

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

VANESSA FRAZÃO CURY

Fator de crescimento derivado de plaquetas na
implantodontia. Novas perspectivas de
tratamento para reconstrução óssea

Belo Horizonte

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

VANESSA FRAZÃO CURY

Fator de crescimento derivado de plaquetas na
implantodontia. Novas perspectivas de
tratamento para reconstrução óssea

Monografia apresentada ao Programa de
Pós Graduação da Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial à
obtenção do título de especialista em
Implantodontia.

Orientador: Prof. Marcus Martins Guimarães

Belo Horizonte

2013

DEDICATÓRIA

Especialmente ao meu esposo Gilberto, que me faz feliz e sempre esteve ao meu lado durante toda minha formação acadêmica e profissional.

Aos nossos amados filhos Luiz Felipe e Isabela, luz de nossas vidas, que dividiram a minha atenção e a minha presença com este trabalho. Obrigada por vocês existirem.

Ao meu querido pai, que infelizmente não está mais presente, mas continua sempre em meu coração. Pelos seus ensinamentos de integridade, dignidade e perseverança.

A minha maravilhosa mãe que me ensinou que tudo é possível com a presença de Deus em nossas vidas. As minhas queridas irmãs Sylvia e Raquel, tia Euda e minha sogra-mãe, Maria Lúcia pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Marcus Martins Guimarães, pela dedicação, competência e pelos conhecimentos transmitidos desde a minha graduação. Sua orientação e confiança permitiram que eu pudesse realizar um sonho antigo de fazer pesquisa clínica. Obrigada pela oportunidade que me deu para realizar este trabalho.

Ao Prof. Célio Soares pelo profissionalismo, disponibilidade e pelo brilhantismo profissional e acadêmico.

Ao meu amigo Prof. Ricardo Santiago Gomez, pelos anos de convivência, por sempre me receber de braços abertos em seus laboratórios, durante toda minha formação acadêmica. Obrigada pela ajuda na análise histológica.

Ao Vinícius Machado pelo apoio na interpretação das imagens tomográficas

Ao professor Ricardo Vaz, pelo companheirismo, apoio constante e pela sua presença em nossa clínica.

Aos professores do curso João Batista, Serjão, Ronaldo, Guto, Milton, Groth, Leo, Paulo Henrique, seus ensinamentos foram muito importantes para minha formação profissional.

Ao Rodrigo Seabra, pelos anos de amizade, pela ajuda mútua sempre que necessária.

A nossas queridas Vanessa e Rosa, sempre dispostas a ajudar no que era possível e impossível. Vocês nos transmitia alegria e tranquilidade.

Aos pacientes pelo respeito e colaboração ao nosso aprendizado.

A todos os colegas do curso, especialmente a Paty, Carol, Marcelo, Raquel, Raphael, Aline, Érica e Vinícius.

Aos funcionários dos laboratórios de prótese odontológica que trabalharam conosco, especialmente a Cássia e ao Luciano

Aos demais funcionários do curso, Adriana e Joaquim pela ajuda sempre que necessária.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Comparação da resposta quimiotática de células mesenquimais indiferenciadas (MCP), células progenitoras diferenciadas (dOB) e pré-osteoblastos (pOB) na presença de diversos fatores de crescimento.	20
Figura 2	Efeito de diferentes fatores de crescimento na proliferação de células ósseas fetais humanas (coluna branca) e células mesenquimais estaminais mesenquimais (coluna preta).	21
Figura 3	Efeito do PDGF na proliferação de osteoblastos com diferentes concentrações de Mg^{2+} .	22
Figura 4	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso bovino	25
Figura 5	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso bovino . Avaliação radiográfica de diferentes grupos	25
Figura 6	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso bovino. Avaliação histológica dos diferentes grupos estudados.	26
Figura 7	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso bovino. Avaliação histológica do grupo B	26
Figura 8	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso equino.	27
Figura 9	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso equino, 5 meses após o procedimento.	27
Figura 10	Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco equino. Avaliação histológica	27
Figura 11	Aumento lateral de rebordo com β TCP e rhPDGF-BB. Avaliação histológica	28
Figura 12	Avaliação histológica grupo controle e grupo teste.	30
Figura 13	Aumento vertical e lateral do rebordo, estudo em humanos	33
Figura 14	Histologia da amostra colhido no momento da	33

instalação dos implantes

Figura 15	Aumento lateral do rebordo com bTCP e rhPDGF-BB, técnica sandwich	34
Figura 16	Aumento vertical e lateral do rebordo rhPDGF-BB e membrana.	35
Figura 17	Aumento vertical e lateral do rebordo rhPDGF-BB e membrana. Avaliação radiográfica	35
Figura 18	Preservação de rebordo com rhPDGF-BB e MCBS.	37
Figura 19	Preservação de rebordo com rhPDGF-BB e MCBS. Avaliação histológica	37
Figura 20	Aplicação do enxerto com rhPDGF-BB pela técnica do tunelamento	38
Figura 21	Avaliação histológica da amostra coletada	38
Figura 22	Preservação do rebordo com rhPDGF-BB e matriz bovina	39
Figura 23	Preservação do rebordo com rhPDGF-BB e matriz bovina, avaliação histológica	39
Figura 24	Planejamento pré-cirurgico dos blocos homólogos prototipados.	45
Figura 25	Análise histológica dos blocos homólogos prototipados	45

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AATB – Associação Americana de Banco de Tecidos

ABBG – Enxerto Ósseo Bovino Anorgânico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BIC – Contato Osso-Implante

BTME – Banco de Tecidos Músculo Esqueléticos

CI – Índice Quimiotático

CT – Tecido Conjuntivo

CM – Membrana Colagenosa

DNA – Desoxiribonucleico

DFDBA - Osso Homólogo Congelado Liofilizado Desmineralizado

DFBA –Osso Homólogo Condensado Desmineralizado

dOB Células Progenitoras diferenciadas

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra acético

eHAC – Hidroxiapatita Colagenosa equina

ePTFE – Politetrafluoretileno expandido

FDA- Food and Drug Administration

FDBA – Osso Homólogo Congelado Liofilizado

GC – Grupo Controle

GE – Grupo Experimental

GEM 21S – Growth-factor Enhanced Matrix

HFBC Células Ósseas Fetais Humanas

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HMSC Células Mesenquimais Estaminais Humanas

IGF-1 Fator de crescimento insulínico 1

IO – Implantes Osteointegráveis

MCP Células Mesenquimais Indiferenciadas

MCBS – Matriz Óssea Colagenosa Mineralizada

Mg²⁺ Magnésio

mL – Mililitro

mg- Micrograma

mm – Milímetro

NWB – *New Woven Bone*

OHFC – Osso Humano Fresco Congelado

pOB Pré-osteoblastos

PDGF Fator de crescimento derivado de plaquetas

PVPI – Povidona Iodo

rhPDGF-BB - Fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano

RCT – Ensaios Clínicos Randomizados

TO – Tecido Ósseo

α - Alfa

β - Beta

βTCP – Beta Tricálcio Fosfato

μg - Micrograma

% - Porcentagem

° C - Grau Celsius

RESUMO

O fator de crescimento derivado de plaquetas é um mediador biológico que interfere em vários eventos celulares e moleculares, importantes no processo de regeneração dos tecidos, como proliferação celular, quimiotaxia e síntese de matriz extracelular. Vários estudos "in vitro" e in vivo" têm demonstrado que esses polipeptídeos podem melhorar a resposta de neoformação tanto dos tecidos periodontais, como somente do tecido ósseo. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura, demonstrando se há evidências científicas que suportam a utilização clínica do fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano (rh-PDGF-BB) na regeneração óssea. Estudos em culturas celulares, em animais e em humanos demonstraram que o PDGF-BB sozinho, associado a outros fatores de crescimento ou a diferentes biomateriais, pode melhorar o processo de regeneração dos tecidos, sugerindo ser uma nova alternativa de tratamento quando se deseja reconstrução do tecido ósseo previamente ou simultaneamente à instalação de implantes osseointegrados.

Palavras-chave: Fator de crescimento derivado de plaquetas, rhPDGF-BB, regeneração óssea.

ABSTRACT

The platelet-derived growth factor is a biological mediator that interferes with many cellular and molecular events that are important in the process of tissue regeneration, such as cell proliferation, chemotaxis and extracellular matrix synthesis. Several “in vitro” and “in vivo” have shown that these peptides can improve development and healing tissues, as only the bone tissue. The aim of this study was to conduct a review of the literature, to determine the effect of the use of growth factor platelet-derived recombinant human (rh-PDGF-BB) on bone regeneration. Studies in cell cultures, animals and humans have shown that PDGF- BB alone, combined with other growth factors or different biomaterials, can improve the process of tissue regeneration. Thus, it seems that rhPDGF-BB (human recombinant) might be a new and important model of reconstructive therapy whenever the goal is the bone regeneration.

Keywords: platelet-derived growth factor, rhPDGF-BB, bone regeneration.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
	2.1 Objetivo Geral.....	15
	2.2 Objetivos Específicos.....	15
3	METODOLOGIA	16
4	REVISÃO DE LITERATURA	17
	4.1 Fator De Crescimento Derivado De Plaquetas.....	17
	4.1.1 Estudos “In Vitro”	18
	4.1.2 Estudos Em Animais	22
	4.1.3 Estudos Em Humanos.....	30
	4.2 Enxerto Homólogo De Osso Fresco Congelado.....	40
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÕES	52
7	REFERÊNCIAS	53

1.INTRODUÇÃO

Atualmente, várias técnicas regenerativas vêm sendo empregadas com o objetivo de reconstruir o tecido ósseo perdido previamente à instalação de implantes osseointegrados. Dentre as técnicas utilizadas, podemos citar os enxertos autógenos, homólogos e xenógenos, regeneração óssea guiada, distração osteogênica, técnica de transposição do nervo alveolar inferior, dentre outras. Entretanto, alguns destes procedimentos apresentam desvantagens, como morbidade, reabsorção do material implantando e complicações pós-operatórias. Para evitar essas desvantagens, a engenharia de tecidos busca técnicas cada vez mais eficientes, mais previsíveis e menos invasivas, com a finalidade de reconstruir tecidos, através da manipulação de células, matrizes (arcabouços) e sinalizadores moleculares. Dentre os sinalizadores moleculares que são utilizados, podemos citar o fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano (rhPDGF-BB) (FIORELLINI & NEVINS, 2003).

A partir de um ensaio clínico inicial em humanos, foi demonstrado que a aplicação de 0,15 mg/mL de PDGF-BB e IGF-1 resultou em significativo aumento no preenchimento ósseo de defeitos periodontais, quando comparado ao retalho isoladamente (HOWELL *et al.*, 1997). Entretanto, foi após a publicação dos resultados de um estudo RCT, multicêntrico, envolvendo 180 pacientes, que o rhPDGF-BB foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), com o nome comercial de GEM 21S (NEVINS *et al.*, 2005).

Embora inúmeros trabalhos tenham mostrado que o rhPDGF-BB é capaz de promover regeneração periodontal (LYNCH *et al.*, 1989; HOWELL *et al.*, 1997;

CAMELO *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2005; MCGUIRE *et al.*, 2007; NEVINS *et al.*, 2007; MELLONING *et al.*, 2009), ainda não está completamente estabelecido a eficácia do PDGF-BB para reconstrução óssea na implantodontia.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a utilização do fator de crescimento derivado de plaquetas para reconstrução óssea previamente ou imediatamente à instalação de implantes osseointegrados.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão bibliográfica sobre a aplicação do fator de crescimento derivado de plaquetas na reconstrução óssea alveolar para implantodontia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os estudos “in vitro” que utilizaram do fator de crescimento derivado de plaquetas em culturas de células, principalmente em relação aos eventos de quimiotaxia e proliferação celular.

Avaliar os estudos em animais que associaram o PDGF-BB a diferentes biomateriais, com o objetivo de reconstruir o rebordo ósseo alveolar.

Avaliar os estudos clínicos, imaginológicos e histológicos em humanos, que associaram o rhPDGF-BB aos enxertos homogêneos, xenógenos, autógenos e aloplásticos, para a reconstrução de rebordos alveolares previamente ou concomitantemente à instalação de implantes osseointegrados.

3. METODOLOGIA

Para os estudos considerados nesta revisão foi realizada uma busca eletrônica 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). Não foram estabelecidos limites de datas devido a grande pertinência de informações contidas em alguns artigos mais antigos. Foram utilizados como termos da pesquisa «growth factors», «platelet-derived growth factor», «bone regeneration», «periodontal regeneration», «tissue engineering». Como critérios de inclusão foram utilizados estudos em culturas de células, estudos clínicos em animais e estudos clínicos em humanos referentes à utilização do PDGF na regeneração periodontal e óssea. Foram excluídos os estudos cujo idioma não fosse o inglês ou o português. Os dados presentes nos artigos foram analisados e utilizados para a elaboração do presente trabalho de revisão.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Fator De Crescimento Derivado De Plaquetas

Os fatores de crescimento ou sinalizadores moleculares estão presentes em diversos tecidos, principalmente quando estão em fase de remodelação ou reparação, apresentando papel fundamental nos processos de proliferação celular, diferenciação, quimiotaxia e formação de matriz tecidual (HOWELL *et al.*, 1997).

