,62	0,053
6 m		12	0,53 (0,39)	0,23‡	-0,22	0,68	0,753
12 m		12	0,33 (0,59)	1,28§	0,75	1,82	<b>0,000</b>
	Test	7	0,71 (0,10)	-0,30	-0,66	0,06	0,093
	Control	5	1,01 (0,12)				
Basal	Test	7	1,61 (0,20)	-0,05	-0,28	0,17	0,620
	Control	5	1,66 (0,11)				
3 m	Test	7	0,67 (0,41)	-0,43	-0,94	0,08	0,094
	Control	5	1,10 (0,36)				
6 m	Test	7	0,32 (0,30)	-0,52	-0,91	-0,13	<b>0,014</b>
	Control	5	0,84 (0,29)				
12 m	Test	7	0,24 (0,51)	-0,20	-1,01	0,59	0,577
	Control	5	0,45 (0,74)				
	Basal	7	1,61 (0,20)	0,93*	0,44	1,42	<b>0,001</b>
	3 m	7	0,67 (0,41)	0,35†	-0,04	0,76	0,097
	6 m	7	0,32 (0,30)	0,07‡	-0,50	0,65	1,000
	12 m	7	0,24 (0,51)	1,36§	0,67	2,05	<b>0,000</b>
	Basal	5	1,66 (0,11)	0,55*	-0,02	1,13	0,063
	3 m	5	1,10 (0,36)	0,26†	-0,21	0,74	0,602
	6 m	5	0,84 (0,29)	0,38‡	-0,30	1,07	0,572
	12 m	5	0,45 (0,74)	1,21§	0,39	2,02	<b>0,004</b>

n: tamaño de la muestra; DE: desviación estándar; Dif.: diferencia; IC: intervalo de confianza; L.: límite; m: meses; \*: basal versus 3 meses; †: 3 meses versus 6 meses; ‡: 6 meses versus 12 meses; §: basal versus 12 meses. Los valores p en negrita representan diferencias estadísticamente significativas.

## 7. Bibliografía

- Aoki, A., Sasaki, K. M., Watanabe, H., & Ishikawa, I. (2004). Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 36, 59-97. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2004.03679.x>
- Aroca, S., Keglevich, T., Nikolidakis, D., Gera, I., Nagy, K., Azzi, R., & Etienne, D. (2010). Treatment of class III multiple gingival recessions: A randomized-clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(1), 88-97. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01492.x>
- Arweiler, N. B., Grelle, F., Sculean, A., Heumann, C., & Auschill, T. M. (2018). Antibacterial Effect and Substantivity of Toothpaste Slurries In Vivo. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 16(2), 175-181. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a40310>
- Badersten, A., Nilvéus, R., & Egelberg, J. (1985). Effect of non-surgical periodontal therapy. VI. Localization of sites with probing attachment loss. *Journal of Clinical Periodontology*, 12(5), 351-359. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1985.tb00925.x>
- Bosshardt, D. D. (2008). Biological mediators and periodontal regeneration: A review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(8 Suppl), 87-105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01264.x>
- Bosshardt, D. D., Sculean, A., Windisch, P., Pjetursson, B. E., & Lang, N. P. (2005). Effects of enamel matrix proteins on tissue formation along the roots of human teeth. *Journal of Periodontal Research*, 40(2), 158-167. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00785.x>
- Bowers, G. M., Chadroff, B., Carnevale, R., Mellonig, J., Corio, R., Emerson, J., Stevens, M., & Romberg, E. (1989). Histologic Evaluation of New Attachment Apparatus Formation in Humans. *Journal of Periodontology*, 60(12), 683-693. <https://doi.org/10.1902/jop.1989.60.12.683>
- Carra, M. C., Detzen, L., Kitzmann, J., Woelber, J. P., Ramseier, C. A., & Bouchard, P. (2020). Promoting behavioural changes to improve oral hygiene in patients with periodontal diseases: A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 72-89. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13234>
- Casarin, R. C. V., Del Peloso Ribeiro, É., Nociti, F. H., Sallum, A. W., Ambrosano, G. M. B., Sallum, E. A., & Casati, M. Z. (2010). Enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class II furcation involvements: A prospective 24-month randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(12), 1100-1109. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01614.x>
- Caton, J. G., & Greenstein, G. (1993). Factors related to periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 1(1), 9-15. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1993.tb00202.x>
- Chitsazi, M. T., Mostofi Zadeh Farahani, R., Pourabbas, M., & Bahaeddin, N. (2007). Efficacy of open flap debridement with and without enamel matrix derivatives in the treatment of mandibular degree II furcation involvement. *Clinical Oral Investigations*, 11(4), 385-389. <https://doi.org/10.1007/s00784-007-0134-z>
- Cortellini, P., Prato, G. P., & Tonetti, M. S. (1996). Periodontal Regeneration of Human Intrabony Defects With Bioresorbable Membranes. A Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 67(3), 217-223. <https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.3.217>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2007). A minimally invasive surgical technique with an enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intrabony defects: A novel approach to limit morbidity. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(1), 87-93. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01020.x>

- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2009). Improved wound stability with a modified minimallyinvasive surgical technique in the regenerative treatment of isolated interdental intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(2), 157-163. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01352.x>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2011). Clinical and radiographic outcomes of the modified minimally invasive surgical technique with and without regenerative materials: A randomized-controlled trial in intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(4), 365-373. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01705.x>
- Cortellini, P., & Tonetti, M. S. (2015). Clinical concepts for regenerative therapy in intrabonydefects. *Periodontology 2000*, 68(1), 282-307. <https://doi.org/10.1111/prd.12048>
- Di Tullio, M., Femminella, B., Pilloni, A., Romano, L., D'Arcangelo, C., De Ninis, P., & Paolantonio, M. (2013). Treatment of Supra-Alveolar-Type Defects by a Simplified PapillaPreservation Technique for Access Flap Surgery With or Without Enamel Matrix Proteins. *Journal of Periodontology*, 84(8), 1100-1110. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120075>
- Donos, N., Sculean, A., Glavind, L., Reich, E., & Karring, T. (2003). Wound healing of degree III furcation involvements following guided tissue regeneration and/or Emdogain®: A histologic study. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(12), 1061-1068. <https://doi.org/10.1046/j.0303-6979.2003.00429.x>
- Esposito, M., Grusovin, M. G., Coulthard, P., & Worthington, H. V. (2005). Enamel matrixderivative (Emdogain®) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003875.pub2>
- Esposito, M., Grusovin, M. G., Papanikolaou, N., Coulthard, P., & Worthington, H. V. (2009). Enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009(4), CD003875. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003875.pub3>
- Gestrelus, S., Andersson, C., Lidström, D., Hammarström, L., & Somerman, M. (1997). In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9), 685-692. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00250.x>
- Graziani, F., Cei, S., Tonetti, M., Paolantonio, M., Serio, R., Sammartino, G., Gabriele, M., & D'Aiuto, F. (2010). Systemic inflammation following non-surgical and surgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(9), 848-854. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01585.x>
- Graziani, F., Gennai, S., Cei, S., Cairo, F., Baggiani, A., Miccoli, M., Gabriele, M., & Tonetti, M. (2012). Clinical performance of access flap surgery in the treatment of the intrabony defect. A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(2), 145-156. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01815.x>
- Graziani, F., Gennai, S., Cei, S., Ducci, F., Discepoli, N., Carmignani, A., & Tonetti, M. (2014). Does enamel matrix derivative application provide additional clinical benefits in residual periodontal pockets associated with suprabony defects? A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(4), 377-386. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12218>
- Graziani, F., Gennai, S., Petrini, M., Bettini, L., & Tonetti, M. (2019). Enamel matrix derivative stabilizes blood clot and improves clinical healing in deep pockets after flapless periodontal therapy. A Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 46(2), 231-240. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13074>

