

Alessandra Arnaud Moreira

**Estudo da utilização clínica das Proteínas Ósseas Morfogenéticas em
cirurgia buço-maxilo-facial no Brasil**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais.

Orientador: Prof. Associado Francisco Antonio dos Santos Correia

São Paulo
2004

FOLHA DE APROVAÇÃO

Moreira AA. Estudo da utilização clínica das Proteínas Ósseas Morfogenéticas em cirurgia buco-maxilo-facial no Brasil [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

São Paulo, ___ / ___ / _____

Banca Examinadora

1) Prof. Dr. _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof. Dr. _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof. Dr. Francisco Antonio dos Santos Correia

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A Deus

Fonte de Amor

O Caminho, a Verdade, a Vida

Refúgio seguro para o meu coração

Aos meus Pais, maravilhosos,
Augusto e Fátima, que sempre me apoiaram
e incentivaram,
tanto nos momentos de vitória
quanto nos momentos difíceis.
Sei que não é fácil manter um filho à distância,
mas vocês jamais me disseram não
para tudo o que precisei,
muitas vezes não podendo dizer sim
Muito Obrigada!

Amo vocês!

Às minhas irmãs queridas.
Sem a presença de vocês eu não seria o que hoje sou.
Mesmo à distância vocês fazem parte da
minha vida.
Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Associado Francisco Antonio do Santos Correia. Deixou-me sempre à vontade para tomar a decisão que melhor me conviesse, dando-me liberdade para conduzir minhas próprias idéias. Muito obrigada pela compreensão e pelo apoio nos momentos difíceis.

À Faculdade de Odontologia da USP e ao Departamento de Cirurgia, Prótese e Traumatologia Maxilo-Faciais, pela oportunidade de participar do programa de pós-graduação como sua aluna.

Em especial ao professor Carlos Gregori “in memoriam”, pela amizade e palpites construtivos para meu enriquecimento pessoal e de minha tese.

A CAPES pela bolsa de mestrado que me foi de suma importância.

À Professora Doutora Marina Cleia Palo Prado pela oportunidade de acompanhá-la nas clínicas de cirurgia junto aos alunos da graduação. Muito obrigada pela confiança e por me deixar-me à vontade para conduzir minhas decisões perante aos alunos. Obrigada pela sua amizade e pela oportunidade de desenvolvermos juntos trabalhos científicos sobre outros temas abordados. Você foi maravilhosa.

Ao Professor Associado João Gualberto de Cerqueira Luz, pelos seus conhecimentos, pela oportunidade de acompanhar o seu dia a dia no serviço de cirurgia e traumatologia do Hospital Arthur de Saboya (Jabaquara), e pelo trabalho que lá desenvolvemos. Exemplo profissional para mim. Tentarei seguir teus passos, para realizar tudo que desejo profissionalmente.

Ao Professor Associado Oswaldo Crivello Junior por ter estado sempre presente, ajudando e me apoiado quando precisei. Obrigada pelas suas orientações profissionais, e conselhos pessoais.

Ao Professor Assistente Antônio Carlos Frio pelas orientações da análise estatística dos resultados de minha pesquisa, pela paciência em me explicar cada dúvida, e pela amizade.

Aos alunos da graduação pela confiança depositada em nossas palavras nas clínicas de cirurgia. Foi gratificante participar de sua formação.

A todos os meus amigos de mestrado, pela convivência e troca de experiências no dia a dia. Vocês contribuíram muito para o meu desenvolvimento neste período.

Em especial aos meus amigos André Takahashi, Alessandra Mendes, Ivy Trindade e Vanessa Castello Branco. Vocês foram muito importantes na minha caminhada durante estes dois anos de convivência na pós-graduação. Vocês são maravilhosos, e sempre estiveram presentes. Jamais serão esquecidos.

Aos técnicos da Biblioteca da FOU SP pela ajuda, em especial ao técnico Agnaldo, pela paciência e atenção.

A Elaine C. Gardinali Santos, professora da Faculdade de Letras da Universidade de São Paulo, pela correção gramatical minuciosa de minha dissertação.

À minha irmã Andréa, cirurgiã plástica, que mora e trabalha em Cleveland/EUA, desenvolvendo pesquisas em Cleveland Clinic na área de cirurgia crânio-facial, e que me ajudou na tradução de meu abstract e correção da minha tese, enriquecendo-a

E à minha amiga Juliana Coelho, mestranda pela USP no departamento de farmácia bioquímica, que gentilmente se ofereceu para ler minha tese inteira depois de pronta. Obrigada Ju, por ter sido minha amiga e me acolhido em um momento muito delicado de minha estada em São Paulo longe de minha família.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha vida neste período e tornaram-se amigos.

Obrigada!

~Sabemos o que somos, mas ignoramos em que podemos tornar-nos.

**Deus concedeu sabedoria aos que a possuem e permite que os tontos se
valham de seus talentos.**

**Ser ou não ser, eis a questão; pois o que é mais nobre,
sofrer passivamente as setas e balistas com que a fortuna enfurecida nos
alveja, ou insurgirmo-nos contra o mar de provação?**

**O que não dá prazer não dá proveito. Em resumo, Senhor, estude apenas
o que lhe agradar.**

**As falhas do homem eternizam-se no bronze,
Suas virtudes escrevemos na água.~**

William Shaekspere

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Distribuição e frequência dos participantes.....	49
de acordo com o Sexo e a Idade	
Tabela 5.2 – Distribuição da frequência dos participantes.....	50
de acordo com o Gênero e Tempo de Formado	
Tabela 5.3 – Relação entre área de trabalho e utilização da BMPs.....	50
Tabela 5.4 – Correlação dos participantes entre conhecimento.....	51
e divulgação do material.	
Tabela 5.5 – Relação entre tipo de BMP e o Grau de Satisfação.....	52
dos profissionais que participaram da pesquisa com as BMPs	
Tabela 5.6 – Relação entre a região onde as BMPs foram	53
utilizadas com os tipos de BMPs.	
Tabela 5.7 – Correlação entre os motivos que levam.....	54
os participantes a não utilizarem BMPs	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMP	Proteína Óssea Morfogenética
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
bBMP	Proteína Óssea Morfogenética bovina
rhBMP	Proteína Óssea Morfogenética recombinante humana
FGM	Membrana Fibrosa de Vidro
HA	Hidroxiapatita
IGF	Fator de Crescimento derivado da Insulina
OP-1	Proteína Osteogênica
PDGF	Osso Desmineralizado Seco Congelado
PGS	Glicólico-Co-Polilático
PTH	Paratormônio
PGLA	Ácido Lático Poliglicólico
PMCB	Osso Medular Autógeno Particulado Esponjoso
e-PTFE	Membranas de Politetrafluoretileno
RNA	Ácido Ribonucléico
TGF	Fator de Transformação de Crescimento

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Fatores de crescimento.....	20
2.2 Histórico das BMPs.....	24
2.3 Uso Ectópico das BMPs.....	26
2.4 Tipos de BMPs e suas Funções.....	30
2.5 Uso de BMPs em pequenos Defeitos Ósseos.....	34
2.6 Uso de BMPs em grandes Defeitos Ósseos.....	36
2.7 Uso de BMPs associadas a Membranas.....	40
3 PROPOSIÇÃO.....	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
5 RESULTADOS.....	49
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS.....	66
APÊNDICES.....	72
ANEXOS.....	77

MOREIRA AA. Estudo da utilização clínica das Proteínas Ósseas Morfogenéticas em cirurgia bucomaxilofacial no Brasil [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2004.

RESUMO

A recuperação de partes deficientes do corpo humano por substitutos funcionais, tem suscitado questionamentos por parte de profissionais cirurgiões e pesquisadores da área de cirurgia e traumatologia Bucomaxilofacial. Na tentativa de recuperar o contorno anatômico natural e restaurar a função de áreas com deficiência de tecido ósseo, optou-se inicialmente pela utilização de enxertos ósseos autógenos. Apesar de suas inúmeras vantagens, o uso de enxertos autógenos na reconstrução da face apresenta certos inconvenientes, como a necessidade de hospitalização, intervenção em outra área do organismo, morbidade da área doadora, maior período de convalescença, susceptibilidade a infecções, e ainda, uma possível reabsorção progressiva e constante. Um questionamento ainda maior gira em torno das cirurgias para enxerto ósseo na face já que os ossos da face são curtos e não justifica a morbidade de uma outra região do organismo para suprir sua necessidade. Na tentativa de substituir o uso de enxertos autógenos, cirurgiões começaram a optar por materiais sintéticos ou similares orgânicos, associadas com o uso das proteínas ósseas morfogenéticas, que são fatores de crescimento responsáveis pela indução da formação óssea no organismo humano desde sua fase fetal até a idade madura. A proposta deste estudo é fazer uma avaliação sobre o conhecimento e o uso clínico pelos cirurgiões bucomaxilo-faciais, no Brasil, de proteínas ósseas morfogenéticas no auxílio à reparos de defeitos ósseos da face.

Palavras-Chave: Transplante Ósseo - Ossos Faciais – Substância de Crescimento - Regeneração Óssea.

Moreira AA. Study of the use of Bone Morphogenetic Proteins in Cranio-maxillo-facial Surgery in Brazil [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2004

ABSTRACT

The use of alloplastic materials for bone replacement has been extensively debated lately by surgeons and researchers in the Oral and Maxillofacial field. In the attempt to reconstruct bone defects anatomically and functionally autogenous bone grafts have been the preferred option. Although being considered the gold standard in craniofacial reconstruction, there are some inconveniences in the use of bone autografts. Among them the need of hospitalization, the need of a donor site usually in a different area than the bone defect, donor area morbidity, longer recovery time, increased risk of infection, and the possibility of bone resorption over time. When the face is operated the use of autogenous bone is even more questionable. Usually small amounts of bone grafts are necessary in the face, and might not justify the morbidity of the donor site. In an attempt to avoid the use of bone autografts, allografts and alloplastic materials have been advertised, in association with bone morphogenetic proteins. These proteins are growth factors involved in the osteogenesis in humans from the fetus up to the adult age. The aim of this study is to evaluate the knowledge and the clinical use of bone morphogenetic proteins in the repair of facial bone defects by Brazilian Oral and Maxillofacial surgeons.