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) é uma proteína catiônica dimérica, armazenada principalmente nos grânulos- α plaquetários (LYNCH *et al.*, 1991). Exerce seus efeitos sobre células alvo pela ativação dos receptores α e β , estruturalmente relacionados à proteína tirosina quinase, que expressam potentes sinais mitogênicos. A ativação destes receptores ocorre através da homodimerização ou heterodimerização dos mesmos, formando cadeias polipeptídicas A e B. Estudos “in vitro” têm demonstrado que, dentre as diferentes isoformas de PDGF, a isoforma PDGF-BB mostrou ser a mais efetiva em todos os parâmetros celulares, como mitogênese e quimiotaxia celular, sendo assim, a forma mais indicada para terapia reconstrutiva dos tecidos crânio-faciais (BOYAN *et al.*, 1994).

A atividade mitogênica do PDGF-BB foi observada sobre diversos tipos celulares, principalmente em osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal (DENNISON *et al.*, 1994), promovendo angiogênese, complementando a ação do fator de crescimento vascular endotelial (HOLLINGER *et al.*, 2008), mostrando ser de grande importância no processo de regeneração tecidual.

Desde que Lynch e colaboradores (1989) demonstraram que o PDGF aumentou o potencial regenerativo dos tecidos periodontais, vários estudos vêm sendo realizados, confirmando esses resultados (LYNCH *et al.*, 1991; NEVINS *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2005). O mecanismo de ação para que o PDGF promova neoformação tecidual pode ser explicado pela ligação deste fator aos receptores específicos β presentes em células do ligamento periodontal e osteoblastos, estimulando efeitos na replicação do DNA celular e quimiotaxia desta células (MUMFORD *et al.*, 2001).

4.1.1 Estudos “In Vitro”

Estudos em culturas de células óssea têm demonstrado que a incorporação de PDGF-BB em materiais aloplásticos e enxertos xenógenos pode melhorar a resposta biológica regenerativa desses materiais (LEE *et al.*, 2000; BATEMAN *et al.*, 2005).

Jiang e cols (1999) mostraram que a associação do PDGF-BB à matriz óssea bovina anorgânica melhorava as propriedades regenerativas deste substituto ósseo. Associação do PDGF-BB e IGF-I foi analisada em culturas de células ósseas adsorvidas à matriz óssea bovina. Foi demonstrado que o PGDF-BB sozinho apresentou melhor incorporação a esta matriz, mas a associação dos fatores (PDGF-BB + IGF-I) não mostrou melhora se comparado ao PDGF-BB utilizado isoladamente. Desta forma, o PDGF-BB apresentou uma importante função na proliferação de células osteogênicas, apresentando potencial para aplicação na reconstrução dos tecidos ósseos.

Bateman e colaboradores (2005) avaliaram o efeito do PDGF-BB em diferentes concentrações associado a matriz aloplástica β TCP em culturas de osteoblastos. As culturas de células ósseas que receberam a associação PDGF-BB e β TCP mostraram um significativo aumento da proliferação de células osteoblásticas, bem como maior formação de matriz osteóide, se comparado ao grupo controle, que utilizou o β TCP isoladamente.

O efeito mitogênico do PDGF-BB associado à diversos enxertos homólogos foi avaliado, utilizando enxerto ósseo cortical homólogo desmineralizado liofilizado (DFDBA), medular (DFBA) e enxerto homólogo mineralizado (FDBA), isolados ou associados ao PDGF-BB. Diferenças estatisticamente significativas foram observadas na síntese de DNA, quando o PDGF-BB foi adicionado ao FDBA, nas culturas de PDL. As células apresentaram maior atividade proliferativa quando se utilizou os enxertos desmineralizados (DFDBA e DFBA) em associação ao PDGF-BB, sugerindo que a adição de PDGF-BB aos enxertos homólogos pode ter um efeito sinérgico, justificando a aplicação clínica desta associação no tratamento dos defeitos periodontais (PAPADOPOULOS *et al.*, 2003).

A quimiotaxia de células mesenquimais progenitoras e pré-osteoblastos também foi avaliada em cultura de células após a aplicação de PDGF-BB e outros fatores de crescimento. Cultura de células mesenquimais humanas colhidas da medula óssea de 8 indivíduos foram obtidas e submetidas a incorporação diferentes fatores de crescimento, incluindo o PDGF-BB. A resposta quimiotática foi analisada e os resultados da migração expressos como índice quimiotático (CI). O aumento do

CI para o PDGF-BB foi até 22 vezes maior, quando comparado ao CI do TGF- β . A migração das células mesenquimais progenitoras foi estimulado pelo PDGF-BB de forma dose dependente. Os resultados deste estudo sugerem a importância do PDGF-BB no recrutamento de células mesenquimais durante o desenvolvimento e remodelação do tecido ósseo (FIEDLER *et al.*, 2002).

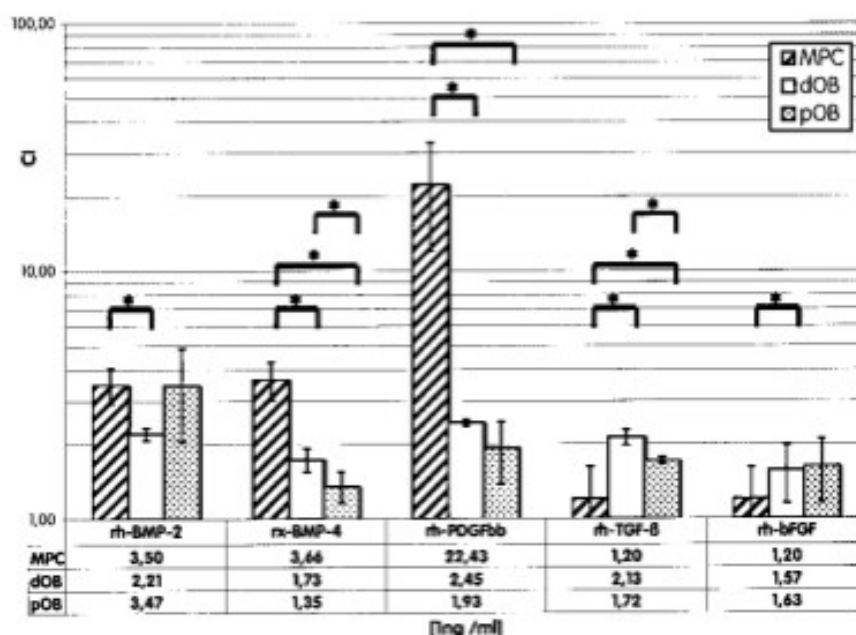


Figura 1 Comparação da resposta quimiotática de células mesenquimais indiferenciadas (MCP), células progenitoras diferenciadas (dOB) e pré-osteoblastos (pOB) na presença de diversos fatores de crescimento. Fonte: FIEDLER *et al.*, 2002.

A remodelação óssea requer a mobilização e o recrutamento de osteoblastos para os locais onde o tecido ósseo necessita ser reconstruído. Foi demonstrado “in vitro” que PDGF-BB secretado por osteoclastos podem regular a quimiotaxia dos osteoblastos, mostrando a importância deste mediador biológico do processo remodelatório e na manutenção do tecido ósseo (SANCHEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2008).

Um recente estudo “in vitro” realizado por Young e colaboradores (2009), teve como objetivo avaliar a cinética de liberação e a integridade bioquímica do rhPDGF-

BB associado ao β TCP com diferentes tipos de granulometria. A retenção do rhPDGF-BB foi quase de 100% tanto no β TCP com partículas pequenas, quanto no de partículas grandes. Além disso, as propriedades biológicas foram mantidas após ser liberado da matriz de beta tricálcio fosfato e sua estrutura bioquímica permaneceu inalterada após esta liberação, independente da granulometria da matriz utilizada.

Krattinger *et al.* (2011) demonstraram que células ósseas fetais humanas associadas com arcabouços podem induzir formação óssea na presença de rhPDGF-BB, em cultura de células. As células ósseas fetais humanas (HFBC) e células estaminais mesenquimais humanas (HMSC) apresentaram alta capacidade proliferativa quando este fator estava presente, sugerindo a importância dessas células e sinalizadores moleculares específicos no processo de engenharia tecidual (figura.2)

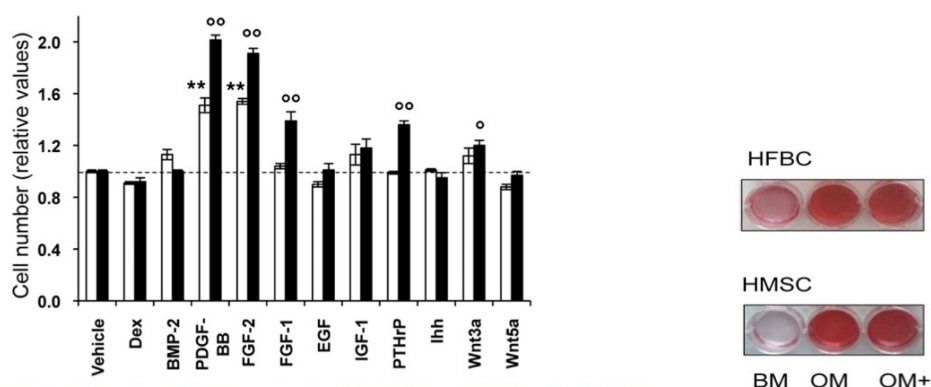


Figura 2: Efeito de diferentes fatores de crescimento na proliferação de células ósseas fetais humanas (coluna branca) e células mesenquimais estaminais (coluna preta). Fonte: Krattinger *et al.*,2011.

Resultados semelhantes foram encontrados quando o PDGF foi utilizado em cultura de células ósseas adultas humanas (ABED & MOREAU, 2009). Esse estudo

“in vitro” demonstrou que a proliferação e migração dos osteoblastos era estimulada na presença de PDGF, especialmente quando Mg^{2+} era incorporado às essas culturas de células ósseas.

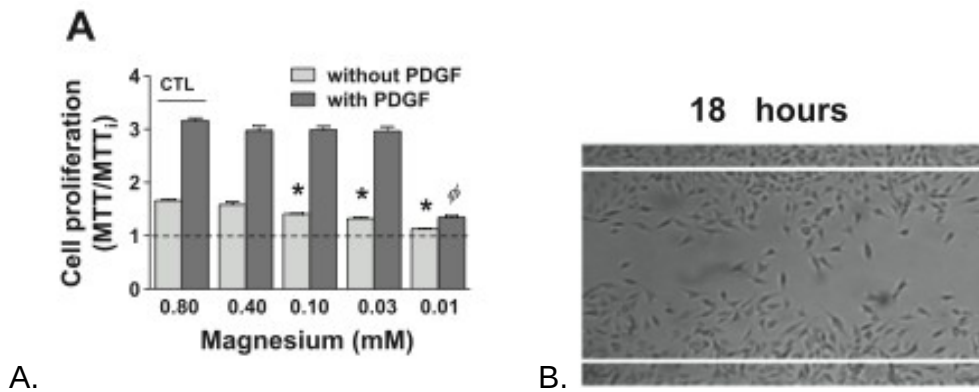


Figura 3: A. Efeito do PDGF na proliferação de osteoblastos com diferentes concentrações de Mg^{2+} . B Cultura de osteoblastos após 18 horas de incubação, na presença de PDGF e 0,80mM de Mg^{2+} . Fonte: Abed & Moreau, 2009.

4.1.2 Estudos em Animais

Vários estudos em animais mostraram o efeito benéfico do PDGF-BB na regeneração dos tecidos periodontais, com evidências histológicas de neoformação de osso, cemento e ligamento periodontal (LYNCH *et al.*, 1991; PARK *et al.*, 1995; GIANNOBILE *et al.*, 1996).

Lynch *et al.* (1991) avaliaram o processo de reparo/regeneração óssea ao redor de implantes instalados com e sem aplicação de PDFG-BB e IGF-1 em cães. Análises histológicas 7 e 21 dias após a instalação dos implantes revelaram um preenchimento ósseo nos espaços peri-implantares significativamente maior no

grupo teste, se comparado ao grupo controle. A porcentagem da superfície do implante em contato com o osso neoformado (BIC) foi também significativamente maior no grupo teste, sugerindo que esta associação apresenta benefícios nos períodos iniciais da neoformação óssea ao redor de implantes dentários. Resultados histológicos semelhantes foram observados (Stefani *et al.*, 2000; Meraw *et al.*, 2000), mostrando um maior BIC e maior grau de mineralização óssea quando a associação de fatores de crescimento (PDGF-BB e IGF-1) foi aplicada na superfície dos implantes previamente à sua instalação.

Becker *et al.*, (1992) avaliaram o preenchimento ósseo em defeitos peri-implantares vestibulares (deiscências) em cães. Para o preenchimento destes defeitos, foram utilizados barreiras biológicas (ePTFE) sozinhas ou associadas à enxertos homólogos (DFDBA) ou ainda esses biomateriais associados ao PDGF-BB e IGF-1. Vinte e quatro implantes foram instalados e, após um período de 18 semanas, os resultados histológicos demonstraram que todos os grupos testados apresentaram um efetivo crescimento ósseo ao redor dos implantes. Entretanto, o grupo que recebeu a associação PDGF-BB e IGF-1 apresentou maior densidade óssea, quando comparado aos demais grupos.

