

DESIRÉE ALICE PENIDO VIEIRA

**BASE RACIONAL PARA O USO DOS FATORES DE
CRESCIMENTO PRF, PRP, PDGF, BMPs NO ENXERTO
ÓSSEO**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2017**

Desirée Alice Penido Vieira

BASE RACIONAL PARA O USO DOS FATORES DE CRESCIMENTO PRF, PRP, PDGF, BMPs NO ENXERTO ÓSSEO

Monografia apresentada ao colegiado do Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Especialista em Odontologia – área de concentração em Implantodontia.
Orientador: Prof. Marcus Martins Guimarães

Faculdade de Odontologia – UFMG

Belo Horizonte

2017

Ficha Catalográfica

V657b Vieira, Desirée Alice Penido.
2017 Base racional para o uso dos fatores de crescimento PRF,
MP PRP, PDGF, BMPs no enxerto ósseo / Desirée Alice Penido
Vieira. -- 2017.

78 f. : il.

Orientador: Marcus Martins Guimarães.

Monografia (Especialização) -- Universidade Federal de
Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Implantes dentários. 2. Regeneração óssea. 3.
Transplante ósseo. 4. Engenharia tecidual. I. Guimarães,
Marcus Martins. II. Universidade Federal de Minas Gerais.
Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLÁCK - D74

Aos meus pais, Maria Lúcia e Hélio, meus maiores incentivadores na busca pelo conhecimento, as pessoas a quem devo, não somente a minha vida, mas tudo que conquistei e que conquistarei ao longo dela. Meus exemplos, faço tudo para orgulhar vocês!

Ao meu irmão, Daniel, meu companheiro eterno de vida e meu protetor.

Aos meus avôs e avós, anjos que me protegem! E toda família que me apóia e torce por mim sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus por essa oportunidade única.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pelo carinho, pelo apoio, pelas renúncias, pelos valores passados, por serem meus maiores exemplos, por tornarem tudo mais leve, por cuidarem de mim, por me incentivarem a realizar essa que foi uma conquista tão difícil e tão almejada por mim.

Ao meu irmão pelo apoio, pelo carinho e por ser meu companheiro de profissão e de vida.

A toda minha família que me ama e sempre torce por mim.

As minhas amigas irmãs, pessoas que viveram comigo todos os momentos importantes da minha vida, em especial à Izabela Silva Dutra por todo carinho e apoio nesta etapa da minha vida. Sempre unidas.

À minha querida dupla Danielle Gonçalves, pelo companheirismo, parceria, amizade e cumplicidade.

A todos os colegas do curso, em especial Tiago, Paulo, Marina e Mariana por se mostrarem dispostos a ajudar sempre que foi preciso.

A todos os professores, mas em especial aos queridos, Célio Soares, Ricardo Vaz, Paulo Henrique, Vanessa Frazão, Wallison Artuso e Rômulo Hissa, pelo esforço em nos transmitir todo conhecimento possível e pela entrega ao curso.

Ao meu orientador Prof. Marcus Guimarães por ser um profissional exemplar, que nos impressiona pela busca incessante pelo conhecimento, e por isso nos impulsiona e nos faz acreditar que este é o caminho certo a seguir.

À Vanessa Ventura e Rosa pelo carinho e paciência.

RESUMO

O tecido ósseo tem uma reconhecida capacidade de se manter em constante remodelação e ao mesmo tempo regeneração. Estes processos ocorrem através de uma cascata complexa e multifatorial de eventos biológicos regulada por fatores de crescimento distintos, segregados por células ósseas e células reativas presentes no local da lesão. Os fatores de crescimento são uma classe de mediadores biológicos naturais que regulam os principais eventos celulares na reparação tecidual, incluindo a proliferação celular, quimiotaxia, diferenciação e síntese da matriz através de ligação a receptores específicos da superfície celular. Diante de perdas ósseas significativas, a implantodontia conta com algumas técnicas para reconstrução de tecido ósseo perdido previamente à instalação de implantes odontológicos. A literatura descreve amplamente as vantagens dos enxertos ósseos autólogos em relação aos enxertos aloplásticos e xenógenos, devido as suas três propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese. Enxertos ósseos autógenos liberam uma variedade de moléculas, incluindo fatores de crescimento, que podem direcionar as células mesenquimais envolvidas na regeneração óssea. Este trabalho é uma revisão de literatura, com o objetivo de avaliar os resultados clínicos e histológicos dos fatores de crescimento PDGF e BMP e concentrados plaquetários PRF, PRP, na regeneração óssea considerando estudos realizados *in vitro*, em animais e em humanos. Para tanto, foram realizadas pesquisas de artigos publicados em inglês ou português, na base de dados PubMed, Medline entre outros utilizando seguintes termos “growth factors”, “bone regeneration”, “tissue engineering”, “graft bone”, “PRF”, “PRP”, “PDGF”, “BMPs”. Conclui-se nesta revisão de literatura que o PDGF fator importante na regeneração óssea quando combinado com outros materiais, as BMPrh-2 melhora e acelera a regeneração óssea, o PRP parece não favorecer resultados significativos na regeneração óssea, o PRF tem apresentado resultados significativos em regeneração óssea em seios maxilares e mais estudos são necessários para justificar seu uso na implantodontia.

Palavras – chave: Fatores de crescimento. Implantodontia. PGDF. PRP. PRF. BMPs. Regeneração óssea. Enxerto ósseo. Engenharia de tecido.

ABSTRACT

The bone tissue has a recognized ability to remain in constant remodeling and at the same time regeneration. These processes occur through a complex and multifactorial cascade of biological events regulated by distinct growth factors, secreted by osseous cells and reactive cells present at the damaged site. Growth factors are a class of natural biological mediators that regulate the major cellular events in tissue repair, including cell proliferation, chemotaxis, differentiation, and matrix synthesis through binding to specific cell surface receptors. Faced with significant bone loss, implantodontia relies on some techniques for the reconstruction of bone tissue lost prior to the installation of dental implants. The literature largely describes the advantages of autologous bone grafts in relation to alloplastic and xenogene grafts, due to its three properties of osteoinduction, osteoconduction and osteogenesis. Autogenous bone grafts release a variety of molecules, including growth factors, that can target the mesenchymal cells involved in bone regeneration. This work is a literature review aimed at evaluating the clinical and histological results of PDGF and BMP growth factors and platelet concentrates PRF, PRP, in bone regeneration considering studies in vitro, in animals and humans. In order to do so, we carried out researches of articles published in English or Portuguese, in the PubMed, Medline database among others using the following terms "growth factors", "bone regeneration", "tissue engineering" and "graft bone" It is concluded in this literature review that the PDGF important factor in bone regeneration when combined with other materials, such as BMPrh-2 improves and accelerates bone regeneration, PRP does not favor significant results in bone regeneration, the PRF has significant results results in bone regeneration in maxillary sinuses and further studies are needed to justify its use in implant dentistry.

Keywords: Growth factors. Implantology. PGDF. PRP. PRF. BMPs. Bone regeneration. Bone grafting. Tissue engineering.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACS = Esponjas de Colágeno Absorvíveis (Absorbable Collagen Sponges)

BCP = Fosfato de Cálcio Bifásico (Biphasic Calcium Phosphate)

BD= Densidade Óssea (Bone Density)

BIC = Contato osso implante (Contact Bone Implant)

BMP = Proteína Óssea Morfogenética (Bone Morphogenetic Protein)

BMSC = Células Tronco Mesenquimais do Osso Humano (Human Bone Mesenchymal Stem Cells)

BMP-2 = Proteína Óssea Morfogenética -2 (Bone Morphogenetic Protein-2)

CaSO₄ = Sulfato de Cálcio (Calcium Sulphate)

CM = Membrana de Colágeno (Collagen Membrane)

FDA = Administração de Alimentos e Drogas (Food and Drug Administration)

GBR = Regeneração óssea guiada (Guided Bone Regeneration)

HFBC = Células Ósseas Fetais Humanas (Human Fetal Bone Cells)

HMSC = Células-tronco Mesenquimais Humanas (Human Mesenchymal Stem Cells)

IGF = Fator de IGF – Fator de Crescimento Insulínico (Insuline Like growth Factor)

IGF -1 = Fator de Crescimento Insulínico -1 (Insuline Like growth factor-1)

LMS = Levantamento do seio maxilar (lifting of the maxillary sinus)

MSC = Células Mesenquimas Estaminais (Mesenchymal Stem Cells)

NBM = Osso Mineral Natural (Natural Mineral Bone)

PDGF = Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (Platelet-derived growth factor)

PRF = Plasma rico em fibrina (plasma rich in fibrin)

L-PRF = Plasma rico em leucócitos e fibrina (plasma rich in leukocytes and fibrin)

rhBMP-2 = Proteína Óssea Morfogenética Recombinante Humana -2 (Bone Morphogenetic Protein Recombinant -2)

TGF- β = Fator Transformador do Crescimento β (Growth Factor β)

α = Alfa

β = Beta

β –TCP – Beta Tricalcio fosfato (Beta Tricalcium phosphate)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aumento lateral de rebordo. Aspectos clínicos e radiográficos. (PACIENTE 1)

- (A) Crista alveolar atrófica do sítio edêntulo no paciente 1. (B) Bloco bovino desproteínizado infundido com rhPDGF-BB. (C) Aspecto radiográfico no momento da reentrada (5 meses). (D) Vista clusal no momento da reentrada. (E) Três implantes são colocados no quadrante posterior esquerdo da mandíbula. (F) Aparência radiográfica dos três implantes após o carregamento (6 meses após a instalação dos implantes)...26

Figura 2 - Aumento lateral de rebordo. Cortes histológicos - (PACIENTE 1) - Histologia

de uma amostra no momento da instalação dos implantes. (G) Visão geral histológica da amostra corada com azul de toluidina / pironina G. Observa-se formação de osso novo ao longo da amostra. As lacunas de reabsorção nas trabéculas de xenoenxerto, associadas à formação óssea em curso, são detectáveis (ampliação original 12,5). (H) Maior ampliação de uma trabécula de xenoenxerto embutida no osso regenerado. Formação óssea contínua na porção central das trabéculas ósseas bovinas desproteínizadas. Observe a lacuna na porção central do xenoenxerto, preenchido com osso novo e forrado por osteoblastos (ampliação original 160).28

Figura 3 - Aumento vertical de rebordo. Aspectos clínicos e radiográficos. (PACIENTE

2): (A) Aspecto radiográfico do defeito ósseo vertical profundo na mandíbula posterior esquerda antes do enxerto. (B) Aparência clínica do defeito ósseo vertical (profundidade de 11 mm.) (C) As partículas de osso bovino desproteínizadas embutidas em uma matriz de colágeno e infundidas com rhPDGF-BB, posicionadas em cima do defeito. (D) Aparência clínica do sítio após 5 meses de cura. O defeito ósseo apareceu completamente preenchido com um tecido duro, clinicamente parecido com osso e exibindo um ganho vertical total de cerca de 8 mm. (E) Aparência radiográfica após o carregamento e restauração de três implantes dentários de titânio colocados no local regenerado.....29

Figura 4 - Aumento vertical de rebordo. Aspectos histológicos. (PACIENTE 2) - Visão

geral histológica da amostra. O osso maduro regenerado lamelar é exibido em contato com o xenoenxerto (ampliação original 200 x).30

| | |
|--|----|
| Figura 5 - Esquema de divisão dos grupos. Grupo 1: tampão colágeno (controle); Grupo 2 : FDDBA/ β -tricálcio fosfato (β -TCP) /tampão colágeno; Grupo 3: FDDBA/ β -TCP/plasma rico em plaquetas (PRP) /tampão colágeno; Grupo 4: FDDBA/ β -TCP/fator de crescimento derivado de plaquetas (rhPDGF-BB) /tampão colágeno. | 31 |
| Figura 6 - (A) Ilustração de uma MSC; (B) Osteoblasto..... | 34 |
| Figura 7 - Estrutura da proteína BMP-2 | 34 |
| Figura 8 - Células do meio infiltrando a esponja ACS com rhBMP-2..... | 35 |
| Figura 9 - Uma célula MSC se dividindo em duas | 36 |
| Figura 10 - (A) Ilustração de uma MSC; (B) Osteoblasto..... | 36 |
| Figura 11 – Esquema de divisão dos grupos do estudo citado. (Grupo 1). quitosano / colágeno puro. (Grupo 2)Carregado com adenovírus que expressam BMP-2, (Grupo 3) adenovírus que expressam VEGF (Grupo 4) ambos os adenovírus que expressam BMP-2 e VEGF. (Grupo 5) proteína VEGF e adenovírus que expressam BMP-2..... | 38 |
| Figura 12 - (F) Radiografia após instalação do implante; (G) Após 3 anos com restauração definitiva, (H) Radiografia do elemento após 3 anos; (I) Biópsia após 30 semanas da colocação de rhBMP-2/ACS (aumento de 2x)..... | 42 |
| Figura 13 - Biópsia após 30 semanas da colocação de rhBMP-2/ACS - Aumento de 10x. (WB) Tecido ósseo; (LB) Osso lamelar..... | 43 |
| Figura 14 - Técnica para obtenção do cPRP processing..... | 47 |
| Figura 15 - Divisão dos pacientes..... | 52 |
| Figura 16 - Uma fotomicrografia do Grupo 1 após um período de cicatrização de 6 meses revelando inúmeras trabéculas ósseas recém-formadas, mostrando osteócitos presos (O) e osteoblastos (seta). Poucas células inflamatórias crônicas (I), dentro dos espaços da medula (M) mostrando áreas de fibrose marcadas (F) (H-E 200). | 55 |
| Figura 17 - Uma fotomicrografia do Grupo IIA após um período de cicatrização de 6 meses revelando trabéculas ósseas recém-formadas irregulares, mostrando osteócitos presos (O), rimming osteoblástico (seta) e linhas de inversão (R). Poucos linfócitos (L) são observados dentro dos espaços da medula (M) (H-E 200 x)..... | 56 |
| Figura 18 - Uma fotomicrografia do Grupo IIB que ilustra as linhas de reversão (setas) vistas dentro das trabéculas ósseas recém-formadas irregulares. Os vasos sanguíneos | |

dilatados (B) e poucas células inflamatórias crônicas (I) são vistos dentro dos espaços da medula (H-E 200 x).....56

Figura 19 - A centrifugação do sangue imediatamente após a coleta permite a composição de um coágulo de fibrina estruturado e resistente no meio do tubo, apenas entre os corpúsculos vermelhos na parte inferior e o plasma acelular no topo.....59

Figura 20 - (A) centrífuga PC-O2, Process, Nice, França; (B) Após a coleta do próprio PRF; (C); Membranas de fibrina autólogas; (D) Membranas de fibrina autólogas após remoção do soro do coágulo.....60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Percentual médio de reparação óssea exibido por período de observação, para os animais do grupo de controle (GC) e tratado com PRP (GP), e valores de P calculados confrontando dados do percentual de preenchimento ósseo por período, do tratamento realizado no GP versus tratamento realizado no GC..... 50

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|-----|
| Gráfico 1: Contato implante-osso (A1, A2 e B) com diferentes sistemas de implantes. Diferença estatística encontrada apenas entre rhBMP-2 e grupo controle, após 12 semanas e implantação simultânea. | 40 |
| Gráfico 2: Densidade óssea nos diferentes grupos..... | 40 |
| Gráfico 3: Densidade óssea média estimada radiograficamente durante todo o experimento..... | 533 |
| Gráfico 4: Encontrados histomorfométricos na implantação. | 544 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 OBJETIVOS | 19 |
| 2.1 Objetivo Geral | 19 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 19 |
| 3 METODOLOGIA | 20 |
| 4. REVISÃO DE LITERATURA | 21 |
| 4.1 Fatores de Crescimento | 21 |
| 4.2 PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas | 22 |
| 4.2.1 PDGF – Estudos “in vitro” | 22 |
| 4.2.2 PDGF - Estudos em animais..... | 24 |
| 4.2.3 PDGF - Estudos em humanos | 25 |
| 4.3 BMPs – Proteínas Ósseas Morfogenéticas..... | 32 |
| 4.3.1 BMPs – Estudos “in vitro” | 37 |
| 4.3.2 BMPs – Estudo em animais | 39 |
| 4.3.3 BMPs – Estudos em humanos | 41 |
| 4.4 PRP - Plasma Rico em Plaquetas..... | 45 |
| 4.4.1 – PRP – Estudos “in vitro” | 47 |

| | |
|--|-----------|
| 4.4.2 PRP – Estudos em animais..... | 48 |
| 4.4.3 PRP – Estudos em humanos | 51 |
| 4.5 PRF – Plasma Rico em Fibrina | 58 |
| 4.5.1 PRF – Estudos “in vitro” | 60 |
| 4.5.2 PRF – Estudos em animais | 61 |
| 4.5.3 PRF – Estudos em humanos..... | 63 |
| 5 DISCUSSÃO | 65 |
| 5.1 PGDF | 65 |
| 5.2 BMP | 67 |
| 5.3 PRP..... | 68 |
| 5.4 PRF | 70 |
| 6 CONCLUSÃO | 72 |
| 7 REFERÊNCIAS..... | 73 |

1 INTRODUÇÃO

Desde os primeiros estudos publicados por Branemark, no final da década de 60, a utilização dos implantes osseointegrados vem crescendo em grandes proporções (LOUREIRO, 2010).