- Guida, L., Annunziata, M., Belardo, S., Farina, R., Scabbia, A., & Trombelli, L. (2007). Effect of Autogenous Cortical Bone Particulate in Conjunction With Enamel Matrix Derivative in the Treatment of Periodontal Intraosseous Defects. *Journal of Periodontology*, 78(2), 231-238. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060142>
- Gutierrez, M. A., Mellonig, J. T., & Cochran, D. L. (2003). Evaluation of enamel matrix derivative as an adjunct to non-surgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(8), 739-745. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2003.00374.x>
- Hägewald, S., Spahr, A., Rompola, E., Haller, B., Heijl, L., & Bernimoulin, J. (2002). Comparative study of Emdogain® and coronally advanced flap technique in the treatment of human gingival recessions: A prospective controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(1), 35-41. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2002.290106.x>
- Hammarström, L. (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9 Pt 2), 658-668. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1997.tb00247.x>
- Hamp, S. E., Nyman, S., & Lindhe, J. (1975). Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. *Journal of Clinical Periodontology*, 2(3), 126-135. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1975.tb01734.x>
- Heard, R. H., Mellonig, J. T., Brunsvold, M. A., Lasho, D. J., Meffert, R. M., & Cochran, D. L. (2000). Clinical Evaluation of Wound Healing Following Multiple Exposures to Enamel Matrix Protein Derivative in the Treatment of Intrabony Periodontal Defects. *Journal of Periodontology*, 71(11), 1715-1721. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.11.1715>
- Heijl, L. (1997). Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(9 Pt 2), 693-696. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.1997.00693.x>
- Herrera, D., Matesanz, P., Martín, C., Oud, V., Feres, M., & Teughels, W. (2020). Adjunctive effect of locally delivered antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 239-256. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13230>
- Herrera, D., Sanz, M., Kerschull, M., Jepsen, S., Sculean, A., Berglundh, T., Papapanou, P. N., Chapple, I., Tonetti, M. S., & EFP Workshop Participants and Methodological Consultant. (2022). Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 49(S24), 4-71. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13639>
- Inaba, H., Kawai, S., Nakayama, K., Okahashi, N., & Amano, A. (2004). Effect of Enamel Matrix Derivative on Periodontal Ligament Cells In Vitro Is Diminished by *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Periodontology*, 75(6), 858-865. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.6.858>
- Iorio-Siciliano, V., Blasi, A., Stratul, S.-I., Ramaglia, L., Octavia, V., Salvi, G. E., & Sculean, A. (2021). Healing of periodontal suprabony defects following treatment with open flap debridement with or without an enamel matrix derivative: A randomized controlled clinical study. *Clinical Oral Investigations*, 25(3), 1019-1027. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03392-4>
- Jentsch, H., & Purschwitz, R. (2008). A clinical study evaluating the treatment of supra-alveolar-type defects with access flap surgery with and without an enamel matrix protein derivative: A pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(8), 713-718. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01253.x>
- Jepsen, S., Deschner, J., Braun, A., Schwarz, F., & Eberhard, J. (2011). Calculus removal and the

prevention of its formation. *Periodontology* 2000, 55(1), 167-188. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00382.x>

Jepsen, S., Gennai, S., Hirschfeld, J., Kalemaj, Z., Buti, J., & Graziani, F. (2020). Regenerative surgical treatment of furcation defects: A systematic review and Bayesian network meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 352-374. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13238>

Jepsen, S., Heinz, B., Jepsen, K., Arjomand, M., Hoffmann, T., Richter, S., Reich, E., Sculean, A., Gonzales, J. R., Bödeker, R. H., & Meyle, J. (2004). A Randomized Clinical Trial Comparing Enamel Matrix Derivative and Membrane Treatment of Buccal Class II Furcation Involvement in Mandibular Molars. Part I: Study Design and Results for Primary Outcomes. *Journal of Periodontology*, 75(8), 1150-1160. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.8.1150>

Koop, R., Merheb, J., & Quirynen, M. (2012). Periodontal Regeneration With Enamel Matrix Derivative in Reconstructive Periodontal Therapy: A Systematic Review. *Journal of Periodontology*, 83(6), 707-720. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110266>

Lekovic, V., Camargo, P. M., Weinlaender, M., Aleksic, Z., Barrie Kenney, E., & Nedic, M. (2000). 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. *Journal of Periodontology*, 71(7), 1110-1116. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.7.1110>

Meyle, J., Gonzales, J. R., Bödeker, R. H., Hoffmann, T., Richter, S., Heinz, B., Arjomand, M., Reich, E., Sculean, A., Jepsen, K., & Jepsen, S. (2004). A randomized clinical trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part II: secondary outcomes. *Journal of Periodontology*, 75(9), 1188-1195. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.9.1188>

Miron, R. J., Sculean, A., Cochran, D. L., Froum, S., Zucchelli, G., Nemcovsky, C., Donos, N., Lyngstadaas, S. P., Deschner, J., Dard, M., Stavropoulos, A., Zhang, Y., Trombelli, L., Kasaj, A., Shirakata, Y., Cortellini, P., Tonetti, M., Rasperini, G., Jepsen, S., & Bosshardt, D. D. (2016). Twenty years of enamel matrix derivative: The past, the present and the future. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(8), 668-683. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12546>