O crescimento ósseo em defeitos peri-implantares criados cirurgicamente (1,25mm) ao redor de implantes também foi analisado histologicamente em cães, 3 e 8 semanas após a instalação de implantes ossointegrados. Os resultados deste estudo mostraram que a associação de PDGF-BB e IGF-1 aumentou o contato osso-implante (BIC) e a porcentagem de preenchimento ósseo no grupo teste, mostrando que a simples aplicação desta associação de fatores pode melhorar a regeneração

óssea em áreas onde não se consegue íntimo contato osso-implante (NOCITI *et al.*, 2000).

O comportamento do tecido ósseo também foi avaliado quando a associação chitosan/ β TCP e PDGF-BB foi aplicado em calvária de ratos. Foi demonstrado que a associação do PDGF-BB ao substituto ósseo utilizado aumentou a neoformação óssea em calvárias, mostrando que essa matriz pode ser uma opção de arcabouço para a condução do PDGF-BB quando se deseja reconstrução óssea (LEE *et al.*, 2000).

Um estudo piloto em ratos foi realizado com a finalidade de avaliar a neoformação óssea horizontal em mandíbulas com utilização de matriz óssea bovina, rhPDGF-BB e membranas de ePTFE. No grupo teste, o local abaixo da membrana foi preenchido com matriz óssea bovina e rhPDGF-BB e, no grupo controle, somente a matriz bovina. Os resultados histológicos mostraram limitada quantidade de neoformação óssea tanto nos sítios que receberam rhPDGF-BB e matriz óssea bovina, quanto nos sítios que receberam a matriz isoladamente (LIOUBAVINA-HACK *et al.*, 2005).

Simion *et al.* (2006) observaram o aumento vertical da crista óssea alveolar de cães, após a utilização de rhPDGF-BB e bloco de osso bovino desproteínizado, com e sem a utilização da barreira colagenosa. Após exodontia bilateral dos pré-molares mandibulares e criação de defeitos ósseos profundos, foram criados três grupos comparativos: Fixação de bloco de osso bovino anorgânico embebido em solução salina e blocos embebidos em rhPDGF-BB com e sem a utilização de

membrana colagenosa. Após 4 meses, os resultados histológicos revelaram uma grande quantidade de neoformação óssea no grupo que utilizou rhPDGF-BB sem membrana, demonstrando que esta associação, mesmo sem colocação de membrana, foi potente na regeneração óssea em graves defeitos de rebordo alveolar. Apontam também a importância do periósteo como uma fonte de células osteoprogenitoras em procedimentos regenerativos mediados por fatores de crescimento.

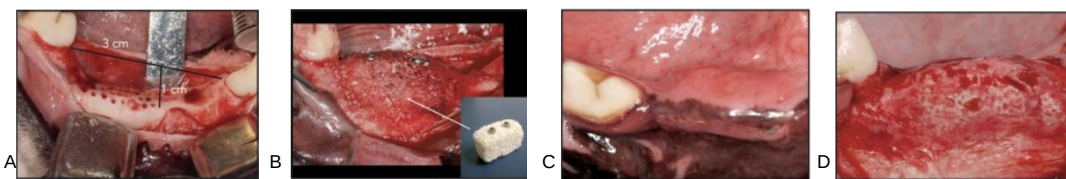


Figura 4: Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco osso bovino. A. Defeito cirúrgico. B. Bloco de osso bovino anorgânico embebido em rhPDGF-BB fixado por dois implantes. C. Cicatrização 4 meses após. Observar o ganho de volume. D. Reentrada cirúrgica 4 meses após. Observar o ganho de tecido ósseo. Fonte: Simion et al., 2006.

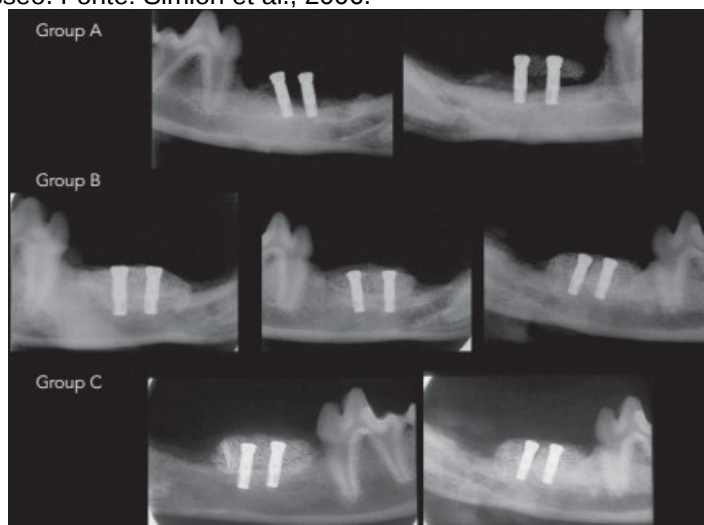


Figura 5: Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco de osso bovino. Avaliação radiográfica dos diferentes grupos estudados. Grupo A (bloco e membrana). Radiolucidez mostra ausência de neoformação óssea. Grupo B (bloco e rhPDGF-BB) A imagem sugere integração do bloco ao osso adjacente. Grupo C (bloco, rhPDGF-BB e membrana). Distinção radiográfica entre o bloco e o osso adjacente. Fonte: Simion et al., 2006.



Figura 6: Avaliação histológica dos diferentes grupos estudados. A. Grupo controle. O bloco está envolto em tecido conjuntivo, com nenhuma regeneração óssea. B. Grupo teste (bloco e rhPDGF-BB) Observar neoformação óssea ao redor dos implantes e integração do bloco ao osso adjacente. C. Grupo teste (bloco, rhPDGF-BB e membrana). Osso bovino intacto, com pouca neoformação óssea. Fonte: Simion et al., 2006.

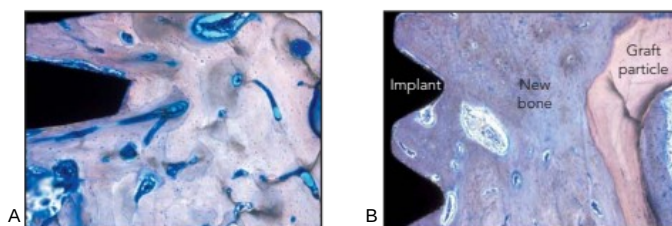


Figura 7: Avaliação histológica do Grupo B. (A) Intensa atividade osteoblástica e remodelação óssea. (B) Tecido ósseo neoformado entre a partícula de osso bovino e implante. Notar o íntimo contato osso neoformado com a superfície do implante. Fonte: Simion et al., 2006.

Resultados semelhantes foram encontrados quando a associação rhPDGF-BB e bloco de hidroxiapatita equina colagenosa (eHAC) com e sem utilização de membrana foi utilizada em graves defeitos ósseos de rebordo em cães (SIMION *et al.*, 2009). Defeitos bilaterais mandibulares foram criados em 12 cães, após a remoção dos 4 pré-molares inferiores. Os defeitos foram divididos e tratados em 4 grupos distintos: 1. Preenchimento somente com o bloco de eHAC ; 2. Preenchimento com bloco de eHAC com membrana; 3. Preenchimento com bloco eHAC e rhPDGF-BB; 4. Preenchimento com bloco de eHAC associado a rhPDGF-BB e membrana. Após 5 meses, análises clínica, tomográfica e histológica demonstraram que os grupos 1 e 2 (controles) exibiram pouca ou nenhuma regeneração óssea vertical. O grupo 3, que utilizou a associação bloco eHAC e rhPDGF-BB foi o que apresentou maior regeneração óssea vertical e, histologicamente, com maior vascularização , densidade óssea e maior contato

osso-implante, sugerindo novamente a importância do periósteo como fonte de células osteoprogenitoras neste processo regenerativo.



Figura 8: Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco osso equino. (A) Medição do defeito. (B) Preparo do leito receptor com perfuração da cortical óssea. (C) Bloco de eHAC fixada no leito receptor por dois implantes. Em 14 sítios, os blocos foram embebidos em rhPDGF-BB. Fonte: Simion et al., 2009.

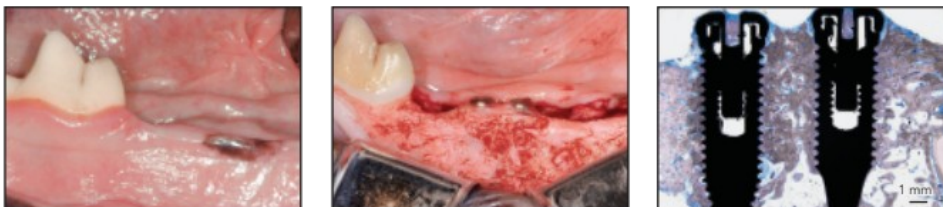


Figura 9: Aumento ósseo vertical com rhPDGF-BB e bloco osso equino, 5 meses após o procedimento. Grupo bloco eHAC e rhPDGF-BB. (A) Observar o completo fechamento dos tecidos moles após 5 meses do procedimento. (B) Reentrada após 5 meses, observar os implantes cobertos por tecido mineralizado. (C) Histologia demonstrando neoformação óssea ao redor dos implantes. Fonte: Simion et al., 2000.

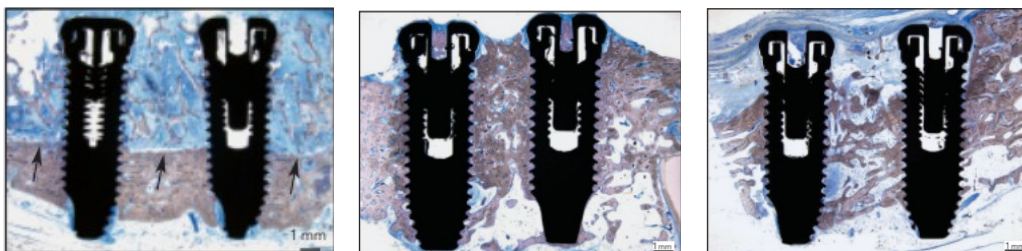


Figura 10: Histologia dos diferentes grupos estudados. (A) Grupo controle (sem bloco eHAC). Observar nenhum grau de neoformação óssea. (B) Grupo teste 1 (bloco eHAC e rhPDGF-BB). Observar neoformação óssea ao redor dos implantes e no interior do cover screw. (C) Grupo teste 2 (bloco eHAC, rhPDGF-BB e membrana). Embora haja neoformação óssea ao redor dos implantes, o crescimento vertical foi incompleto. Fonte: Simion et al., 2009.

Um maior percentual de angiogênese na formação óssea inicial foi observada quando a associação β TCP e rhPDGF-BB foi aplicada em defeitos laterais de rebordo em cães. Oito defeitos ósseos foram escolhidos aleatoriamente em grupo teste (β TCP + rhPDGF-BB + membrana) ou grupo controle (β TCP + membrana) em

4 cães em um estudo do tipo boca dividida. Após 3 semanas de regeneração, análises histológicas por imunohistoquímica (angiogênese-transglutaminase II, figura 11) foram realizadas e os resultados dessa avaliação demonstraram uma angiogênese significativamente maior no grupo teste, sugerindo que a associação rhPDGF-BB + β TCP pode apresentar um melhor suporte de formação tecidual nas fases iniciais da regeneração óssea (SCHWARZ *et al.*, 2009).

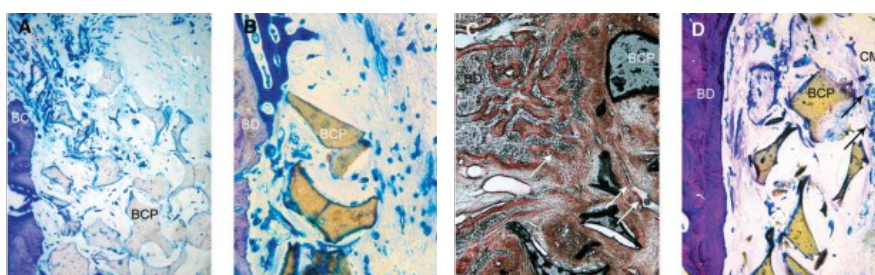


Figura 11: Aumento lateral de rebordo com β TCP e rhPDGF-BB. Grupo β TCP e rhPDGF-BB. A. Maior formação de “woven bone” em íntimo contato com as partículas de β TCP. B. Osso maduro em contato com osso alveolar adjacente. C. Presença de vasos sanguíneos e osso trabecular (setas). D. Áreas de mineralização abaixo da membrana de colágeno (CM). Fonte: Schwarz *et al.*, 2009.

A neoformação óssea em áreas submetidas à distração osteogênica com rhPDGF-BB foi analisada através de microtomografia computadorizada e histologia em 83 ratos. Distração óssea de 7mm em diáfise femural de ratos foi realizada e, durante o período de distração (7 a 28 dias), cada animal recebeu ou solução salina (controle), ou diferentes concentrações de rhPDGF-BB (100, 300 ou 1000 mg/mL). Foram analisadas essas diferentes concentrações de rhPDGF-BB em diferentes intervalos de tempo. Os resultados radiográficos e histológicos mostraram que tanto a neoformação óssea, quanto a proporção de união foram significativamente maiores no grupo teste, quando comparado às áreas submetidas somente a distração (grupo controle). A taxa de união global foi de 40,4% nos animais que receberam o rhPDGF-BB, em comparação a 4,5 % no grupo controle. sugerindo que a aplicação do rh-PDGF-BB em locais que serão submetidas à distração

osteogênica aumenta a previsibilidade de neoformação óssea, reduzindo complicações associadas à técnica (MOORE *et al.*, 2009).

