

Enamel Matris Türevinin (Emdogain®) Dental İmplant Osseointegrasyonu Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Effects of the Enamel Matrix Derivative (Emdogain®) on Dental Implant Osseointegration

Alihan BOZOĞLAN¹, Mehmet GÜL², Serkan DÜNDAR¹

¹ Fırat Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE

² Harran Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

ÖZ.

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Enamel matris türevinin (Emdogain®) kemik grefti ile karıştırılarak defekt oluşturulan bölgeye uygulanmasından sonra yeni kemik rejenerasyonunun kemik-implant kaynaşmasına etkisinin değerlendirilmesidir.

Materyal ve Metod: Deneyde toplamda 20 adet sprague dawley dişi rat kullanılmıştır. Her bir grupta 10 adet rat bulunmaktadır. Ratlar, %55'lik nem ve 22 ±2°C sıcaklık kontrollü bulunan odada bulundurulmuştur. Ayrıca 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde tabi tutulmuştur. Deneklerin sağ tibia kemiklerinin metafiziyel kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğine kaviteler açıldı. Bu kavitelere 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğundaki titanyum implantlar yerleştirildi ve boyun bölgesinde implant boyunun 2 mm'sine tekabül edecek şekilde kontrol grubuna sadece kemik defekti oluşturuldu. Deney grubuna ise; kemik grefti ve Enamel matris türevi (Emdogain®) yerleştirildi. 8 hafta sonra denekler sakrifiye edildi.

Bulgular: Yapılan analizler sonucunda kemik-implant kaynaşması emdogain uygulanan grupta yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Aynı şekilde glukoz, ast, alt, alp, üre, kreatinin ve kalsiyum seviyeleri değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Fakat fosfor seviyesinde deney grubunda anlamlı derece bir düşme tespit edilmiştir (p < 0.05).

Sonuç: Emdogain uygulaması greft materyalinin etkisini artırmaktadır ve aynı zamanda kemik-implant kontakta olumlu etkisi bulunmaktadır. Fakat 8 haftalık erken kemik iyileşmesi periyodunda etkisi sınırlı olmaktadır. Emdogain uygulamasının etkisinin kesin olarak anlaşılması için uzun zamanlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Dental implant, Kemik grefti, Emdogain

Abstract

Background: The aim of this study is to evaluate the effect of new bone regeneration on bone implant fusion after the Enamel matrix derivative (Emdogain®) is mixed with bone graft and applied to the defect area.

Materials and Methods: There are 10 rats in each group. Rats were kept in a room with 55% humidity and 22 ± 2 ° C temperature controlled. It was also subjected to a 12 hour light and 12 hour dark cycle. Cavities were opened in the corticocancellous bone in the metaphyseal parts of the right tibia bones of the subjects. Titanium implants with a diameter of 2.5 mm and a length of 4 mm were placed in these cavities, and only a bone defect was created in the control group, corresponding to 2 mm of the implant length in the neck region. Bone graft and Enamel matrix derivative (Emdogain®) were placed in the experimental group. After 8 weeks, the subjects were sacrificed.

Results: As a result of the analysis, although bone-implant fusion was found to be high in the emdogain group, no statistically significant difference was found. Likewise, glucose, ast, alt, alp, urea, creatinine and calcium levels were evaluated and no statistically significant difference was found. However, a significant decrease was detected in the phosphorus level in the experimental group (p < 0.05).

Conclusions: Emdogain application increases the effect of the graft material and also has a positive effect on bone-implant contact. However, its effect is limited in the 8-week early bone healing period. Long-term studies are needed to fully understand the effect of Emdogain administration.