O tecido ósseo tem uma reconhecida capacidade de se manter em constante remodelação e ao mesmo tempo regeneração. Estes processos ocorrem através de uma cascata complexa e multifatorial de eventos biológicos (migração celular, proliferação, adesão e diferenciação, além da neoformação vascular) regulada por fatores de crescimento distintos, segregados por células ósseas e células reativas presentes no local danificado. No entanto, grandes defeitos ósseos, congênitos ou causados por doenças, trauma ou cirurgia, não se curam espontaneamente e geralmente são um desafio clínico nas práticas ortopédicas e odontológicas. Tais situações se beneficiam do uso de estratégias que podem substituir o osso perdido ou estimular a formação óssea (LAMANO; PERES, 2011).

Diante de perdas ósseas significativas, a implantodontia conta com algumas técnicas para reconstrução de tecido ósseo perdido previamente à instalação de implantes odontológicos. As mais empregadas são: enxertos autólogos, alógenos e xenógenos, regeneração óssea guiada, distração osteogênica, dentre outras. Essas técnicas apresentam algumas desvantagens, como morbidade, reabsorção do enxerto e algumas complicações pós operatórias. A engenharia de tecidos busca através da manipulação de células, matrizes (arcabouços) e sinalizadores moleculares, aprimorar essas técnicas e criar novas, mais eficientes e menos invasivas (CURY; GUIMARÃES, 2012).

A literatura descreve amplamente as vantagens dos enxertos ósseos autólogos em relação aos enxertos aloplásticos e xenógenos, devido as suas três propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese. Enxertos ósseos autógenos liberam uma variedade de moléculas, incluindo fatores de crescimento, que podem direcionar as

células mesenquimais envolvidas na regeneração óssea (CABALLÉ-SERRANO et al. 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Descrever os fatores de crescimento, seus mecanismos de ação e seus resultados na regeneração óssea.

2.2 Objetivos Específicos

Descrever os mecanismos de ação dos fatores de crescimento: PRF, PRP, PDGF e BMP.

Descrever os resultados histológicos e clínicos do uso desses fatores de crescimento na regeneração óssea.

Descrever qual é o fator de crescimento de maior importância na regeneração óssea.

3 METODOLOGIA

Para os estudos considerados nesta revisão, foram realizadas buscas eletrônicas na base de dados Medline, usando a página de busca Pubmed (Arquivo Digital de Literatura Biomédica e de Ciências da Vida do Instituto Nacional da Saúde dos Estados Unidos), Portal Capes e publicações científicas no Google Acadêmico. Para delimitação da busca, foram utilizados termos como “growth factors”, “bone regeneration”, “tissue engineering”, “graft bone”, “PRP”, “PDGF”, “BMPs”, “PRF”.

Em decorrência da relevância das informações contidas em artigos clássicos e a evolução dos estudos realizados, não foi delimitado período de tempo. Foram considerados ainda apenas artigos publicados nas línguas portuguesas e inglesas.

Como critério de seleção para inclusão dos artigos, utilizaram-se aqueles que tratavam de estudos in vitro, estudos clínicos em animais e estudos clínicos em seres humanos referentes ao uso de fatores de crescimento para recuperação de defeitos nos tecidos ósseos. Os dados presentes foram analisados e utilizados para a elaboração do presente trabalho de revisão de literatura.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento são uma classe de mediadores biológicos naturais que regulam os principais eventos celulares na reparação tecidual, incluindo a proliferação celular, quimiotaxia, diferenciação e síntese da matriz através da ligação a receptores específicos da superfície celular. Eles estão presentes em diversos tecidos, mas em especial quando estão em fase de reparação ou remodelação, sendo fundamentais nesses processos. (HOWELL et al. 1997).

Esses fatores participam de eventos de formação óssea por meio da quimiotaxia de osteoblastos e contribuem na angiogênese (ANITUA, 1999).

Entre os fatores de crescimento já testados em implantodontia, estão o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-I), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP). Tem-se observado que o uso desses fatores favorece a osseointegração. Eles são utilizados através do plasma rico em plaquetas (PRP) e da proteína óssea morfogenética 2 recombinante humana (rhBMP-2) (SHMIDT, 2006). O ciclo de remodelação compreende a reabsorção da matriz óssea, sob responsabilidade dos osteoclastos, seguida da formação e mineralização de uma nova matriz, responsável pelos osteoblastos. Os osteoblastos controlam a degradação da matriz óssea pela produção de citocinas estimulantes dos precursores de osteoblastos. Na sequência, osteoclastos liberaram ácidos e proteases para dissolver o mineral e degradar a matriz orgânica, liberando os fatores de crescimento armazenados. Os fatores de crescimento ósseo, principalmente o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), os fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs), o fator de crescimento transformante- β (TGF- β), fatores de crescimento semelhantes a insulina (IGFs), o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteínas morfogenéticas dos ossos (BMPs), controlam a diferenciação e a atividade funcional das células da linhagem osteoblástica (PERES; LAMANO, 2011).

4.2 PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) foi identificado pela primeira vez em 1974 como um potente agente mitógeno para células mesenquimais presentes no soro (CHILDS, PROPE, *et al.*, 1982). Ele é o principal mitógeno para as células de origem mesodérmica. Existe na natureza como proteína dimérica de 30 kDa, formada a partir de cadeias polipeptídicas tipo A ou B, que se unem através de pontes dissulfídicas, podendo aparecer *in vivo* tanto como homodímero (PDGF-AA ou -BB), quanto heterodímero (PDGF-AB) (NEVINS *et al.* 2003).

Esta proteína está armazenada principalmente nos grânulos α plaquetários sendo liberada na coagulação e no mecanismo de adesão plaquetária em lesão de vaso sanguíneo (LYNCH *et al.*, 1991).

Sua atividade mitogênica foi observada sobre diversos tipos celulares, principalmente em osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal (DENNISON *et al.* 1994).

A ativação das células alvo ocorre através de seus receptores α e β , estruturalmente relacionados à proteína tirosina quinase (nas quais expressam fortes sinais miogênicos). Ela ocorre a partir da homodimerização ou heterodimerização dos receptores, formando cadeias peptídicas A e B. O PDGF têm várias isoformas, a PDGF-BB mostrou ser a mais efetiva em todos os parâmetros celulares, como mitógenese e quimiotaxia celular, sendo assim, a forma mais indicada para terapia reconstrutiva dos tecidos crânios-faciais. A isoforma PDGF-AB mostrou ter uma resposta intermediária e PDGF-AA foi a menos eficaz (BOYAN *et al.*, 1994).

4.2.1 PDGF – Estudos “*in vitro*”

Jiang e colaboradores (1999) fizeram um estudo “*in vitro*” para examinar a interação da matriz óssea bovina com PDGF-BB e IGF-I e determinar se a combinação

de fatores de crescimento com a matriz poderia estimular a proliferação de células osteoblásticas. Concluiu-se que tanto PDGF-BB como IGF-I foram adsorvidos à matriz mineral óssea de uma forma dependente da concentração. A afinidade do IGF-I para o material foi maior do que o PDGF-BB. Nos experimentos que mediram a liberação dos fatores de crescimento inicialmente adsorvidos, aproximadamente 50% do PDGF-BB e 10% do IGF-I foram liberados após 10 dias. PDGF-BB adsorvido significativamente ao material da matriz aumentou a proliferação de células osteoblásticas cultivadas em comparação com a matriz mineralizada isoladamente. No entanto, o IGF-I adsorvido ao material da matriz não aumentou significativamente a proliferação celular. Esses resultados sugerem que o tanto o IGF-I quanto o PDGF-BB podem ser adsorvidos à matriz mineral anômala do osso bovino, porém o PDGF-BB aumenta as propriedades osteogênicas deste material de enxerto ósseo. Já o IGF-I não foi prontamente liberado e não produziu efeitos significativos no ensaio biológico (JIANG et al. 1999).

Um estudo foi realizado com o objetivo de melhorar a capacidade osteogênica dos materiais aloplásticos, tendo em vista as pobres propriedades osteogênicas desses substitutos ósseos. Este estudo foi feito em culturas de células ósseas osteoblásticas onde se associou PDGF-BB em diferentes concentrações a materiais aloplásticos tais como β -TCP ou CaSO_4 . Evidenciou-se uma melhora na resposta biológica regenerativa. As culturas celulares que receberam a associação PDGF-BB e β -TCP apresentaram um aumento significativo na proliferação de osteoblastos, maior formação de matriz osteóide quando comparado ao β -TCP isolado. Os resultados sugerem que a associação de materiais aloplásticos ao fator de crescimento PDGF-BB torna esse material de enxertia mais eficiente (BATEMAN et al. 2005).

Foi demonstrado em um estudo “in vitro” que o PDGF-BB que é secretado por osteoclastos podem regular a quimiotaxia dos osteoblastos. Os resultados concluíram que durante a sua diferenciação, osteoclastos derivados de células Raw264.7 ou progenitores primários da medula óssea adquirem a capacidade de secretar fatores quimiotáticos capazes de atrair precursores osteoblásticos e, em menor grau, osteoblastos maduros nos quais secretam PDGF-BB, que é reconhecido por receptor

de PDGF- B (PDGF- β) na superfície de osteoblastos, regulando assim a quimiotaxia destes (SANCHEZ-FERNANDEZ et al. 2008).

Krattinger e colaboradores demonstraram através de um estudo “in vitro” que a associação de células ósseas fetais humanas (HFBC) a arcabouços podem induzir formação óssea, e que, além disso, as células-tronco mesenquimais humanas (HMSC) apresentam alta capacidade proliferativa na presença deste fator de crescimento (KRATTINGER et al. 2011).

4.2.2 PDGF - Estudos em animais

Em um estudo em cães, avaliou-se a influência do rhPDGF-BB (fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano) na formação ossea inicial após aumento lateral de rebordo utilizando BCP (fosfato de cálcio bifásico) e regeneração óssea guiada, em combinação com uma membrana de colágeno nativa (CM), através de uma avaliação histomorfométrica. Oito defeitos do rebordo lateral de mandíbula do tipo crônico em quatro cães beagle (dois defeitos cada) foram alocados aleatoriamente em um uma boca dividida da seguinte maneira: BCP (fosfato de cálcio bifásico) + rhPDGF-BB (fator de crescimento humano derivado de plaquetas) + CM (membrana de colágeno) como teste e BCP (fosfato de cálcio bifásico) + CM (membrana de colágeno) como controle. Após 3 semanas, os blocos dissecados foram preparados para imuno-histoquímica e histomorfometria. Os resultados mostraram que ambos os grupos exibiram um padrão comparável de vasos sanguíneos e formação óssea que se originou principalmente do osso alveolar adjacente. No entanto, os locais de teste revelaram uma reatividade pronunciada do antígeno TG, que foi associada com valores estatisticamente significantes de AA médios ($8,5 \pm 0,9 \text{ mm}^2$ versus $7,1 \pm 1,1 \text{ mm}^2$) e MT ($2,7 \pm 0,9 \text{ mm}^2$ versus $1,7 \pm 0,8 \text{ mm}^2$) em comparação com os locais de controle ($P < 0,05$; teste t pareado). Conclui-se então que BCP (fosfato de cálcio bifásico) + rhPDGF-BB (fator de crescimento humano derivado de plaquetas) pode ter o potencial de auxiliar os estágios iniciais da regeneração óssea guiada em defeitos crônicos laterais de cristas (SCHWARZ et al. 2009).

Em outro estudo, foi avaliado o padrão inicial de angiogênese e formação óssea após aumento lateral de rebordo, usando rhPDGF e regeneração óssea guiada através de estudo imuno-histoquímico em cães. Observaram-se os efeitos de rhPDGF-BB no enxerto localizado utilizando um osso mineral natural (NBM) e a influência da membrana de colágeno (CM) sobre a atividade do fator da seguinte maneira: os defeitos da crista alveolar do tipo crônico (em quatro cães) foram alocados aleatoriamente em um projeto em que a boca foi dividida da seguinte maneira: na maxila foram utilizados osso mineral natural + fator de crescimento derivado de plaquetas + membrana como grupo teste, comparado com osso mineral natural + fator de crescimento (sem a membrana de colágeno) como grupo controle; e na mandíbula osso mineral natural + fator de crescimento derivado de plaquetas + membrana de colágeno como grupo teste versus osso mineral + membrana de colágeno (sem o fator de crescimento) como grupo controle. Após 3 semanas, os blocos foram preparados dissecados para análise imuno-histoquímica e histomorfométrica.

Os resultados mostraram que tanto os grupos teste quanto os grupos controle, apresentaram angiogênese, crescimento tecidual e índice de mineralização satisfatórios. Concluiu-se que o rhPDGF-BB embebido em NBM (osso natural mineral) pode ter o potencial de auxiliar a formação óssea em defeitos cratero lateral crônicos e a aplicação da membrana colágena não parece interferir com a atividade do fator, mas assegurou uma estabilização das partículas do enxerto (SCHWARZ et al. 2010).

4.2.3 PDGF - Estudos em humanos

PDGF é uma glicoproteína cujas atividades são mitogênese, angiogênese, ativação de macrófagos e promoção de quimiotaxia (MARX; CARLSON, 1996).

O PDGF é um importante sinalizador molecular que vem ganhando destaque desde um ensaio clínico em humanos, onde demonstrou-se que a utilização de 0,15 mg/ml de PDGF-BB e IGF-1 resultou em um significativo aumento no preenchimento de

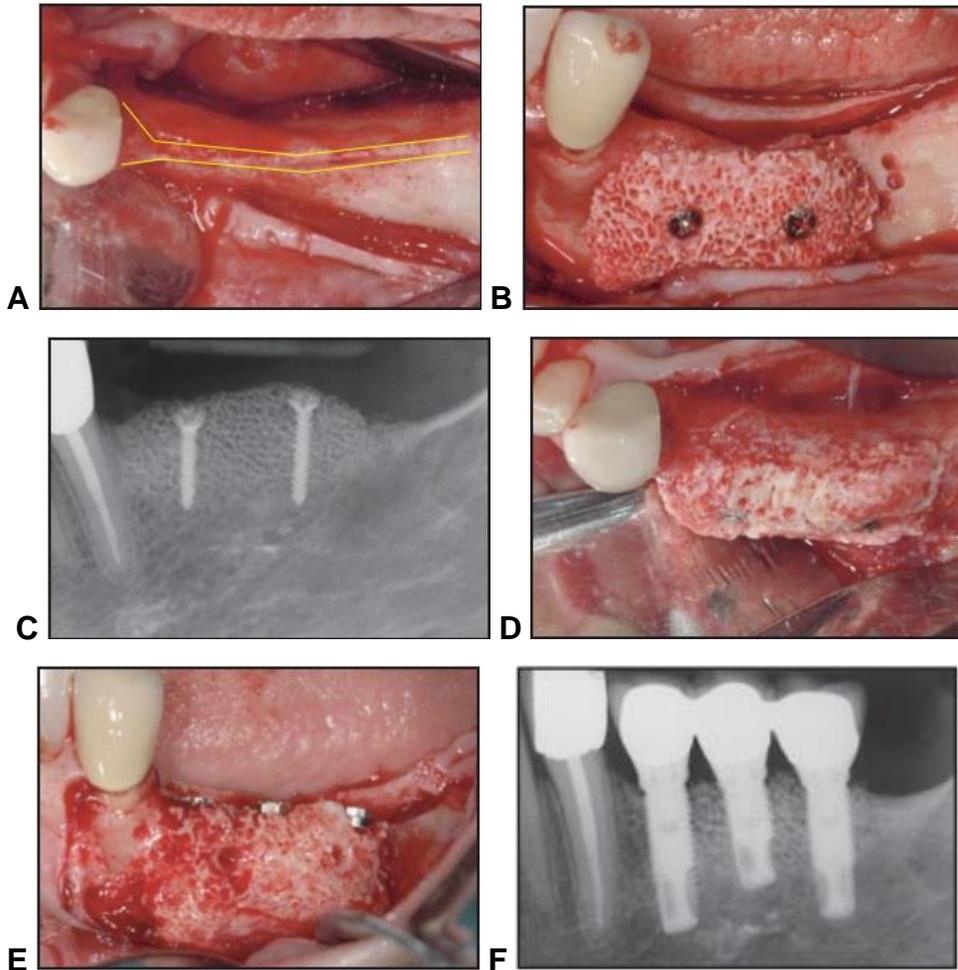
defeitos ósseos periodontais, quando comparado ao retalho isolado (HOWELL et al. 1997).

O rhPDGF-BB foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration), com o nome comercial de GEM 21S, após a publicação de um estudo prospectivo, multicêntrico, randomizado, triplo cego envolvendo 180 pacientes que demonstrou que o uso de rhPDGF-BB foi seguro e eficaz no tratamento de defeitos ósseos periodontais (NEVINS et al. 2005).

Simion, Rochietta e Dellavia (2007) publicaram um relato de caso clínico em que dois pacientes, que apresentavam extensos defeitos ósseos foram submetidos a um aumento tridimensional da crista usando um xenoenxerto em combinação com o rhPDGF-BB. O paciente 1 apresentava crista alveolar atrófica do sítio edêntulo, como mostrado na figura 1(A). Ele recebeu um bloco de matriz bovina infundido com PDGF que foi fixado por dois parafusos, com o objetivo de aumentar a crista horizontalmente como mostrado na figura 1(B). Após 5 meses foi feita uma radiografia para avaliação do enxerto como mostrado na figura 1(C), com aspecto satisfatório. Após 5 meses, realizou-se então a reentrada e três implantes foram instalados com sucesso, como mostra a figura 1(E). A imagem radiográfica dos implantes após o carregamento, 6 meses após a instalação dos implantes, mostrou resultados positivos, como mostrado na figura 1(F). Os resultados histológicos mostraram-se positivos como mostrados na figuras 2 .