Keywords: Bone transplant – Facial bones – Growth factors – Bone regeneration

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O uso de materiais aloplásticos e alógenos com o objetivo de restaurar tecidos e órgãos do corpo humano têm suscitado questionamentos por parte de profissionais e pesquisadores da área da saúde há algum tempo. Em cirurgia oral e maxilofacial, na tentativa de recuperar o contorno anatômico natural e restaurar a função de áreas com deficiência de tecido ósseo, enxertos ósseos autógenos são freqüentemente utilizados. Apesar de suas enormes vantagens biológicas, estes enxertos apresentam também certos inconvenientes, como a necessidade de hospitalização, intervenção em outra área do organismo, morbidade da área doadora, maior período de convalescença, susceptibilidade a infecções, e ainda são sujeitos ao risco de reabsorção progressiva e constante. Por todos estes fatores, o uso de enxertos ósseos autógenos em casos de reabsorção progressiva da maxila é ainda mais questionável, pois a quantidade de osso necessária na reabilitação destes casos é ainda menor, e nem sempre justifica a realização de outra intervenção cirúrgica (TURIUMI et al, 1991).

Por essas razões, diferentes materiais alógenos e aloplásticos têm sido desenvolvidos com o objetivo de recompor defeitos ósseos. Como exemplos, a hidroxiapatita, a matriz orgânica calcificada e a descalcificada, tanto do osso humano como bovino têm sido utilizadas, apesar da função desses materiais na formação óssea não ser totalmente esclarecida (ASAHINA et al, 1997).

Em alguns casos defeitos ósseos às vezes extensos, produzidos por trauma, processos patológicos, anomalias de desenvolvimento, etc., não têm a capacidade de

repararem-se espontaneamente, havendo necessidade do cirurgião bucomaxilofacial utilizar-se de várias técnicas cirúrgicas na tentativa de reparação da área óssea perdida.

Busca-se, desta forma, a engenharia tecidual que pode ser desenvolvida de duas maneiras: pela reconstrução do tecido fora do organismo, seguido de sua implantação no local desejado, com a subsequente incorporação do enxerto pelo tecido do hospedeiro, ou pela regeneração do tecido *in situ*, no hospedeiro. Despertou-se então para o uso de fatores de crescimento, na tentativa de estimular a regeneração óssea à partir da função de substâncias naturais do organismo.

Fatores de crescimento, atuando localmente, regulam o desenvolvimento e a função celular, oferecendo, desta forma, oportunidade para regeneração tecidual *in situ*. Além disso, podem controlar a proliferação e a diferenciação de tecidos fora do organismo.

O termo “fatores de crescimento” denomina um grupo de polipeptídeos de aproximadamente 6-45 kD (kiloDaltons) os quais estão envolvidos na proliferação celular, diferenciação e morfogênese de tecidos e órgãos durante embriogênese, após o nascimento e até a idade adulta. Alguns fatores de crescimento são também morfogênicos onde eles podem mudar o fenótipo de suas células alvo (WOZNEY, 1998; DUCY; KARSENTY, 2000).

Entre os fatores de crescimento com grande potencial osteogênico, encontram-se as proteínas ósseas morfogenéticas, que são preparadas a partir de osso fresco desmineralizados e podem ser usadas seguindo os princípios de regeneração tecidual guiada (KINOSHITA et al., 1997).

Ripamonti e Reddi (1997) afirmaram que o maior avanço no entendimento da formação óssea tem sido a identificação de uma nova família de proteínas denominadas proteínas morfogenéticas, que regulam *in vivo* a diferenciação de cartilagem e osso. A

expressão dessas proteínas seria responsável pelo desenvolvimento e regeneração óssea. A conservação das proteínas morfogenéticas durante a evolução indica que elas são críticas no desenvolvimento normal dos animais. Além da osteogênese, incluindo esqueletogênese, atua no desenvolvimento crânio-facial e de tecidos dentais (LEE, 1997). As proteínas morfogenéticas realizam várias mudanças nos mecanismos reguladores da regeneração óssea e de cimento, fornecendo ótimos resultados em tratamentos periodontais.

Bowers e Reddi (1992) afirmaram que as BMPs são proteínas encontradas em altas concentrações no tecido ósseo e são consideradas as responsáveis pela indução da regeneração dos enxertos ósseos desmineralizados em terapia periodontal.

Originalmente identificadas como componentes ativos dentro de extratos osteoindutivos derivados do osso, as BMPs incluem uma grande família de proteínas dentro da superfamília dos fatores de crescimento e diferenciação TGF- β (DUCY; KARSENTY, 2000).

As Proteínas Ósseas Morfogenéticas (BMPs), que é o nome usual das proteínas extraídas a partir da matriz óssea normal, são responsáveis pela indução da diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas e osteoblastos com grande potencial osteogênico (URIST et al., 1984).

Nos últimos anos, os genes da BMP humana (rhBMP) têm sido reproduzidos em laboratório com o uso da engenharia genética, tendo a sua aplicação no tratamento de fraturas não cicatrizadas, incorporação de enxertos ósseos, reparação de defeitos ósseos a partir de infecções, excisão de tumores, periodontites e malformações congênitas (RIPAMONTI; REDDI 1997). As rhBMPs são classificadas como morfogens, únicos com

composição físico-química sintetizada pela tecnologia genética recombinante. Até o momento foi possível a clonagem da BMP-1 até a BMP-12 (LINDHOHLM, 1996).

As BMPs estimulam as células precursoras da medula óssea e dos tecidos moles circundantes ao defeito, que invadem a área e diferenciam-se em cartilagem e células ósseas. Dessa forma, a BMP tem grande potencial na reconstrução do osso alveolar e na inserção alveolar (KINOSHIT et al., 1997).

Uma vez que ainda é difícil a obtenção de osso humano viável em quantidade, isento de vírus como o a AIDS e da hepatite B, aliada à proibição pelas leis de vários países de comercialização de órgãos humanos ou de suas partes, tem-se levado ao lançamento no mercado de biomateriais, como as proteínas ósseas morfogenéticas e matrizes ósseas liofilizadas de origem bovina preparada à semelhança da humana, como uma alternativa no tratamento de lesões ósseas perenes na região de crânio e face (TAGA, 1997).

Após uma numerosa seqüência de experimentos em diversos animais, desenvolvidos por pesquisadores do mundo inteiro, está comprovada a eficácia dos implantes da rhBMPs para a regeneração de defeitos ósseos de pequeno porte, tanto em animais quanto em humanos, porém em muitos países não é feita sua comercialização. (TAGA, 1997).

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Fatores de crescimento

O termo “fator de crescimento” denomina um grupo de polipeptídeos de aproximadamente 6-45 kD os quais estão envolvidos na proliferação celular, diferenciação e morfogênese de tecidos e órgãos durante embriogênese, infância até a idade adulta. Alguns fatores de crescimento são também morfogênicos onde eles podem mudar o fenótipo de suas células alvo. (WOZNEY,1998)

Para Lindsey (2001) alguns fatores de crescimento assumem um efeito endócrino e são estabelecidos devido à elevados níveis serum. Muitos fatores de crescimento são depositados na matriz extracelular onde são liberados durante degradação da matriz e agem como parte de uma complexa rede de sinais com efeitos durante a regeneração e remodelação de tecidos. O efeito dos fatores de crescimento é mediado através das superfícies receptoras das células alvo, ativando enzimas fosforilases intracelulares, que em seguida induzem uma via de sinalização intracelular pela agregação de co-fatores e outras proteínas as quais migram para o núcleo. No núcleo os fatores de crescimento conectam-se ao DNA e, juntamente com outros fatores, induzem a transcrição eles ativam um jogo conjunto de genes.

Todos os fatores de crescimento descritos têm um importante papel no crescimento e desenvolvimento. Oringer (2002) descreveu que numerosos fatores de crescimento e de diferenciação têm sido identificados, caracterizados e sinteticamente produzidos usando

tecnologia recombinante. Ele explica fatores de crescimento e de diferenciação da seguinte forma:

- Fatores de crescimento são proteínas que afetam o crescimento e função de uma célula específica (por exemplo os fibroblastos, os osteoblastos), afetando a proliferação celular e a síntese da matriz extracelular. Os fatores de crescimento mais intensamente estudados na regeneração periodontal são os derivados da insulina (IGF) e derivados das plaquetas (PDGF).
- Fatores de diferenciação controlam a condição fenotípica das células, promovendo células precursoras a se tornarem funcionalmente maduras para um tipo particular, como as células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos. Proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) são fatores de diferenciação em investigação para a regeneração óssea e periodontal. Os fatores de crescimento e os de diferenciação têm sido combinados com materiais de suporte (exemplo o colágeno, osso mineral e sintético), num esforço de facilitar a regeneração de tecidos.

Lee (1997) descreveu que PDGF seria um dos principais hormônios no processo de cicatrização. É uma molécula dimérica que pode existir como uma célula heterodimérica (PDGF-AB) ou uma célula homodimérica (PDGF-AA, PDGF-BB) dependendo qual de gene (PDGFA, PDGFB) codifica a molécula. São ambos potentes fatores mitogênicos e quimiotáticos para células de origem mesenquimal (como exemplo os osteoblastos). Oringer (2002) descreve este fator de crescimento como um competente fator, pois ele é capaz de induzir mitose em células. O fator sucessor, como exemplo o IFG, seria então requerido para induzir mitoses.

Combinações de certos fatores de crescimento podem produzir efeitos sinérgicos e aumentar a regeneração. Oringer 2002 explica que IGF constitui uma família de proteínas de uma única cadeia de dois ou mais átomos ligados entre si formando uma molécula, que divide 49% homólogos com pró-insulina. Dois membros deste grupo foram muito bem descritos (IGF-1 e IGF-2), os quais são similares em estrutura e função, mas são regulados de forma independente. A função destes fatores é regulada através de proteínas aglutinantes IGF que podem aumentar ou diminuir a atividade do IGF. IGF-1 tem uma multifatorialidade de efeitos na atividade do ligamento periodontal e metabolismo ósseo incluindo (Growth factors [...], 2002):

- IGF-1 é quimiotático para células progenitoras do ligamento periodontal, fibroblastos, osteoblastos e osteoclastos.
- IGF-1 é mitogênico para osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal.
- IGF-1 estimula síntese de matriz extracelular.

Segundo Schliephake (2002) na regeneração óssea após o nascimento, o fator PDGF apresenta um importante papel na indução da proliferação e diferenciação de células mesenquimais. É também um importante mediador da cicatrização e da remodelação óssea durante traumas e infecções. Ele pode aumentar a regeneração óssea junto com outros fatores de crescimento, mas é improvável que apresente propriedades osteogênicas completas isoladamente.

Os IGFs têm um importante papel no crescimento geral e manutenção do corpo esquelético. A aplicação local de IGFs isoladamente em defeitos esqueléticos craniomaxilofaciais não demonstrou potencial de aumentar a regeneração óssea nas

dosagens reportadas. A combinação de IGF-I com PDGF tem sido eficiente na promoção da regeneração de defeitos dentoalveolares ao redor do implante ou após perda óssea periodontal (KARSENTY; DUCY, 2000).