A associação de osso mineral inorgânico com rhPDGF-BB com e sem barreira colagenosa também foi avaliada em crescimento lateral de rebordo em cães, tanto em maxila quanto em mandíbula. Quatro cães foram estudados em um delineamento do tipo boca dividida, da seguinte forma: Maxila superior: osso mineral associado a rhPDGF e membrana de colágeno, (grupo teste) versus osso mineral com rhPDGF-BB (grupo controle). Mandíbula: osso mineral associado à rhPDGF e membrana de colágeno, (grupo teste) versus osso mineral com rhPDGF-BB (grupo controle). Após 3 semanas do procedimento cirúrgico, as biópsias foram preparadas para análise histoquímica (angiogênese transglutaminase II) e análise histomorfométrica (área de tecido ósseo aumentada, quantidade de tecido mineralizado e não mineralizado). Os resultados mostraram que ambos os grupos apresentaram angiogênese, crescimento tecidual e adequado índice de mineralização. Em relação à utilização ou não da membrana, esta não interferiu na atividade do rhPDGF-BB (SCHWARZ *et al.*, 2010) .

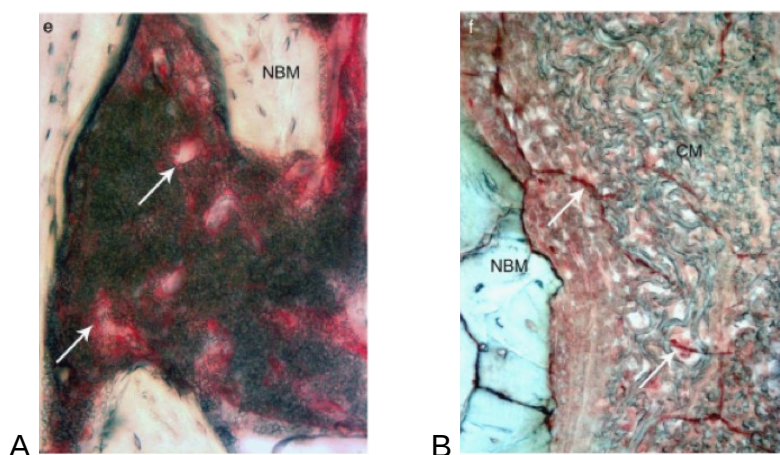


Figura. 12: Avaliação histológica grupo controle e grupo teste. A. Tecido conjuntivo subepitelial bem vascularizado com pequenos vasos sanguíneos e setas mostrando vasos dilatados (grupo controle). B. Grupo teste, neoformação de vasos sanguíneos (setas), invadindo a região abaixo da CM. Fonte: Schwarz et al., 2010

Um recente trabalho de terapia genética mostrou que tanto a aplicação do rhPDGF-BB quanto a aplicação do vetor adenoviral que codifica o PDGF-B em sítios peri implantares de ratos foram efetivos para regeneração do tecido ósseo e ossointegração na região dos defeitos, abrindo perspectivas futuras nas áreas de regeneração tecidual e terapia genética (CHANG *et al.*, 2009).

4.1.3 Estudos em Humanos

Os resultados dos primeiros estudos pré-clínicos em culturas de células e em animais foram confirmados pelo primeiro estudo em humanos que avaliou a eficácia e a segurança do PDGF-BB (HOWELL *et al.*, 1997) em defeitos periodontais . Os resultados demonstraram a segurança da associação do PDGF-BB e IGF-I e indicaram a melhor dose terapêutica para obter uma resposta clínica mais favorável (150µg/ml de cada fator). A reentrada cirúrgica nestes defeitos infra-ósseos foi realizada após 9 meses, mostrando que nos sítios tratados com a associação houve maior formação e preenchimento ósseo no interior do defeito, quando comparado ao grupo controle.

Após este estudo, vários outros ensaios em humanos confirmaram os efeitos do PDGF-BB em defeitos periodontais, mostrando clinicamente ganho de inserção,

redução de profundidade de sondagem e, histologicamente, neoformação de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar (CAMELO *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2003, 2005; MELLONING *et al.*, 2009; SARMENT *et al.*, 2006; RIDGWAY *et al.*, 2008) .

O PDGF mostrou ser um importante mediador do turn-over ósseo devido ao seu papel na expressão de piridinolina, moléculas interligadoras do colágeno tipo I. A expressão desta proteína pode indicar atividade do metabolismo ósseo e funciona como um marcador do turn-over ósseo. Sarment *et al.* (2006), avaliou a expressão da piridinolina no fluido crevicular de indivíduos com periodontite crônica avançada, que foram tratados com e sem rhPDGF-BB. Quarenta e sete indivíduos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos para o preenchimento dos defeitos ósseos (beta TCP sozinho; beta TCP + 0,3mg/mL de rhPDGF-BB ou beta TCP + 1.0mg/mL de rhPDGF-BB). Os dois grupos tratados com rhPDGF-BB mostraram maiores quantidades de expressão de piridinolina até a 6a. semana após a terapia reconstrutiva. Desta forma, o rhPDGF-BB apresentou um importante papel no turn-over ósseo, através da maior expressão de piridinolina nos defeitos ósseos. Resultados semelhantes foram encontrados por Cook *et al.* (2006), que também verificaram maior expressão de piridinolina nos defeitos ósseos periodontais após receberem tratamento com rhPDGF-BB.

Um estudo clínico multicêntrico, randomizado, triplo cego (RCT), envolvendo 180 pacientes em 11 centros de pesquisas distintos avaliou a segurança e eficácia da associação rhPDGF-BB e β TCP em defeitos periodontais. Os resultados confirmaram a segurança do rhPDGF-BB em humanos e, 6 meses após a aplicação,

o grupo teste (tratado com PDGF-BB) apresentou maior redução de profundidade de sondagem, maior ganho de inserção clínica e maior preenchimento ósseo, resultados estes estatisticamente significantes em comparação ao grupo controle (que recebeu somente o β TCP) (NEVINS *et al.*, 2005). A partir deste estudo, o rhPDGF-BB foi aprovado pelo FDA para comercialização pela Osteohealth Company, manufaturado pela BioMimetics Therapeutics, Inc., com o nome comercial de GEM 21S. Resultados semelhantes foram encontrados em outro recente estudo multicêntrico, RCT que avaliou a segurança e eficácia do rhPDGF-BB associado ao β TCP em 54 pacientes. Avaliações clínicas e radiográficas mostraram que o fator é seguro e efetivo para o tratamento de defeitos ósseos periodontais, aumentando a neoformação óssea e a cicatrização dos tecidos adjacentes (JAYAKUMAR *et al.*, 2011).

A partir desses resultados clínicos e histológicos em defeitos periodontais, vieram então os estudos avaliando os efeitos do rhPDGF-BB em reconstruções ósseas para a implantologia. A regeneração do tecido ósseo em defeitos de rebordo alveolar foi observada por Simion *et al.* (2007) em dois casos de indivíduos com extensos defeitos verticais de rebordo, submetidos à reconstrução óssea com a associação rhPDGF-BB e matriz óssea bovina anorgânica. No primeiro caso, um bloco de matriz bovina embebida em rhPDGF-BB foi parafusado e, no segundo caso, a matriz particulada associada ao rhPDGF-BB foi implantada. Resultados clínicos e histológicos demonstraram uma excelente regeneração dos tecidos moles e duros após utilização da combinação de rhPDGF-BB e matriz óssea. Após 5 meses do procedimento cirúrgico, biópsias do tecido reconstruído foram obtidas e implantes dentários de titânio foram instalados. A análise histológica mostrou intensa

neoformação óssea ao redor das partículas da matriz óssea bovina, sugerindo que esta associação pode apresentar aplicação em casos de defeitos ósseos extensos em humanos.

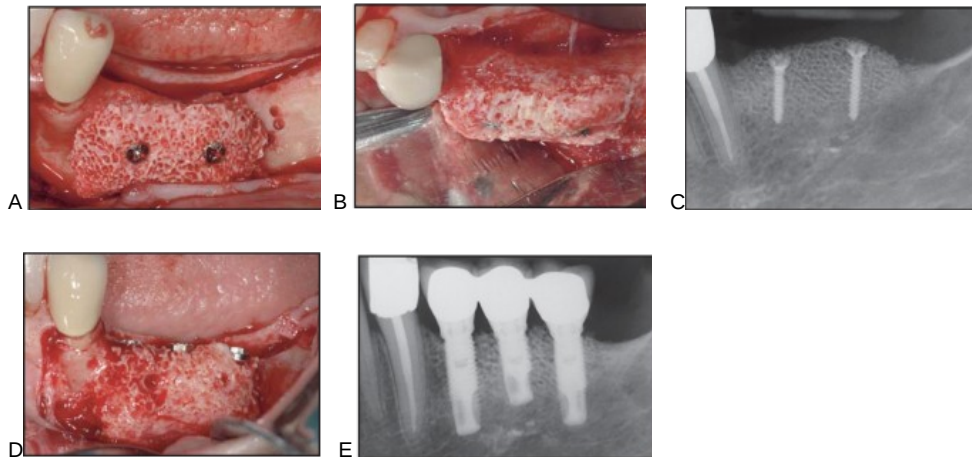


Figura 13: Aumento vertical e lateral de rebordo. (A e B) Reborde ósseo com bloco de osso bovino embebido em rhPDGF-BB fixado. (C) Aspecto radiográfico 5 meses após. (D) Reentrada cirúrgica após 5 meses com instalação de 3 implantes. (E) Aspecto radiográfico 6 meses após a instalação dos implantes. Fonte: Simion et al., 2007.

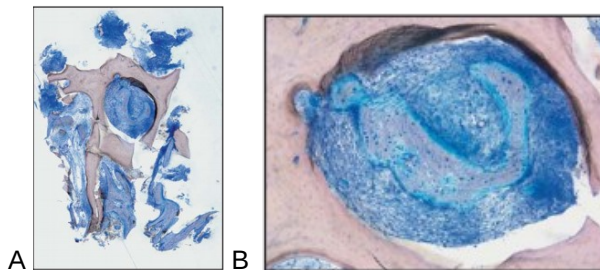


Figura 14: Histologia da amostra colhida no momento da instalação dos implantes. (A) Tecido ósseo neoformado ao redor das partículas de osso bovino (magnificação original x 12,5). (B) Tecido ósseo no interior da partícula de osso bovino. Observar o novo osso com presença de osteoblastos e osteócitos no interior da trabécula (magnificação original x 160). Fonte: Simion et al., 2007.

A utilização do rhPDGF-BB combinado com enxerto ósseo sintético (β TCP) e membrana colagenosa foi realizada com o objetivo de reconstrução e redução do defeito ósseo maxilar (deiscência), com simultânea instalação de implante osseointegrado. O implante foi instalado em região da pré-maxila, com pouco tecido ósseo em largura, de forma que após a instalação, um defeito do tipo deiscência na vestibular estava presente. Um preenchimento com osso autógeno, β TCP e

rhPDGF-BB foi aplicado sobre o defeito ósseo e protegido com membrana colagenosa. Após 5 meses, foi realizada reentrada cirúrgica e foi constatado o completo preenchimento da deiscência óssea local (BYUN *et al.*, 2008) .

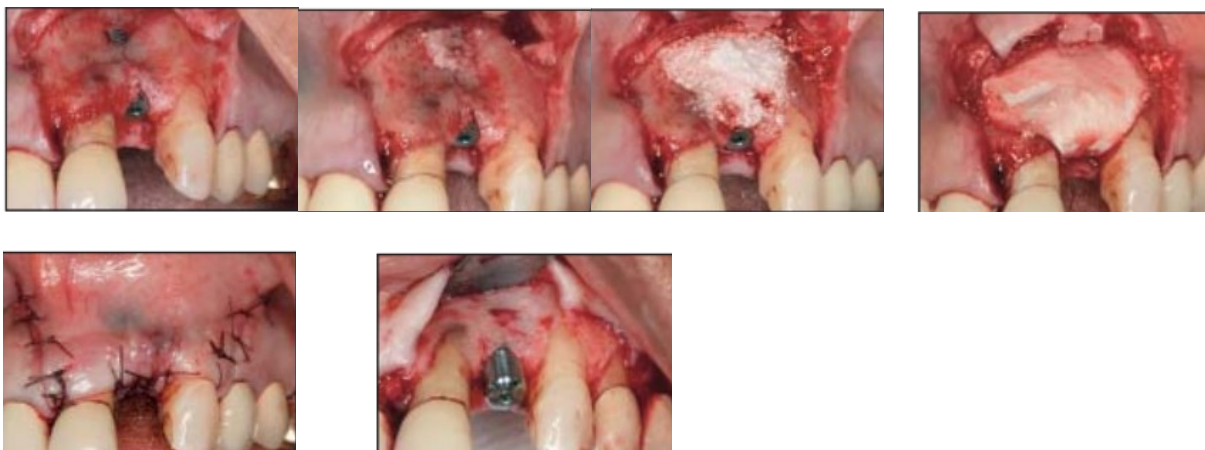


Figura 15: Aumento lateral de rebordo, técnica sandwiche. (A) Momento de instalação do implante, presença de fenestração e fratura labial do osso. (B) Osso autógeno sobre a fenestração. (C) β TCP embebido em rhPDGF-BB sobre o local. (D) Membrana colagenosa. (E) Sutura do retalho. (F) Reabertura 5 meses após o procedimento. Fonte: Byun *et al.*, 2008.