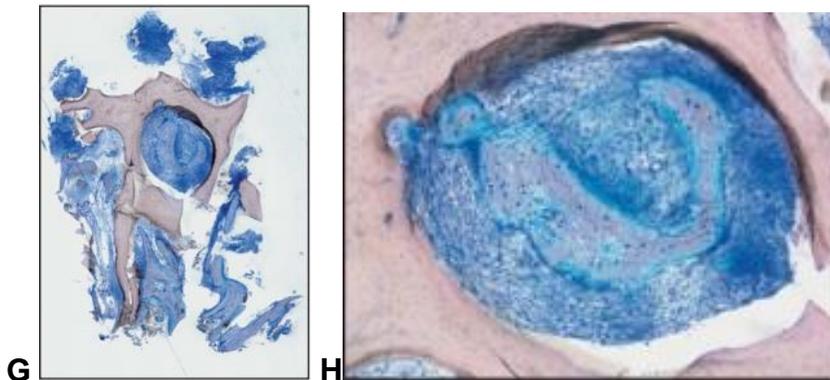
Figura 1 - Aumento lateral de rebordo. Aspectos clínicos e radiográficos. (PACIENTE 1) - (A) Crista alveolar atrófica do sítio edêntulo no paciente 1. (B) Bloco bovino desproteínizado infundido com rhPDGF-BB. (C) Aspecto

radiográfico no momento da reentrada (5 meses). (D) Vista clusal no momento da reentrada. (E) Três implantes são colocados no quadrante posterior esquerdo da mandíbula. (F) Aparência radiográfica dos três implantes após o carregamento (6 meses após a instalação dos implantes).



Fonte: SIMION; ROCCHIETTA; DELLAVIA, (2007)

Figura 2 - Aumento lateral de rebordo. Cortes histológicos - (PACIENTE 1) - Histologia de uma amostra no momento da instalação dos implantes. (G) Visão geral histológica da amostra corada com azul de toluidina / pironina G. Observa-se formação de osso novo ao longo da amostra. As lacunas de reabsorção nas trabéculas de xenoenxerto, associadas à formação óssea em curso, são detectáveis (ampliação original 12,5). (H) Maior ampliação de uma trabécula de xenoenxerto embutida no osso regenerado. Formação óssea contínua na porção central das trabéculas ósseas bovinas desproteinizadas. Observe a lacuna na porção central do xenoenxerto, preenchido com osso novo e forrado por osteoblastos (ampliação original 160).

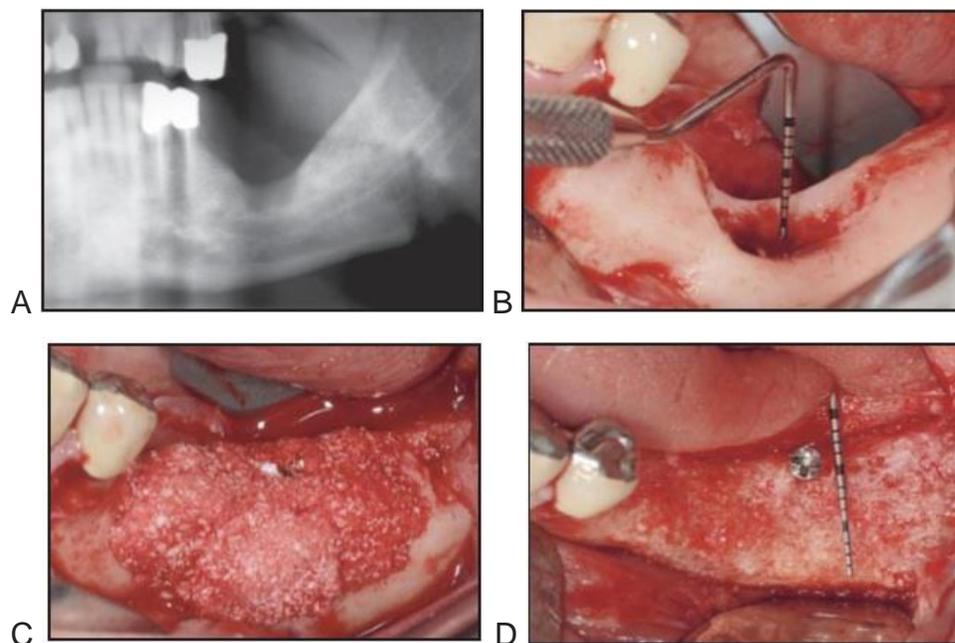


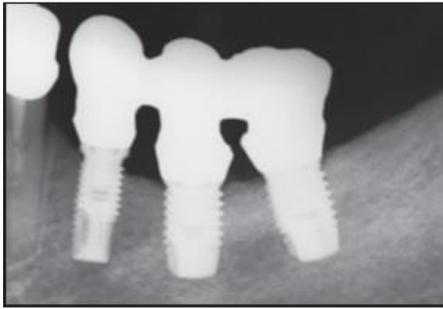
Fonte: SIMION; ROCCHIETTA; DELLAVIA, (2007)

O paciente 2, apresentava um defeito ósseo vertical, como mostrado radiograficamente na figura 3(A) e clinicamente na figura 3(B). Foi realizado procedimento de aumento vertical da crista que combinava partículas de osso bovino desproteinizadas embebidas em uma matriz de colágeno contendo PDGF-BB, como mostrado na figura 3(C). Três implantes foram instalados. Os resultados clínicos e radiográficos mostraram excelente cicatrização de tecido mole e duro após 5 meses, como mostrado respectivamente nas figuras 3(D), 3(E). Observou-se sucesso no aspecto histológico como mostrado na figura 4. Os ossos se regeneraram em toda a área e as partículas de xenoenxerto foram incorporadas no osso, que apresentaram lacunas de reabsorção próximas a áreas com formação óssea em curso. Isso indicou

que, em áreas enxertadas, a remodelação fisiológica intensa estava em andamento (SIMION; ROCCHIETTA; DELLAVIA, 2007).

Figura 3 - Aumento vertical de rebordo. Aspectos clínicos e radiográficos. (PACIENTE 2): (A) Aspecto radiográfico do defeito ósseo vertical profundo na mandíbula posterior esquerda antes do enxerto. (B) Aparência clínica do defeito ósseo vertical (profundidade de 11 mm.) (C) As partículas de osso bovino desproteinizadas embutidas em uma matriz de colágeno e infundidas com rhPDGF-BB, posicionadas em cima do defeito. (D) Aparência clínica do sítio após 5 meses de cura. O defeito ósseo apareceu completamente preenchido com um tecido duro, clinicamente parecido com osso e exibindo um ganho vertical total de cerca de 8 mm. (E) Aparência radiográfica após o carregamento e restauração de três implantes dentários de titânio colocados no local regenerado

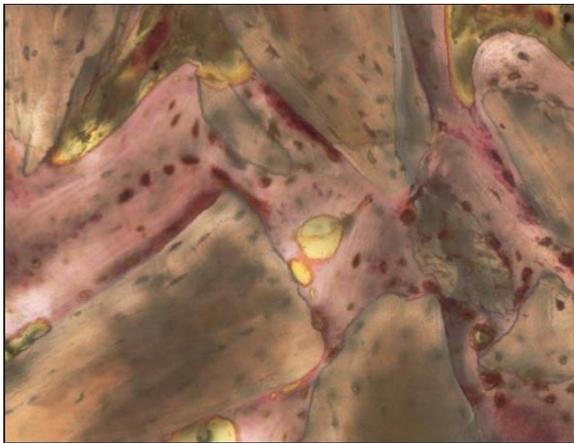




E

Fonte: SIMION; ROCCHIETTA; DELLAVIA, (2007)

Figura 4 - Aumento vertical de rebordo. Aspectos histológicos. (PACIENTE 2) - Visão geral histológica da espécime. O osso maduro regenerado lamelar é exibido em contato com o xenoenxerto (ampliação original 200 x).



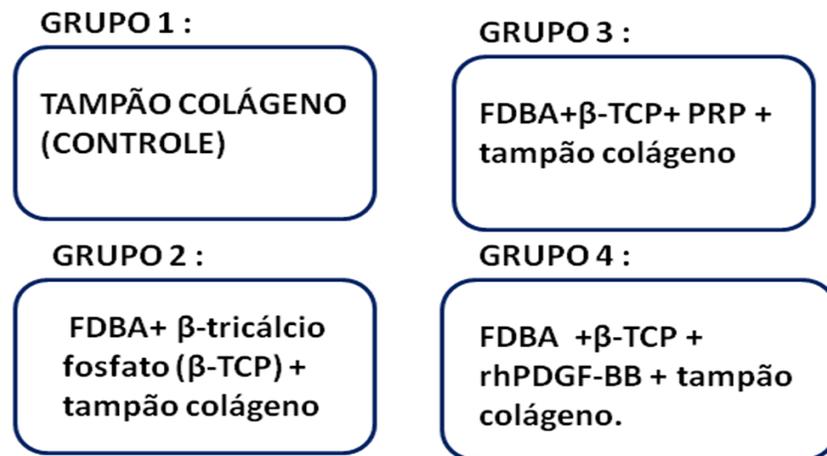
Fonte: SIMION; ROCCHIETTA; DELLAVIA, (2007)

Sugere-se então que o uso de rhPDGF-BB em combinação com um enxerto bovino desproteinizado pode ter o potencial de regenerar grandes defeitos alveolares tridimensionais em seres humanos.

Geurs et al. (2014) avaliaram a cicatrização de alvéolos enxertados e não enxertados e o efeito do PRP e do rhPDGF-BB no remodelamento inicial. Seu estudo envolveu 41 pacientes, cujo plano de tratamento incluíam extração de dentes anteriores

e pré-molares. Os pacientes foram randomizados em quatro grupos conforme esquema da figura 5:

Figura 5 - Esquema de divisão dos grupos. Grupo 1: tampão colágeno (controle); Grupo 2 : FDBA/ β -tricálcio fosfato (β -TCP) /tampão colágeno; Grupo 3: FDBA/ β -TCP/plasma rico em plaquetas (PRP) /tampão colágeno; Grupo 4: FDBA/ β -TCP/fator de crescimento derivado de plaquetas (rhPDGF-BB) /tampão colágeno.



Fonte: Elaborada pela autora.

Em 8 semanas colheu-se uma amostra dos 41 alvéolos. Foram identificadas diferenças significativas na distribuição tecidual entre os grupos e entre os diferentes terços do núcleo colhido. Novo osso e matriz orgânica amorfa foram observados no grupo controle. Em locais onde o enxerto ósseo foi combinado com fatores de crescimento, a quantidade de partículas residuais foi menor que em locais onde o enxerto ósseo foi usado isoladamente. Conclui-se então que a inclusão do enxerto de substituição óssea suprimiu nova formação óssea durante a cicatrização inicial. A inclusão de PRP e rhPDGF-BB produziu menos osso residual, indicando um turnover mais rápido do enxerto ósseo. Todos os tratamentos alcançaram uma significativa quantidade de osso novo vital em 8 semanas (GEURS et al. 2014).

Em outro estudo, Ntounis et al. (2015), avaliaram a qualidade óssea clínica, histológica e histomorfométrica de alvéolos humanos após extração utilizando aloenxerto de osso liofilizado mineralizado (FDBA) associado ou não a fatores de crescimento. O estudo foi realizado nos mesmos quarenta e um pacientes do estudo citado acima. Após 8 semanas de cicatrização, os implantes foram instalados. Os clínicos avaliaram a qualidade óssea de acordo com a classificação de Misch. A inclusão do aloenxerto promoveu o deslocamento da qualidade D4 (classificação de Misch) para D3, embora isso não tenha eliminado completamente a incidência da qualidade D4. Porém, a inclusão de PRP (plasma rico em plaquetas) e rhPDGF-BB (fator de crescimento derivado de plaquetas) aumentou a qualidade óssea eliminando a incidência de D4. Além disso, conclui-se que o uso de PRP e rhPDGF-BB melhora e diminui o tempo de cicatrização antes da instalação de implantes.

4.3 BMPs – Proteínas Ósseas Morfogenéticas

As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) são polipeptídeos pertencentes à superfamília TGF- β (fator transformador do crescimento β), e são encontradas nas formas de BMPs derivadas dos ossos e BMPs recombinantes humanas. São produzidas por osteoblastos e atuam na neoformação óssea. Elas estimulam principalmente a diferenciação de células mesenquimais e da medula óssea em condrócitos, originando uma ossificação do tipo endocondral ou através do estímulo da proliferação de células osteoprogenitoras que se diferenciam em odontoblastos maduros, produtores de proteínas da matriz óssea. A BMP-2 é descrita como responsável pelo recrutamento, diferenciação e multiplicação das células osteogênicas (WOZNEY, 1995) e (HOLLINGER et al. 1998).

A principal relevância clínica de sua utilização se deve a capacidade de encurtar o início da fase protética, sendo indicadas em casos de grandes perdas ósseas. (GONÇALVES et. al 1998).

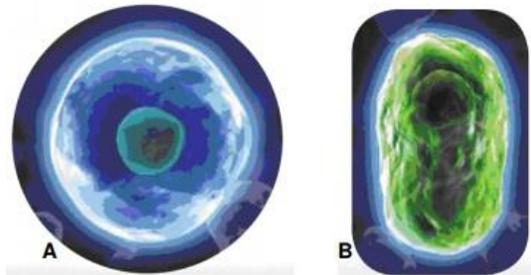
As BMPs são disponibilizadas com um carreador para proteger o defeito ósseo da invasão de tecidos fibroso e muscular dentro do defeito ósseo, viabilizando a presença de vasos sanguíneos e células mesenquimais. As esponjas de colágeno absorvíveis (ACS) tem se mostrado como melhor opção de carreador (SHMIDT, 2006).

As 35 BMPs são encontradas no mercado na forma de pó liofilizado e associadas ao carreador por meio de água estéril antes de serem aplicadas no leito cirúrgico (BLOCK; ACHONG, 2006).

Através de um intenso trabalho de pesquisa na engenharia genética, conseguiu-se isolar a principal proteína para a regeneração óssea, a morfogenética tipo 2 (BMP-2) e em seguida derivar sinteticamente esta proteína, denominando-a em Proteína Óssea Morfogenética Recombinante Humana-2 (rhBMP-2). Em março de 2007, a rhBMP-2 (INFUSE® Bone Graft), associada a uma esponja de colágeno como material transportador teve sua aprovação comercial regulamentada pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) para uso odontológico com indicação para levantamento de seio maxilar, enxertos de rebordo alveolar localizado e de defeitos associados a alvéolos de extração (SMITH et al. 2008).

Os osteoblastos são as principais células envolvidas na formação e reparação óssea. As células mesenquimas estaminais (MSCs), ilustrada na figura 6(A), são as células precursoras dos osteoblastos. São indiferenciadas, multipotentes, encontradas na medula óssea, periósteo e tecido muscular de menor extensão. Elas têm a capacidade de se diferenciar em vários tipos de células diferentes, incluindo osteoblastos e condroblastos. O osteoblasto, mostrado na figura 6(B) em forma de ilustração, produz um novo osso sobre uma matriz de colágeno e inicia a liberação de sinais biológicos que direcionam a formação e remodelação óssea. Estes sinais biológicos atraem as MSCs e outras células formadoras de ossos para o local de formação óssea e causam a diferenciação das MSCs em osteoblastos. (MEDITRONIC PACKAGE INSERT, 2007).

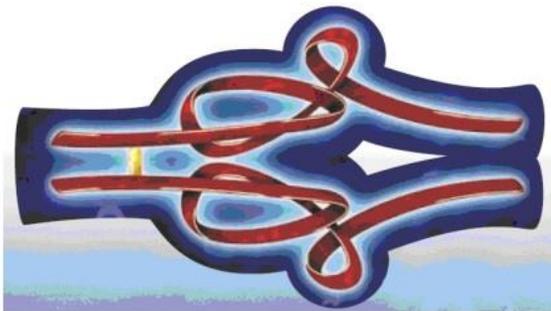
Figura 6 - (A) Ilustração de uma MSC; (B) Osteoblasto.



Fonte: Bone Graft Certain Oral Maxillofacial and Dental Regenerative Uses, 2007

As BMPs-2, mostrada na figura 7 em forma de ilustração, tem a capacidade de induzir a migração, proliferação e diferenciação das células mesenquimais in vitro e, portanto, podem estar envolvidas em cada estágio de formação óssea in vivo.

Figura 7 - Estrutura da proteína BMP-2

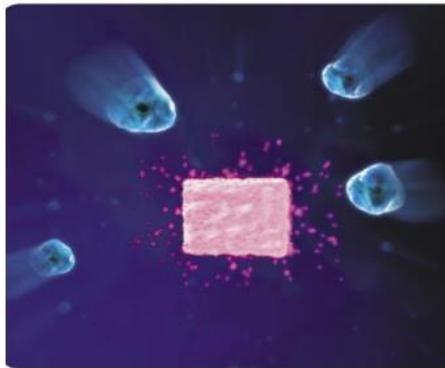


Fonte: Bone Graft Certain Oral Maxillofacial and Dental Regenerative Uses, 2007

A versão recombinante da BMP é a versão comercial de uma solução extremamente pura de uma única BMP. A proteína morfogenética óssea recombinante humana-2 (rhBMP-2) é uma proteína osteoindutora comprovada e é fabricada utilizando o gene que codifica a BMP-2 para o ser humano (ZETOLA; LARSON, 2007); (SMITH, et al., 2008).