Key Words: Dental implant, Bone graft, Emdogain

Sorumlu Yazar / Corresponding Author

Dr. Mehmet GÜL

Harran Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

E-mail: m.gul3838@gmail.com

Received / Geliş Tarihi: 02.01.2021

Accepted / Kabul Tarihi: 23.02.2021

DOI: 10.35440/hutfd.852296

Giriş

Dental implant uygulamaları, tamamen ve kısmen dişsiz hastalarda etkili ve öngörülebilir bir tedavi yöntemi olarak bilinmektedir. İmplant başarı oranlarının yüksek olmasına rağmen başarısızlıkların hala devam ettiği bildirilmektedir (1). Diş implantlarının başarısızlık oranları, implant yerleştirilmesinden protez yapımına kadar olan zamanda erken dönem başarısızlık olarak değerlendirilirken protez restorasyonunun yapılması sonrası oklüzal yüklenme gerçekteleğinde geç dönem başarısızlıklar olarak değerlendirilmektedir. Bu başarısızlık dönemleri, meydana gelen olumsuz durumların farklı faktörlerle ilişkilendirilebileceği öne sürüldüğü için önemlidir. Bir implantın erken başarısızlığı, kemik-implant kaynaşması kurulamamasından kaynaklanmaktadır. Bu durumda implant yerleştirildikten sonra kemik iyileşmesi bozulur. Kemik-implant kaynaşmasının gerçektelememesi lokal ve sistemik faktörlere de bağlı olabilir (2,3). Dental implant uygulamaları sırasında genellikle kemik grefti kullanılmaktadır (4,5). Sentetik, allojenik, otojen ve ksenolojik greft çeşitleri bulunmaktadır. Kemik greftleri dental cerrahide genellikle blok kemik grefti, lateral sinüs kaldırma, kemik greftli osteotom ve YKR (Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu) tekniğinde kullanılmaktadır. YKR tekniğinde genellikle kemik grefti ve membran kullanılır. Kemik greftleri tek başına veya başka bir materyalle karıştırılarak cerrahi işlem gerçekteleştirebilir (6). Saflaştırılmış mine matriks protein ürünü olan Emdogain® (EMD; Straumann AG, Waldenburg, İsviçre) periodontal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir materyaldir. EMD, domuz dişi germelerinde hazırlanmaktadır. Temelde amelojenlerden oluştuğu açıklansa da kesin içerik hakkında bilgi mevcut değildir (7). EMD ile alakalı olarak yapılan yayınlarda; periodontal ligament (PDL) hücreleri üzerindeki etkisi, hücresel proliferasyon, migrasyon, alkalın fosfataz (ALP) aktivitesi, mineralize nodül oluşumu ve dönüştürücü büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) üretimini uyardığını bildiren çeşitli in vitro çalışmalar bulunmaktadır (8-11). Bazı çalışmalarda, EMD'nin kemik rejeneratif özellikleri araştırılmış ve EMD'nin proliferasyon ve farklılaşma üzerindeki etkisinin farklı hücre kaynakları arasında farklılık gösterdiği ve farklı osteoblastik hücre hatları üzerindeki etkileri olduğu öne sürülmüştür (12).

Materyal ve Metod

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alınan etik kurul onayı sonrası yapılmıştır (2019/01/03). Deneyde kullanılan ratlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi tarafından temin edilmiştir. Deneyde toplamda 20 adet Sprague dawley dişi rat kullanılmıştır. Herbir grupta 10 adet rat bulunmaktadır. Ratlar, % 55'lik nem ve $22 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık kontrollü bulunan odada bulundurulmuştur. Ayrıca 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde tabi tutulmuştur. Ratlar ikişerli olarak standart kafeslere konulmuştur. Ratlar normal diyet ve su ile ad libitum beslenmesi gerçekteleştirilmiştir.

Ratların Deneysel Gruplarına Ayrılması

Kontrol grubu(n=10): Deneklerin sağ tibiya kemiklerinin metafiziyel kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğine kavitelere açıldı. Bu kavitelere 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğundaki titanyum implantlar yerleştirildi ve boyun bölgesinde implant boyunun 2 mm'sine tekabül edecek şekilde meydana gelecek olan kemik defektine kemik grefti yerleştirildi. Sekiz haftalık deneysel süreç boyunca ek herhangi bir işlem uygulanmadı.

Deneysel Grubu (n=10): Deneklerin sağ tibiya kemiklerinin metafiziyel kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğine kavitelere açıldı. Bu kavitelere 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğundaki titanyum implantlar yerleştirildi ve boyun bölgesinde implant boyunun 2 mm'sine tekabül edecek şekilde meydana gelecek olan kemik defektine EMD + kemik grefti yerleştirildi.