Nibali, L., Koidou, V. P., Nieri, M., Barbato, L., Pagliaro, U., & Cairo, F. (2020). Regenerative surgery versus access flap for the treatment of intrabony periodontal defects: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 320-351. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13237>

Okubo, K., Kobayashi, M., Takiguchi, T., Takada, T., Ohazama, A., Okamatsu, Y., & Hasegawa, K. (2003). Participation of endogenous IGF-I and TGF- $\beta$ 1 with enamel matrix derivative-stimulated cell growth in human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontal Research*, 38(1), 1-9. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0765.2003.01607.x>

O'Leary, T. J., Drake, R. B., & Naylor, J. E. (1972). The Plaque Control Record. *Journal of Periodontology*, 43(1), 38-38. <https://doi.org/10.1902/jop.1972.43.1.38>

Owens, P. D. A. (1979). A light and electron microscopic study of the early stages of root surface formation in molar teeth in the rat. *Archives of Oral Biology*, 24(12), 901-907. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(79\)90215-2](https://doi.org/10.1016/0003-9969(79)90215-2)

Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. V., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kerschull, M., Kinane, D. F.,

- Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., ...Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S173-S182. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>
- Parkar, M. H., & Tonetti, M. (2004). Gene Expression Profiles of Periodontal Ligament Cells Treated With Enamel Matrix Proteins In Vitro: Analysis Using cDNA Arrays. *Journal of Periodontology*, 75(11), 1539-1546. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.11.1539>
- Petinaki, E., Nikolopoulos, S., & Castanas, E. (1998). Low stimulation of peripheral lymphocytes, following in vitro application of Emdogain®. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(9), 715-720. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1998.tb02512.x>
- Pietruska, M. D. (2001). A comparative study on the use of Bio-Oss and enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of periodontal bone defects. *European Journal of Oral Sciences*, 109(3), 178-181. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00007.x>
- Pihlstrom, B. L., & Ammons, W. F. (1997). Treatment of gingivitis and periodontitis. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. *Journal of Periodontology*, 68(12), 1246-1253.
- Polak, D., Wilensky, A., Antonoglou, G. N., Shapira, L., Goldstein, M., & Martin, C. (2020). The efficacy of pocket elimination/reduction compared to access flap surgery: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 303-319. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13246>
- Rabbani, G. M., Ash, M. M., & Caffesse, R. G. (1981). The Effectiveness of Subgingival Scaling and Root Planing in Calculus Removal. *Journal of Periodontology*, 52(3), 119-123. <https://doi.org/10.1902/jop.1981.52.3.119>
- Regazzini, P., Novaes, A., De Oliveira, P., Palioto, D., Taba, M., De Souza, S., & Grisi, M. (2004). Comparative Study of Enamel Matrix Derivative with or without GTR in the Treatment of Class II Furcation Lesions in Dogs. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 24(5), 476-487. <https://doi.org/10.11607/prd.00.0600>
- Reseland, J. E., Reppe, S., Larsen, A. M., Berner, H. S., Reinholt, F. P., Gautvik, K. M., Slaby, I., & Lyngstadaas, S. P. (2006). The effect of enamel matrix derivative on gene expression in osteoblasts. *European Journal of Oral Sciences*, 114(s1), 205-211. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2006.00333.x>
- Ribeiro, F. V., Casarin, R. C. V., Júnior, F. H. N., Sallum, E. A., & Casati, M. Z. (2011). The Role of Enamel Matrix Derivative Protein in Minimally Invasive Surgery in Treating Intrabony Defects in Single-Rooted Teeth: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 82(4), 522-532. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100454>
- Ribeiro, F. V., Nociti Júnior, F. H., Sallum, E. A., Sallum, A. W., & Casati, M. Z. (2010). Use of enamel matrix protein derivative with minimally invasive surgical approach in intrabony periodontal defects: Clinical and patient-centered outcomes. *Brazilian Dental Journal*, 21(1), 60-67. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402010000100010>
- Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D., & Sanz, M. (2012). Nonsurgical treatment of periodontitis. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12(3 Suppl), 76-86. [https://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70019-2](https://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70019-2)
- Sanz, M., Herrera, D., Kerschull, M., Chapple, I., Jepsen, S., Berglundh, T., Sculean, A., Tonetti, M.S.,

& EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. (2020). Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 4-60. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13290>

Sanz, M., Tonetti, M. S., Zabalegui, I., Sicilia, A., Blanco, J., Rebelo, H., Rasperini, G., Merli, M., Cortellini, P., & Suvan, J. E. (2004). Treatment of Intrabony Defects With Enamel Matrix Proteins or Barrier Membranes: Results From a Multicenter Practice-Based Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 75(5), 726-733. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.5.726>

Sanz-Sánchez, I., Montero, E., Citterio, F., Romano, F., Molina, A., & Aimetti, M. (2020). Efficacy of access flap procedures compared to subgingival debridement in the treatment of periodontitis. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 282-302. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13259>

Schallhorn, R. A., McClain, P. K., Benhamou, V., Doobrow, J. H., Grandin, H. M., & Kasaj, A. (2021). Application of enamel matrix derivative in conjunction with non-surgical therapy fortreatment of moderate to severe periodontitis: A 12-month, randomized prospective, multicenter study. *Journal of Periodontology*, 92(5), 619-628. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0579>

Sculean, A., Donos, N., Brex, M., Karring, T., & Reich, E. (2000). Healing of fenestration-typedefects following treatment with guided tissue regeneration or enamel matrix proteins. *Clinical Oral Investigations*, 4(1), 50-56. <https://doi.org/10.1007/s007840050113>

Sculean, A., Junker, R., Donos, N., Windisch, P., Brex, M., & Dünker, N. (2003). Immunohistochemical evaluation of matrix molecules associated with wound healing following treatment with an enamel matrix protein derivative in humans. *Clinical OralInvestigations*, 7(3), 167-174. <https://doi.org/10.1007/s00784-003-0212-9>

Sculean, A., Schwarz, F., Miliauskaite, A., Kiss, A., Arweiler, N., Becker, J., & Brex, M. (2006). Treatment of Intrabony Defects With an Enamel Matrix Protein Derivative or Bioabsorbable Membrane: An 8-Year Follow-Up Split-Mouth Study. *Journal of Periodontology*, 77(11), 1879-1886. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.060002>

Sculean, A., Windisch, P., Chiantella, G. C., Donos, N., Brex, M., & Reich, E. (2001). Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(5), 397-403. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2001.028005397.x>

Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T., Fabi, B., Lundgren, E., & Lyngstadaas, P. S. (2002). Presence of an enamel matrix protein derivative on human teeth following periodontal surgery. *Clinical Oral Investigations*, 6(3), 183-187. <https://doi.org/10.1007/s00784-002-0171-6>

Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T., & Gera, I. (2003). Histologic Evaluation of Human Intrabony Defects Following Non-Surgical Periodontal Therapy With and Without Application of an Enamel Matrix Protein Derivative. *Journal of Periodontology*, 74(2), 153- 160. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.2.153>

Silvestri, M., Ricci, G., Rasperini, G., Sartori, S., & Cattaneo, V. (2000). Comparison of Treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. *Journal of Clinical Periodontology*, 27(8), 603-610. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2000.027008603.x>

Sipos, P. M., Loos, B. G., Abbas, F., Timmerman, M. F., & Van Der Velden, U. (2005). The combined use of enamel matrix proteins and a tetracycline-coated expanded polytetrafluoroethylene barrier