A combinação de rhBMP-2/ACS em quantidades adequadas é capaz de induzir a cascata de eventos celulares envolvidos no processo de indução óssea, iniciada pelas células mesenquimais indiferenciadas ao redor dos tecidos, nas quais são as primeiras a infiltrarem na esponja rhBMP-2/ACS que foi implantada, como mostra a ilustração da figura 8.

Figura 8 - Células do meio infiltrando a esponja ACS com rhBMP-2



Fonte: Bone Graft Certain Oral Maxillofacial and Dental Regenerative Uses, 2007

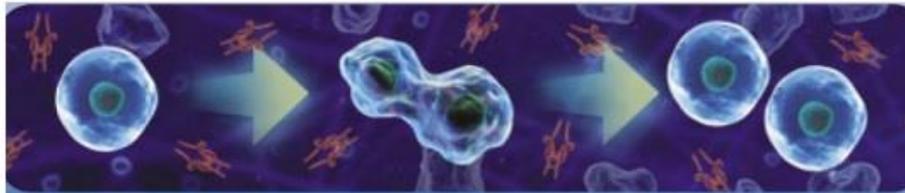
A esponja é degradada, as células mesenquimais se diferenciam em células formadoras de osso e iniciam o processo de formação de trabéculas ósseas e/ou cartilaginosas com invasão vascular simultânea (angiogênese). O processo de formação óssea se desenvolve a partir do exterior do implante de rhBMP-2/ACS em direção ao centro até que ocorre a substituição por osso trabecular.(MEDITRONIC PACKAGE INSERT, 2007)

As células mesenquimais indiferenciadas e osteoblastos do osso sangrante, do músculo e do periósteo infiltram no implante de rhBMP-2/ACS. Estudos “in vitro” têm demonstrado que as rhBMP-2 podem estimular a migração quimiotática específica de células ósseas formadoras (MEDITRONIC PACKAGE INSERT, 2007)

As células mesenquimais indiferenciadas então se proliferam para dentro do sítio de implantação da rhBMP-2/ACs. A rhBMP-2 tem a capacidade de aumentar a

proliferação de linhas celulares multipotentes, como mostrado na figura 9 em ilustração, nas quais são capazes de se diferenciarem em osteoblastos.

Figura 9 - Uma célula MSC se dividindo em duas



Fonte: Bone Graft Certain Oral Maxillofacial and Denal Regenerative Uses, 2007

Através de receptores específicos localizados nas células mesenquimais indiferenciadas, ocorre uma ligação entre a rhBMP-2 e a MSC provocando sua diferenciação em células formadoras de osso conforme ilustração da figura 10.

Figura 10 - (A) Ilustração de uma MSC; (B) Osteoblasto.



Fonte: Bone Graft Certain Oral Maxillofacial and Denal Regenerative Uses, 2007

SMITH et al. (2008) afirmaram que as BMP-2 são osteoindutoras, controladoras de substâncias que iniciam o desenvolvimento de tecidos e que também estão envolvidas na mediação da condensação das células mesenquimais que aparecem antes das estruturas ósseas maduras em ambas as ossificações, intramembranosa ou endocondral.

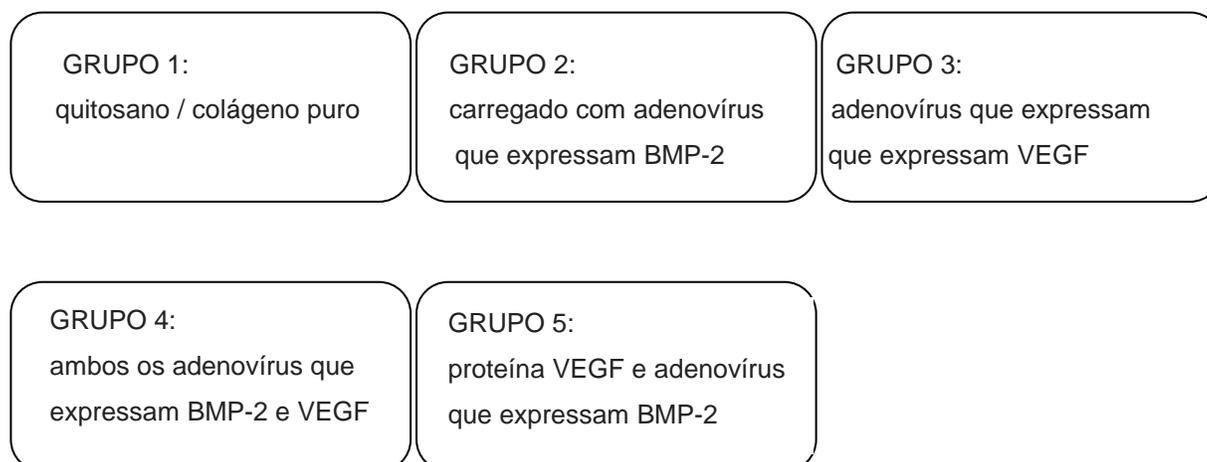
4.3.1 BMPs – Estudos “in vitro”

O efeito in vitro da rhBMP-2 sobre a diferenciação osteogênica e mitogênica foi examinado em duas linhas celulares clonais de células semelhantes a osteoblastos de ratos em diferentes estágios de diferenciação, ROB-C26 (C26) e ROB-C20 (C20). Os resultados indicam claramente que a rhBMP-2 está envolvida, pelo menos in vitro, não só na indução da diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células osteoblásticas mais maduras, mas também na inibição da diferenciação miogênica (YAMAGUCHI et al. 1991).

Kawasaki et al. (1998) investigaram os efeitos da rhBMP-2 na diferenciação de células isoladas de osso humano, músculo e pele. Células isoladas de ossos de seis pacientes (HBM-1 a HBM-6), músculo de cinco pacientes (HM-1 a HM-5) e pele de três pacientes (HF-1 a HF-3). Os resultados sugeriram que o rhBMP-2 é um potente estimulador da diferenciação dos osteoblastos e da formação óssea em células humanas.

Um estudo realizado por LUO et. al (2011), avaliou o efeito sinérgico da proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) no reparo de defeitos ósseos em torno de implantes dentários. Cinco grupos foram fabricados por meio de um método de liofilização, (Grupo 1). quitosano / colágeno puro. (Grupo 2) Carregado com adenovírus que expressam BMP-2, (Grupo 3) adenovírus que expressam VEGF (Grupo 4) ambos os adenovírus que expressam BMP-2 e VEGF. (Grupo 5) proteína VEGF e adenovírus que expressam BMP-2, como mostrado figura 11.

Figura 11 – Esquema de divisão dos grupos do estudo citado. (Grupo 1). quitosano / colágeno puro. (Grupo 2) Carregado com adenovírus que expressam BMP-2, (Grupo 3) adenovírus que expressam VEGF (Grupo 4) ambos os adenovírus que expressam BMP-2 e VEGF. (Grupo 5) proteína VEGF e adenovírus que expressam BMP-2.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os autores investigaram *in vitro* se as células do estroma da medula óssea eram sensíveis a esses suportes ao longo do tempo, e *in vivo*, a capacidade de formação de osso, o contato osso-implante, bem como os valores de torque de remoção. As diferenças entre os vários grupos foram analisadas estatisticamente usando o teste unidirecional de análise de variância. Os resultados encontrados do estudo *in vitro* revelaram uma explosão e liberação rápida de VEGF com uma expressão sustentada de alto nível de BMP-2 nos suportes combinados com proteína VEGF e adenovírus que expressam BMP-2. A histomorfometria demonstrou que suportes que expressam BMP-2 melhoraram a formação óssea em comparação com outros grupos. O VEGF sozinho é insuficiente para promover a formação óssea. A nova formação óssea nos defeitos ósseos em torno de implantes dentários, contato ósseo-implante e torque médio de remoção mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos de vetor adenoviral que codifica a proteína 2 morfogenética do osso humano (Ad-BMP-2) e proteína VEGF e adenovírus que expressa BMP -2. Além disso, a combinação da

proteína VEGF e o Ad-BMP-2 representaram os melhores resultados neste modelo. Conclui-se então que uma combinação de gene BMP-2 e proteína VEGF poderia ter um efeito sinérgico na promoção da cicatrização óssea.

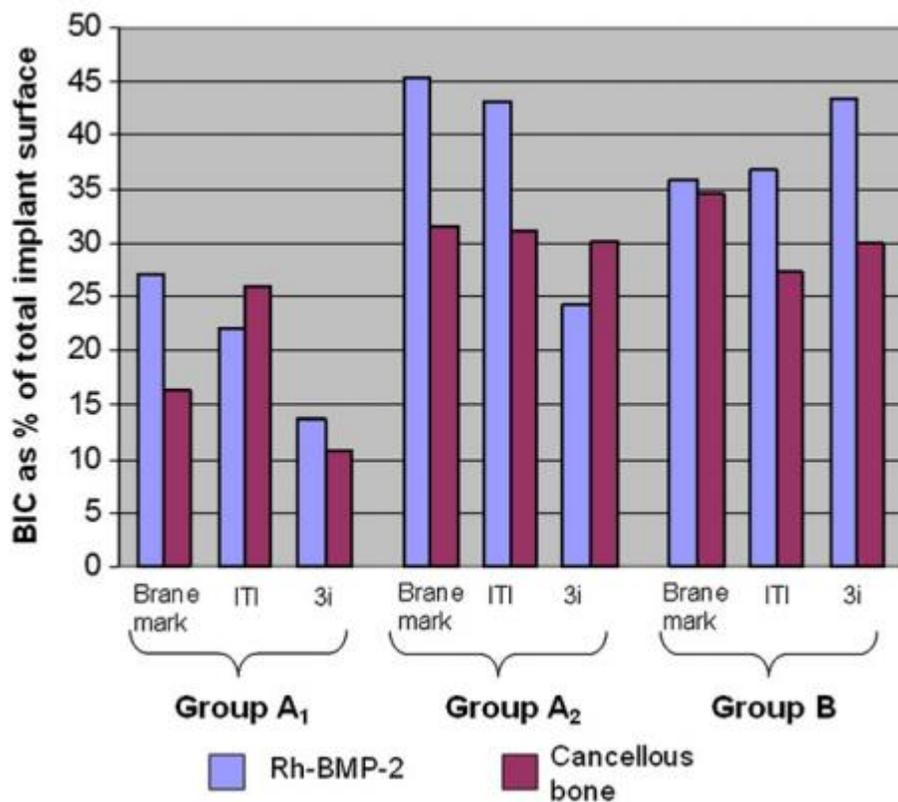
4.3.2 BMPs – Estudo em animais

Gutwald et al. (2010) publicaram um trabalho no qual se comparou o aumento de seio maxilar utilizando-se rhBMP-2 associada a uma esponja de poly-D L-lactic-co-glycolic acid gelatine (PLPG) e aumento de assoalho de seio maxilar com osso autógeno esponjoso pélvico concomitantemente com instalação de implantes. Vários estudos já demonstraram os efeitos positivos da utilização das BMPs na geração de osso, porém os autores objetivaram estudar também os efeitos da rhBMP-2 na instalação dos implantes feita no mesmo tempo que o levantamento de seio maxilar em ovinos; e ainda avaliar o impacto de diferentes sistemas de implantes, bem como o posicionamento dos implantes na formação óssea, se a rhBMP-2 fosse utilizada em procedimentos de levantamento de seio maxilar. O estudo foi feito em 9 ovelhas que foram divididas em 3 grupos.

As nove ovelhas adultas foram submetidas à elevação bilateral do seio maxilar. Em um lado (grupo de teste), o levantamento do seio foi realizado com rhBMP-2 em uma esponja PLPG, enquanto o lado contralateral serviu de controle usando osso esponjoso da crista íliaca. Três implantes diferentes (Branemark, 3i e Straumann) foram inseridos simultaneamente com o aumento do seio maxilar ou como procedimento de duas etapas 6 semanas depois. Os animais foram sacrificados as 6 e 12 semanas para avaliações histológicas e histomorfométricas durante as quais o contato osso - implante (BIC) e a densidade óssea (BD) foram avaliados.

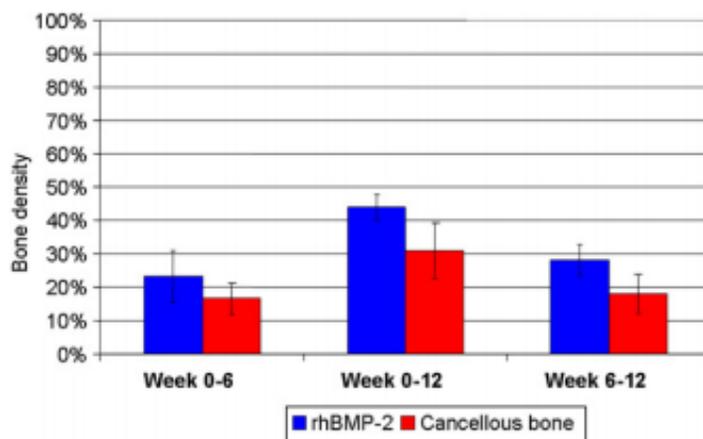
Os resultados mostraram que os implantes instalados do grupo de rhBMP-2 tiveram um aumento significativo do contato implante-osso (BIC) e densidade óssea (BD) em relação ao enxerto com osso autógeno como demonstrado respectivamente nos gráficos 1 e 2:

Gráfico 1: Contato implante-osso (A1, A2 e B) com diferentes sistemas de implantes. Diferença estatística encontrada apenas entre rhBMP-2 e grupo controle, após 12 semanas e implantação simultânea.



Fonte: Gutwald et al. (2010) JOURNAL OF CRANIO-MAXILLO-FACIAL SURGERY, 2010

Gráfico 2: Densidade óssea nos diferentes grupos.



Fonte: Gutwald et al. (2010) JOURNAL OF CRANIO-MAXILLO-FACIAL SURGERY, 2010

Concluiu-se que o uso de rhBMP-2 associado a uma esponja de PLPG aumentou o contato osso-implante, assim como a densidade óssea nos seios enxertados em comparação com o osso autógeno indiferentemente do tipo de sistema de implante utilizado. Os implantes obtiveram um alto índice de contato osso-implante, independentemente do tipo de enxerto que foi realizado.

4.3.3 BMPs – Estudos em humanos

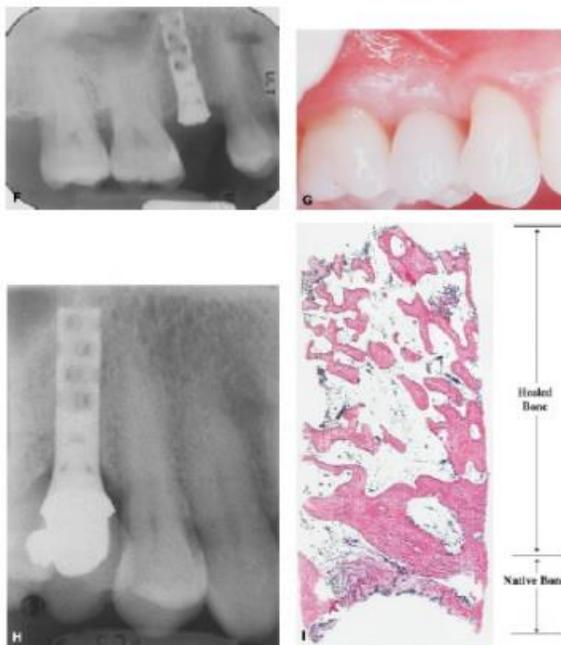
Howell et al. (1997) demonstraram que o uso de rhBMP-2/ACS para preservar os alvéolos de extração e para aumento lateral de rebordo em defeitos localizados é seguro e viável. O estudo foi realizado em 24 meses, com a participação de doze pacientes, seis com preservação de alvéolos de extração e seis com aumento lateral de rebordo. O trabalho foi segregado em duas partes, na primeira avaliou-se, após 4 meses, a segurança e o período de indução óssea em curto prazo; na segunda avaliou-se a osseointegração, restauração funcional e segurança em logo tempo com o uso de rhBMP-2/ACS. A segurança dos pacientes foi monitorada através de exames clínicos, radiográficos, coleta de amostras sanguíneas para medir a formação de anticorpos. A viabilidade técnica foi avaliada pela coleta de informações relacionadas às propriedades de rhBMP-2/ACS. Nos resultados clínicos observou-se que rhBMP-2/ACS teve boa tolerância localmente e sistemicamente sem apresentar nenhum evento adverso. O dispositivo foi facilmente manuseado e adaptado ao rebordo em alvéolos de extração. Todos os sítios apresentaram dureza e preenchimento à palpação nas primeiras quatro semanas, porém, notou-se uma perda de volume em algumas áreas entre a quarta e oitava semanas. Houve preenchimento ósseo em todos os alvéolos de extração.

Cochram et al. (2000) e colaboradores, demonstraram que a rhBMP-2 / ACS pode ser usado com segurança em pacientes humanos. Eles fizeram um estudo piloto em 12 pacientes com acompanhamento de 3 anos. O primeiro objetivo e o principal foi avaliar a segurança em longo prazo destes pacientes tratados com rhBMP-2 associada à ACS, utilizadas em alvéolos de extração ou em aumento lateral de rebordo, e

posteriormente, o segundo objetivo foi avaliar os implantes colocados nos locais desses enxertos.