Cerrahi İşlemler

Ratlara, cerrahi işlem ve genel anestezi uygulamasından önce 8 saat boyunca yiyecek verilmedi. Cerrahi işlemlerin tamamı, steril ortamda ve genel anestezi uygulaması yapılarak gerçekteleştirildi. Genel anestezide Xylazine hydrochloride (Rompun®, Bayer, Almanya) ve ketamin hydrochloride (Ketasol®, Richter Pharma, Avusturya) kullanıldı. Deneklere anestezi materyaller insülün enjektörü ile intra müsküler olarak uygulandı. Ratlara yara bölgesinde meydana gelen hemostazı azaltmak için, infiltratif olarak mepivakain hidroklorür (0.3 ml / kg, % 2 ile Scandicaine epinefrin 1: 100.000, Septodont, Fransa) lokal anestezi maddesi de uygulandı. Cerrahi işlem uygulanacak bölge strelizasyonu sağlamak için traş edildikten sonra povidone iodine ile temizlendi. Bistürü (no:15) ile tibial krest üzerinden 1.5 cm'lik bir kesi uygulandıktan sonra tibiyanın proksimal kısmına periost elevatörü ile ulaşıldı. Deneklerin sağ tibiya kemiklerinin metafiziyel kısımlarındaki kortikokansellöz kemiğine kavitelere açıldı. Bu kavitelere 2.5 mm çapında 4 mm uzunluğundaki titanyum implantlar yerleştirildi ve boyun bölgesinde implant boyunun 2 mm'sine tekabül edecek şekilde meydana gelecek olan kemik defektine kemik grefti ve EMD yerleştirildi. Sekiz haftalık deneysel süreç boyunca ek herhangi bir işlem uygulanmadı. İmplantlar yerleştirildikten sonra yumuşak dokular için absorbable threads (4/0 vicryl, Ethicon Inc, Somerville, NJ, USA) ve deri için de monofilament suture (Nylon 4.0, Ethicon Inc, Somerville, NJ, USA) kullanılarak flepler kapatıldı. Cerrahi işlemden sonra ratlar; ağrı, açılma, enfeksiyon, kısıtlı hareket, iştatsızlık ve kilo kaybı belirtileri için günlük olarak kayıt altına alındı ve gözlemlendi. Cerrahi işlem sonrası enfeksiyon ve ağrıyı önlemek amacıyla antibiyotik (50 mg/kg penicilin) ve analjezik (0.1 mg/kg tramadol hidroklorid) i.m. olarak her 24 saatte bir 3 gün boyunca verildi. Tüm denekler 8 haftalık iyileşme döneminden sonra sakrifiye edildi. İmplantlar çevrelerindeki kemik dokuları ile birlikte biyomekanik analiz yapılmak üzere alındı.

Biyomekanik analiz

Biyomekanik analiz için, iyileşme döneminden 8 hafta sonra ratlar sakrifiye edildi ve reverse tork testi yapıldı. Örneklerin iki tanesinde yapılan analiz osteointegrasyon gerçekleşmediği için dikkate alınmamıştır. Testler için, implantların bulunduğu blok kemik tibia parçası hazırlandı. Numuneler, 10% buffered formalin bulunan sıvı bir çözelti içerisinde tutuldu. Dehidratasyonu engellemek için hemen değerlendirme yapıldı. İmplantların tamamı polimetilmetakrilat bloklar içerisine yerleştirildi. İmplantların tork ölçümünü yapmak için çevirme aparatı yerleştirildi ve digital tork aleti (Tonichi STC400CN, Buffalo Grove, IL, USA) kullanılarak saat yönünün tersine çıkartma kuvveti yavaşça ve artan bir şekilde manuel olarak uygulandı. İşlem, dental implantın kemik yuvası içerisinde dönmesiyle birlikte hemen sonlandırıldı. Kırılma anında, digital tork aletinin elde ettiği en yüksek tork kuvveti (N-cm) otomatik olarak kayıt altına alındı.