Enxerto ósseo autógeno associado ao rhPDGF-BB também foi utilizado em um extenso defeito ósseo resultante de cirurgia oncológica. O defeito ósseo media aproximadamente 20 mm e se estendia da linha cervical do dente adjacente até a cavidade nasal. Uma combinação de osso autógeno, matriz óssea bovina e rhPDGF-BB foi utilizada para reconstrução do defeito ósseo. Dois implantes foram instalados 6 meses após o procedimento, quando se pôde verificar significativa neoformação óssea. Os resultados sugerem que a utilização de PDGF pode aumentar a previsibilidade dos resultados e evitar complicações durante um período de cicatrização dos enxertos ósseos (SIMION *et al.*, 2008).

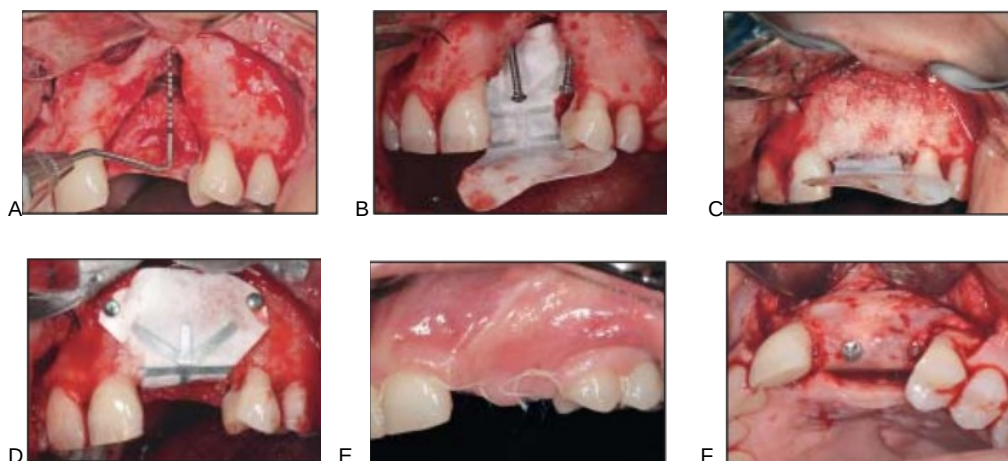


Figura 16: Aumento vertical e lateral do rebordo com osso autólogo, rhPDGF-BB e membrana. (A) Medição do defeito ósseo. (B) Fixação de parafusos para suporte da membrana. (C) Compactação do enxerto autólogo associado a osso bovino anorgânico (1:1) associado ao rhPDGF-BB. (D) Fixação da membrana de ePTFE. (E) Fechamento do retalho sem tensão. (F) Reentrada cirúrgica 6 meses após. Fonte: Simion et al., 2008.

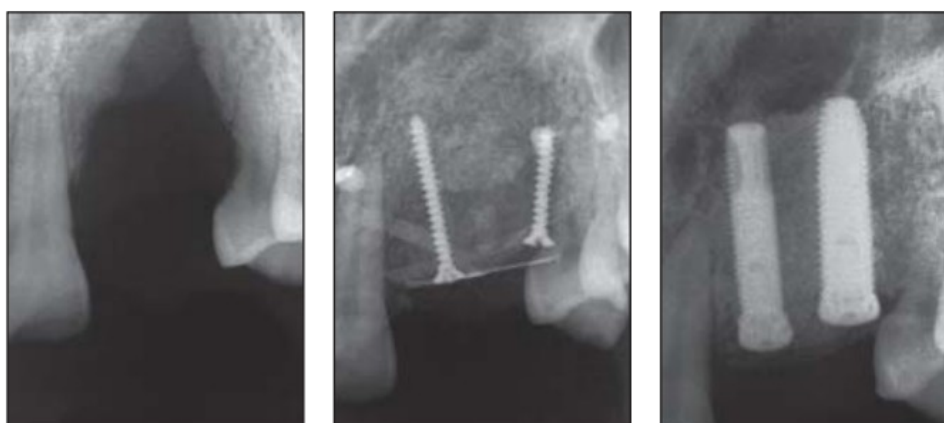


Figura 17: Aumento vertical e lateral do rebordo rhPDGF-BB e membrana, avaliação radiográfica. Radiografias periapicais pré-operatória, após a colocação do enxerto e após a instalação dos implantes. Simion et al., 2008.

Grande neoformação óssea observado clinicamente e histologicamente em humano também foi verificada após reconstrução óssea utilizando rhPDGF-BB e osso homólogo liofilizado, em região com grande demanda estética (FAGAN *et al.*, 2008). Resultados clínicos semelhantes foram encontrados em casos de reconstrução de maxila posterior utilizando rhPDGF-BB, osso autólogo e bovino inorgânico (URBAN *et al.*, 2009) e região anterior da mandíbula reconstruída com rhPDGF-BB e osso bovino inorgânico (CARDAROPOLI *et al.*, 2009). Estes trabalhos

ênfatizam o grande potencial deste sinalizador molecular na reconstrução do tecido ósseo, em sítios que irão receber implantes posteriormente

Nevins e colaboradores (2009a) realizaram um estudo piloto em 7 indivíduos com o objetivo de avaliar se a combinação de matriz óssea colagenosa mineralizada (MCBS) e rhPDGF-BB, sem a utilização de barreiras biológicas, poderia preservar o volume de rebordos ósseos vestibulares pós exodontias para posterior instalação de implantes. Os indivíduos foram randomizados através de uma seleção cega, com reentrada cirúrgica 4 ou 6 meses (por randomização) após a reconstrução. A análise histológica das biópsias de 4 e 6 meses revelaram grande quantidade de tecido ósseo neoformado, com íntimo contato entre o novo osso e as partículas remanescentes de MCBS e no formação óssea no interior das partículas de MCBS. Além disso, a análise da micro tomografia de todas as amostras obtidas demonstraram boa quantidade e qualidade óssea neoformada, permitindo estabilidade primária no momento da instalação do implantes.

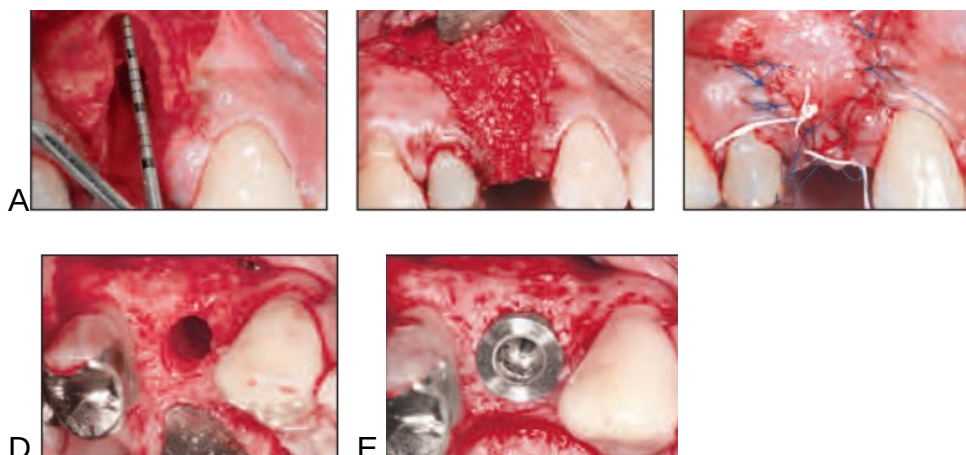


Figura 18: Preservação de rebordo com rhPDGF-BB e MCBS. (A) Defeito ósseo após exodontia do 1º. Pré-molar superior. (B) Preenchimento do alvéolo com matriz óssea colagenosa mineralizada embebida em rhPDGF-BB. (C) Completo fechamento do retalho. (D) Coleta da amostra com trefina. (E) Instalação do implante no local da biópsia. Fonte: Nevins et al., 2009a .

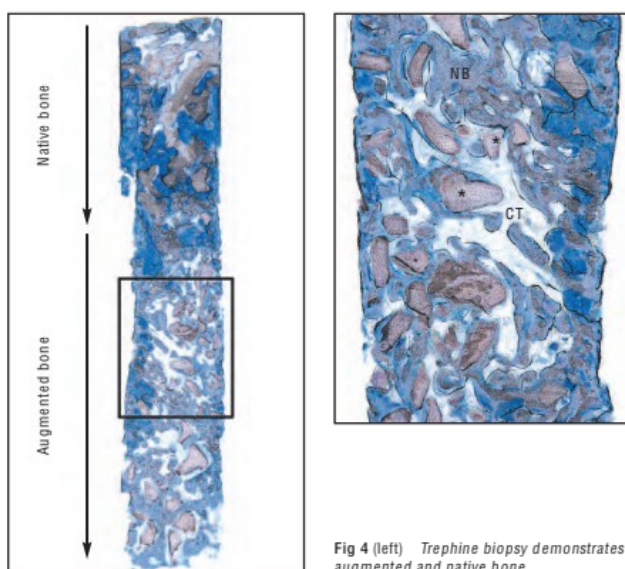


Figura 19: Preservação de rebordo com rhPDGF-BB e MCBS. Avaliação histológica. Osso nativo e osso neoformado. Em maior aumento, observa-se tecido ósseo neoformado entre as partículas do MCBS. Fonte: Nevins et al., 2009a .

Um estudo clínico, randomizado, envolvendo 12 indivíduos investigou se um procedimento minimamente invasivo, envolvendo a associação de rhPDGF-BB e três diferentes matrizes poderiam proporcionar aumento lateral de rebordo em indivíduos com deficiência na pré-maxila. Doze pacientes foram randomizados em 3 grupos: A. rhPDGF-BB com FDDB; B. rhPDGF-BB com ABBG; C. rhPDGF-BB com MCBS. Os três tipos de matrizes utilizadas foram colocadas em seringas e aplicadas sobre tecido ósseo receptor pela técnica minimamente invasiva por tunelamento. Quatorze semanas após o procedimento, biópsias foram obtidas e a análise histológica demonstrou neoformação de tecido ósseo em íntimo contato e ao redor das partículas, especialmente nos grupos A e B. Resultados inconsistentes em

realção à neoformação óssea foram observados no grupo C. (NEVINS *et al.*, 2009B).

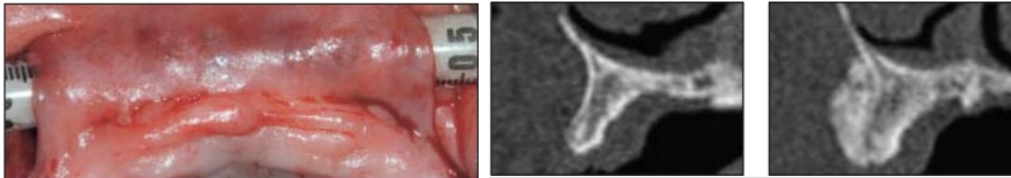


Figura 20: Aplicação do enxerto pela técnica de tunelamento. Imagens tomográficas antes e após a colocação do enxerto. Fonte: Nevins *et al.*, 2009b

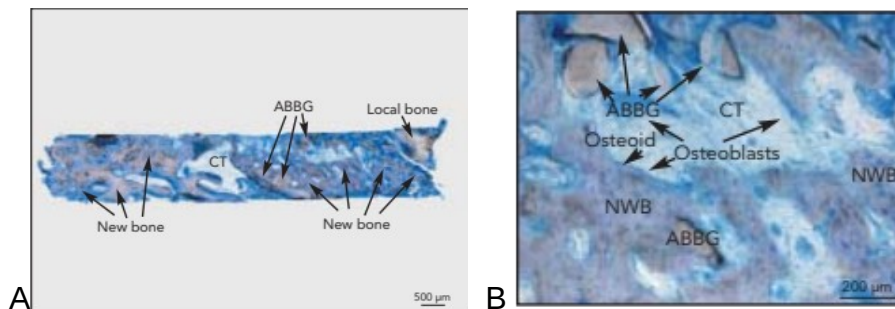


Figura 21: (A) Avaliação histológica da amostra coletada. (B) Em maior aumento, observa-se a matriz ABBG, osteoblasto e novo osso formado. Fonte: Nevins *et al.*, 2009b

Um estudo histológico em humanos em 12 sítios distintos foi realizado, com a finalidade de comparar duas diferentes matrizes (matriz óssea inorgânica colagenosa e β TCP) associados ao rhPDGF-BB. Onze indivíduos que necessitavam de exodontia dos pré-molares foram randomizados em dois grupos: MCBS com rhPDGF-BB ou β TCP com rhPDGF-BB. Os resultados histológicos após 3 meses da implantação mostraram significativa neoformação óssea nos dois grupos, mostrando que ambas as matrizes foram efetivas para neoformação óssea e

preservação de alvéolos pós extração. Os implantes instalados apresentaram 100 % de sucesso no período final de avaliação (McALLISTER *et al.*, 2010).