Após 4 meses da colocação das esponjas, a implantação de rhBMP- 2/ACS (0,43 mg/ml) foi considerada segura (avaliação clínica, radiografias periapicais e ocorrências adversas), conforme mostra a figura 12. Durante esses 3 anos, implantes foram instalados nas áreas tratadas com rhBMP-2/ACS. Foram colhidas amostras de biópsias ósseas para realização de análises histológicas.

Figura 12 - (F) Radiografia após instalação do implante; (G) Após 3 anos com restauração definitiva, (H) Radiografia do elemento após 3 anos; (I) Biópsia após 30 semanas da colocação de rhBMP-2/ACS (aumento de 2x).

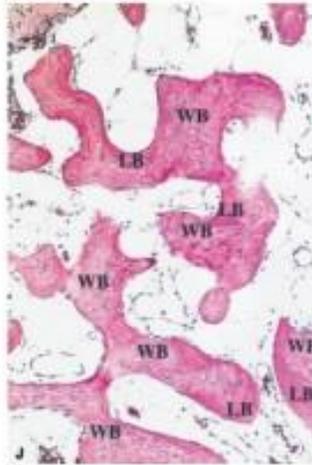


Fonte: J PERIODONTOL, 2000

Dois anos após a implantação de rhBMP-2/ACS, não foram observadas ocorrências adversas, negativas ou inesperadas. Os implantes instalados nos 10 pacientes (6 em alvéolos de extração e 4 em aumento de rebordo lateral) apresentaram estabilidade clínica em todas as avaliações e todos foram funcionalmente restaurados.

No estudo histológico, observou-se formação de tecido ósseo normal idêntico ao tecido ósseo nativo ao redor do enxerto, como mostrado na figura 13.

Figura 13 - Biópsia após 30 semanas da colocação de rhBMP-2/ACS - Aumento de 10x. (WB) Tecido ósseo; (LB) Osso lamelar.



Fonte: J PERIODONTOL, 2000

Após três anos de acompanhamento de exames clínicos, foram observados que todos os implantes tinham níveis ósseos marginais normais e tecidos peri-implantares saudáveis. Os resultados sugerem que a rhBMP-2/ACS a 0,43 mg/mL pode ser usada com segurança em alvéolos de extração e aumento de rebordo lateral local e que, esses locais podem receber terapia com implantes e carregados funcionalmente sem complicações (COCHARAN *et al.* 2000).

Jung *et al.* (2003) apresentaram um trabalho clínico para testar se a adição de rhBMP-2 à um substituto ósseo mineral (Bio-Oss®) poderia melhorar a terapia de regeneração óssea em relação ao volume, densidade e maturação. Trinta e quatro implantes foram instalados em 11 pacientes (parcialmente edentulos) com necessidade de aumento lateral de rebordo. Todos os defeitos foram enxertados com substitutos ósseos xenógenos e membrana de colágeno reabsorvível (Bio guide®), sendo que no grupo teste, os enxertos xenógenos foram adicionados à rhBMP-2. Os defeitos ósseos

peri-implantares foram medidos a partir do ombro do implante ao primeiro contato de osso-implante e após um período médio de seis meses, os defeitos residuais foram novamente medidos. Foram realizadas 22 biópsias com broca trefina. Na primeira avaliação, a altura do defeito ósseo era de 7 mm no grupo teste e de 5,8 no grupo controle. Na segunda avaliação, o defeito diminuiu para 0,2 mm no grupo teste e para 0,4 mm no grupo controle, mostrando um resultado estatisticamente significativo. A análise histométricas mostrou uma densidade média de 37% de novo osso formado no grupo teste e de 30% no grupo controle. A fração de osso mineralizado identificado como osso lamelar maduro foi de 76% no grupo teste e de 56% no grupo controle. Nos sítios tratados com rhBMP-2, 57% da superfície das partículas de substituto ósseo estavam em contato direto com o novo osso formado, enquanto apenas 30% do grupo controle apresentava este contato. Conclui-se que a combinação de osso xenógeno mineral (Bio-Oss) com rhBMP-2 pode aumentar o processo de maturação da regeneração óssea e pode aumentar o contato ósseo do enxerto ao osso nativo em humano e que a rhBMP-2 tem potencial de melhorar previsivelmente e acelerar a terapia de regeneração óssea guiada (JUNG et al. 2003).

Posteriormente, Fiorellini et al. (2005), examinaram a eficácia de duas doses de rhBMP-2/ACS em 80 pacientes que necessitavam de preenchimento do alvéolo após exodontia. Os grupos foram organizados da seguinte maneira: nenhum enxerto (controle), apenas a esponja ACS (placebo) e outro com colocação de duas concentrações de rhBMP-2/ACS (0,75 mg/cc ou 1,5 mg/cc). Os resultados demonstraram que os sítios tratados com 1,5 mg/cc de rhBMP-2/ACS tiveram cerca de duas vezes a quantidade de osso em relação aos grupos controle preservando a altura da crista e aumentando significativamente a largura e comprimento do alvéolo da extração. A maturação do osso para colocação de implante dental era aproximadamente duas vezes melhor no grupo tratado com rhBMP-2/ACS do que nos grupos controle. Além disso, a histologia em biópsias ósseas não mostrou diferença entre o osso induzido por rhBMP-2 e o osso nativo (FIORELLINI, HOWELL, *et al.*, 2005)

Em 2007, um estudo piloto randomizado foi realizado pela empresa Medtronic, com o objetivo de avaliar a segurança e eficácia do INFUSE[®] Bone Graft no procedimento de enxertos de levantamento de assoalho de seio maxilar. Este estudo contou com 160 pacientes, nos quais 82 foram tratados com rhBMP-2/ACS a 1,5 mg/cc e 78 com enxertos ósseos apenas, ou com alguma combinação associada ao osso alógeno. Após a inserção de INFUSE[®] Bone Graft, foi feito um acompanhamento de 4 a 12 meses durante o processo de formação óssea, 12 meses durante a osseointegração e 12 meses após a colocação da prótese. Foram feitas análises tomográficas e histológicas. Seis meses após, observou-se que a média das alturas ósseas era de 7,83 para os enxertos com uso de INFUSE[®] e 9,46 para o enxerto ósseo autógeno convencional. No estudo histológico observou-se que ambos os grupos apresentavam formação de novas trabéculas ósseas biológica e estruturalmente semelhantes ao tecido ósseo. Após 6 meses de carga funcional, o grupo que usou INFUSE[®] mostrou uma taxa de sucesso do implante de 79%, sendo que a taxa esperada era a de 73%. Depois de 12 meses de carga, as taxas de sucesso de ambos os grupos foram similares (MEDITRONIC PACKAGE INSERT , 2007)

4.4 PRP - Plasma Rico em Plaquetas

O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma fonte autógena e de baixo custo que contém fatores de crescimento (FC), preparado a partir de pequena quantidade de sangue total retirado do próprio paciente, no período pré-operatório (LIEBERMAN; DALUISKI; EINHORN, 2002).

As plaquetas são os primeiros componentes presentes no local do trauma e, quando ativas liberam fatores de crescimento que têm participação direta no processo de reparo tecidual por regular e estimular eventos celulares de mitogênese, quimiotaxia, diferenciação e metabolismo. Devido a esta capacidade de promoção de reparo um aumento na concentração das plaquetas no enxerto ósseo causa melhora no processo de cicatrização, obtêm-se regeneração óssea mais rápida e densa. Dentre os fatores de crescimento encontrados no PRP, estão: o fator de crescimento derivado das

plaquetas (PDGF), o fator transformador de crescimento β (TGF- β) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF). (FREYMILLER; AGHALOO, 2004).

De acordo com Dohan et al. (2006) o uso dos concentrados plaquetários, se justifica porque as plaquetas estão diretamente ligadas ao processo de hemostasia e cicatrização. Elas são estruturas discoidais e anucleares formadas na medula óssea de megacariócitos. Sua vida útil é de 8 a 10 dias, e o seu citoplasma contém muitos grânulos cujo conteúdo é segregado no momento da ativação (fibronectina, protrombina, fibrinogênio e outros fatores de coagulação, promotores de crescimento, inibidores de fibrinólise, imunoglobulinas, etc.). Os grânulos densos contêm cálcio, serotonina, etc. Além disso, uma membrana plaquetária é uma camada dupla de fosfolipídios em que os receptores para muitas moléculas são inseridas (colágeno, trombina, etc.). A ativação das plaquetas é fundamental para iniciar e apoiar a hemostasia devido à agregação nos sítios lesionados e às interações com os mecanismos de coagulação. No entanto, a degradação também implica uma liberação de citocinas capazes de estimular uma migração celular e uma proliferação dentro da matriz de fibrilação, iniciando os primeiros estágios de cura. Em seu artigo *"Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I Technological concepts and evolution."*, Dohan et. al (2006), descrevem a seguinte técnica para obtenção de PRP:

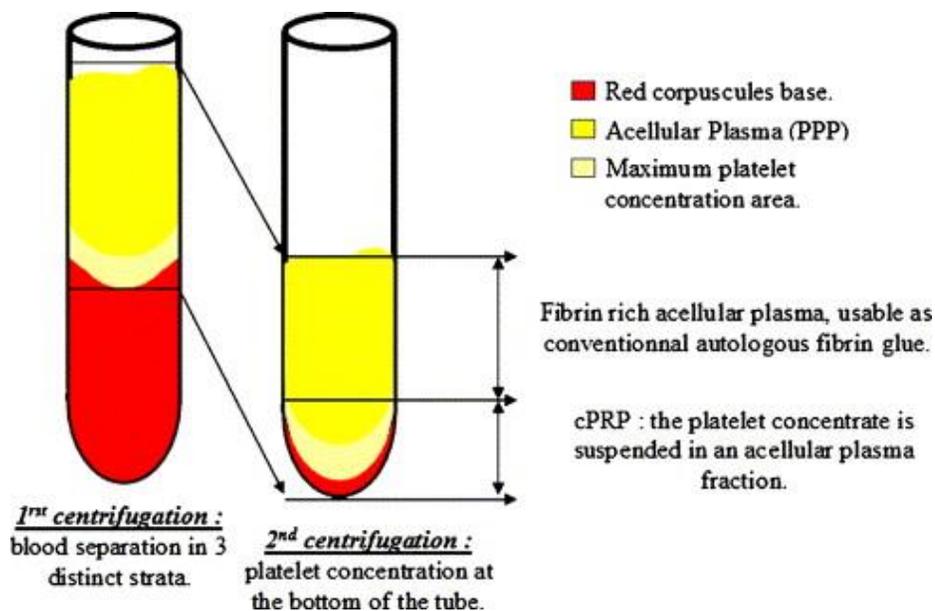
A) O sangue venoso é tomado com anticoagulante para evitar a ativação e degranulação das plaquetas.

B) A primeira centrifugação ("rotação suave") permite a separação do sangue em 3 camadas distintas como demonstrado na figura 14. Na parte inferior do tubo encontram-se os corpúsculos de sangue vermelho. Na parte superior do tubo encontra-se o plasma pobre em plaquetas (PPP), a camada de plasma acelular é composta principalmente de moléculas plasmáticas circulantes (em particular, fibrinogênio). Ema uma camada intermediária entre essas duas fica a concentração de plaquetas (apenas 5% do volume total).

C) Usando uma seringa estéril, transfere-se PPP, PRP e alguns corpúsculos de sangue vermelho para outro tubo, sem anticoagulante.

D) Realiza-se outra centrifugação. A concentração de plaquetas passa a ser agora na parte inferior do tubo. Obtem-se mais uma vez 3 camadas distintas: na parte inferior do tubo alguns corpúsculos de sangue vermelho residuais presos na parte inferior do plasma acelular (PPP) e entre as 2 camadas está localizado o cPRP – apresentado no segundo tubo da figura 14.

Figura 14 - Técnica para obtenção do cPRP processing.



Fonte: Dohan et. al (2006)

e) Nesta fase, torna-se fácil coletar o PRP com uma seringa. Descarta-se a maior parte do PPP, deixando apenas soro suficiente para colocar as plaquetas concentradas em suspensão. A unidade é então agitada suavemente para obter um cPRP pronto para usar.

f) cPRP É então misturado com trombina bovina e cloreto de cálcio no momento da aplicação, com a ajuda de uma seringa de mistura.

4.4.1 – PRP – Estudos “in vitro”

He et al. (2009) fez um estudo para avaliar o efeito das características biológicas do plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma rico em fibrina (PRF) na proliferação e diferenciação de osteoblastos em ratos. Para isso coletou-se amostras de sangue de 14 voluntários saudáveis (7 homens) com idade média de 23,2 ± 2,24 anos. PRP e PRF foram preparados com protocolos padrão. Os exsudados de PRP e PRF foram coletados nos momentos de 1, 7, 14, 21 e 28 dias.

Os níveis de fator de crescimento derivado de plaquetas AB (PDGF-AB) e o fator de crescimento transformante 1 (TGF-1) foram quantificados em PRP e PRF. Em seguida, os exsudados de PRP e PRF foram utilizados para cultura de osteoblastos de calvária de rato. As características biológicas dos osteoblastos foram analisadas in vitro durante 14 dias. Os resultados demonstraram que o PRP liberou as maiores quantidades de TGF-1 e PDGF-AB no primeiro dia, seguido de liberação significativamente diminuída em pontos de tempo posteriores. O PRF liberou a maior quantidade de TGF-1 no dia 14 e a maior quantidade de PDGF-AB no dia 7. Os exsudados de PRP coletados no dia 1 e os exsudados de PRF coletados no dia 14 expressaram atividade máxima de fosfatase alcalina (ALP), embora não foi significativamente mostrado. As células tratadas com exsudados de PRF coletados no dia 14 atingiram o pico de mineralização significativamente maior do que o controle negativo e os grupos de controle positivo. PRF é superior ao PRP, dos aspectos de expressão de ALP e indução de mineralização.

Conclui-se então que o PRF liberou fatores de crescimento autólogos gradualmente e expressou um efeito mais forte e durável sobre a proliferação e diferenciação de osteoblastos de ratos do que PRP in vitro.

4.4.2 PRP – Estudos em animais

Barbosa et al. (2008) apresentou neste trabalho um protocolo para confecção de PRP e demonstra alguns aspectos da sua utilização na reparação óssea de cães. O protocolo foi desenvolvido a partir de sangue coletado por punção jugular em três cães adultos, pesando em média 20kg. Para avaliação da aplicação clínica e dos aspectos

da reparação óssea, foram criadas duas falhas mediais no terço proximal de cada tíbia. Assim, a falha 1 não foi preenchida, constituindo o controle, a falha 2 foi preenchida com 3mg de enxerto ósseo autógeno da crista da tíbia, a falha 3 com gel de plaquetas (PRP) e a falha 4 com a associação PRP e 3mg de enxerto ósseo autógeno. O protocolo laboratorial proposto mostrou-se de fácil execução e de baixo custo e possibilitou a concentração adequada de plaquetas no PRP final, cujo número foi dependente da contagem inicial no sangue total de cada animal. Comparou-se a radiopacidade na região da falha, em todos os tratamentos, e demonstrou-se que o PRP associado ao enxerto determinou maior precocidade e uniformidade de radiopacidade, quando comparada com a falha preenchida apenas por PRP e ao enxerto isolados, sendo que ambos determinaram melhores resultados de preenchimento ao comparar-se com a falha sem tratamento.

De acordo com Anitua (2004) *apud* MONTEIRO et al. (2010), o plasma rico em plaquetas auxilia no processo de reparação tecidual uma vez que atua por meio da estimulação quimiotática que são promovidas pela presença de proteínas sanguíneas, moléculas e fatores de crescimento.

O estudo apresentado utilizou-se de 32 camundongos machos da linhagem C57BL/6 isogênicos com 6 meses de idade. Dos animais utilizados, oito deles foram doadores de sangue para obtenção do PRP e os demais vinte e quatro foram separados em grupo controle e grupo PRP para realizar o experimento.

Os animais foram tricotomizados na porção dorsal do crânio permitindo a exposição do osso parietal. Com o auxílio de ferramentas mecânicas, foi realizado um defeito na região parietal com exposição das meninges. O grupo dos animais em que seria aplicado o PRP recebeu o preenchimento de plasma com gel enquanto o outro grupo não recebeu o mesmo tratamento. Todos os integrantes receberam uma membrana cortical desmineralizada de origem bovina reabsorvível.

As avaliações foram realizadas em períodos de 10, 30, 60 e 90 dias onde eram feitas as pesagens, identificação dos animais e eutanásia. Nas avaliações macroscópicas os animais de ambos os grupos não apresentaram crescimento ósseo fora das margens receptoras e abaixo da meninge.

Em ambos os grupos, o osso novo do preenchimento da fissura realizada era mais fino do que o osso receptor. Porém, no que diz respeito ao percentual de reparação óssea, os animais do grupo que foi tratado com PRP apresentou melhores valores de reparação.