- membrane in the treatment of intra-osseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 32(7), 765-772. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00754.x>
- Slavkin, H. C. (1976). Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited. *Journal of Periodontology*, 47(5), 249-255. <https://doi.org/10.1902/jop.1976.47.5.249>
- Spahr, A., Haegewald, S., Tsoulfidou, F., Rompola, E., Heijl, L., Bernimoulin, J., Ring, C., Sander, S., & Haller, B. (2005). Coverage of Miller Class I and II Recession Defects Using Enamel Matrix Proteins Versus Coronally Advanced Flap Technique: A 2-Year Report. *Journal of Periodontology*, 76(11), 1871-1880. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.11.1871>
- Spahr, A., & Hammarström, L. (1999). Response of dental follicular cells to the exposure of denuded enamel matrix in rat molars. *European Journal of Oral Sciences*, 107(5), 360-367. <https://doi.org/10.1046/j.0909-8836.1999.eos107507.x>
- Spahr, A., Lyngstadaas, S. P., Boeckh, C., Andersson, C., Podbielski, A., & Haller, B. (2002). Effect of the enamel matrix derivative Emdogain® on the growth of periodontal pathogens in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(1), 62-72. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2002.290110.x>
- Suvan, J., Leira, Y., Moreno Sancho, F. M., Graziani, F., Derks, J., & Tomasi, C. (2020). Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 155-175. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13245>
- Suzuki, S., Nagano, T., Yamakoshi, Y., Gomi, K., Arai, T., Fukae, M., Katagiri, T., & Oida, S. (2005). Enamel Matrix Derivative Gel Stimulates Signal Transduction of BMP and TGF-β. *Journal of Dental Research*, 84(6), 510-514. <https://doi.org/10.1177/154405910508400605>
- Teughels, W., Feres, M., Oud, V., Martín, C., Matesanz, P., & Herrera, D. (2020). Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(S22), 257-281. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13264>
- Tokiyasu, Y., Takata, T., Saygin, E., & Somerman, M. (2000). Enamel Factors Regulate Expression of Genes Associated With Cementoblasts. *Journal of Periodontology*, 71(12), 1829-1839. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.12.1829>
- Tomasi, C., & Wennström, J. (2017). Is the use of differences in the magnitude of CAL gain appropriate for making conclusions on the efficacy of non-surgical therapeutic means? *Journal of Clinical Periodontology*, 44. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12733>
- Tonetti, M. S., Fourmoussis, I., Suvan, J., Cortellini, P., Brägger, U., Lang, N. P., & Periodontology (ERGOPERIO), on behalf of the E. R. G. on. (2004). Healing, post-operative morbidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(12), 1092-1098. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00615.x>
- Tonetti, M. S., Lang, N. P., Cortellini, P., Suvan, J. E., Adriaens, P., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmoussis, I., Mayfield, L., Rossi, R., Silvestri, M., Tiedemann, C., Topoll, H., Vangsted, T., & Wallkamm, B. (2002). Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(4), 317-325. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2002.290407.x>
- Trombelli, L., Heitz-Mayfield, L. J. A., Needleman, I., Moles, D., & Scabbia, A. (2002). A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(s3), 117-135. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.29.s3.7.x>

- Tsitoura, E., Tucker, R., Suvan, J., Laurell, L., Cortellini, P., & Tonetti, M. (2004). Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. *Journal of Clinical Periodontology*, 31(8), 643-647. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00555.x>
- Van Der Pauw, M. T. M., Everts, V., & Beertsen, W. (2002). Expression of integrins by human periodontal ligament and gingival fibroblasts and their involvement in fibroblast adhesion to enamel matrix-derived proteins. *Journal of Periodontal Research*, 37(5), 317-323. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0765.2002.00349.x>
- Wehner, C., Tur, D., Durstberger, G., Laky, M., Laky, B., Andrukhov, O., Moritz, A., & Rausch-Fan, X. (2023). Effects of enamel matrix derivative in nonsurgical periodontal therapy on pro-inflammatory profiles, microbial environment and clinical outcome: A randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 27(11), 6493-6502. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05254-1>
- Wennström, J. L., & Lindhe, J. (2002). Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(1), 9-14. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2002.290102.x>
- Wyganowska-Świątkowska, M., Szkaradkiewicz, A. K., Karpiński, T. M., & Marcinkowski, J. T. (2013). The evaluation of enamel matrix derivative on subgingival microbial environment in non-surgical periodontal therapy. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20(3).
- Yilmaz, S., Kuru, B., & Altuna-Kıraç, E. (2003). Enamel matrix proteins in the treatment of periodontal sites with horizontal type of bone loss. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(3), 197-206. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2003.10190.x>
- Yukna, R. A., & Mellonig, J. T. (2000). Histologic Evaluation of Periodontal Healing in Humans Following Regenerative Therapy With Enamel Matrix Derivative. A 10-Case Series. *Journal of Periodontology*, 71(5), 752-759. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.5.752>
- Zucchelli, G., Amore, C., Montebugnoli, L., & De Sanctis, M. (2003). Enamel matrix proteins and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 74(12), 1725-1735. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.12.1725>
- Zucchelli, G., Bernardi, F., Montebugnoli, L., & De Sanctis, M. (2002). Enamel matrix proteins and guided tissue regeneration with titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene membranes in the treatment of infrabony defects: a comparative controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 73(1), 3-12. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.1.3>