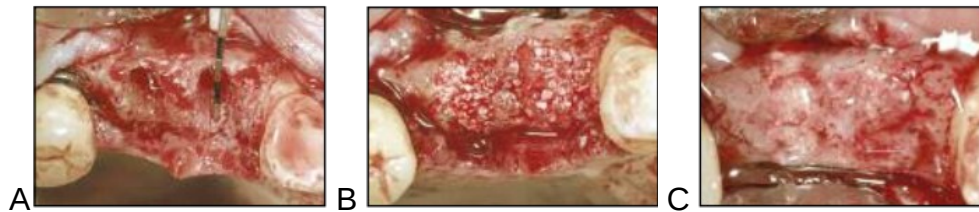


Figura 22: Preservação do rebordo com rhPDGF-BB e matriz bovina. (A) Alvéolo recém extraído. Preenchimento com β TCP no alvéolo do 2º pré-molar e MCBS no alvéolo do 1º pré-molar. (C) Reentrada cirúrgica 3 meses ao 1º procedimento. Fonte: McALLISTER *et al.*, 2010.



Figura 23: Preservação do rebordo com rhPDGF-BB e matriz bovina, avaliação histológica. (A) amostra coletada no momento da cirurgia. (B) Em maior aumento, observa-se novo osso (vermelho) formado diretamente sobre as partículas de MCBS. Fonte: McALLISTER *et al.*, 2010.

4.2 Enxerto Homólogo De Osso Fresco Congelado

O primeiro banco de ossos surgiu em 1950, com a necessidade da Marinha Americana estocar partes do corpo para tratamento em massa dos combatentes no conflito da Coreia. Fundou-se então o Banco de Ossos da Marinha, com sede no Centro Médico Naval Nacional em Bethesda, Maryland. Este centro foi lentamente

desativado e substituído por bancos de iniciativa privada (TOMFORD & MANKIM, 1999).

Atualmente, o Ministério da Saúde autoriza o funcionamento de seis bancos de tecidos músculo-esqueléticos (BTME) no Brasil: Hospital das Clínicas da UFPR/PR, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo /SP; Irmandade Santa Casa de São Paulo/SP; Hospital Universitário de Marília/SP; Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia/RJ; Associação Hospitalar São Vicente de Paula/ RS. A Portaria GM/MS no. 1.686, de 20/09/2002, da ANVISA, aprovou as normas para autorização de funcionamento e cadastramento de bancos de tecidos musculoesqueléticos. A maioria desses bancos seguem os padrões internacionais de segurança da *American Association of Tissue Banks (AATB)*, tanto no que diz respeito na seleção dos doadores, bem como ao processo de captação, armazenamento, estocagem do osso e exames laboratoriais. Esses protocolos estabelecidos têm como principal objetivo reduzir a antigenicidade, transmissão de doenças, infecções e outras complicações que possam surgir a partir do uso dos enxertos homólogos. Seguindo o protocolo da AATB, o risco de contaminação com HIV pelos enxertos ósseos é de, aproximadamente 1:1.600.000 (GONDAK *et al.*, 2007).

O enxerto homólogo córticomedular parece ter apenas propriedades osteocondutoras e nenhuma atividade osteoindutiva ou osteogênica. Inicialmente, ele serve como um mantedor de espaço, que permite osteocondução das células e crescimento vascular do leito receptor para o interior do enxerto, resultando na incorporação progressiva no leito receptor. Isso ocorre por uma série de eventos que

levam a remodelação e substituição do osso transplantado, através de reabsorção osteoclástica e deposição de matriz osteoide, seguida por mineralização desta matriz, pela atividade osteoblástica. Entretanto, no caso do enxerto homólogo, pode ocorrer substituição incompleta, permanecendo certo volume de osso não vital, que será lentamente ou não, substituído por novo osso. Alguns artifícios para melhorar o processo de incorporação dos enxertos homólogos seria a perfuração no leito receptor e no bloco homólogo, com a finalidade de aumentar a vascularização local, bem como a incorporação de fatores de crescimento no sentido de melhorar a resposta biológica celular neste processo de reconstrução óssea (DELLOYE *et al.*, 2007).

As principais vantagens do enxerto homólogo são a pronta disponibilidade na quantidade e configuração desejadas, ausência de um segundo sítio operatório, tempo cirúrgico reduzido, menor sangramento, morbidade e complicações. Entretanto, as desvantagens estão relacionadas à antigenicidade dos tecidos coletados de doadores, podendo induzir resposta imunológica local ou sistêmica. Uma das formas de reduzir este potencial antigênico é o congelamento do enxerto homólogo em baixas temperaturas (82° C negativos). Os homoenxertos congelados não contêm células vivas, e sua incorporação depende da sua capacidade osteocondutiva e osteoindutiva. Alguns trabalhos mostram que o congelamento pode realmente diminuir a antigenicidade do homoenxerto (HARDIN, 1994).

Entretanto, mesmo com o processo de congelamento, enxerto homólogo congelado produz resposta imunológica. Estudos em animais têm demonstrado que a integração destes enxertos é influenciada por reações imunes mediadas pelos

linfócitos T (HARDIN 1994, EKELUND et al., 1999). Isso pode explicar em parte a incorporação lenta dos enxertos homólogos, se comparados aos enxertos autógenos, uma vez que, após duas semanas de fixação do homoenxerto, uma resposta imune do hospedeiro acontece com invasão de células mononucleares no interior do mesmo, retardando o processo de angiogênese, proliferação celular e síntese de matriz extracelular.

Pelker *et al.*, (1984) avaliaram as propriedades físicas dos enxertos homólogos congelados, onde realizaram uma comparação de resistência dos enxertos ósseos com diferentes tipos de processamento. Foram comparados o osso fresco, osso liofilizado, ossos com congelamento a -20°C , congelados a -70°C e a -196°C em nitrogênio líquido. Os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significantes dos enxertos congelados em comparação ao enxerto liofilizado. O enxerto liofilizado apresentou menores índices de resistência, quando comparado aos demais enxertos. Em comparação ao osso fresco, os enxertos congelados à baixas temperaturas não apresentaram suas propriedades biomecânicas reduzidas, desta forma este trabalho sugere que os enxertos em bloco homólogos congelados podem ser manipulados e fixados da mesma forma que os enxertos autógenos, podendo ainda receber cargas de torção e compressão, com pouca susceptibilidade à trincas ou fraturas do bloco.

O trabalho de Itomam & Nakamura (1991) demonstrou que os enxertos homólogos congelados apresentaram resultados semelhantes aos enxertos autógenos, em relação ao recebimento de cargas funcionais após o período de reparação. Entretanto, um maior período de incorporação dos homoenxertos foi observado, provavelmente devido as reações imunológicas encontradas com a

utilização desses enxertos, fazendo com que possam receber cargas somente após um período maior de espera, quando em comparação aos enxertos ósseos autógenos.

A reconstrução de maxilas e mandíbulas atróficas previamente à instalação de implantes osseointegrados foi realizada nos estudos de Perrott, Smith & Kaban (1992). Foram utilizados enxertos ósseos homólogos frescos congelados sozinhos ou em combinação com enxertos autógenos. Dez indivíduos foram submetidos aos procedimentos de enxerto ósseo, os quais permaneceram em um período de controle variado entre $8,3 \pm 3,4$ meses antes da instalação dos implantes. Vinte e nove implantes foram instalados e mantidos submersos por 7 meses. Após a instalação protética, os pacientes foram acompanhados durante aproximadamente 30 meses. Durante esse período de acompanhamento, não houve sinais clínicos de complicações ou sinais radiográficos de perda óssea ao redor dos implantes. O índice de sucesso foi de 96,5% dos implantes, considerando o procedimento com enxertos homólogos uma alternativa viável para reconstrução óssea.

Um estudo multicêntrico com 73 indivíduos, totalizando 82 procedimentos de reconstrução de defeitos ósseos em maxila e mandíbula com utilização de blocos ósseos homólogos foi realizado, com o objetivo de avaliar o comportamento biológico destes materiais, antes e após a instalação de implantes osseointegrados. Os pacientes receberam implantes após um período que variou entre 4 a 6 meses, sendo acompanhados por até 36 meses após a instalação das próteses. Os resultados demonstraram que 93% dos enxertos homólogos demonstraram sucesso em 12 meses. Após a instalação dos implantes, uma taxa de sucesso de 99% dos implantes foi observada durante o tempo do estudo. Interessante ressaltar que no

momento da instalação dos implantes 69% dos enxertos não apresentavam sinais de reabsorção, enquanto que 31% apresentaram valores de reabsorção óssea variando até 2mm. Histologicamente, os enxertos demonstraram sinais de remodelação de incorporação após 6 meses (KEITH *et al.*, 2006)

Um estudo preliminar de reconstrução de maxilas atróficas foi realizado por Barone *et al.* (2009), com objetivo de avaliar o comportamento do enxerto em bloco homólogo e de implantes inseridos nestes sítios reconstruídos. Para o estudo, 13 indivíduos com pré-maxilas atróficas foram selecionados para reconstrução e, 5 meses após, instalação de implantes nas áreas reconstruídas. O total de 24 blocos foram utilizados, sendo 5 blocos para aumento vertical e 19 para aumento horizontal do defeito. Exposição precoce do bloco foi observada em dois casos, que foram removidos por infecção. Todas as complicações observadas neste estudo estavam associadas aos sítios cujo objetivo era aumento vertical do defeito. Trinta e oito implantes foram instalados, todos com estabilidade primária satisfatória. Destes implantes instalados, 2 não apresentaram osseointegração após 6 meses e foram substituídos por outros implantes, sem a necessidade de novas reconstruções.

Jacotti *et al.* (2012) realizaram um estudo clínico e histológico de reconstrução de maxilas atróficas com enxerto em bloco homólogo pré-ajustados através da prototipagem do leito receptor antes do procedimento cirúrgico. Oito indivíduos com deficiência óssea na mandíbula e maxilla foram selecionados para este estudo, e os defeitos foram prototipados. Nesses modelos prototipados, esterelizados foram ajustados os blocos homólogos liofilizados (Puros Block, Zemmin), previamente ao procedimento cirúrgico. Após 8 meses, 20 implantes foram inseridos e amostras da área enxertada foram colhidas para exame histológico. O resultado da histologia

mostrou neoformação óssea, com tecido ósseo lamellar organizado, mineralizado, nas áreas enxertadas.

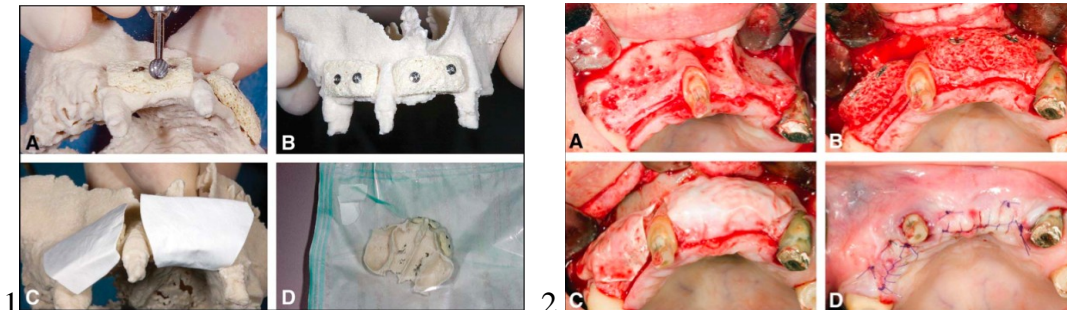


Figura 24: Planejamento pré-cirúrgico dos blocos homólogos prototipados. 1A Ajuste do bloco homólogo no protótipo esterilizado. 1B Blocos fixados após completo ajuste. 1C Ajuste das membranas de colágeno sobre os blocos. 1D Protótipo e os blocos dentro de um envelope esterilizado. 2A Leitos receptores expostos. 2B Blocos fixados nos respectivos leitos receptores. 2C Membrana de colágeno sobre os blocos. 2D Sutura do retalho sem tensão. Fonte: Jacotti *et al.*, 2012.

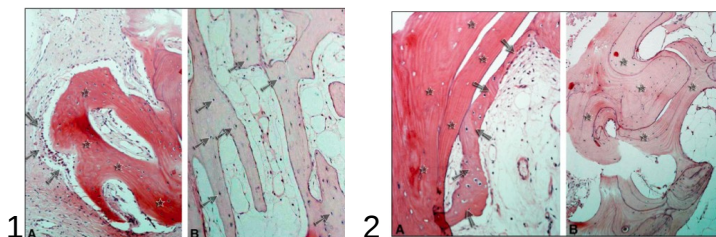


Figura 25: Análise histológica dos blocos. 1A Presença de osteoblastos (setas) em contato com o novo tecido ósseo (estrelas). 1B Novo osso com osteócitos nas trabéculas (setas). 2 A Osso homólogo residual (estrelas), com aposição de novo osso imaturo (setas). 2B Aparência lamelar do novo osso formado (setas). Fonte: Jacotti *et al.*, 2012.