Tabela 1 - Percentual médio de reparação óssea exibida por período de observação, para os animais do grupo de controle (GC) e tratado com PRP (GP), e valores de P calculados confrontando dados do percentual de preenchimento ósseo por período, do tratamento realizado no GP versus tratamento realizado no GC.

| Tratamento | Período (dias) | Médias das áreas (mm ²) | Percentual de reparação óssea (mm ²) | Valor de P calculado |
|------------|----------------|-------------------------------------|--|----------------------|
| GC | 10 | 22,133 | 21,880 | P=0,0216* |
| GP | 10 | 18,344 | 35,253 | |
| GC | 30 | 13,863 | 51,069 | P=0,2989 |
| GP | 30 | 13,358 | 52,852 | |
| GC | 60 | 11,843 | 58,199 | P=0,0002* |
| GP | 60 | 10,719 | 62,166 | |
| GC | 90 | 10,495 | 62,957 | P=0,0285* |
| GP | 90 | 9,196 | 67,542 | |

* valores estatisticamente significativos – P=0,05.

Fonte: Barbosa et al. (2008)

Diante da tabela 1, pode-se observar que somente no período de avaliação de 30 dias, os grupos apresentaram valores de crescimento significativo. Entretanto, em todos os períodos, o grupo que foi submetido ao tratamento com PRP apresentou crescimento maior do que aquele apresentado pelo grupo controle.

O tratamento com o PRP em gel apresentou efeitos significativos no tratamento dos defeitos ósseos presentes no crânio dos camundongos. Contudo, ao final dos 90 dias da observação, os resultados do tratamento deixaram a desejar visto que os

defeitos não foram totalmente preenchidos e o processo de reparação não foi suficiente para completá-lo.

Corroborando com os resultados encontrados por Marx (2004) *apud* MONTEIRO et al. (2010) os efeitos do PRP em gel foram mais relevantes nos primeiros dias após a aplicação onde houve maior liberação de fatores de crescimento presentes no plasma. Dentre os componentes presentes no PRP que tiveram maior relevância no processo, destacam-se as citocinas e os fatores de crescimento, essenciais para o processo de cicatrização, aumento da vascularização e regeneração tecidual. Dessa forma o PRP foi considerado como importante instrumento para a regeneração óssea principalmente nos primeiros dias decorridos da aplicação (MONTEIRO et al. 2010).

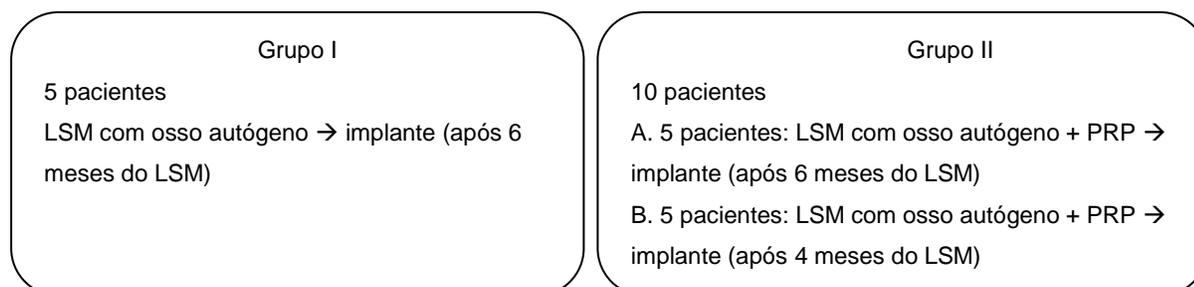
4.4.3 PRP – Estudos em humanos

KHAIRY et al. (2013) fizeram um estudo do tipo RCT para avaliar o potencial benéfico da adição de PRP ao osso autógeno utilizado no levantamento do seio maxilar (LSM) e detectar se há uma diferença significativa da qualidade óssea dos seios enxertados usando osso autógeno com ou sem PRP.

O estudo contou com 15 pacientes saudáveis, de ambos os sexos, com a idade variando de 22 a 54 anos (média de 38 anos), parcialmente edêntulos na maxila posterior unilateral ou bilateral, e indicados para o levantamento do seio maxilar seguido de inserção do implante. Esses pacientes foram divididos em dois grupos: Grupo I: 5 pacientes foram submetidos ao levantamento do seio maxilar com enxerto ósseo autógeno e inserção do implante aos 6 meses após o enxerto. No Grupo II: 10 pacientes foram submetidos ao levantamento do seio maxilar com enxerto ósseo autógeno mesclado com PRP preparado a partir do próprio sangue do paciente com inserção do implante aos 4 (Grupo II B) ou 6 meses (Grupo IIA) após o enxerto, conforme esquema da figura 15. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente para os grupos de estudo e os sexos não foram distribuídos de forma igual. A randomização foi realizada utilizando o processo de ocultação de alocação, pelo qual o investigador

que inscreveu os participantes não conheceu antecipadamente qual grupo a próxima pessoa pertenceria.

Figura 15 - Divisão dos pacientes



Fonte: Elaborada pela autora.

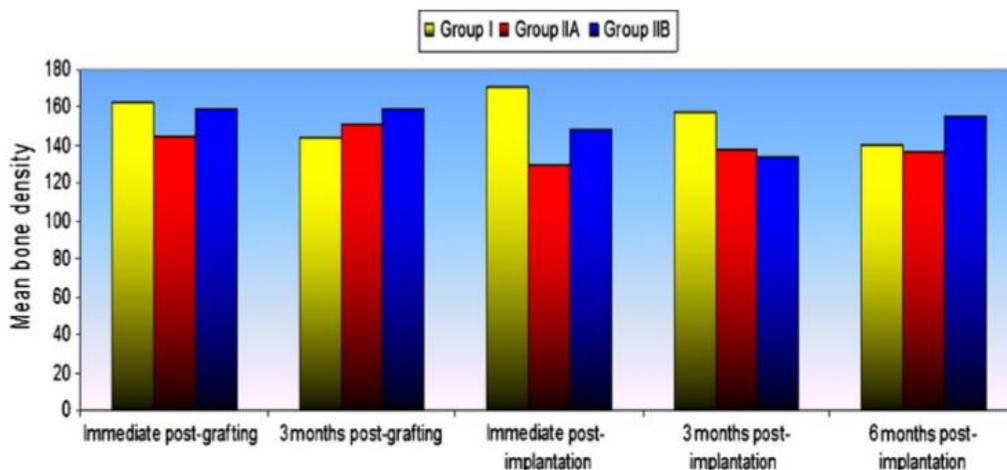
A análise dos sítios foi realizada com radiografia panorâmica em todos os casos. Casos com altura óssea de 5 mm ou menos foram incluídos para a pesquisa. Foi feito um modelo de estudo, um guia cirúrgico e um modelo de acrílico transparente formado a vácuo contendo bolas de metal de diâmetro conhecido como um marcador radiográfico para determinar a ampliação da imagem. Os resultados clínicos foram satisfatórios e sem intercorrências, apresentando cicatrização normal após a primeira e segunda cirurgia.

Resultados radiográficos (densidade óssea)

Grupo I: o enxerto foi submetido à reabsorção extensa nos primeiros 3 meses pós-enxerto. Houve diminuição estatisticamente significativa na densidade óssea média de 6 meses pós-implantação em comparação com a medição pós-cirúrgica imediata. Os autores atribuem a essa diminuição da densidade óssea à reabsorção prolongada do enxerto autógeno, que é substituído por osso novo, formado por células provenientes da periferia do enxerto ou de células vivas presentes no enxerto.

Nos Grupos IIA e IIB: os enxertos apresentaram mudanças mínimas na densidade óssea média nos primeiros 3 meses pós-enxerto, provavelmente devido ao potencial regenerativo do PRP, contendo diferentes fatores de crescimento, na aceleração dos processos de cicatrização de tecido mole e ósseo e remodelação óssea. Comparando a densidade óssea 6 meses após a implantação com a medição pós-cirúrgica imediata, houve uma diminuição estatisticamente significativa na densidade óssea média no Grupo IIA, enquanto que no Grupo IIB não houve variação estatisticamente significativa na densidade óssea média, como o efeito do aumento da regeneração óssea pareceu restringido a tempos de tratamento mais curtos, como demonstrado no gráfico 3:

Gráfico 3: Densidade óssea média estimada radiograficamente durante todo o experimento.



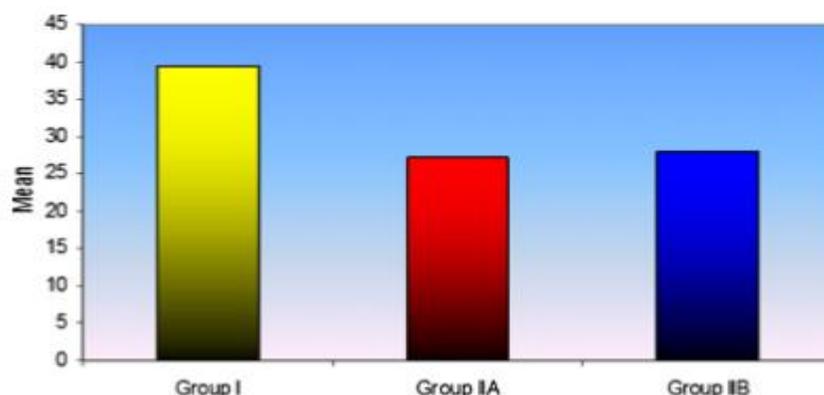
Fonte: KHAIRY et al. (2013)

Resultados da análise histomorfométrica

No momento da implantação, o Grupo I mostrou o valor médio mais significativo estatisticamente ($p = 0,003 *$) ($39,5 \pm 7,4$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre o Grupo IIA ($27,3 \pm 6,3$) e o Grupo IIB ($28 \pm 4,1$); Ambos mostraram

os valores médios mais baixos estatisticamente significantes, como mostrado no gráfico 4:

Gráfico 4: Encontrados histomorfométricos na implantação.



Fonte: KHAIRY et al. (2013)

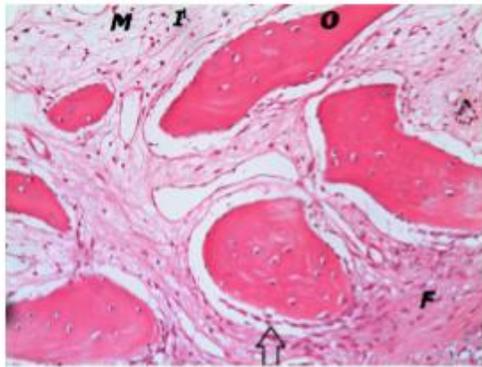
Grupo I apresentou o valor médio mais alto estatisticamente significativo ($39,5 \pm 7,4$; $p = 0,003$). O enriquecimento com PRP não melhora significativamente a densidade óssea ou o valor morfométrico aos 3 meses após o enxerto. Os enxertos ósseos enriquecidos com PRP foram associados com densidade óssea superior aos 6 meses após o enxerto

Resultados histológicos no momento da colocação do implante

No grupo I, o exame microscópico das seções coradas com H-E da biópsia do núcleo revelou numerosas trabéculas ósseas recém-formadas irregulares dispersas no local do enxerto ósseo. Osteócitos entortados foram observados dentro dessas trabéculas, enquanto os osteoblastos foram observados em sua borda. Foram observadas linhas de reversão denotando o padrão rítmico de deposição do osso recém-formado. As trabéculas osteóides recém-formadas foram separadas por grandes espaços de medula. Os vasos sanguíneos dilatados e poucas células inflamatórias

crônicas, principalmente linfócitos e células plasmáticas, foram vistos dentro dos espaços da medula.

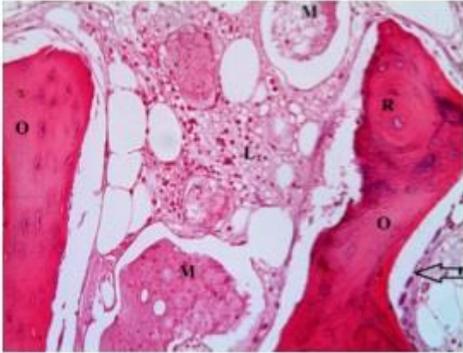
Figura 16 - Uma fotomicrografia do Grupo 1 após um período de cicatrização de 6 meses revelando inúmeras trabéculas ósseas recém-formadas, mostrando osteócitos presos (O) e osteoblastos (seta). Poucas células inflamatórias crônicas (I), dentro dos espaços da medula (M) mostrando áreas de fibrose marcadas (F) (H-E 200).



Fonte: KHAIRY et al. (2013)

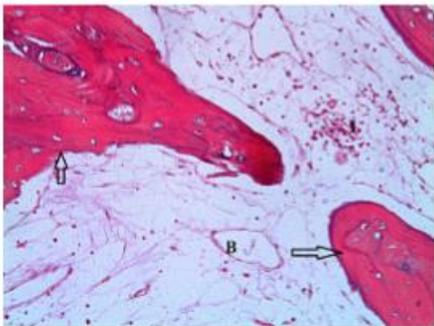
Nos Grupos IIA e IIB, o exame microscópico das secções coradas com H-E da biópsia do núcleo revelou a deposição de trabéculas ósseas recém-formadas irregulares tentando preencher o local do enxerto. A viabilidade dessas trabéculas foi confirmada pela presença de osteócitos presos dentro desse tecido osteóide. Os bordos osteoblásticos indicaram a deposição contínua. Os restos do material de enxerto foram detectados na periferia do local do enxerto, adjacente ao osso maxilar original. Algumas células inflamatórias crônicas, principalmente linfócitos e células plasmáticas, foram observadas dentro da medula. As linhas de reversão que denotam o padrão rítmico de deposição do tecido osteóide recém-formado também foram demonstradas nas figuras 15 e 16.

Figura 17 - Uma fotomicrografia do Grupo IIA após um período de cicatrização de 6 meses revelando trabéculas ósseas recém-formadas irregulares, mostrando osteócitos presos (O), rimming osteoblástico (seta) e linhas de inversão (R). Poucos linfócitos (L) são observados dentro dos espaços da medula (M) (H-E 200 x).



Fonte: KHAIRY, SHENDY et al. (2013)

Figura 18 - Uma fotomicrografia do Grupo IIB que ilustra as linhas de reversão (setas) vistas dentro das trabéculas ósseas recém-formadas irregulares. Os vasos sanguíneos dilatados (B) e poucas células inflamatórias crônicas (I) são vistos dentro dos espaços da medula (H-E 200 x).



Fonte: KHAIRY et al. (2013)

Em conclusão, este estudo mostrou que o osso autógeno, seja enriquecido com PRP ou não, é altamente biocompatível e bem tolerado quando utilizado como enxerto

nos procedimentos de aumento do seio maxilar. O PRP melhora as propriedades de manipulação do material de enxerto associado, facilitando a colocação e a estabilidade do enxerto. O enriquecimento com PRP não melhora significativamente a densidade óssea ou o valor morfométrico aos 3 meses após o enxerto, mas o enxerto ósseo enriquecido com PRP foi associado à densidade óssea superior aos 6 meses pós-enxerto.

Bae, Kim e Myung (2011) publicaram uma meta-análise que avaliou a eficácia da utilização do plasma rico em plaquetas em enxertos ósseos sinusais agregados a materiais de enxerto ósseos utilizados para regeneração óssea. Os autores utilizaram a base de dados PubMed e EMBASE, ambos no período de 2000 a janeiro de 2010, e o Cochrane Central Register of Controlled Trials na Cochrane Library no período de 2002 a janeiro de 2010. Foram selecionados apenas casos clínicos controlados em humanos que relataram sobre os efeitos dos enxertos realizados com o plasma rico em plaquetas em implantes dentários. Dos 61 artigos que tratavam da temática foram utilizados apenas 8 artigos, sendo 6 ensaios clínicos controlados randomizados e 2 ensaios clínicos controlados não randomizados. Os estudos relatavam 352 enxertos ósseos sinusais em 191 pacientes onde 178 eram enxertos ósseos sinusais com PRP com combinação de outros fatores e 174 enxertos ósseos sinusais sozinhos como grupo de controle. Em quatro dos estudos analisados que relatavam sobre a sobrevivência do implante, não foram encontradas diferenças significativas entre os implantes realizados no grupo de intervenção tratados com PRP e o grupo de controle de efeitos fixos. Assim como não foram encontradas diferenças significativas no contato osso implante. Em contrapartida, no que diz respeito à formação óssea, o grupo tratado com PRP apresentou resultados significativamente melhores do que os apresentados pelo grupo de controle de modelos aleatórios. Diante da meta-análise e dos resultados encontrados, há um parecer favorável para a utilização do PRP para a formação óssea uma vez que ele diminui o tempo de cicatrização nos enxertos ósseos sinusais e auxilia no processo de formação óssea nos estágios iniciais mesmo que não tenham sido encontrados indícios que de o uso do PRP influencie na durabilidade do implante em longo prazo.