Biyokimyasal analiz

Sıçanlardan kan örnekleri derin anestezi uygulanarak elde edilmiştir. Glukoz, Ast (Aspartat Aminotransferaz), Alt (alanin Aminotransferaz), üre, kreatinin, kalsiyum (Ca), fosfor (P), serum alkalın fosfataz (ALP) antikoagülan olmadan kardiyak ponksiyon yoluyla alınan kan örnekleriyle analiz edildi. Biyokimyasal veriler sıçanlarda tek tek ölçülmüştür. Biyokimyasal analizler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi merkez biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz değerleri SPSS 20 windows (IBM, USA) istatistik programı kullanılarak hesaplandı. Analiz değerleri ortalama ve standart sapma (SS) olarak değerlendirildi. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Bu nedenle, iki grup arasındaki verileri karşılaştırmak için bağımsız T testi kullanıldı. Tüm analizlerde p < 0,05 değer anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Deney ve kontrol grubunun karşılaştırılması gerçekleştirildi. N, Denek sayısı, KİK: Kemik implant kaynaşması (KİK), Glukoz, Ast (Aspartat Aminotransferaz), Alt (alanin Aminotransferaz), üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, serum alkalın fosfataz (ALP) Tablo 1'de gösterildi. Yapılan analizler sonucunda kemik-implant kaynaşması emdogain uygulanan grupta yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Aynı şekilde glukoz, ast, alt, alp, üre, kreatinin ve kalsiyum seviyeleri değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Fakat fosfor seviyesinde deney grubunda anlamlı derece bir düşme tespit edilmiştir (p < 0.05).

Tartışma

Son yıllarda, EMD biyolojik bir rejeneratif malzeme olarak kullanılmaktadır. Gelişmekte olan domuz dişlerinden elde edilir ve kök yüzeyinde hidroksiapatit ve kollajen lifleri tarafından absorbe edilebilen ve sement oluşumuna neden olan düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin oluşturduğu bir

karışımı içerir (13-15).

EMD, kültürlenmiş epitel hücreleri üzerinde sitostatik bir ajan olarak hareket eder ve bu nedenle epitel rejenerasyonunu inhibe ederek veya geciktirerek periodonsiyumun rejenerasyonunu destekleyebilir (16). EMD, insan mikrovasküler hücrelerinin anjiyogenezini indükler (17). Bir çalışmada, EMD kullanılarak periodontal rejenerasyon meydana geldiği histolojik olarak kanıtlanmıştır (15).

Tablo 1. Deney ve kontrol grubunun karşılaştırılması

	Gruplar	N	Ortalama	Standart sapma	P değer
KİK	Kontrol	9	3,13	,98	0,867
	Deney	9	3,24	1,68	
GLUKOZ	Kontrol	10	94,70	4,21	0,519
	Deney	10	92,00	12,11	
AST	Kontrol	10	194,60	55,71	0,802
	Deney	10	189,60	27,17	
ALT	Kontrol	10	44,60	11,34	0,386
	Deney	10	48,50	8,003	
ALP	Kontrol	10	38,50	9,90	0,523
	Deney	10	36,00	6,99	
ÜRE	Kontrol	10	47,10	2,46	0,332
	Deney	10	44,90	6,41	
KREATİNİN	Kontrol	10	,54	,054	0,350
	Deney	10	,52	,07	
KALSİYUM	Kontrol	10	9,39	,28	0,696
	Deney	10	9,33	,40	
FOSFOR	Kontrol	10	6,00	,35	0,003
	Deney	10	5,46	,35	

N: Denek sayısı, p < 0.05 anlamlı kabul edildi, KİK: Kemik implant kaynaşması

Boyan ve ark. (18), Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft (DFDBA) 4 mg EMD eklenmesinin, tek başına DFDBA'ya kıyasla kemik indüksiyonu miktarını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını bulmuşlardır. Rosen ve ark. (19), EMD'nin DFDBA veya freeze-dried bone allograft (FDBA) ile birleştirildiği durumlarda kombine bir terapötik yaklaşım kullanmanın klinik faydalarını göstermektedir. Harrel ve ark. (20), 130 periodontal defekti tedavi etmek için minimal invaziv cerrahi ile EMD ile karıştırılmış DFDBA'yı başarıyla kullanmışlardır. Hoidal ve ark. (21), EMD'nin DFDBA'ya eklenmesinin, ameliyattan 6 ay sonra yalnızca DFDBA'ya kıyasla ölçülen yumuşak ve sert doku parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme sağlamadığını bulmuşlardır.