O comportamento dos enxertos em bloco homólogo liofilizado e, posteriormente dos implantes instalados foram avaliados por um período de 5 anos em 20 pacientes, totalizando 41 blocos homólogos instalados, tanto na mandíbula quanto na maxila. Posteriormente à reconstrução óssea, foram instalados 64 implantes que foram acompanhados por 5 anos. Dos 41 blocos instalados, 5 deles apresentaram aumento horizontal e vertical do defeito. Exposição do bloco ocorreu em três casos, nos primeiros seis meses após a colocação dos blocos. Dos 64

implantes instalados, nenhum foi perdido neste período de 5 anos de avaliação
(NOVELL *et al.*, 2012)

5. DISCUSSÃO

A deficiência dos rebordos ósseos alveolares, principalmente na região da pré-maxila é considerado um dos grandes desafios para reabilitação com implantes osseointegrados. Frequentemente, reconstruções ósseas são necessárias na região pré-maxilar, após a perda dos dentes superiores anteriores devido a grande perda óssea em espessura que ocorre neste local (ARAÚJO & LINDHE, 2005). Com o passar dos anos, a exigência estética aumentou consideravelmente e o planejamento reverso passou a ser considerado como parte fundamental do plano de tratamento, de forma que os implantes devem ser colocados de acordo com a prótese final e não com a disponibilidade do rebordo ósseo. Para compensar a perda óssea nesta região após exodontia, várias técnicas reconstrutivas vêm sendo empregadas, dentre elas os enxertos em bloco autógenos, homólogos e xenógenos. Os enxertos autógenos são considerados o “padrão ouro” dos enxertos ósseos, devido às suas propriedades osteocondutoras, osteogênicas e osteoindutoras, entretanto apresentam algumas desvantagens como dois sítios operatórios, maior tempo cirúrgico e maior morbidade, principalmente em casos mais extensos. (CLAVERO *et al.*, 2003).

Nas últimas décadas, a utilização dos enxertos homólogos derivados de banco de tecidos músculo-esquelético têm aumentado, no sentido de evitar as desvantagens da enxertia autógena. O emprego do osso homólogo, principalmente em cirurgias ortopédicas, tem apresentado resultados promissores (SCHREURS *et al.*, 2005). A principal característica deste tipo de enxerto é ser originado da mesma espécie, mas de um doador geneticamente diferente (HOLMQUIST *et al.*, 2007). No Brasil, o uso do enxerto homólogo foi oficializado após a criação do Sistema Nacional de Transplantes, que regula não somente a captação, mas também a

distribuição de órgãos e tecidos no território Nacional. Embora o uso dos enxertos homólogos na área odontológica tenha aumentado nos últimos anos, ainda existe certa resistência de seu uso, não somente pelos poucos estudos com evidência científica na literatura, mas também pelos resultados menos previsíveis, principalmente em relação ao processo de reabsorção de parte do enxerto homólogo e pela incorporação mais lenta deste material ao leito receptor. Essa resposta biológica menos previsível pode estar associada à antigenicidade do enxerto homólogo, pois, mesmo com alguns trabalhos sugerindo que o congelamento possa reduzir essa antigenicidade (HARDIN, 1994), outros estudos mostram que estes enxertos podem desencadear respostas imunes mediadas pelos linfócitos T (EKELUND *et al.*, 1999), o que poderia explicar, em parte, o maior grau de reabsorção, bem como a incorporação mais lenta desses materiais.

O PDGF tem sido amplamente estudado na periodontia, desde que foi descoberto que este fator podia promover regeneração do osso, cemento e ligamento periodontal (LYNCH *et al.*, 1989; LYNCH *et al.*, 1991; GIANNOBILE *et al.*, 1996; NEVINS *et al.*, 2003; MELLONING *et al.*, 2009). O mecanismo de ação do PDGF ocorre através da ligação deste sinalizador molecular com receptores específicos presentes nos osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal, com consequente efeito na replicação do DNA celular e quimiotaxia destas células (MUNFORD *et al.*, 2001).

O PDGF mostrou ser um importante mediador do turn-over ósseo devido ao seu papel na expressão de piridinolina, moléculas interligadoras do colágeno tipo I (SARMENT *et al.*, 2006; RIDGWAY *et al.*, 2008). É importante ressaltar que o PDGF-BB tem importante efeito na migração e proliferação de células osteoblásticas

já diferenciadas, com poucas propriedades osteoindutivas em células indiferenciadas (GIANNOBILE *et al.*, 1996). Entretanto, alguns estudos mostram efeitos quimiotáticos também em células mesenquimais progenitoras, importantes no processo de neoformação e remodelamento ósseo (FIELDER *et al.*, 2002; KRATTINGER *et al.*, 2011).

O PDGF foi o primeiro fator de crescimento a ser avaliado em estudos pré-clínicos. Em vários estudos em cultura de células, pôde-se observar proliferação celular, quimiotaxia e síntese de matriz, incluindo fibroblastos do ligamento periodontal, pré-osteoblastos e osteoblastos (BATEMAN *et al.*, 2005; SANCHEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2008).

Em relação aos estudos em animais, vários trabalhos demonstraram diferenças estatisticamente significantes em relação à neoformação óssea, quando o PDGF-BB foi utilizado, se comparado ao grupo controle (LEE *et al.*, 2000; STEFANI *et al.*, 2000; NOCITI *et al.*, 2000; SCHWARZ *et al.*, 2009; MOORE *et al.*, 2009). Entretanto, um estudo em ratos mostrou pouca neoformação óssea, tanto nos sítios que receberam PDGF-BB e matriz óssea bovina, quanto nos sítios que receberam esta matriz isoladamente, quando estes foram associados à membrana de Teflon (LIOUBAVINA *et al.*, 2005). Os estudos “*in vitro*” e os ensaios clínicos em animais foram fundamentais para demonstrar o potencial desse fator no processo regenerativo, culminando com o primeiro estudo em humanos que verificou a atuação do PDGF-BB na regeneração periodontal. Neste ensaio clínico fase I /II foi demonstrado que o PDGF-BB mostrou-se seguro, resultando em significativo aumento do crescimento ósseo e preenchimento dos defeitos periodontais, comparado à terapia cirúrgica convencional (HOWELL *et al.*, 1997).

Uma série de outros estudos em humanos demonstraram o potencial regenerativo do rhPDGF-BB em defeitos periodontais (CAMELO *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2005; MCGUIRE *et al.*, 2007; NEVINS *et al.*, 2007; MELLONING *et al.*, 2009; RIDGWAY *et al.*, 2008; JAYAKUMAR *et al.*, 2011). Em 2 estudos prospectivos, clínicos randomizados (RTC), foi demonstrado um significativo ganho de inserção clínica e maior preenchimento ósseo dos defeitos nos sítios que receberam rhPDGF-BB, quando comparado aos sítios que receberam somente a matriz de β TCP (NEVINS *et al.*, 2005; JAYAKUMAR *et al.*, 2011). Dentre os estudos clínicos em humanos, alguns deles demonstraram regeneração periodontal comprovada histologicamente (NEVINS *et al.*, 2003; CAMELO *et al.*, 2003; MELLONING *et al.*, 2009; RIDGWAY *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos nos estudos em defeitos periodontais proporcionaram estudos envolvendo regeneração óssea em rebordos alveolares para implantodontia. Os estudos clínicos e histológicos em humanos sugerem um potencial de utilização deste fator de crescimento na reconstrução óssea em sítios que irão receber implantes osteointegrados (SIMION *et al.*, 2006; SIMION *et al.*, 2008; FAGAN *et al.*, 2008; URBAN *et al.*, 2009; CARDAROPOLI *et al.*, 2009; NEVINS *et al.*, 2009a; NEVINS *et al.*, 2009b; NEVINS *et al.*, 2009c; McALLISTER *et al.*, 2010).

Em relação aos biomateriais utilizados como matrizes, o β TCP foi o arcabouço escolhido para ser aprovado pelo FDA como matriz osteocondutora que acompanha o rhPDGF-BB, no GEM 21S. Entretanto, vários trabalhos demonstram que outros materiais podem ser associados ao rhPDGF-BB, com resultados interessantes. Além do β TCP utilizado como matriz (NEVINS *et al.*, 2005; McALLISTER *et al.*, 2010;

JAYAKUMAR *et al.*, 2011), enxerto ósseo homólogo mineralizado (FDBA) e desmineralizado (DFDBA) mostraram resultados satisfatórios quando associados ao rhPDGF-BB (NEVINS *et al.*, 2003; CAMELO *et al.*, 2003; NEVINS *et al.*, 2007; FAGAN *et al.*; 2008). Osso bovino inorgânico embebido em rhPDGF-BB (SIMION *et al.*, 2006; SIMION *et al.*, 2008; CARDAROPOLI *et al.*, 2009; NEVINS *et al.*, 2009a; NEVINS *et al.*, 2009b), bem como osso autógeno (BUYN *et al.* 2008; URBAN *et al.*, 2009), também apresentaram resultados interessantes para regeneração óssea, demonstrando o potencial regenerativo deste sinalizador molecular com diversos tipos de materiais implantáveis.

Entretanto, a maioria dos estudos de reconstrução óssea em humanos, aqui mencionados, são relatos de casos, com um número reduzido de indivíduos tratados, que apresentam baixo valor para a produção de evidência científica. Além disso, não existe nenhum estudo clínico randomizado, com um número significativo de indivíduos tratados, sobre a utilização do rhPDGF-BB na reconstrução óssea alveolar. Os resultados tomográficos e histológicos sugerem uma melhor resposta para o grupo que utilizou a associação rhPDGF-BB mas, como o número amostral da maioria dos estudos é pequeno, não é possível determinar diferenças estatísticas entre os grupos estudados. Assim, estudos adicionais em humanos, especialmente os ensaios clínicos randomizados são necessários, para que se possam desenvolver revisões sistemáticas e meta-análises, a fim de se obter resultados não tendenciosos e com maior evidência científica, que justifique a utilização do rhPDGF-BB na reconstrução óssea alveolar.

6. CONCLUSÕES

1. Os estudos “in vitro” mostraram que a aplicação do PDGF-BB em cultura de células ósseas promove maior proliferação e quimiotaxia celular, se comparado às culturas que não receberam a aplicação deste fator.
2. Os estudos em animais apresentaram maior potencial regenerativo quando o PDGF-BB foi associado a diferentes tipos de materiais implantáveis.
3. Os trabalhos em humanos sugerem que a associação do PDGF-BB ao osso autógeno, homólogo e xenógeno pode apresentar resultados clínicos, radiográficos e histológicos interessantes na regeneração óssea, previamente ou concomitante à instalação de implantes osseointegrados.
4. É necessário um número mais amplo de estudos, especialmente os clínicos randomizados, envolvendo um maior número de indivíduos, para comprovar a real eficácia do rhPDGF-BB na reconstrução de rebordos alveolares com a finalidade de instalação de implantes osseointegrados.

REFERÊNCIAS

ABED E, MOREAU R. Importance of melastatin-like transient receptor potential 7 and magnesium in the stimulation of osteoblast proliferation and migration by platelet-derived growth factor. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009 Aug;297 (2):360–8.

ARAUJO MG, LINDHE J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005 Feb;32 (2):212–218

BATEMAN J, INTINI G, MARGARONE J, GOODLOE S, BUSH P, LYNCH SE, et al. Platelet-derived growth factor enhancement of two alloplastic bone matrices. *J Periodontol*. 2005 Nov;76 (11):1833–41.

BARONE A, VARANINI P, ORLANDO B, TONELLI P, COVANI U. Deep-frozen allogeneic onlay bone grafts for reconstruction of atrophic maxillary alveolar ridges: a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Jun;67(6):1300-6.

BECKER W, LYNCH SE, LEKHOLM U, BECKER BE, CAFFESSE R, DONATH K, et al. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol*. 1992 Nov;63 (11):929–40.

BOYAN LA, BHARGAVA G, NISHIMURA F, ORMAN R, PRICE R, TERRANOVA VP. Mitogenic and Chemotactic Responses of Human Periodontal Ligament Cells to the Different Isoforms of Platelet-derived Growth Factor. *J Dent Res*. 1994 Oct;73(10):1593–600.

BURCHARDT H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1983 Apr; 174 :28-42.

BYUN HY, WANG HL. Sandwich bone augmentation using recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate alloplast: case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008 Feb;28 (1):83–7.

CAMELO M, NEVINS ML, SCHENK RK, LYNCH SE, NEVINS M. Periodontal regeneration in human class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor -BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003 Jun;23 (3):213–25.

CARDAROPOLI D. Vertical ridge augmentation with the use of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and bovine bone mineral: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2009

Jun;29(3):289–95.

CHANG PC, SEOL YJ, CIRELLI JA, PELLEGRINI G, JIN Q, FRANCO LM, et al. PDGF-B gene therapy accelerates bone engineering and oral implant osseointegration. *Gene Ther.* 2010 Jan;17(1):95–104.

CLAVERO, J.; LUNDGREN, S. Ramus or chin grafts for maxillary sinus inlay and local onlay augmentation: comparison of donor site morbidity and complications. *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* 2003; 5(3):154-60.