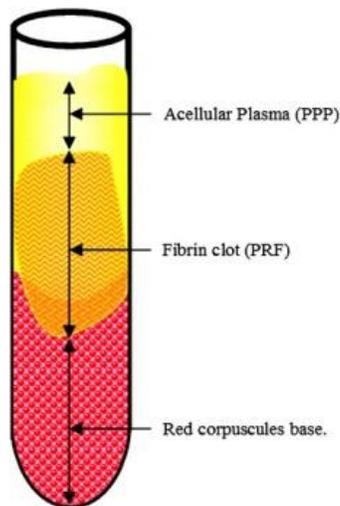
4.5 PRF – Plasma Rico em Fibrina

O PRF foi desenvolvido na França por Choukroun para uso específico na cirurgia oral e maxilofacial. Ele pertence a uma nova geração de concentrados de plaquetas, com processamento simplificado e sem manuseio de sangue bioquímico. Durante o processamento de PRF por centrifugação, as plaquetas são ativadas e sua degranulação maciça implica uma liberação de citocinas muito significativa. Estudos revelaram que a polimerização lenta de fibrina durante o processamento de PRF leva à incorporação intrínseca de citocinas plaquetárias e cadeias de glicano nas malhas de fibrina, o que significa que, o PRF, ao contrário dos outros concentrados de plaquetas, seria capaz de liberar progressivamente citocinas durante a remodelação da matriz de fibrina. Esse mecanismo pode explicar as propriedades curativas clinicamente observadas do PRF. As 3 principais citocinas de plaquetas desempenham um papel fundamental nos mecanismos de cicatrização inicial, devido à capacidade que possuem de estimular a migração e proliferação celular (particularmente por PDGFs) e induzem a remodelação da matriz de fibrina, bem como a secreção de uma matriz de colágeno cicatricial (particularmente por TGF β). Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) I e II são reguladores positivos de proliferação e diferenciação para a maioria dos tipos de células. Embora essas citocinas sejam mediadores de multiplicação de células, em geral, eles constituem o principal eixo da regulação programada da morte celular (apoptose), induzindo sinais de sobrevivência que protegem as células de muitos estímulos apoptóticos matriciais (DOHAN et al. 2006).

Para a obtenção do PRP não se faz necessário anticoagulante nem trombina bovina (nem nenhum outro agente gelificante). A técnica descrita por Dohan et al. (2006) em seu artigo *“Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate”*. Part I Technological concepts and evolution, é muito simples: uma amostra de sangue é tomada sem anticoagulante em tubos de 10 mL que são imediatamente centrifugados a 3000 rpm, por 10 minutos. A figura 20(A) mostra a centrífuga de mesa PC-02 utilizada neste trabalho publicado.

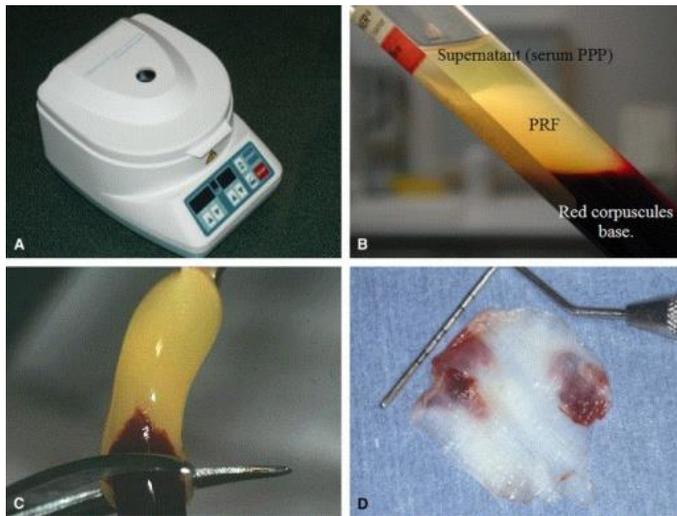
A ausência de anticoagulante implica a ativação em poucos minutos da maioria das plaquetas da amostra de sangue em contato com as paredes dos tubos e a liberação das cascatas de coagulação. O fibrinogênio é inicialmente concentrado na parte alta do tubo, antes que a trombina circulante a transforme em fibrina. Um coágulo de fibrina é então obtido no meio do tubo, apenas entre os corpúsculos vermelhos na parte inferior e o plasma acelular na parte superior conforme mostrado nas figuras 19 e 20 (B). As plaquetas são teoricamente presas de forma aparente nas malhas de fibrina.

Figura 19 - A centrifugação do sangue imediatamente após a coleta permite a composição de um coágulo de fibrina estruturado e resistente no meio do tubo, apenas entre os corpúsculos vermelhos na parte inferior e o plasma acelular no topo.



Fonte: Dohan et. al (2006)

Figura 20 - (A) centrífuga PC-O2, Process, Nice, França; (B) Após a coleta do próprio PRF; (C); Membranas de fibrina autólogas; (D) Membranas de fibrina autólogas após remoção do soro do coágulo.



Fonte: Dohan et. al (2006)

A membrana de fibrina então é obtida, figura 19(C). É necessário a remoção do soro, para que a membrana de fibrina autóloga fique pronta para ser utilizada como mostrado na figura 20(D).

4.5.1 PRF – Estudos “in vitro”

Dohan et al. (2010) desenvolveram um estudo com o objetivo de analisar os efeitos in vitro do PRF em células-tronco mesenquimais do osso humano (BMSC), colhidas na cavidade oral após a estimulação endosteal pré-implante. BMSCs de culturas primárias foram cultivadas com ou sem uma membrana de PRF originária do mesmo doador que para as células, em condições de proliferação ou diferenciação osteoblástica. Após 7 dias, as membranas PRF foram removidas. Uma série de culturas foram realizadas utilizando 2 membranas PRF, a fim de medir o efeito dose-

dependente. A contagem de células, os testes de citotoxicidade, a quantificação da atividade da fosfatase alcalina (ALP), a contagem de nódulos de coloração e mineralização de Von Kossa foram realizados aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias. Uma última série independente foi realizada em até 14 dias, para uma observação de microscópio eletrônico de varredura morfológica (SEM).

Os resultados demonstraram que o PRF gerou uma estimulação significativa da proliferação e diferenciação de BMSC ao longo do período experimental. Este efeito foi dependente da dose durante as primeiras semanas em condições normais e durante toda a experimentação em condições de diferenciação. As culturas sem PRF em condições de diferenciação não aumentaram acima do grau de diferenciação das culturas em condições normais com 1 ou 2 PRF até o dia 14 e 28, respectivamente. A análise da cultura SEM no dia 14 permitiu mostrar os nódulos de mineralização que eram mais numerosos e mais estruturados nos grupos com PRF em comparação com os grupos controle. As conclusões sugerem que a redução dupla de proliferação / diferenciação deve ser devido aos numerosos componentes do PRF, particularmente a presença de leucócitos: qualquer cultura com PRF é, de fato, uma concentração com leucócitos. A combinação de BMSC e PRF sobre todas as aplicações clínicas e biotecnológicas tem potencial e merece novos estudos.

4.5.2 PRF – Estudos em animais

Öncü et al. (2016) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a osseointegração induzida por plasma rico em fibrina e leucócitos (L-PRF) e o contato ósseo-implante (BIC) em um modelo animal experimental. O estudo contou com doze coelhos brancos da Nova Zelândia de 4 meses de idade. Após anestesia geral, obteve-se 3-5 mL de sangue a partir da artéria central da orelha dos coelhos e preparou-se L-PRF. Foram criadas duas cavidades de implante (5 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro) em cada tíbia com um total de quatro cavidades em cada animal. Duas dessas cavidades foram selecionadas e cobertas com PRF (grupo de teste). O L-PRF restante foi usado para absorver os implantes colocados nas tomadas cobertas L-PRF.

Outras cavidades foram deixadas como controles. No total, foram colocados 48 implantes. Os animais foram sacrificados após duas, três ou quatro semanas. Foram obtidas amostras histológicas e os tecidos foram avaliados histomorfométricamente para contato ósseo-implante e nova formação óssea. Resultados: as análises histomorfométricas dos defeitos revelaram que o L-PRF era detectável até a segunda semana. A aplicação de L-PRF aumentou a taxa e a quantidade de formação óssea nova no grupo experimental em comparação com o grupo de controle. O contato ósso-implante foi aumentado quando a superfície foi pré-molhada com LPRF ($P < 0,01$). Os resultados deste estudo demonstraram que a aplicação L-PRF pode aumentar a quantidade e a taxa de nova formação óssea durante o período de cicatrização precoce e proporciona uma osseointegração mais rápida em torno dos implantes.

Bölükbaşı et al. (2013) fizeram um estudo histológico para avaliar a eficácia do PRF misturado com fosfato de cálcio bifásico (BCP) na regeneração óssea em defeitos ósseos criados cirurgicamente. O estudo envolveu 6 ovelhas. Foram criados defeitos de 5 mm de diâmetro nas duas tibias de cada animal. Os defeitos foram deixados vazios ou foram enxertados com BCP, PRF ou BCP+PRF. Os animais foram mortos aos 10, 20 e 40 dias. As espécimes foram submetidas à análise histológica e histomorfométrica. Os resultados encontrados foram que nenhum dos grupos apresentou sinais de necrose, a inflamação foi observada em todos os grupos em 10 dias; 2 espécimes de PRF+BCP e todos os defeitos vazios apresentaram infiltração de células inflamatórias aos 20 dias. Durante o período de avaliação de 40 dias, o grupo PRF+BCP apresentou os maiores índices de novo osso. Os outros 3 grupos apresentaram resultados estatisticamente similares. Nos grupos BCP e PRF+BCP os índices do enxerto residual foram diminuídos em intervalos de tempo consecutivos. A diferença entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa durante o acompanhamento. Este estudo revelou um aumento histomorfométrico na formação óssea com a adição de PRF a BCP em defeitos criados cirurgicamente em tibias de carneiro.

4.5.3 PRF – Estudos em humanos

Dohan et. al (2006), no seu artigo: “Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift”, avaliou o potencial de PRF em combinação com o aloenxerto ósseo liofilizado (FDBA) para melhorar a regeneração óssea no levantamento do assoalho sinusal.

Foram realizados nove levantamentos de seio maxilar, nos quais 6 o PRF foi adicionado a partículas de FDBA (grupo de teste), e em 3 FDBA sendo que o PRF não foi utilizado (grupo controle). Quatro meses depois para o grupo de teste e oito meses depois para o grupo de controle, os espécimes ósseos foram colhidos da região aumentada durante o procedimento de inserção do implante para análise histológica. Os resultados das avaliações histológicas revelaram a presença de osso residual cercado por osso recém-formado e tecido conjuntivo. Após 4 meses de cura, a maturação histológica do grupo de teste parece ser idêntica à do grupo controle após um período de 8 meses. Além disso, as quantidades de osso recém-formado foram equivalentes entre os 2 protocolos. Conclui-se então que o levantamento do seio sinusal com FDBA e PRF levam a uma redução do tempo de cicatrização antes da colocação do implante. Do ponto de vista histológico, esse tempo de cura pode ser reduzido para 4 meses, mas estudos em larga escala ainda são necessários para validar esses primeiros resultados. (CHOUKROUN et al. 2006).

Tajima et al. 2013 realizou um estudo que incluiu pacientes submetidos ao levantamento de seio maxilar com instalação de implante simultâneo, utilizando PRF como o único material de enxerto, entre julho de 2009 e janeiro de 2011 no Departamento de Cirurgia Oral e Maxilofacial do Hospital Universitário de Nagasaki. Para cada paciente, pré-cirúrgico e pós-cirúrgico (6 meses após a cirurgia) foram realizadas radiografia e tomografia computadorizada para avaliar da formação óssea nos locais dos implantes. A densidade (em unidades de Hounsfield [HU]) do osso recém formado e a altura do osso a partir do assoalho do seio até a crista alveolar onde os

implantes foram inseridos foi medido usando o software de planejamento de implantes (Simplant, Materialize Dental). Foram realizados nove levantamentos de seio maxilar e 17 implantes foram colocados em seis pacientes. A altura óssea residual média entre o assoalho do seio e a crista alveolar foi $4,28 \pm 1,00$ mm (intervalo de 1,9 a 6,1 mm) antes da cirurgia e $11,8 \pm 1,67$ mm (intervalo, 9,1 a 14,1 mm) após cirurgia. A crista óssea alveolar foi suficientemente larga para a colocação do implante em todos os casos. A densidade média de ganho de osso novo ao redor dos implantes foi de $323 \pm 156,2$ HU (intervalo, 185 a 713 HU). Todos os implantes foram clinicamente estáveis no momento da inserção do pilar, 6 meses após o levantamento do seio. Conclui-se com esse trabalho que o levantamento de seio maxilar com colocação simultânea de implantes usando PRF como o único material de enxerto pode promover regeneração óssea.

5 DISCUSSÃO

5.1 PGDF

Estudos in vitro comprovaram que o PDGF associado a materiais de enxerto melhoram sua efetividade. Jiang e colaboradores (1999) examinaram a interação da matriz óssea bovina com PDGF-BB e IGF-I. Eles comprovaram através dos experimentos que o PDGF-BB foi adsorvido de forma significativa a matrix óssea bovina, aumentando a proliferação de células osteoblásticas cultivadas quando comparadas com a matrix isolada, melhorando assim a capacidade osteogênica deste material de enxerto ósseo.

Resultados parecidos também foram observados com a utilização do PDGF associado a materiais aloplásticos, como mostrou um estudo in vitro realizado por Bateman et al. (2005) em culturas de células ósseas osteoblásticas, no qual se associou PDGF-BB em diferentes concentrações à β -TCP ou CaSO_4 . Observou-se uma melhora na resposta biológica regenerativa. A associação apresentou também um aumento significativo na proliferação de osteoblastos além de maior formação de matriz osteóide quando comparado ao β -TCP isolado. Portanto esses resultados sugerem que a associação de materiais aloplásticos ao fator de crescimento PDGF-BB torna esse material de enxertia mais eficiente e que essa associação melhora a capacidade osteogênica.

O PDGF-BB também tem capacidade de promover quimiotaxia celular dos osteoblastos como demonstrado em um estudo in vitro por Sanchez-Fernandez e colaboradores (2008); e em células mesenquimais progenitoras como evidenciado em um estudo de células realizado por Krattinge et al. (2011).

Considerando os resultados de dois estudos em cães feitos por Schwarz *et al.* (2010) e Schwarz et al. (2009), onde se avaliou primeiramente, a influência do rhPDGF-BB na formação óssea inicial após aumento lateral de rebordo utilizando BCP (fosfato de cálcio bifásico) e regeneração óssea guiada, em combinação com uma membrana

de colágeno nativa (CM), e depois, o padrão inicial de angiogênese e formação óssea após aumento lateral de rebordo, usando rhPDGF e regeneração óssea guiada, presume-se que a associação de BCP + rhPDGF-BB tem potencial de auxiliar os estágios iniciais da regeneração óssea guiada em defeitos crônicos laterais de cristas assim como rhPDGF-BB embebido NBM (osso natural mineral).

As descobertas e hipóteses levantadas nos estudos *in vitro* e em animais foram de grande importância, pois impulsionaram os estudos em humanos. A partir de um ensaio clínico realizado por Howell *et al.* (1997), determinou-se que o uso do PDGF e IGF na concentração de 0,15 mg/ml teve significativo aumento no preenchimento de defeitos ósseos periodontais, quando comparado ao retalho isolado. Em 2005, após um estudo multicêntrico do tipo RCT, envolvendo 180 pacientes, desenvolvido por NEVINS *et al.* (2005), provou-se a segurança e a eficiência do PDGF no tratamento de defeitos ósseos periodontais. Após este estudo o FDA aprovou seu uso com o nome comercial de GEM 21.

Clinicamente parece que o uso de rhPDGF-BB em combinação com um enxerto bovino desproteínizado, pode ter o potencial de regenerar grandes defeitos alveolares tridimensionais em seres humanos, de acordo com um relato de caso clínico realizado por Simion *et al.* (2007) em que dois pacientes apresentavam extensos defeitos ósseos foram submetidos a um aumento tridimensional da crista usando um xenoenxerto em combinação com o rhPDGF-BB. Os achados clínicos e histológicos mostraram excelente cicatrização de tecido mole e duro.

A associação de PRP e rhPDGF-BB produz menos osso residual, parecendo ocorrer um turnover mais rápido do enxerto ósseo, como mostrado em um estudo publicado por Geurs *et al.* (2014), que envolveu 41 pacientes, com o objetivo de avaliar a cicatrização de alvéolos enxertados e não enxertados e o efeito desta associação no remodelamento inicial. Além disso, em outro estudo, porém envolvendo estes mesmos pacientes realizados pelos autores em 2015, mostrou que essa associação PRP/rhPDGF-BB em alvéolos humanos após extração utilizando aloenxerto de osso

líoofilizado mineralizado (FDBA) aumenta a qualidade óssea e diminui o tempo de cicatrização antes da instalação de implantes.

5.2 BMP

Estudos de cultura de células sugerem que a rhBMP-2 está envolvida, pelo menos *in vitro*, na indução da diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células osteoblásticas mais maduras, Yamaguchi et al., (1991), Kawasaki et al. (1998) podendo ser um potente estimulador da diferenciação dos osteoblastos e da formação óssea em células humanas. Além disso, o estudo de Yamaguchi et al. (1991) mostrou que a rhBMP02 também parece participar da inibição da diferenciação miogênica.

Vários estudos já relataram certas proteínas morfogênicas ósseas (BMPs) tem efeitos positivos na geração óssea. O uso de rhBMP-2 com PLPG-esponja aumenta BIC (contato osso-implante), bem como BD (densidade óssea) em procedimentos de levantamento de seios maxilares quando comparado ao osso autólogo; de acordo com um estudo em ovelhas realizado por Gutwal *et al.* (2010).

Um estudo realizado por Howell et al. (1997) demonstrou que o uso de rhBMP-2/ACS é seguro e viável para preservar os alvéolos de extração e para aumento lateral de rebordo em defeitos localizados. Os achados clínicos deste trabalho demonstraram que rhBMP-2/ACS teve boa tolerância localmente e sistemicamente sem apresentar nenhum evento adverso e que dispositivo é facilmente manuseado e adaptado ao rebordo e alvéolos de extração. Outro estudo piloto em humanos, com a participação de 12 pacientes com acompanhamento em longo prazo (3 anos) realizado por Cochran et al. (2000), também demonstrou que a rhBMP-2 / ACS pode ser usado com segurança em pacientes humanos, em alvéolos de extração ou em aumento lateral de rebordo e que esses locais podem receber terapia com implantes e ser carregados funcionalmente sem complicações.