PRP é proposto para aumentar a proliferação de células mesenquimais indiferenciadas e aumentar a angiogênese. Existe pouca evidência científica sobre o benefício do PRP na reconstrução esquelética e cirurgia pré-protética (KARSENTY; DUCY, 2000).

Em um estudo visando as propriedades osteoindutivas do osso desmineralizado congelado e seco (DFDBA), comparados casualmente em quatro diferentes bancos ósseos, Becker et al. (1996) demonstraram que DFDBAs que não apresentam sem uma quantidade suficiente de BMPs não poderiam induzir osteogênese. Dessa maneira, lançou-se a dúvida se o sucesso de DFDBA em regeneração é resultado da presença das BMPs ou de suas próprias propriedade osteocondutivas.

BMPs, BMP-2, BMP-4 e BMP-7 em particular, parecem ser os mais efetivos fatores de crescimento em termos de osteogênese e reparo de defeitos ósseos. A eficácia de reparo das BMPs é dependente do tipo de carreador, por exemplo o colágeno tipo I e hidroxiapatita, como material osteocondutor no processo de regeneração (KARSENTY; DUCY, 2000).

2.2 Histórico das BMPs

Atribui-se a Urist (1965) os primeiros questionamentos sobre os processos que determinam a neoformação óssea, em locais desprovidos de tecido ósseo. Para ele um fator central seria o responsável por este efeito. Esse fator foi relatado como sendo uma substância indutora de formação óssea, denominada proteína óssea morfogenética, presente em matriz óssea de colágeno. Afirmou, ainda, que as células indutoras e as células induzidas eram provenientes do hospedeiro e que essas mesmas células indutoras seriam descendentes de histiócitos fixos a células do tecido conjuntivo perivascular.

Urist e Strates (1971) designaram o termo osteoindução para um princípio fundamental de regeneração óssea desencadeado pela ação das proteínas ósseas morfogenéticas.

A matriz óssea desmineralizada alogênica, ou seja, da mesma espécie animal, tem capacidade de induzir a formação de novo tecido ósseo em um processo multifásico de ossificação endocondral em cascata, com a formação de tecido cartilaginoso e ósseo em quantidade, já após duas semanas da sua implantação (URIST et al., 1982).

Urist et al. (1983) afirmaram que criação e regeneração óssea constituem o resultado da ação de uma comunhão entre proteínas ósseas morfogenéticas e os fatores de crescimento derivados do osso. Designaram BMPs como sendo glicoproteínas responsáveis pelo recrutamento de células osteoprogenitoras para os locais de formação óssea.

Urist et al. (1984) pela primeira vez isolaram e purificaram uma proteína de osso bovino, que foi designada de proteína morfogenética óssea (BMP). A seguir vários outros

estudos foram publicados descrevendo o isolamento de fatores matriarcais ósseos indutores de osteogênese.

Ripamonti e Vukicevic (1995) afirmaram que o maior avanço no entendimento da formação óssea tem sido a identificação de uma nova família de proteínas denominadas proteínas morfogenéticas ósseas, que regulam *in vivo* a diferenciação de cartilagem e osso. A expressão dessas proteínas seria responsável pelo desenvolvimento e regeneração óssea, e sua conservação indica que elas são essenciais no desenvolvimento normal dos animais, além da osteogênese, incluindo esqueletossíntese, desenvolvimento crâniofacial e de tecidos dentais.

Sasano et al. (1997) analisaram de que forma a propriedade físico-química do veículo utilizado influencia no processo de formação óssea induzida pelas BMPs, na qual o veículo usado foi um material feito de membrana fibrosa de vidro (FGM). O processo osteogênico induzido pelas BMPs foi examinado histologicamente em intervalos semanais. Após 3 semanas, houve formação cartilaginosa previamente à indução óssea, e, na décima semana (10^a) semana, essa cartilagem foi repostada por osso cortical?? e osso medular, concluindo que as BMPs promovem ossificação endocondral quando administradas com a FGM. O estudo ainda sugere que as propriedades físico-químicas do veículo podem estar relacionadas com a expressão fenotípica, do osso e da cartilagem, induzida pelas BMPs.

Stone (1997) fez um trabalho de pesquisa de literatura e concluiu que dentro a superfamília TGF- β são requisitadas diferentes moléculas para aspectos específicos da morfogênese do esqueleto. Verificou também que as anomalias do esqueleto podem resultar similarmente de uma falha na diferenciação e maturação normal, mediada pelas BMPs, durante as fases condroblásticas e osteoblásticas.

Membros das famílias das BMPs representam as moléculas de sinalização, chaves na embriogênese, em espécies que variam desde a mosca *Drosophila* até humanos. Essas mesmas BMPs estão envolvidas na distribuição de informações posicionadas, desenvolvimento de tecidos duros (ossos e dentes), bem como alguns tipos de tecidos moles. Quando implantadas em animais adultos, várias BMPs têm mostrado iniciar formação óssea endocondral e intramembranosa. Estudos pré-clínicos mostram a habilidade desses fatores em induzir osso em grandes defeitos numa variedade de situações, resolvendo tanto problemas ortopédicos como maxilodentais. A implantação de rhBMP-2 é capaz de promover osteogênese no rebordo alveolar de vários animais (DUCY; KARSENTY, 2000).

2.3 Uso ectópico de BMP

Há mais de 30 anos pesquisas têm sido conduzidas para isolar e purificar as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), substâncias que induzem formação óssea heterotópica em várias espécies animais.

Aspenberg et al. (1988), estudaram a indução de osso em primatas, retirando segmentos da fíbula de macacos adultos e desmineralizando-os antes de enxertá-los nos quadríceps do mesmo animal doador (enxerto autógeno). Na experiência controle, foi preparada matriz óssea de rato, exatamente da mesma forma e implantada em outros ratos (enxerto alógeno). Após 6 semanas, os enxertos foram retirados e preparados histologicamente. Nos ratos, a análise do conteúdo de cálcio indicou que 20% da matriz

original foi reposta por novo osso. Quando analisadas as amostras apresentaram níveis insuficientes de cálcio e não apresentaram evidências de ossificação, e não foi visto osso nos cortes histológicos. Estes resultados levantaram dúvidas sobre o uso de matriz óssea humana desmineralizada como indutor ósseo.

Bessho et al. (1991) extraíram, separaram e purificaram BMPs derivadas de matriz óssea humana e bovina a fim de analisar seqüência de aminoácidos, para melhor entender a estrutura bioquímica e o mecanismo de ação destas BMPs, visando futura aplicabilidade clínica. Os resultados sugeriram que as BMPs purificadas são altamente solúveis *in vivo* quando usadas sem algum veículo. Uma mistura de bBMP e colágeno tipo I foi implantada em músculo de ratos Wistar e após 3 semanas ocorreu neoformação óssea. No mesmo experimento observou-se que a bBMP foi capaz de induzir osteogênese *in vivo*, seu uso *in vitro* induziu somente cartilagem.

Gao et al. (1995) estudaram, através de método histoquímico, os mecanismos pelos quais as BMPs induziram formação óssea em tecido não ósseo. Eles verificaram que este efeito poderia ser controlado através da expressão celular de certas substâncias, tais como fibronectina, BMP endógena e fosfatase alcalina.

Chaudhari, Ron e Rethan (1997) examinaram a rhBMP e seus efeitos *in vitro* em marcadores bioquímicos representando fenótipos osteoblásticos, usando culturas primárias de osteoblastos de calvária de fetos de ratos. Os resultados indicaram que rhBMP-2 estimulou a atividade da fosfatase alcalina, paratormônio (PTH)- induziu produção de AMP cíclico e a biossíntese de colágeno numa forma dose-dependente em culturas confluentes após 48 hs. Foram também estudados os efeitos da rhBMP-2 na atividade da fosfatase alcalina na presença ou ausência de ácido ascórbico. A presença do ácido ascórbico potencializou o efeito da rhBMP-2, porém sua ausência não pareceu ser determinante,

demonstrando que ele não seria um co-fator essencial na ativação da rhBMP-2. Os resultados sugerem que o ácido ascórbico poderia amplificar os efeitos osteoindutivos da rhBMP-2, aumentando sua eficácia quando usado como material ósseo reparador *in vivo*.

Ong et al. (1997) observaram *in vitro* a atividade de osteoblastos tratados com BMP-2 que foram aplicadas à superfície de titânio e verificaram um aumento significativo de fosfatase alcalina e vitamina D3 que estimularam a produção de osteocalcina em comparação com as células que não entraram em contato com a BMP.

Levine et al. (1997) propôs a pré-fabricação de segmentos de osso vascularizado em músculos auriculares de coelhos imaturos. Foram usados 16 coelhos, divididos em 2 grupos, sendo em um grupo foi implantada uma combinação de hidroxiapatita (HA) e bBMP supraparietalmente e no outro grupo a mesma combinação subperiostealmente. Ao mesmo tempo foram implantadas HA isoladas no músculo de balanceio dos 2 grupos. Foram feitas análises histológicas dos implantes de 4 a 8 semanas, onde observaram que as HA/bBMP, tanto supra quanto subperiostealmente formaram osso intersticialmente, enquanto que nas HA isolada foi visto tecido fibroso em desenvolvimento sem evidência de formação óssea. A melhor qualidade óssea foi encontrada nos implantes subperiosteais de HA/bBMP.

Hanada, Denis e Capeon (1997) examinaram e compararam os efeitos do fator básico de crescimento fibroblástico (bFGF) e da BMP-2 na proliferação e diferenciação osteogênicas *in vitro* de medula de rato – derivada de células mesenquimais primordiais. Os resultados indicaram que bFGF intensifica ambos, atividade mitogênica e crescimento osteogênico da medula tratada. Em contrapartida, a BMP-2 não induziu osteogênese tão fortemente quanto a bFGF, apesar de aumentar levemente o número nodular ósseo e o

conteúdo de cálcio comparado com o controle. O tratamento combinado de bFGF e BMP-2, sinergicamente, intensificou o potencial osteogênico da bFGF em medula de rato.

Puleo (1997) estudou o tempo de exposição a rhBMP-2 requerido para se obter características osteoblásticas expressivas e retentivas com subsequente formação de uma matriz extracelular mineralizada em culturas de células mesenquimais (células C3H10T1/2 e de osso medular). Elas foram cultivadas, em rhBMP-2 por 0, 7, 14, 21 ou 28 dias, e por mais 4 semanas na ausência de rhBMP-2. Quanto mais longa a exposição das células mesenquimais a rhBMP-2, mais extensa a quantidade de mineral depositado e melhor o conteúdo total de matriz mineral. Em contrapartida, o desenvolvimento celular não foi afetado pela retirada da rhBMP-2.