2002'de Velasquez-Plata ve ark. (22), EMD'nin tek başına veya ksenogreft ile kombinasyon halinde kullanımını incelemiş ve PD azalması veya CAL kazanımı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit etmemişlerdir. Lekovic ve ark. (23), tek başına EMD'ye kıyasla, ksenogreft ve EMD kombinasyonu ile sondalama derinliğinde, klinik ataşman kazancında ve kemik dolgusunda daha büyük bir azalma olduğunu göstermektedir.

Kemik dolgu malzemesinin EMD ilavesinin potansiyel yararlı etkilerinde bir rol oynayıp oynamadığını belirleme girişiminde, Gurinsky ve ark. (24), tek başına DFDBA ve EMD kombinasyonunu inceleyerek, kombine grupta önemli ölçüde daha fazla kemik dolgusu olduğunu ancak sondalama derinliğinde azalma ve klinik bağlantı kazancında hiçbir fark olmadığını göstermişlerdir.

Miteva tarafından yapılan bir çalışmada (25), farklı yaklaşımlarla ilgili verilerin çelişkili olduğu ve bu nedenle daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir. EMD ve kemik greftlerinin kombinasyonu, tek başına EMD ile elde edilenlere kıyasla klinik ataşman seviyesi kazancı sağladığını bildirmiştir. Trombositten türetilmiş konsantrelerin, dolaylı olarak kemik büyümesi için daha iyi bir ortam yaratabilen yumuşak doku iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir. YKR, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunu teşvik eden bu materyallerin etkinliğinin test edilmesi ve peri-implant defektlerin tedavisine ihtiyaç olduğunu bildirmektedir.

Bizim alışmamızda kemik grefti materyaline emdogain eklenmiş ve bölgede oluşan yeni kemik yapısının implant osteointegrasyonu etkisi incelenmiştir. Yaptığımız inceleme sonucunda emdogain eklenen grupta eklenmeyen gruba oranla daha yüksek kemik-implant kaynaşması elde edilmiştir. Fakat bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Boyan ve ark.(18) benzer olarak, kemik greftine EMD eklenmesinin, tek başına kemik grefti uygulamasına kıyasla kemik indüksiyonu miktarını ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını düşünmekteyiz. Fakat erken kemik iyileşme periyodundan dolayı etkisinin sınırlı olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, Emdogain uygulaması greft materyalinin etkisini arttırmaktadır ve aynı zamanda implant kemik kontağına olumlu etkisi bulunmaktadır. Fakat 8 haftalık erken kemik iyileşme periyodunda etkisi sınırlı olmaktadır. Emdogain uygulamasının etkisinin kesin olarak anlaşılması için uzun zamanlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik onam: Çalışmanın etik kurul onayı, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulunda tarafından verilmiştir (Tarih:16/01/2019, Karar No: 2019/01/03).

Yazar Katkıları:

Konsept: A.B., M.G., S.D.

Literatür Tarama: A.B., S.D.

Tasarımı: A.B., S.D.

Veri toplama: M.G., A.B., S.D.

Veri analizi ve yorumlama: M.G., A.B., S.D.

Makale yazımı: M.G., A.B., S.D.

İçeriğin eleştirel incelenmesi: M.G., A.B., S.D.