COOKE JW, SARMENT DP, WHITESMAN LA, et al. Effect of rhPDGF-BB delivery on mediators of periodontal wound repair. *Tissue Eng.* 2006 Jun;12(6):1441-1450.

DENNISON DK, VALLONE DR, PINERO GJ, RITTMAN B, CAFFESSE RG. Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol.* 1994 Jul;65(7):641–8.

DELLOYE C, SIMON P, NYSSSEN-BEHETS C, BANSE X, BRESLER F, SCHIMITT D. Perforations of cortical bone allografts improves their incorporation. *Clin Orthop Rel Res* 2002 Mar; (396): 240-7.

EKELUND A, ASPENBERG P, NILSSON O. No effect of immunosuppression with cyclosporine A detected on bone ingrowth into cancellous allo and xenografts in the rat. *Acta Orthop Scand* 1999 Oct; 70(5): 491-6.

FAGAN MC, MILLER RE, LYNCH SE, KAO RT. Simultaneous augmentation of hard and soft tissues for implant site preparation using recombinant human platelet-derived growth factor: a human case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008 Feb;28(1):37–43.

FIEDLER J, RÖDERER G, GÜNTHER KP, BRENNER RE. BMP-2, BMP-4, and PDGF-bb stimulate chemotactic migration of primary human mesenchymal progenitor cells. *J Cell Biochem.* 2002;87(3):305-12

FIORELLINI JP, NEVINS ML. Localized ridge augmentation/preservation. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003Dec;8(1):321–7.

GIANNOBILEWV, HERNANDEZ RA, FINKELMEN RD, RYAN S, KIRITSY CP, D'ANDREA M, et al. Comparative effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodontal Research.* 1996 Jul;31(5):301–12.

HARDIN CK. Banked bone. *Otolaryngol Clin North Am* 1994 Oct; 27(5): 911-25

HOLLINGER JO, HART CE, HIRSCH SN. Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg*

Am. 2008 Feb;90 suppl 1:48–54.

HOLMQUIST, P. et al. A new technique for reconstruction of the atrophied narrow alveolar crest in the maxilla using morselized impacted bone allograft and later placement of dental implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2008 May; 10(2): 86-93.

HOWELL TH, FIORELLINI JP, PAQUETTE DW, OFFENBACHER S, GIANNOBILE WV, LYNCH SE. 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. *J Periodontol*. 1997 Dec;68(12):1186–93.

ITOMAN, M.; NAKAMURA, S. Experimental study on allogenic bone grafts. *Int. Orthop*. 1991;15(2):161-5.

JACOTTI M, WANG HL, FU JH, ZAMBONI G, BERNARDELLO F. Ridge augmentation with mineralized block allografts: clinical and histological evaluation of 8 cases treated with the 3-dimensional block technique. *Implant Dent*. 2012 Dec;21(6):444-8.

JAYAKUMAR A, RAJABABU P, ROHINI S, BUTCHIBABU K, NAVEEN A, REDDY PK, et al. Multi-centre, randomized clinical trial on the efficacy and safety of recombinant human platelet-derived growth factor with β -tricalcium phosphate in human intra-osseous periodontal defects. *J Clin Periodontol*. 2011 Feb;38(2):163–72.

JIANG D, DZIAK R, LYNCH SE, STEPHAN EB. Modification of an osteoconductive anorganic bovine bone mineral matrix with growth factors. *J Periodontol*. 1999 Aug;70(8):834-9

KEITH, J. D. JR.; PETRUNGARO, P.; LEONETTI, J. A.; ELWELL, C. W.; ZEREN, K. J.; CAPUTO, C.; NIKITAKIS, N. G.; SCHOPF, C.; WARNER, M. M. Clinical and histologic evaluation of a mineralized block allograft: results from the development period (2001-2004). *Int. J Periodontics Restorative Dent.*, 2006 Aug; 2(4):321-7.

KRATTINGER N, APPLGATE LA, BIVER E, PIOLETTI DP, CAVERZASIO J. Regulation of proliferation and differentiation of human fetal bone cells. *Eur Cell Mater*. 2011 Jan;12(21):46–58.

LEE YM, PARK YJ, LEE SJ, KU Y, HAN SB, KLOKKEVOLD PR, et al. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol*. 2000 Mar;71(3):418–24.

LIOUBAVINA-HACK N, CARMAGNOLA D, LYNCH SE, KARRING T. Effect of Bio-Oss with or without platelet-derived growth factor on bone formation by “guided tissue regeneration”: a pilot study in rats. *J Clin Periodontol*. 2005 Dec;32(12):1254–60.

LYNCH SE, BUSER D, HERNANDEZ RA, WEBER HP, STICH H, FOX

CH, et al. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants, results of a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol.* 1991 Nov;62(11):710–6.

LYNCH SE, CASTILLA GR, WILLIAMS RC, KIRITSY CP, HOWELL TH, REDDY MS, et al. The Effects of Short-Term Application of a Combination of Platelet-Derived and Insulin-Like Growth Factors on Periodontal Wound Healing. *J Periodontol.* 1991 Jul;62(7):458–67.

LYNCH SE, WILLIAMS RC, POLSON AM, HOWELL TH, REDDY MS, ZAPPA UE, et al. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol.* 1989 Sep;16(8):545–8.

MACEDO, L.G.S., MONTEIRO, A. S. F., MACEDO, N. L., Mazzucchelli-Cosmo, L. A. Osso humano fresco congelado em reconstruções ósseas: estudo retrospectivo e relato de casos. **Implant News.** 2007 Jan; 4(1): 50-56.

McALLISTER BS, HAGHIGHAT K, PRASAD HS, ROHRER MD. Histologic evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB after use in extraction socket defects: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010 Aug;30(4):365–73.

McGUIRE MK, KAO RT, NEVINS M, LYNCH SE. rhPDGF-BB promotes healing of periodontal defects: 24-month clinical and radiographic observations. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Jun;26(3) :223–31.

MELLONIG JT, VALDERRAMA MP, COCHRAN DL. Histological and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor combined with beta tricalcium phosphate for the treatment of human class III furcation defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Apr;29(2):169–77.

MERAW SJ, REEVE CM, LOHSE CM, SIOUSSAT TM. Treatment of peri-implant defects with combination growth factor cement. *J Periodontol.* 2000 Jan;71(1):8–13.

MOORE DC, EHRLICH MG, McALLISTER SC, MACHAN JT, HART CE, VOIGT C, et al. Recombinant human platelet-derived growth factor-BB augmentation of new-bone formation in a rat model of distraction osteogenesis. *J Bone Joint Surg Am.* 2009 Aug;91(8):1973–84.

MUMFORD JH, CARNES DL, COCHRAN DL, OATES TW. The Effects of Platelet-Derived Growth Factor-BB on Periodontal Cells in an In Vitro Wound Model. *J Periodontol.* 2001 Mar;72(3):331–40.

NEVINS M, CAMELO M, NEVINS ML, SCHENK RK, LYNCH SE. Periodontal Regeneration in Humans Using Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB (rhPDGF-BB) and Allogenic Bone. *J*

Periodontol. 2003 Sep;74(9):1282–92.

NEVINS M, GIANNOBIL WV, MCGUIRE MK, KAO RT, MELLONIG JT, HINRICHS JE, et al. Platelet-Derived Growth Factor Stimulates Bone Fill and Rate of Attachment Level Gain: Results of a Large Multicenter Randomized Controlled Trial. *J Periodontol.* 2005 Dec;76 (12):2205–15.

NEVINS M, HANRATTY J, LYNCH SE. Clinical results using recombinant human platelet-derived growth factor and mineralized freeze-dried bone allograft in periodontal defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007 Oct;27(5):421–7.

NEVINS ML, CAMELO M, SCHUPBACH P, KIM DM, CAMELO JM, NEVINS M. Human histologic evaluation of mineralized collagen bone substitute and recombinant platelet-derived growth factor-BB to create bone for implant placement in extraction socket defects at 4 and 6 months: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Apr;29(2):129–39

NEVINS ML, CAMELO M, NEVINS M, SCHUPBACH P, FRIEDLAND B, CAMELO JM, et al. Minimally invasive alveolar ridge augmentation procedure (tunneling technique) using rhPDGF-BB in combination with three matrices: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Aug ;29(4):371–83.

NEVINS M, GARBER D, HANRATTY JJ, MCALLISTER BS, NEVINS ML, SALAMA M, et al. Human histologic evaluation of anorganic bovine bone mineral combined with recombinant human platelet-derived growth factor BB in maxillary sinus augmentation: case series study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Dec;29(6):583–91.

NOCITI JÚNIOR FH, STEFANI CM, MACHADO MA, SALLUM EA, TOLEDO S, SALLUM AW. Histometric evaluation of bone regeneration around immediate implants partially in contact with bone: a pilot study in dogs. *Implant Dent.* 2000;9(4):321–8.

NOVELL J, NOVELL-COSTA F, IVORRA C, FARIÑAS O, MUNILLA A, MARTINEZ C. Five-year results of implants inserted into freeze-dried block allografts. *Implant Dent.* 2012 Apr;21(2):129-35.

PAPADOPOULOS CE, DEREKA XE, VAVOURAKI EN, VROTSOS IA. In vitro evaluation of the mitogenic effect of platelet-derived growth factor-BB on human periodontal ligament cells cultured with various bone allografts. *J Periodontol.* 2003 Apr;74(4):451-7

PARK J, MATSUURA M, HAN K, NORDERYD O, LIN W, GENCO RJ, et al. Periodontal Regeneration in Class III Furcation Defects of Beagle Dogs Using Guided Tissue Regenerative Therapy With Platelet-Derived Growth Factor. *J Periodontol.* 1995 Jun;66(6):462–77.

PELKER, R. R.; FRIEDLAENDER, G. E.; MARLHAM, T. C.; PANJABI, M. M.; MOEN, C. J. Effects of freezing and freeze-drying on the

biomechanical properties of rat bone. *J. Orthop. Res.* 1984;1(4)405-11.

PERROTT, D. H.; SMITH, R. A.; KABAN, L. B. The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1992 Out ;21(5): 260-5.

PETRUNGARO, P. S.; AMAR, S. Localized ridge augmentation with allogenic block grafts prior to implant placement: case reports and histologic evaluations. *Implant. Dent.* 2005 Jun; 14(2);139-48.

PROUSSAEFS, P.; LOZADA, J.; KLEINMAN, A.; ROHRER, M. D. The use of ramus autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation and implant placement: a pilot study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2002 Mar; 17(2):238-48.

RIDGWAY HK, MELLONIG JT, COCHRAN DL. Human histologic and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal intraosseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008 Apr;28(2):171–9.

SANCHEZ-FERNANDEZ MA, GALLOIS A, RIEDL T, JURDIC P, HOFLACK B. Osteoclasts control osteoblast chemotaxis via PDGF-BB/PDGF receptor beta signaling. *PLoS One.* 2008;3(10):e3537

SARMENT DP, COOKE JW, MILLER SE, JIN Q, MCGUIRE MK, KAO RT, et al. Effect of rhPDGF-BB on bone turnover during periodontal repair. *J Clin Periodontol.* 2006 Feb;33(2):135–40.

SCHWARZ F, SAGER M, FERRARI D, MIHATOVIC I, BECKER J. 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. *J Periodontol.* 2009 Aug;80(8):1315–23.

SCHWARZ F, FERRARI D, PODOLSKY L, MIHATOVIC I, BECKER J. Initial pattern of angiogenesis and bone formation following lateral ridge augmentation using rhPDGF and guided bone regeneration: an immunohistochemical study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2010 Jan;21(1):90–9.

SIMION M, ROCCHIETTA I, KIM D, NEVINS M, FIORELLINI J. Vertical Ridge Augmentation by Means of Deproteinized Bovine Bone Block and Recombinant Human Platelet-Derived Growth-Factor-BB: A Histologic Study in Dog Model. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Oct;26(5):415–23.

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. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007 Apr; 27(2):109–15.

SIMION M, ROCCHIETTA I, MONFORTE M, MASCHERA E. Three-

dimensional alveolar bone reconstruction human platelet-derived growth factor BB and guide bone regeneration: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008;28:239–43.

SIMION M, NEVINS M, ROCCHIETTA I, FONTANA F, MASCHERA E, SCHUPBACH P, et al. Vertical ridge augmentation using an equine block infused with recombinant human platelet-derived growth factor-BB: a histologic study in a canine model. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2009 Jun;29(3):245–55.

STEFANI CM, MACHADO MA, SALLUM EA, SALLUM AW, TOLEDO S, NOCITI JR FH. Platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-1 combination and bone regeneration around implants placed into extraction sockets: a histometric study in dogs. *Implant Dent.* 2000;9(2):126–31.

TOMFORD WW, MANKIN HJ. Bone banking. Update on methods and materials. *Orthop Clin North Am.* 1999 Oct;30(4):565-70.

URBAN I, CAPLANIS N, LOZADA JL. Simultaneous vertical guided bone regeneration and guided tissue regeneration in the posterior maxilla using recombinant human platelet-derived growth factor: a case report. *J Oral Implantol.* 2009;35(5): 251–6.