Ripamonti et al. (1997) fizeram um estudo entre o fator de crescimento humano- β 1 recombinante (TGF- β 1) e a proteína osteogênica recombinante humana (OP-1, BMP-7), enxertando-os em cavidades extra-esqueléticas de macacos adultos africanos (*papio ursinus*). Eles mostraram, através de análises histológicas, bioquímicas, morfométricas e estatísticas que a TGF- β 1 e OP-1 induziram formação óssea endocondral. A combinação de OP-1 e TGF- β 1 induziu, em 15 dias, geração de novos ossículos e a corticalização de novo osso formado e, em 30 dias, geração de osso medular. O tecido formado pela aplicação combinada de OP-1 e TGF- β 1 mostrou diferenças morfológicas distintas, quando comparado com as espécimes tratadas com OP-1, com largas zonas de desenvolvimento endocondral e extensa formação de osso medular.

Si, Jin e Yang (1998) estudaram as ações sinérgicas da rhBMP-2 e TGF- β na formação óssea. Foram enxertados 3 tipos de complexos no músculo da coxa de 45 camundongos: rhBMP-2 (grupo1), TGF- β (grupo2) e rhBMP-2/TGF- β (grupo3). Segundo as reações histológicas, os resultados mostraram que, exceto pelo enxerto com TGF- β

isolado, os grupos 1 e 3 exibiram nova formação de osso ectópica. E que a quantidade de novo osso formado, induzido pela rhBMP-2/TGF- β foi bem melhor do que pela rhBMP-2 isolada, com resultado estatisticamente significativo.

2.4 Tipos de BMP e suas funções

Devido ao alto custo e a dificuldade de obtenção de osso humano viável em quantidade, associado à proibição em vários países da comercialização de produtos de órgãos e tecidos humanos, propiciou que fossem lançados no mercado brasileiro e europeu, produtos originários de osso bovino, com as mesmas finalidades. (TAGA et al., 1997)

Mais de 250.000 enxertos de ossos são realizados, anualmente, nos EUA, fazendo com que este seja o segundo tipo de enxerto mais comum (KENLEY et al., 1993).

A atividade ossoindutora da proteína morfogenética óssea-2 tem sido amplamente examinada em comparação com a atividade da proteína morfogenética bovina original, e os resultados sugerem que a atividade da rhVBMP-2 corresponde a 1/10 da bBMP. (LINDHOLM, 1996)

Wozney et al. (1988) forneceram detalhes sobre a identificação e clonagem molecular de fatores com atividade da BMP. Isso foi conseguido através da purificação da BMP presente em osso bovino. Através do isolamento de vários polipeptídeos, os autores determinaram a seqüência de vários aminoácidos e sintetizaram uma sonda de oligonucleotídeos. Dessa forma foi possível a clonagem das BMPs, identificadas de 1 a 9, revelando ainda que as BMPs de 2 a 9 (BMP-2 a BMP-9) constituem membros da família

TGF- β . As BMPs descobertas em extratos ósseos indutivos, purificadas e derivadas do osso, são sintetizadas como proteína precursora maior. Estas proteínas apresentam: uma seqüência líder secretora, que permite a proteína sair da célula; um grande propeptídeo dominante e ainda uma região carboxi-terminal com 100 a 130 resíduos de aminoácidos, que constituem a parte ativa ou madura da molécula e onde se encontram os 7 resíduos de cisteína em ligações bissulfeto.

Na atualidade com o avanço da biotecnologia de recombinações genéticas, foi possível produzir e caracterizar várias proteínas morfogenéticas ósseas humanas a BMP-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-10,-11. (TAGA et al., 1997)

A utilização destes produtos baseia-se no relativo sucesso da utilização da BMP bovina no tratamento de centenas de extensas lesões ósseas da face e crânio e na homologia das BMPs humanas comparadas as de osso bovino (RIPAMONTI; REDDI, 1994). Em pesquisas de recombinação genética, constatou-se, através da técnica de clonagem de DNA, a homologia entre as BMPs recombinantes humanas (rhBMPs) e as BMPs nativas isoladas de matriz óssea de vários animais, dessa forma a seqüência de aminoácidos da osteogenina, uma proteína osteogênica isolada de osso bovino, são idênticos à rhBMP-3 (RIPAMONTI; REDDI, 1994).

Lyons, Pelton e Hogan (1990) sugeriram que BMP-2 desenvolve múltiplas funções na morfogênese e no padrão de formação de embriões vertebrados. Usando hibridização *in situ*, mostraram que RNA de BMP-2 manifesta-se em uma variedade de tecidos embrionários como epitelial mesenquimal e do sistema esquelético. Dessa forma, RNA de BMP-2 são encontradas em órgãos como o coração, folículos pilosos, botão dentário, mesênquima crânio-facial e outros sítios.

Rutherford et al. (1994) determinaram a capacidade de BMP-7 em preservar a vitalidade, após colocação da referida proteína sobre polpas vitais amputadas de macacos.

Hughes et al. (1995) demonstraram, através de testes *in vitro*, com células osteoprogenitoras de ratos, que BMP-6, BMP-4 e BMP-2 podem estimular diferenciação osteoblástica. Sugeriram que uma célula osteoprogenitora precoce é uma importante célula alvo para a ação das BMPs durante indução óssea.

Song et al. (1995) sugeriram que BMP-9, atuando num conjunto de novos receptores, desempenharia uma função reguladora no crescimento e na função hepática.

Bennett, Hunt e Thorogood (1995) confirmaram a real função da BMP-2 e BMP-4 como reguladores do desenvolvimento orofacial, e demonstraram os diferentes campos da expressão fenotípica da BMP-2 no desenvolvimento do epitélio da mucosa oral.

Wozney (1995) descreveu o potencial terapêutico da rhBMP-2 na reconstrução dental e maxilofacial. Ele explica que as BMPs representam o único fator de diferenciação que induz neoformação óssea no local onde foi implantada. A rhBMP-2, por exemplo, tem demonstrado potencial para induzir formação óssea ectópica em seres vivos. Estudos com culturas de células indicam que as rhBMP-2 podem causar diferenciação das células mesenquimais precursoras em células ósseas e de cartilagem. Além disso explica que estudos com animais, as rhBMP-2 tem-se mostrado capaz de regenerar grandes defeitos ósseos (2,5cm) em mandíbulas de cães, cicatrizando uma variedade de defeitos em ossos longos, e de reparar defeitos em modelos animais onde foi simulado perda óssea por doenças periodontais.

Harris (1997) chamou a atenção para a existência de 15 BMPs e afirmou ser a BMP-2 um dos mais potentes agentes osteoindutores.

Kusumoto et al. (1997) examinaram, radiograficamente e histologicamente, o potencial osteoindutivo da rhBMP-2, quando colocada em posições ectópicas. Concluíram que a rhBMP-2 é capaz não somente de induzir formação óssea, mas também um sistema ósseo auto-sustentado dentro do músculo.

Wozney (1998) afirmou que as BMPs eram membros da superfamília TGF- β e dividiu-as em subgrupos quanto à semelhança de aminoácidos. BMP-2 e BMP-4, o primeiro subgrupo; BMP-5, BMP-6, BMP-7 e BMP-8, o segundo subgrupo. Curiosamente, 2 proteínas de *Drosophila*, DPP e 60A encontram-se dentro do subgrupo BMP-2/4 e BMP-5/6/7/8, respectivamente. Isso indica a existência de homólogos em uma grande variedade de espécies, e um subgrupo da BMP-3.

Ripamonti e Duneas (1998) postularam que a regeneração tecidual na vida pós-natal mimetiza eventos que ocorrem no curso normal do desenvolvimento embrionário e morfogênético, similarmente regulados por seleta família de morfogênese. Desta forma, todas as BMPs atuam no desenvolvimento de tecidos e órgãos, alguns com maior expressão de específicas proteínas como rins (BMP-7) e (BMP-3), sistema nervoso central e periférico, fígado (BMP-9), pulmão (BMP-4) e (BMP-3), coração, dentes, gônadas, pele e fígado(BMP-9).

2.5 Uso de BMP em pequenos defeitos

Xiang et al. (1993) analisaram a osseointegração de implantes de cilindros de titânio endósseo recobertos com BMPs bovina (grupo 1) e albumina bovina (grupo 2) em 15 cachorros edêntulos. Histologicamente foi observado, após 8 semanas, no grupo 1, uma perfeita adaptação entre o implante e o osso, o qual se apresentava disposto de maneira regular, enquanto no grupo 2 ainda havia pequenas áreas de tecido fibroso recobrimo o implante, indicando que a taxa de osseointegração foi aumentada pelas BMPs.

Wang et al. (1994), complementando o trabalho anterior submeteram as amostras, removidas dos cachorros edêntulos, à microscopia eletrônica de varredura. Uma formação óssea ativa tinha ocorrido entre o implante e o osso hospedeiro em todas as amostras do grupo 1, já na 4ª semana após a implantação. Contudo, no 3º mês após a inserção dos implantes do grupo 2, ainda era possível observar tecido fibroso circundando os implantes, confirmando o potencial das BMPs na indução da formação óssea.

Ripamonti et al. (1994) investigaram se a BMP era capaz de induzir a regeneração em macacos adultos, através do implante de BMP em conjunto com uma matriz colágena e apenas matriz colágena em defeitos de furca classe II criados nos primeiros e segundos molares mandibulares. Análises histológicas revelaram que BMP em associação com a matriz colágena induziu a regeneração do cimento, ligamento periodontal e osso alveolar.

Sigurdsson et al. (1995) avaliaram a regeneração de cimento e osso em defeitos tratados com rhBMP-2 através de cirurgia em cães belgas, na qual criaram-se defeitos ósseos supra-alveolares. Os mesmos receberam rhBMP-2 através de partículas biodegradáveis misturadas ao sangue autólogo (grupo experimental) e o grupo controle

somente a cirurgia. Foi observada regeneração do cimento em todos os defeitos experimentais e em 15 dos 17 defeitos controles. Uma pequena quantidade de reabsorção foi exibida no grupo experimental, enquanto que, uma substancial reabsorção foi exibida no controle, portanto a presença de rhBMP-2 na cicatrização teve um potencial significativo na estimulação da regeneração periodontal.

Sigurdsson et al. (1995b) verificaram que a implantação de rhBMP-2 em defeitos periodontais de 5 mm, proporcionava um alto potencial regenerativo do osso alveolar e do cimento, bem como uma significativa capacidade para supressão da reabsorção radicular. Dessa forma, demonstraram que a incorporação da reabsorção de rhBMP-2, em terapia periodontal reconstrutiva, é extremamente promissora.

Nevins et al. (1996) utilizaram rhBMP-2 como material de enxerto no levantamento de seio maxilar de 6 cabras adultas. A formação óssea foi observada através de seqüenciais radiografias, tomografias computadorizadas e análises histopatológicas. Os resultados mostraram que a rhBMP-2 foi capaz de induzir a formação óssea, com presença de o medular trabeculado isolado e denso, no assoalho do seio maxilar sem nenhuma resposta adversa após 12 semanas.