Resultados semelhantes foram encontrados em mais um estudo clínico, realizado por Howell et al. (2005), onde testou-se a eficácia de duas doses de rhBMP-2/ACS em 80 pacientes que necessitavam de preenchimento do alvéolo após exodontia. Os resultados demonstraram que os sítios tratados com 1,5 mg/cc de rhBMP-2/ACS tiveram cerca de duas vezes a quantidade de osso em relação aos grupos controle preservando a altura da crista e aumentando significativamente a largura e comprimento do alvéolo da extração. A maturação do osso para colocação de implante dental era aproximadamente duas vezes melhor no grupo tratado com rhBMP-2/ACS do que nos grupos controle. Além disso, a histologia em biópsias ósseas não mostrou diferença entre o osso induzido por rhBMP-2 e o osso nativo.

Em 2007 o estudo pivotal randomizado realizado pela empresa Medtronic, também, comprovou a segurança e eficácia do INFUSE Bone Graft nos procedimentos de enxertos de levantamento de assoalho de seio maxilar. Este estudo contou com 160 pacientes, nos quais 82 foram tratados com rhBMP-2/ACS a 1,5 mg/cc e 78 com enxertos ósseos apenas, ou com alguma combinação associada ao osso alógeno (MEDITRONIC PACKAGE INSERT, 2007).

A combinação de osso xenógeno mineral (Bio-Oss) com rhBMP-2 pode aumentar o processo de maturação da regeneração óssea e o contato ósseo do enxerto ao osso nativo em humano, além de ter potencial de melhorar previsivelmente e acelerar a terapia de regeneração óssea guiada de acordo com um estudo clínico publicado por Jung et al. (2003).

5.3 PRP

Um estudo feito por Barbosa et al. (2008) em cães comparou a radiopacidade na região de falhas de tíbia de cães (falha não preenchida, falha com enxerto ósseo autógeno, falha com PRP e falha com PRP + enxerto ósseo autógeno) e demonstrou que o PRP associado ao enxerto determinou maior precocidade e uniformidade de radiopacidade, quando comparada com a falha preenchida apenas por PRP e ao

enxerto isolados, sendo que ambos determinaram melhores resultados de preenchimento ao comparar com a falha sem tratamento.

Porém, estudos *in vitro* comparativos entre PRP e PRF foram feitos por HE, et al. (2009) para avaliar o efeito das características biológicas de cada um na proliferação e diferenciação de osteoblastos em ratos, durante 14 dias demonstraram que. Foi demonstrado que PRF é superior ao PRP, nos aspectos de expressão de ALP e indução de mineralização, provavelmente porque o PRF liberou fatores de crescimento autólogos gradualmente e expressou um efeito mais forte e durável sobre a proliferação e diferenciação de osteoblastos de ratos do que PRP *in vitro*. Os resultados demonstraram que o PRP liberou as maiores quantidades de TGF-1 e PDGF-AB no primeiro dia, seguido de liberação significativamente diminuída em pontos de tempo posteriores. O PRF liberou a maior quantidade de TGF-1 no dia 14 e a maior quantidade de PDGF-AB no dia 7.

Resultados semelhantes sobre a liberação de FCs pelo PRP foram encontrados em um estudo em animais, no qual o PRP foi considerado como importante instrumento para a regeneração óssea, principalmente nos primeiros dias decorridos da aplicação realizada por Monteiro *et al.* (2010) em 32 camundongos. Foi evidenciado que os efeitos do PRP em gel foram mais relevantes nos primeiros dias após a aplicação onde houve maior liberação de fatores de crescimento presentes no plasma. Dentre os componentes presentes no PRP que tiveram maior relevância no processo, destacam-se as citocinas e os fatores de crescimento, essenciais para o processo de cicatrização, aumento da vascularização e regeneração tecidual. Apesar disso, ao final dos 90 dias de observação, os resultados do tratamento não foram satisfatórios, já que os defeitos não foram totalmente preenchidos e o processo de reparação não foi suficiente para completá-lo.

Em um estudo do tipo RCT, contando com 15 pacientes, realizado por Khairy et al. (2013), para avaliar o benefício potencial da adição da mistura de PRP ao osso autógeno utilizado no aumento do seio maxilar e detectar se há uma diferença significativa da qualidade óssea dos seios aumentados usando osso autógeno com ou

sem PRP, observou-se os seguintes resultados: o enriquecimento com PRP não melhorou significativamente a densidade óssea ou o valor morfométrico aos 3 meses após o enxerto, mas o enxerto ósseo enriquecido com PRP foi associado à densidade óssea superior aos 6 meses pós-enxerto. Foi considerado que o PRP melhora as propriedades de manipulação do material de enxerto associado, facilitando a colocação e a estabilidade do enxerto.

De acordo com os resultados de uma meta-análise publicada por Bae et al. (2011), com o objetivo de avaliar a eficácia da utilização do PRP em enxertos ósseos sinusais associados a materiais de enxerto ósseo, em quatro dos estudos analisados que relatavam sobre a sobrevivência do implante, não foram encontradas diferenças significativas entre os implantes realizados no grupo de intervenção tratados com PRP e o grupo de controle de efeitos fixos. Assim como não foram encontradas diferenças significativas no contato osso implante. Porém, em relação à formação óssea, o grupo tratado com PRP apresentou resultados significativamente melhores do que os do grupo controle. Parece então que a utilização do PRP se justifica, para a formação óssea, uma vez que ele diminui o tempo de cicatrização nos enxertos ósseos sinusais e auxiliar no processo de formação óssea nos estágios iniciais ainda que não tenham sido encontrados indícios que de o uso do PRP influencie na durabilidade do implante em longo prazo.

5.4 PRF

Resultados positivos em relação ao PRF foram observados por Dohan et al. (2010), em um estudo in vitro envolvendo células tronco mesenquimais do osso humano (BMSC). De acordo com esses autores, parece que o PRF estimula de forma significativa à proliferação e diferenciação de BMSCs. Porém os autores acham necessários mais estudos em relação a esse assunto.

Estudos em animais também apresentaram um parecer favorável do uso do PRF. Um trabalho publicado por Öncü *et al.* (2016), demonstrou que LPRF aumentou a

quantidade e a taxa de nova formação óssea durante o período inicial da cicatrização, e que proporcionou uma osseointegração mais rápida em torno dos implantes.

Resultados semelhantes foram observados em um estudo envolvendo ovelhas, realizado por Bölükbaş et al. (2013) para avaliar os efeitos da associação de PRF a BCP. Este estudo revelou um aumento histomorfométrico na formação óssea com a adição de PRF a BCP nos defeitos criados nas tíbias dos animais, resultando em maiores índices de osso novo.

A associação de PRF a FDBA (aloxenxerto ósseo liofilizado) em levantamentos de seio maxilar, parece reduzir o tempo de cura para 8 meses, de acordo com um estudo realizado por Dohan et al. (2006). Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que após um período de 4 meses de cura, a maturação histológica do grupo com a associação PRP+FDBA foi idêntica ao grupo controle após um período de 8 meses. A quantidade de osso formado também foi equivalente. Porém os autores acreditam ser necessários mais estudos em larga escala para validar esses resultados.

O PRF como único material de enxerto também parece promover regeneração óssea, de acordo com Tajima et al. 2013, que realizaram um estudo que incluiu pacientes submetidos ao levantamento de seio maxilar com instalação de implante simultâneo.

6 CONCLUSÃO

1. O PDGF é um fator de crescimento importante na regeneração óssea quando combinado com outros materiais.

2. As BMPrh-2 melhora e acelera a regeneração óssea.

3. O PRP parece não favorecer resultados significativos na regeneração óssea.

4 O PRF tem apresentado resultados significativos em regeneração óssea em seios maxilares. Mais estudos são necessários para justificar seu uso na implantodontia.

7 REFERÊNCIAS

Bibliografia

ANITUA, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, p. 529-535, Janeiro 1999.

BAE, J.-H.; KIM, Y.-K.; MYUNG, S.-K. Effects of Platelet-Rich Plasma on Sinus Bone Graft: Meta-Analysis. **Journal of Periodontology**, v. 82, n. 5, p. 660-667, Maio 2011.

BARBOSA, A. L. T. et al. Plasma rico em Plaquetas para reparação de falhas ósseas em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1335-1340, Agosto 2008.

BATEMAN, J. et al. Platelet-Derived Growth Factor Enhancement of Two Alloplastic Bone Matrices. **Journal of Periodonty**, Buffalo, New York, v. 76, n. 11, p. 1833-1841, Novembro 2005.

BLOCK, M. S.; ACHONG, R. Bone morphogenetic protein for sinus augmentation. **Atlas Of The Oral & Maxillofacial Surgery Clinics Of North America**, New Orleans, Março 2006. 99-105.

BÖLÜKBAŞ, N. et al. The Use of Platelet-Rich Fibrin in Combination With Biphasic Calcium Phosphate in the Treatment of Bone Defects: A Histologic and Histomorphometric Study. **Current Therapeutic Research**, v. 75, p. 15-21, Dezembro 2013.

BOYAN, L. A. et al. Mitogenic and Chemotactic Responses of Human Periodontal Ligament Cells to the Different Isoforms of Platelet-derived Growth Factor. **Journal of Dental Research**, New York, New York, Outubro 1994.

CABALLÉ-SERRANO, J. et al. Collagen barrier membranes absorb growth factors liberated from autogenous bone chips. **Clinical Oral Implants Research**, v. 28, n. 2, p. 236-241, Janeiro 2016.

CHILDS, C. B. et al. Serum contains a platelet-derived transforming growth factor. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States**, v. 79, n. 17, p. 5312-5316, Setembro 1982.

CHOUKROUN, J. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. 299-303, Março 2006.

COCHARAN, D. L. et al. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3- year results of a pilot study in humans. **Journal of Periodonty**, v. 71, n. 8, p. 1241-1257, Agosto 2000.

CURY, V. F.; GUIMARÃES, M. M. Fator de crescimento derivado de plaquetas na implantodontia. Novas perspectivas de tratamento para reconstrução óssea. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacila**, Belo Horizonte, Minas Gerais, dezembro 2012.

DENNISON, D. K. et al. Differential Effect of TGF- β 1 and PDGF on Proliferation of Periodontal Ligament Cells and Gingival Fibroblasts. **Journal of Periodonty**, Houston, Texas, v. 65, n. 7, p. 641-648, Julho 1994.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. 37-44, Março 2006.

FIORELLINI, J. P. et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. **Journal of Periodonty**, v. 76, n. 4, p. 605-613, Abril 2005.

FREYMILLER, E. G.; AGHALOO, T. L. Platelet-rich plasma: ready or not? **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 62, n. 4, p. 484-488, Agosto 2004.

GEURS, N. et al. Using Growth Factors in Human Extraction Sockets: A Histologic and Histomorphometric Evaluation of Short-Term Healing. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.**, v. 29, n. 2, p. 485-496, 2014.

GONÇALVES, E. A. L.; GUIMARÃES, S. A. C.; GARCIA, R. B. Proteínas morfogenéticas ósseas: terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. **Rev. odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 299-304, Julho 1998.

GUTWAL, R. et al. Influence of rhBMP-2 on bone formation and osseointegration in different implant systems after sinus-floor elevation. An in vivo study on sheep..

Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, v. 38, n. 8, p. 571-579, Dezembro 2010.

HE, L. et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro.

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, v. 108, n. 5, p. 707-713, Novembro 2009.

HOLLINGER, J. O. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 and collagen for bone regeneration.. **FACULTY PUBLICATIONS - DEPARTMENT OF BIOLOGY AND CHEMISTRY**, 1998.

HOWELL, T. H. et al. A Feasibility Study Evaluating rhBMP-2/Absorbable Collagen Sponge Device for Local Alveolar Ridge Preservation or Augmentation.

International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry , v. 17, n. 2, p. 124-139, Abril 1997.

HOWELL, T. H. et al. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Chicago, Illinois, v. 68, n. 12, p. 1186-1193, Dezembro 1997.

JIANG, D. et al. Modification of an Osteoconductive Anorganic Bovine Bone Mineral Matrix With Growth Factors. **Journal of Periodonty**, Shirley, New York, v. 70, n. 8, p. 834-839, Agosto 1999.

JUNG, R. E. et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. **Clinical Oral Implants**, v. 14, n. 5, p. 556-568, Setembro 2003.

KAWASAKI, K. et al. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on differentiation of cells isolated from human bone, muscle, and skin. **Bone**, v. 23, n. 3, p. 223-231, Setembro 1998.

KHAIRY, N. M. et al. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 42, n. 2, p. 249-255, Fevereiro 2013.

KRATTINGE, N. et al. Regulation of proliferation and differential of human fetal bone cells. **European Cells and Materials**, v. 21, p. 46-58, Janeiro 2011.

LIEBERMAN, J. R.; DALUISKI, A.; EINHORN, T. A. The role of growth factors in the repair of bone: biology and clinical applications. **J. Bone Joint Surg.**, v. 84-A, n. 6, p. 1032-1044, Junho 2002.

LOUREIRO, C. C. D. S. PRP ou BMPs: qual a melhor opção para enxertia e aceleração de osseointegração nas reabilitações com implantes? Revisão de literatura. **Innovations Implant Journal: Biomaterials and Esthetics**, São Sebastião, São Paulo, julho 2010. 45-50.

LUO, T. et al. Enhanced bone regeneration around dental implant with bone morphogenetic protein 2 gene and vascular endothelial growth factor protein delivery. **Clin. Oral Impl. Res.**, 2012. 467–474.

LYNCH, S. E. et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. **Journal of Periodontology**, Chicago, Illinois, v. 62, n. 7, p. 458-467, julho 1991.

MARX, R. E.; CARLSON, E. R. The Potential role of growth and differentiation factors in periodontal regeneration. **Journal of Periodonty**, v. 67, p. 545-553, 1996.

MEDITRONIC PACKAGE INSERT. INFUSE Bono Graft for Certain Oral Maxillofacial and Dental Regenerative Uses, 2007.

MONTEIRO, B. S. et al. Contribuição do plasma rico em plaquetas na reparação óssea de defeitos críticos criados em crânios de camundongos. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1590-1596, Julho 2010.

NEVINS, M. et al. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. **Journal of Periodontology**, Chicago, Illinois, v. 74, n. 9, p. 1282-1292, setembro 2003.

NEVINS, M. et al. Platelet-Derived Growth Factor Stimulates Bone Fill and Rate of Attachment Level Gain: Results of a Large Multicenter Randomized Controlled Trial. **Journal of Periodontology**, Chicago, Illinois, v. 76, n. 12, p. 2205-2215, dezembro 2005.

NTOUNIS, A. et al. Clinical Assessment of Bone Quality of Human Extraction Sockets After Conversion with Growth Factors. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 30, n. 1, p. 196-201, 2015.

ÖNCÜ, E. et al. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** , v. 21, p. 601–607, Setembro 2016.

PERES, J.; LAMANO, T. Strategies for stimulation of new bone formation: a critical review. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, São Paulo, outubro 2011.

SANCHEZ-FERNANDEZ, M. A. et al. Osteoclasts Control Osteoblast Chemotaxis via PDGF-BB/ PDGF Receptor Beta Signaling. **Plos One**, p. 1-8, Outubro 2008.

SCHWARZ, F. et al.. Influence of recombinant human platelet-derived growth factor on lateral ridge augmentation using biphasic calcium phosphate and guided bone regeneration: a histomorphometric study in dogs. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 8, p. 1315-1323, agosto 2009.

SCHWARZ, F. et al. Initial pattern of angiogenesis and bone formation following lateral ridge augmentation using rhPDGF and guided bone regeneration: an immunohistochemical study in dogs. **Clinical Oral Implants Research**, v. 21, n. 1, p. 90-99, Janeiro 2010.

SHMIDT, C. Futuro da odontologia impregnado com BMP. **Innovations Implant Journal: Biomaterials and Esthetics**, fevereiro 2006. 19-24.

SIMION, M.; ROCCHIETTA, I.; DELLAVIA, C. Three-Dimensional Ridge Augmentation with Xenograft and Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB in Humans: Report of Two Cases. **International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 27, n. 2, p. 109-115, Abril 2007.

SMITH, D. M. et al. Bone morphogenetic protein 2 therapy for craniofacial surgery. **J Craniofac Surg.**, 19 Setembro 2008. 1244-1259.

TAJIMA, N. et al. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. **International Journal of Oral Maxillofacial Implants**, v. 28, n. 1, p. 77-83, 2013.

WILKE, A. et al. Cell Differentiation under the influence of rh-BMP-2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 284, n. 5, p. 1093-1097, junho 2001.

WOZNEY, J. M. The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. **Journal Of Periodontology**, Chicago, Illinois, Junho 1995. 506-510.

YAMAGUCHI, A. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblastic maturation and inhibits myogenic differentiation in vitro. **Journal of Cell Biology**, Maio 1991.

ZETOLA, A.; LARSON, R. A utilização da proteína morfogenética recombinante tipo 2 para reconstrução de maxila atrófica. Descrição da técnica e relato de um caso. **Implant news**, 2007. 63-135.