ıkar atışması: Yazarlar çıkar atışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Chrcanovic BR, Albrektsson T, Wennerberg A. Reasons for failures of oral implants. J Oral Rehabil. 2014; 41(6): 443–76.
2. Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of oral implant failures, up to abutment connection. J Clin Periodontol. 2007; 34(7): 610–17.
3. Chrcanovic BR, Kisch J, Albrektsson T, Wennerberg A. Factors influencing early dental implant failures. Journal of dental research 2016; 95(9): 995-1002.
4. Cha HS, Kim A, Nowzari H, Chang HS, Ahn KM. Simultaneous sinus lift and implant installation: prospective study of consecutive two hundred seventeen sinus lift and four hundred sixty-two implants. Clin Implant Dent Relat Res 2014; 16: 337–47.
5. Kim A, Kar K, Nowzari H, Cha HS, Ahn KM. Immediate free iliac bone graft after nonsegmental mandibular resection and delayed implant placement: a case series. Implant Dent 2013; 22: 438–43.
6. Kim A, Kar K, Nowzari H, Ahn KM, Cha H. Subapical osteotomy to correct dental implant malpositioning and vertical ridge deficiency: a clinical report. J Prosthet Dent 2012; 108: 204–8.
7. Gestrelus S, Andersson C, Johansson AC, Persson E, Brodin A, Rydhag L et al. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. J Clin Periodontol 1997; 24: 678–84.
8. Gestrelus S, Andersson C, Lidstrm D, Hammarström L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. J Clin Periodontol 1997; 24: 685–92.
9. Kasaj A, Willershausen B, Junker R, Stratul SI, Schmidt M. Human periodontal ligament fibroblasts stimulated by nanocrystalline hydroxyapatite paste or enamel matrix derivative. An in vitro assessment of PDL attachment, migration, and proliferation. Clin Oral Investig 2012; 16(3): 745–54.
10. Hoang AM, Oates TW, Cochran DL. In vitro wound healing responses to enamel matrix derivative. J Periodontol 2000; 71: 1270–77.
11. Van der Pauw MT, Van den Bos T, Everts V, Beertsen W. Enamel matrix-derived protein stimulates attachment of periodontal ligament fibroblasts and enhances alkaline phosphatase activity and transforming growth factor β1 release of periodontal ligament and gingival fibroblasts. J Periodontol 2000; 71: 31–43.
12. Yan XZ, Rathe F, Gilissen C, van der Zande M, Veltman J, Junker R, Yang F, Jansen JA, Walboomers XF. The effect of enamel matrix derivative (Emdogain®) on gene expression profiles of human primary alveolar bone cells. J Tissue Eng Regen Med. 2014; 8(6): 463-72. doi: 10.1002/term.1545. Epub 2012 Jun 11. PMID: 22689476.
13. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2011;38(10):925-32. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01760.x. Epub 2011 Jul 21. PMID: 21777267.
14. Sculean A, Donos N, Schwarz F, Becker J, Brex M, Arweiler NB. Five-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. J Clin Periodontol. 2004;31(7):545-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00518.x. PMID: 15191590.
15. Yukna RA, Mellonig JT. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. J Periodontol.2000;71(5):752-9. doi: 10.1902/jop.2000.71.5.752.
16. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C. An opportunity in perio-implantology: The PRF. Implantodontie. 2001; 42: 55– 62.
17. Aspriello SD, Zizzi A, Spazzafumo L. Effects of enamel matrix derivative on vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in gingival tissues of periodontal pocket: a comparative study. J Periodontol. 2011; 82(4): 606-12. doi: 10.1902/jop.2010.100180.

18. Boyan BD, Weesner TC, Lohmann CH, Andreacchio D, Carnes DL, Dean DD, et al. Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft in vivo. *J Periodontol.* 2000; 71(8): 1278–86. doi:10.1902/jop.2000.71.8.1278.
19. Rosen PS, Reynolds MA. A retrospective case series comparing the use of demineralized freeze-dried bone allograft and freeze-dried bone allograft combined with enamel matrix derivative for the treatment of advanced osseous lesions. *J Periodontol.* 2002; 73(8): 942-9. doi: 10.1902/jop.2002.73.8.942.
20. Harrel SK, Wilson TG, Nunn ME. Prospective assessment of the use of enamel matrix proteins with minimally invasive surgery. *J Periodontol.* 2005; 76(3): 380-4. doi: 10.1902/jop.2005.76.3.380.
21. Hoidal MJ, Grimard BA, Mills MP, Schoolfeld JD, Mellonig JT, Mealey BL. Clinical evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft with and without enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2008; 79(12): 2273-80. doi: 10.1902/jop.2008.080259.
22. Velasquez-Plata D, Scheyer ET, Mellonig JT. Clinical comparison of an enamel matrix derivative used alone or in combination with a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2002; 73(4): 433-40. doi: 10.1902/jop.2002.73.4.433.
23. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Nedic M, Aleksic Z, Kenney EB. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol.* 2000; 71(7): 1110-6. doi: 10.1902/jop.2000.71.7.1110.
24. Gurinsky BS, Mills MP, Mellonig JT. Clinical evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft and enamel matrix derivative versus enamel matrix derivative alone for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* 2004; 75(10): 1309-18. doi: 10.1902/jop.2004.75.10.1309.
25. Miteva MD. Emdogain (EMD) and platelet-rich plasma (PRP) in periodontal regeneration. *Scripta Scientifica Medicinae Dentalis* 2019; 5(1): 27-32.