Nunes, Tames e Valcania (1997) pesquisaram os resultados sobre a osteogênese promovida pelo transplante autógeno cheio de fatores de crescimento, subperiosteal de osso imaturo, em fêmur de rato, através de perfuração cirúrgica transcortical, próximo à cabeça do fêmur. Ess trabalho demonstra claramente que os transplantes utilizados com o objetivo de ganhar mais osso são vantajosos, não apenas por ser proveniente do mesmo indivíduo (autógeno), mas também por manter todos os componentes biomoleculares relacionados da osteogênese. Clinicamente, regiões como

perfurações ósseas provocadas, ou alvéolos em cicatrização podem ser os locais eleitos para doação do osso imaturo em regeneração.

2.6 Uso de BMP em grandes defeitos ósseos

Toriumi et al. (1991) fizeram um estudo experimental em 26 cachorros e os submeteram à reconstrução de defeitos mandibulares de 3cm, e estabilizaram estes defeitos com placas de reconstrução de aço inoxidável. Depois dos defeitos estabilizados, eram feitos enxertos de matrix óssea de cachorro e recombinante humana (rhBMP-2) em 12 animais (Grupo 1). Foram utilizados 10 animais como grupo controle (Grupo 2) sem implantes, e em 4 animais não foi colocado nada (Grupo 3). Os animais eram mortos 3 e 6 meses após as cirurgias. Os segmentos de reconstrução óssea foram avaliados por radiografias, análises de estabilidade funcional, histologia, histomorfometria, análise da força biomecânica, usando 3 pontos como teste. Os autores revelaram que a força biomecânica dos defeitos reconstruídos com rh-BMP-2 cresceu significativamente do 3º ao 6º mês, e foi relacionado com o grau de mineralização e espessura de osso que une o defeito.

Ferguson, Urist e Allen (1994) fizeram um estudo comparativo fisiológico de regeneração óssea, induzindo defeitos em crânios de 3 macacos Rhesus (*Macaca speciosa*). Dois dos animais receberam bBMP parcialmente purificada. BMP incorporada ao ácido copolímero polilático poliglicólico (1:1) foi enxertada no 3º animal. Cavidades cirúrgicas controle foram realizadas nos 3 macacos e preenchidas com albumina bovina (BSA). Os

animais foram sacrificados na 8^a, 10^a e 16^a semana após a sua colocação e submetidos à análise histológica. Os resultados mostraram que as BMPs produziram uma regeneração mais completa que os enxertos controle, ou seja, elas induziram a osteogênese no processo regenerativo. O copolímero parece liberar BMP, porém pode ser uma barreira no estágio final de reposição do novo osso.

Sailer e Kolb (1994) utilizaram compósitos volumosos de tiras de cartilagem liofilizada intercaladas com lâminas de BMP para preencher defeitos ósseos de trauma tardio, de áreas doadoras do crânio, e em malformações congênitas, como nas síndromes de Apert e Crouzon. Também utilizaram BMP bovina em combinação com osso autógeno de suporte para reconstruir completamente o crânio em malformações sinostóticas. Os implantes estratificados intercalados com BMP induziram formação óssea precoce e seriam rígidos o bastante para servir como ponte para elementos dentários e para suporte de osso autógeno, que serve como um arcabouço semelhante a uma gaiola para reconstrução das estruturas frontais. As áreas reconstruídas se tornaram sólidas depois de alguns meses, e estes resultados indicaram, segundo os autores, que o processo de calcificação e ossificação de cartilagem liofolizada isoladamente é consideravelmente acelerado em combinação com BMP, neste caso BMP purificada bovina. Portanto, os autores concluíram que, no período de observação de mais de 1 ano, houve uma completa consolidação de todos os implantes, sem sinais de reabsorção, e que estes implantes podem ser seguros neste tipo de reconstrução.

Boyne (1996) realizou defeitos ósseos de 2,2 cm da mandíbula de 7 macacos *Macaca fascicularis* (rhesus). Três macacos tiveram 2 lojas cirúrgicas preenchidas com doses diferentes de rhBMP-2 (0,8mm/cc e 0,2mm/cc). Em 4 macacos um defeito ósseo recebeu 0,4mm/cc de rhBMP-2 e o outro foi preenchido com osso autógeno. Após 4 meses

as áreas enxertadas receberam implantes de titânio, sendo possível observar a completa regeneração óssea nos 7 animais. A análise histológica de 3 macacos revelou altas taxas de matriz óssea calcificada, assim como várias camadas de osso lamelar no rebordo, indicando que a rhBMP-2 é capaz de induzir a regeneração de defeitos ósseos críticos. Os demais animais (os 4) continuam em estudo, sendo observado a função do osso formado ao redor dos implantes de titânio instalados.

Gao et al. (1997) enxertaram um composto consistindo de um cilindro de coral, proteína morfogenética óssea de alce e colágeno tipo IV como material reparador de defeito do segmento de tíbia em 11 carneiros. Foram avaliadas a cicatrização, a variação das propriedades mecânicas de torque e as respostas imunológicas. Em comparação com o grupo controle, que recebeu coral como material de enxerto, foi observada uma significativa formação de calo ósseo externo no grupo - composto em 6 semanas, assim como uma elevada quantidade de anticorpos anti-BMP neste grupo. A capacidade máxima de torque foi obtida no grupo controle.

Taga e Cestari (1997) avaliaram o potencial da matriz óssea bovina desmineralizada, no reparo de defeitos ósseos perenes provocados em crânios de cobaias. Um total de 24 defeitos de 8 mm de diâmetro foi produzido com trefina cirúrgica na calvária de 12 cobaias machos e adultos. Em cada animal, um defeito foi preenchido com partículas da matriz óssea bovina, aglutinadas com sangue do próprio animal, e outro com coágulo sanguíneo. As calvárias de grupos de 4 cobaias foram coletadas após 1, 3 e 6 meses. Os espécimes descalcificados foram processados e foram feitos cortes histológicos semi-seriados de 6 μ m. A análise histológica indicou que: a) todos os defeitos ósseos preenchidos com apenas coágulo sanguíneo estavam totalmente abertos e continham

tecidos conjuntivos fibrosos; e b) nos defeitos ósseos preenchidos com matriz óssea bovina, as partículas foram reabsorvidas, em quase sua totalidade já após 3 meses. Aos 6 meses, o espaço da lesão estava totalmente ocupado por tecido ósseo em estado avançado de organização lateral.

Boyne, Nath e Nakamura (1998) realizaram um estudo para comparar a utilização da proteína óssea morfogenética (rhBMP-2) e osso medular autógeno particulado esponjoso (PMCB) histologicamente durante a regeneração de defeitos criados cirurgicamente, simulando fissuras maxilares em macacos jovens da espécie *Macaca mulata* (rhesus). Concluíram que rhBMP-2 em combinação com um osteocondutor apropriado pode ser um substituto efetivo para enxerto autógeno de PMCB na reconstrução de defeitos ósseos de fissuras congênitas de maxila.

Seto et al. (2001) fizeram um estudo para avaliar se as rhBMP-2 podem ser usadas para regenerar uma parte ressecada da mandíbula de um modelo primata. Eles criaram defeitos ósseos em segmentos mandibulares de macacos japoneses, fabricaram uma solução de rhBMP-2 e ácido co-lático poliglicólico (PGLA) e osso liofilizado para fazer um complexo de BMP/PGLA. O complexo rhBMP-2/PGLA e osso medular autógeno, em proporção de 3:0, 2.5:0.5 e 2:1 (vol:vol) foram implantados nas cavidades ósseas em 3 macacos. Osso medular e PGLA isolados foram implantados em 1 macaco como controle. Os animais foram mortos 16 semanas depois da cirurgia, seguidos de avaliação radiológica e histológica. O osso medular implantado isoladamente resultou na reconstrução da mandíbula; mas a implantação do complexo rhBMP-2/PLA mostrou apenas um pequeno aumento na formação óssea. A combinação de enxerto de rhBMP-2/PGLA e osso medular resultou em um menor grau de formação óssea; a combinação 2:1 mostrou o mesmo resultado da implantação de osso medular isolado. Portanto os autores concluem que a

combinação de enxerto de rhBMP-2 e osso medular, é um método seguro para reconstrução de defeitos mandibulares segmentares, neste modelo de estudo animal.

Marukawa et al. (2001) avaliaram os efeitos das rhBMP-2 na formação óssea de defeitos no osso alveolar mandibular de primatas jovens (macacos rhesus), de forma isolada e saturada em esponja gelatinosa revestida de ácido glicólico-co-polilático (PGLA), e chegaram à conclusão que em combinação com PGLA, sua técnica pode ser uma alternativa efetiva na substituição do enxerto ósseo autógeno para reconstrução cirúrgica na prática clínica, entretanto na forma isolada, a rhBMP-2 não demonstrou tanta eficiência, exigindo então um material osteocondutor para grandes defeitos ósseos.

2.7 Uso de BMP associado a Membranas

Fritz et al. (2000) fizeram experimento em 18 macacos adultos da espécie *Macaca mulatta* para determinar como membranas de grande comprimento podem permanecer em posição em grandes defeitos ósseos, para promover regeneração óssea guiada. Eles criaram 36 lesões nas mandíbulas dos 18 macacos, com defeitos padronizados de 8 x 19 mm. Sobre os defeitos foram fixadas membranas reforçadas (ePFTE) com mini parafusos. Nenhum material foi adicionado ao defeito. Os resultados indicam, através de radiologia digital e histomorfometria, que nenhum aumento ósseo foi observado nas membranas expostas por 1 mês ou menos, porém houve um ganho ósseo de aproximadamente mais de 9% dos defeitos, onde foi observado em 12 meses quando membranas foram posicionadas no lugar

por 2 a 12 meses ($p < 0,0001$). Nenhuma diferença significativa de ganho ósseo foi observada em 12 meses, pelas membranas posicionadas no lugar com intervalos variando de 2 a 12 meses. Uma significativa correlação entre a contagem de ganho ósseo observado, em 3 e 12 meses, foi verificado ($p < 0,0001$). Portanto, com base nos dados de seu trabalho, os autores sugerem que membranas fixadas no lugar por 1 mês ou menos resultaram em mínimo ganho ósseo comparado com membranas fixadas no lugar por 2 a 12 meses. No mais, exames histológicos claramente mostram que o osso produzido depois de 2 meses da inserção da membrana é maduro.

Gaulgut (1993) utilizou membranas biodegradáveis na regeneração tecidual guiada e verificou uma cicatrização rápida, com recuperação da anatomia e do epitélio queratinizado e mínima retração do tecido mole. O autor concluiu que esse material biodegradável eliminaria um segundo procedimento cirúrgico de remoção e pode ser utilizado como rotina em procedimentos cirúrgicos de regeneração.

Hedner e Linde (1995) estudaram o efeito na cicatrização em defeitos ósseos em mandíbulas de rato, padronizados em 5 mm, de BMPs de origem bovina, protegidos por membranas de politetrafluoretileno (e-PTFE). Os autores colocaram bBMP em alguns defeitos e em outros não, e protegeram apenas alguns defeitos com membranas, não a totalidade deles. Fizeram avaliações histológicas após 12 e 24 dias de cirurgia, e concluíram que os grupos com bBMP protegidos com as membranas, e os grupos sem bBMPs, mas protegidos com as membranas, tiveram os mesmos resultados mais rápido em relação aos outros grupos. Os autores sugerem que a presença de uma membrana de e-PTFE previne a degradação do material carreador, desse modo reduzindo a viabilidade das BMPs.

Zellin e Linde (1997) investigaram se as barreiras de membranas que foram precocemente expostas para promover cicatrização óssea no esqueleto craniofacial são capazes de produzir cicatrização óssea em defeitos ósseos longos isoladamente ou em combinação com rhBMP-2, em um modelo experimental em ossos longos de coelhos. Eles fizeram um defeito no osso rádio de rato de 10 mm, tamanho crítico em coelhos, e trataram com fixação de membranas dilatadas de politetrafluoretileno, e o resultado mostrou a formação mínima de osso no interior do defeito, e o colapso das membranas foi muito comum. Porém quando utilizaram as membranas em combinação com o implante de rhBM-2, ocorreu a formação de um filete ósseo ligando os dois cotos dos defeitos em 10 semanas. Segundo os autores, que membranas osteoindutoras combinadas com rhBMP-2 podem produzir uma completa cicatrização dos ossos longos de coelhos.

Proposição

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo visa avaliar o conhecimento dos cirurgiões buco-maxilo-facias sobre as proteínas ósseas morfogenéticas como coadjuvante no processo de reparo de defeitos ósseos da face, e fazer uma relação com sua utilização clínica deste material no Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste estudo foram distribuídos questionários direcionados, os quais foram lidos pelos participantes, na frente do pesquisador, respondidos e devolvidos imediatamente. Foi analisado um total de 100 questionários preenchidos por profissionais da área da cirurgia e traumatologia buco-maxilo-facial, tratando-se de especialistas ou relacionados à área, que estiveram presentes no XVII Congresso Brasileiro de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, realizado em Gramado/RS – Brasil, em setembro de 2003, e foram distribuídos de forma aleatória para os participantes do congresso, independentemente de sua origem, formação, estado em que trabalha, sexo, idade e tempo de formação (APÊNDICE B). Os questionários foram preenchidos de forma independente, e depois entregue ao pesquisador.

A intenção deste questionário foi idealizada baseado nas informações colhidas de artigos científicos, direcionados ao uso clínico das proteínas ósseas morfogenéticas. Antes dos profissionais lerem e responderem os questionários, concordaram em assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) que constava em anexo ao mesmo à frente do questionário. Os questionários foram divididos em duas partes: uma com informações pessoais dos participantes como nome, idade, sexo, o local onde se formou (estado e faculdade), estado onde trabalha, tempo de formado, sua especialidade, se o participante tem ligação com a área acadêmica e se trabalha em âmbito hospitalar ou não. A outra parte do questionário foi composta por questionamentos específicos, onde é importante saber se o participante conhece o produto e se já o utilizou, se o participante

utiliza ou já utilizou o produto, há quanto tempo utiliza, qual o tipo de proteína óssea morfogénica utilizado, que estão divididas em recombinante ou bovina, seu grau de satisfação com o resultado do material e em quais situações cirúrgicas utilizou. Se o participante não utilizou, o motivo foi questionado. O questionário segue anexo.

Os dados dos questionários foram apurados e tabulados pelo programa EPI5 Info Versão 5.01b do CDC, Dean et al. (1990) e depois analisados de forma descritiva, conforme orientação do estatístico que avaliou os resultados da pesquisa.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Desta pesquisa pode-se observar que dos 100 participantes, 63 são do sexo masculino e 37 do sexo feminino (Tabela 5.1 e 5.2). Dentre a faixa etária de 20 a mais de 60 anos a mais prevalente foi a de 20 a 30 anos, tanto do sexo masculino quanto do feminino, fazendo um total de 61% do total dos participantes. Em seguida a idade de 31 a 40 anos e a partir daí em ordem decrescente como mostra a Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Distribuição da freqüência dos participantes de acordo com o Sexo e a Idade

Sexo	Idade	20-30		31-40		41-50		51-60		Mais de 60		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Masculino		35	35%	17	17%	07	07%	03	03%	01	01%	63	63%
Feminino		26	26%	05	05%	06	06%	00	00%	00	00%	37	37%
Total		61	61%	22	22%	13	13%	03	03%	01	01%	100	100%

Em relação ao tempo de formado, os cirurgiões dentistas que participaram da pesquisa foram divididos de três em três anos, começando de 0 a 3 e terminando em mais de 20 anos de formados. O grupo que mais participou foi de 0 a 3 anos de formados, confirmando a participação maior de recém-formados, formando 40% do total, seguido dos 26% de 4 a 7 e assim por diante, como explica a Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Distribuição da frequência dos participantes de acordo com o Gênero e o Tempo de Formado

Anos de Formados Sexo	0-3		4-7		8-11		12-15		16-20		+ de 20		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Masculino	23	23%	20	20%	05	05%	05	05%	05	05%	05	05%	63	63%
Feminino	17	17%	06	06%	04	04%	04	04%	01	01%	05	05%	37	37%
Total	40	40%	26	26%	09	09%	09	09%	06	06%	10	10%	100	100%

Foi feita uma análise das áreas onde os participantes atuam profissionalmente, dentre o quais hospitais, setor acadêmico ou docência, como faculdade e cursos de especialização, e outros locais como consultórios ou demais lugares. Observou-se que houve uma prevalência de atuação no âmbito hospitalar e no setor acadêmico de com um índice de 42%, seguido dos que trabalham somente em hospitais (39%), depois dos que atuam em outros locais (16%), e dos que se dedicam somente à docência (12%) Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Relação entre utilização ou não das BMPs e sua área de atuação clínica.

	Docência		Hospitalar		Docência/Hospital		Outros		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Utiliza	1	01%	4	04%	10	10%	3	03%	18	18%
Não Utiliza	11	11%	26	26%	32	32%	13	13%	82	82%
Total	12	12%	30	30%	42	42%	16	16%	100	100%

A Tabela 5.4 faz uma relação entre os participantes que conhecem as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), com os que utilizam ou não utilizam este produto e, pode-se observar que dos 100 participantes, 68 conhecem o material e 32 não conhecem. Dos 68 profissionais que conhecem o material, apenas 18 já utilizaram o produto alguma vez; sendo que 50 jamais utilizaram. Portanto, do total de participantes, apenas 18% já utilizou BMP. (Tabelas 5.3 e 5.4). Dentre os 68 participantes que disseram conhecer o produto, 26,4% utilizam ou já utilizaram o produto.

Tabela 5.4 – Correlação dos participantes que utilizaram o material (BMPs) e seu conhecimento

	Conhece		Não Conhece		Total	
	N	%	N	%	N	%
Utiliza	18	18%	00	00%	18	18%
Não Utiliza	50	50%	32	32%	82	82%
Total	68	68%	32	32%	100	100%

Dentre os participantes que utilizam BMPs, considerando o grupo de participantes da Tabela 5.5, pode-se notar que o resultado foi favorável à BMP, mais de 66% consideram o produto muito bom. Importante ressaltar que o total de participantes que utilizaram o material encontrados na Tabela 5.5 é maior do que encontrado no total de participantes que utilizaram o material na pesquisa. Isso se deve ao fato de um mesmo participante ter utilizado mais de um tipo de BMP.

Os tipos de BMP pesquisados foram as recombinantes humanas (rhBMPs), bovinas (bBMPs) e combinações de BMPs, seja entre elas mesmas, com outros materiais como os

sintéticos ou até mesmo enxertos ósseo autógenos. Foi possível observar que o tipo mais utilizado foi a bBMP (63,6%), seguida da rhBMP (27,3%). Apenas 02 participantes utilizaram combinações de BMPs com materiais (1,1%) em situações distintas (Tabela 5.5)

Tabela 5.5 – Relação entre tipo de BMP e o Grau de Satisfação dos profissionais que participaram da pesquisa com as BMPs

Qualidade Tipo	Regular		Bom		Ótimo		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
rhBMP	01	16,7	04	66,7	01	16,0	06	100,0 (27,3)
bBMP	01	7,1	11	78,6	02	14,3	14	100,0 (63,6)
Combinações	01	50,0	00	00,0	01	5,0	02	100,0 (01.1)

Numa relação entre as possíveis regiões e situações que os cirurgiões-dentistas poderiam utilizar o material, entre em alvéolos após exodontia simples, após exodontia múltipla, no auxílio à reparação óssea para implantes dentários, como auxiliar no levantamento de seio maxilar, em defeitos mandibulares e maxilares em geral, houve quase uma equiparação entre os resultados. Porém, a região mais indicada foi em levantamento de seio maxilar (24,5%), seguida por alvéolos após exodontia simples (22,4%), na seqüência quase com as mesmas porcentagens foram utilizadas como auxiliar em cirurgias de implantes dentários (14,3%), e em outras regiões não citadas da face (14,3%), assim como em defeitos mandibulares (12,2%), defeitos maxilares (10,2%), e por fim em alvéolos após exodontias múltiplas (2,0%) (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 – Relação entre a região onde as BMPs foram utilizadas com os tipos de BMPs.

Tipo/ Regiões	rhBMP		bBMP		Combinações		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Exodontia Simples	02	18,2	07	63,6	02	18,2	11	100,0 (22,4)
Exodontia Múltipla	00	00,0	01	00,0	00	00,0	01	100,0 (00,0)
Implantes	01	14,3	04	57,1	02	28,6	07	100,0 (14,3)
Levantamento de seio maxilar	03	25,0	07	58,3	02	16,7	12	100,0 (24,5)
Defeito Mandibular	02	33,3	04	66,7	00	00,0	06	100,0 (12,2)
Defeito Maxilar	01	20,0	04	80,0	00	00,0	05	100,0 (10,0)
Outros	03	42,9	04	57,1	00	00,0	07	100,0 (14,3)

Dentre os participantes que jamais utilizaram BMPs, que equivalem a 82% do total, foram citadas como justificativas para o não uso: a falta de conhecimento adequado sobre o material em primeiro lugar (62,2%), seguida pela falta de oportunidade cirúrgica específica e apropriada para o uso do material (58,5%), depois pelo seu alto custo no mercado (45,1%), seguida pelo difícil acesso ao material por ser pouco divulgado (30,5%), e por último pelo difícil manuseio do material (6,1%) (Tabela 5.7). É importante ressaltar que a soma desse total ultrapassa 100%, porém isso se deva a um mesmo profissional apresentar mais de um motivo para não utilizar o produto.

Tabela 5.7 – Correlação entre os motivos que levam os participantes a não utilizarem BMPs

Motivo	Sim		Não		Não Sei		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Falta de Oportunidade	48	58,5	34	41,5	00	00,0	82	100,0
Falta de Conhecimento	51	62,2	31	37,8	00	00,0	82	100,0
Alto Custo	37	45,1	27	32,9	18	22,0	82	100,0
Difícil Manuseio	05	6,1	52	63,4	25	30,5	82	100,0
Difícil Acesso	25	30,5	39	47,6	18	22,0	82	100,0

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Há mais de trinta anos pesquisas têm conseguido isolar e purificar proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), que é uma substância que tem mostrado induzir formação óssea ectópica em várias espécies de animais.

Recentes avanços frente à biologia desenvolvimental, biologia molecular, genética e o processo de cicatrização, tem mostrado que as BMPs não são apenas responsáveis pela indução óssea após o nascimento (incluindo estimulação à formação óssea normal, cicatrização e remodelação), mas também são críticas durante a embriogênese e formação de outros tecidos e órgãos, até a idade madura (LYONS et al., 1990; SONG et al., 1995; LEE, 1997; RIPAMONTI E REDDI, 1997; WOZNEY, 1998; RIPAMONTI; DUNEAS, 1998; DUCY; KARSENT, 2000 SCHILIEPHAKE, 2002), como o fígado, rim, tecido cutâneo e todo o sistema esquelético.

Pesquisadores têm chamado atenção sobre as enormes possibilidades da aplicação clínica dessas BMPs no estímulo à regeneração de defeitos ósseos crânio-buco-faciais (BESSHO et al., 1991; RIPAMONTI e REDDI, 1994 e 1997; SIGURDISSON et al., 1995b; TAGA et al., 1997), como exemplo em levantamento de seio maxilar, em implantes dentários, como auxiliar no reparo de fraturas dos maxilares, na cicatrização de alvéolos dentários após exodontias múltiplas, entre outros defeitos dos maxilares. Urist et al. (1993), já havia comentado sobre essas possibilidades, no entanto, tinham salientado que isso só seria viável se desenvolvessem métodos para obtenção a custo menor; de quantidades ilimitadas dessas proteínas indutoras da osteogênese em cada composto comercial. Como

isto ainda não é possível, pelo menos no Brasil, matriz óssea liofilizada humana e osso autógeno continuam sendo amplamente utilizados principalmente na área odontológica.

Taga et al. (1997) já afirmava que o alto custo e a dificuldade de obtenção de osso humano viável em quantidade, associado à proibição da comercialização de produtos de órgãos e tecidos humanos em vários países, dificultaria a comercialização de produtos originados de tecido humano no mercado brasileiro e europeu, obrigando esses lugares a optar por alternativas, como o osso bovino, no caso do Brasil, com as mesmas finalidades. No presente estudo pode-se perceber a maior preferência, por parte dos participantes, pelas proteína ósseas morfogenéticas bovinas (63,3 %). Isto se deve ao fato de serem fabricadas e comercializadas no Brasil; o que difere das proteínas recombinantes humanas que têm sua produção em maior escala em países de primeiro mundo, predominantemente nos Estados Unidos da América, que domina sua produção e comercialização (KENLEY et al., 1993). Portanto, sendo as BMPs de origem bovina fabricadas e comercializadas no Brasil, estas têm seu preço reduzido no mercado, e sendo assim mais fácil o acesso para seu uso comercial.

Porém, os profissionais que participaram desta pesquisa afirmaram que, mesmo sendo as BMPs de origem bovina fabricadas e comercializadas no Brasil, sentem dificuldade em ter acesso ao material. Relataram existir pouca divulgação no mercado, que não conhecem adequadamente o produto por este motivo, e não sabem onde comprá-lo. Pode-se perceber com o presente estudo que as BMPs recombinantes humanas apresentam um alto custo no mercado, devido a ser um material importado, o que dificulta o uso clínico comercial deste tipo de proteínas no Brasil, apesar de ser considerado um material de qualidade superior segundo alguns autores como Wozney (1995) e Kusumoto et al. (1997). Lindholm (1996), entretanto, discorda do autor anteriormente citado quando afirma que a

capacidade osteogênica das proteínas bovinas é 10 (dez) vezes maior, quando comparada com a recombinante humana-2.

Dentre os trabalhos pesquisados, houve um empate na frequência de pesquisas em cobaias, sejam humanas ou animais, entre as proteínas ósseas de origem bovina (XIANG et al., 1993; TAGA et al., 1997; FERGURSON et al., 1997; SAILER; KOL, 1994; HENDER; LINDE, 1995), as recombinantes humanas (NEVINS et al., 1996; SETO et al., 1997; BOYNE et al., 1998; MARUKAWA et al., 2001; BOYNE, 1996; ZELLIN; LINDE, 1997), e com proteínas ósseas em combinações com outros materiais como coral (GAO et al., 1997), osso autógeno (SIGURDSON et al., 1995; NUNES ; TAMES e VALCANAIA, 1997), BMP com outros fatores de crescimento como os TGF- β , OP-1 (RIPAMONTI et al., 1997; SI et al., 1998), e BMPs originadas de outros animais. Não foi encontrada nenhuma pesquisa que invalidasse qualquer tipo de BMP quanto a sua capacidade osteoindutiva, inclusive as proteínas extraídas de alce e implantadas em carneiros (GAO et al., 1997), ou de rato, de forma autógena (NUNES, TAMES; VALCANAIA, 1997). Ripamonti e Reddi (1994) constataram a homologia entre BMPs recombinantes humanas (rhBMPs) e as BMPs nativas isoladas da matriz óssea de vários animais, e idêntica à rhBMP-3, com as mesmas propriedades osteoindutivas da mesma.

A capacidade osteoindutiva das proteínas recombinantes humana e bovina, foram estudadas e autores como Lindholm (1996) sugerem que a atividade das rhBMPs-2 corresponde a 1/10 da bBMP, enquanto que Ripamonti e Reddi (1994) afirmam o sucesso das BMPs bovinas no tratamento de lesões perenes da face e crânio, de forma homóloga às clonagens das BMPs humanas.

Trabalhos como os de Boyne, Nath e Nakamura (1998) e Marukawa et al. (2001), que utilizaram RhBMP-2 de forma isolada e em combinação com osso medular e saturada

em esponja gelatinosa revestida de ácido glicólico-co-polilático (PGS), respectivamente, em primatas não-humanos, chegaram a conclusão de que rhBMP-2 em combinação com um osteocondutor apropriado, pode ser um substituto efetivo para enxertos autógenos, na reconstrução de defeitos ósseos críticos. Seto, Asahina e Oda (2001) concordam que rhBMP-2 em combinação com osso medular é um método seguro para reconstrução de defeitos mandibulares segmentares, porém no estudo que realizaram, ficou comprovada que a implantação do complexo de rhBMP-2, ácido co-polilático (PGLA) e osso liofilizado têm uma resposta pequena comparada com a proporção de 2:1 com o osso medular. Sabe-se que ainda não se conseguiu reproduzir laboratorialmente todas as propriedades osteoindutoras, osteocondutoras e remodeladoras dos enxertos ósseos autógenos em um único material, porém estudos como os de (URIST 1965, 1971, 1982, 1983, 1984) que relataram as propriedades físico-químicas osteoindutoras das BMPs e de estudos como os de Toriumi et al. (1991), Sigurdsson et al. (1995); Nevins et al. (1996), Nunes, Tames e Valcania (1997); Boyne, Nath e Nakamura (1998); Seto et al. (2001), provam as propriedades descritas anteriormente em pesquisas com animais e seres humanos, nos concitando a aceitar as excelentes propriedades das BMPs na tentativa de substituir o osso medular na reconstrução óssea.

Existe uma linha desta pesquisa que prefere a utilização de membranas osteocondutoras para a realização de reconstrução de grandes defeitos ósseos com materiais osteoindutores como as BMPs. Fritz et al. (2000) em seu estudo sobre membranas colágenas de grande comprimento em mandíbulas de macacos, confirmam o estudo. Zellin e Linde (1997) que utilizaram membranas dilatadas de politetrafluoretileno em coelhos, e concluem que combinadas com rhBMPs podem fornecer uma completa reparação de grandes defeitos

ósseos dos animais. Este presente estudo não pesquisou o uso clínico de membranas absorvíveis ou não, associadas às proteínas morfogenéticas ósseas dentre os participantes, mas é importante saber da importância do uso das membranas como auxiliar na modelação da formação óssea necessária.

É importante salientar que, apesar das incessantes pesquisas em bibliotecas virtuais como a Bireme, Pubmed, medline, lilacs, bbo, em bibliotecas não virtuais, em várias revistas e jornais científicos da área da saúde não foi possível encontrar artigos que os autores tivessem pesquisado sobre a frequência do uso clínico e comercial das proteínas ósseas morfogenéticas, em determinado país ou região, dificultando a realização da discussão desta dissertação de mestrado. Entretanto, fazendo uma comparação entre os tipos de cobaias mais utilizados, dentre os artigos pesquisados, apenas um foi feito em humanos, o que experimentou as proteínas ósseas morfogenéticas em pacientes com síndromes de Apert e Cruzon. Estas pessoas apresentam deformidades crânio-faciais de grande porte, e as proteínas ósseas morfogenéticas responderam muito bem aos testes (SAILER; KOLB, 1994). Os outros animais bastante utilizados nas pesquisas foram os primatas e os ratos, em sua maioria.

Eventos de neoformação óssea descrita em animais adultos, após implantação das BMPs, são similares àqueles observados durante o desenvolvimento embriogênico de ossos longos, onde um modelo cartilaginoso é formado primeiro, seguido pela vascularização e ossificação (LYON et al., 1990). Dentre as regiões mais escolhidas entre os pesquisadores para testar o poder osteoindutivo das proteínas ósseas morfogenéticas, áreas do crânio de animais e tíbia, foram as mais utilizadas (TAGA et al., 1997; NUNES; TAME; VALCANIA, 1997; FERGURSON et al., 1994; GAO et al., 1997). Fazendo uma analogia com as regiões preferencialmente escolhidas pelos participantes deste estudo para

utilizar materiais osteoindutores, como as BMPs, é possível observar que difere das regiões escolhidas pela maioria dos pesquisadores para testar os produtos. Os participantes escolheram primeiramente utilizar o material como auxiliar na formação óssea em cirurgias de levantamento de seio maxilar (24,5%), seguida em alvéolos após exodontia simples (22,4%), e apenas em quarto lugar fazem uso em regiões da face que não foram citadas nos questionários (14,3%), como em defeitos congênitos dos maxilares e crânio, e em fraturas.

Infelizmente o questionário deste estudo apresenta limitações quanto à sua estrutura, pois não foi elaborado segundo exemplos colhidos da literatura de outros estudos, já que este estudo não foi realizado até o momento por nenhum autor, sendo este questionário original. Então não foi possível encontrar na literatura pesquisas passíveis de comparações para torná-lo mais austero. Porém, dentro das questões propostas foi possível obter as informações necessárias para responder a proposição deste estudo.

Segundo as respostas obtidas através da questão subjetiva (13) “Gostaria de sugerir mudanças para diminuir suas dificuldades?” do questionário, pode-se perceber que a maioria dos participantes sugere uma maior divulgação do produto já que 100% dos participantes que já utilizaram o produto gostariam de continuar utilizando as BMPs, e 81% dos que nunca utilizaram gostariam de utilizar. Um dos motivos que não se utiliza BMPs no Brasil é a falta de conhecimento adequado sobre o produto. Esta divulgação poderia advir, segundo sugestões dos próprios participantes da pesquisa, através de cursos específicos sobre materiais para enxertia óssea, que incluam uma boa quantidade e qualidade de informações sobre as BMPs, e outros materiais para enxertia óssea, explanando sobre suas vantagens e desvantagens, indicações e contra-indicações. Segundo estudos de autores como Schliephake (2000); Wang et al. (1993); Ripamonti et al. (1995); Sigurdsson et al. (1995); Sigurdsson (1995b) que comprovaram as BMPs são efetivas na osteogênese e

reparo de pequenos defeitos ósseos, como lesões de furca e outras doenças periodontais e na osseointegração com implantes de titânio, é muito importante, então que seja feita uma maior divulgação das BMPs no Brasil para sua utilização clínica entre os profissionais na área.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

A constante falta de dados clínicos sobre as proteínas ósseas morfogenéticas pode prolongar o período da introdução deste fator na aplicação clínica rotineira no Brasil. A falta de divulgação das BMPs junto aos profissionais interessados, dificulta o acesso ao material e, conseqüentemente sua utilização.

O alto custo do material no Brasil é um empecilho para que os profissionais adquiram as BMPs. Muitos não utilizam nenhum tipo de material, ou procuram outro material que tenha um acesso mais fácil, e um custo menor.

Dentre os participantes que utilizam ou já utilizaram BMPs, há uma unanimidade em afirmar o potencial das BMPs no auxílio do processo de reparação óssea de defeitos ósseos.

Conclui-se pelo descrito que 68% dos participantes, ou seja, a grande maioria dos profissionais que participaram da pesquisa conhecem as BMPs, porém não as utilizam por falta de um conhecimento adequado do material ou pelo alto custo.

Referências

REFERÊNCIAS ¹

- Aspenberg P, Stefan L, Lohmander LS, Thorngren KG. Failure of bone induction by bone matrix in adult monkeys. *J Bone Joint Surg* 1988;70-B(4):625-7.
- Becker W, Urist MR, Tucker LM, Becker BE, Ochsenein C. Human demineralized freeze – dried bone? Inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. *J Periodontol* 1996;66(9):822-8.
- Bennett JH; Hunt P, Thorogood P. Bone morphogenetic protein-2 and -4 expression during murine orofacial development. *Arch Oral Biol* 1995;40(9):847-54.
- Bessho K, Tagawa T, Murata M. Analysis of bone morphogenetic protein (BMP) derived from human and bovine bone matrix. *Clin Orthop* 1991;(268):226-33.
- Bowers GM, Reddi AH. Regeneration of the periodontium in advanced periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1992;122:45-8.
- Boyne PJ. Animal studies of application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone* 1996;19(1suppl):83s-92s.
- Boyne PJ, Nath R, Nakamura A. Human recombinant BMP-2 in osseous reconstruction of simulated cleft palate defects. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1998;36(2):84-90.
- Chaudhari A, Ron E, Rethman MP. Recombinant human morphogenetic protein-2 stimulates differentiation in primary cultures of fetal rat calvarial osteoblasts. *Mol Cell Biochem* 1997;167(1):31-9.
- Dean AG, Dean JA, Burton AH, Dicker RC. *Epi Info, Version 5: a word processing, data base, and statistics program for epidemiology on microcomputers centers for Disease Control Atlanta, Georgia, USA, 1990*
- Ducy P, Karsenty G. The family of bone morphogenetic proteins. *Kidney Int* 2000; 57(6):2207-14.
- Ferguson D, Urist MR, Allen EP. Bovine bone morphogenetic protein (bBMP) fraction induce repair of craniotomy defects in the rhesus monkey (*Macaca speciosa*). *Clin Orthop* 1994; (219):251-8.

¹ De acordo com o Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo as bases de dados MEDLINE

- Fritz ME, Jeffcoat MK, Reddy M, KTH D, Braswell Ld, M J, Lemons J. Guided bone regeneration of large mandibular defects in a primate model. *J Periodontol* 2000;71(9):1484-91.
- Gao Y, Yang L, Fang Y-R, Mori, Kawahara K, Tanaka A. The inductive effect of bone morphogenetic protein (BMP) on human periodontal fibroblast-like cells *in vitro*. *J Osaka Dent Univ* 1995; 29(1):9-17.
- Gao TJ, Lindholm TS, Kommonen B, Ragni P, Paronzini A, Lindholm TC, Jalovaara P, Urist MR. The use of a coral composite implant containing bone morphogenetic protein to repair a segmental tibial defect in sheep. *Int Orthop* 1997;21:194-200.
- Galgut PN. Biodegradable dressing material used in guided tissue regeneration of periodontal tissues: a case report. *Quintessence Int* 1993,24(1):25-7.
- Growth factors and their potential use in bone grafting procedures for dental implants. *Dental Implant Update* [periodico on line] 2002;13(1):1-8. Disponível em: URL:<http://www.ahcpub.com/online.html>. [2002 sept 30]
- Hanada K, Dennis JE, Caplan AI. Stimulatory effects of basic fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein-2 on osteogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res* 1997;12(10):1606-14.
- Harris D. Advanced surgical procedure: bone augmentation. *Dental Update* 1997;24(8):332-7.
- Hedner E, Linde A. Efficacy of bone morphogenetic protein (BMP) with osteopromotive membranes – an experimental study in rat mandibular defects. *Eur J Oral Sci* 1995;103:236-41.
- Hughes FJ, Collyer J, Stanfield M, Goodman SA. The effects of bone morphogenetic protein-2, -4 and -6 on differentiation of rat osteoblast cells *in vitro*. *Endocrinology* 1995;136(6):2671-7.
- Kenley RA, Yim K, Abrams J, Ron E, Turek T, Marden LJ, Hollonger JO. Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharmaceutical Research* 1993;10:1393-401.
- Kinoshita A, Oda S, Takahashi R, Yokota S, Ishikawa I. Periodontal regeneration by application of recombinant human bone morphogenetic protein-2 to horizontal circumferential defects created by experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontal* 1997;68(2):103-9.
- Kusomoto K, Bessho K, Fujimura K, Ogawa Y, Iizura T. Intramuscular osteoinduction and bone marrow formation by the implantation of rhBMP-2 with atelopeptide type I collagen. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1997;35(6):433-7.

Lee MB. Bone morphogenetic proteins: Background and implications for oral reconstruction: a review. *J Clin Periodontol* 1997; 24(6):355-65.

Levine JP, Bradley J, Turk AE, Ricci JL, Steiner G, Longaker MT, et al. Bone morphogenetic protein promotes vascularization and osteoinduction in preformed hydroxyapatite in the rabbit. *Ann Plast Surg* 1997;39(2):158-68.

Lindholm TS. Bone morphogenetic proteins: biology, biochemistry and reconstructive. Texas; Landes; 1996.

Lindsey WH. Osseous tissue engineering with gene therapy for facial bone reconstruction. *Laryngoscope* 2001;111(7):1128-36.

Lyons KM, Pelton RW, Hogan BLM. Organogenesis and pattern formation in the mouse? RNA distribution patterns suggest a role for bone morphogenetic protein-2 A (BMP-2A). *Development* 1990;109:822-44.

Marukawa E, Asahina L, Oda M, Seto I, Alam MDJ, Enomoto S. Bone regeneration using recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in alveolar defects of primate mandibles. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2001;39(6):452-9.

Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wonzney JA, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16(1):9-19.

Nunes AB, Tames DR, Valcanaia TDC. Potencial osteogênico do transplante autógeno de osso imaturo. *Rev Bras Cirurg Impl* 1997;4(2):19-23.

Ong JL, Cardenas HL, Cavin R, Carnes DL Jr. Osteoblast responses to BMP-2 Treated Titanium in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12(5):649-54.

Oringer RJ. Biological mediators for periodontal and bone regeneration. *Comp Contin Educ Dent* 2002;23(6):501-14.

Puleo DA. Dependence of mesenchymal cell responses on duration of exposure to bone morphogenetic protein-2 in vitro. *J Cell Physiol* 1997;173(1):93-101.

Ripamont U, Duneas N, Van Den Heever B, Bosch C, Crooks J. Recombinant transforming growth factors- β 1 induces endochondral bone in the baboon and synergizes with recombinant osteogenic protein-1 (Bone Morphogenetic Protein-7) to initiate rapid bone formation. *J Bone Miner Res* 1997;12(10):1584-95.

Ripamont U, Duneas N. Tissue morphogenesis and regeneration by morphogenetic proteins. *Plastic Reconst Surg* 1998;1(1):227-39.

- Ripamonti U, Heliotis M, Van den Heever B, Reddi AH. Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (*Papio ursinus*). J Periodontal Res. 1994;29:439-45
- Ripamonti U, Reddi AH. Periodontal regeneration: Potential role of bone morphogenetic proteins. J Periodontal Res 1994; 29:225-35.
- Ripamonti U, Reddi AH. Tissue engineering, morphogenesis, and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. Crit Rev Oral Biol Med 1997;8(2):154-63.
- Ripamonti U, Vulkicevic S. Bone morphogenetic proteins: From developmental biology to molecular therapeutics. S Afr J Sci 1995;91:227-80.
- Rutherford RB, Spangberg L, Tucker M, Rueger D, Charette M. The time-course of the induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-1. Arch Oral Biol 1994;39(10):833-9.
- Sailer FS, Kolb E. Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) preparations in cranio-maxillo-facial surgery. J Craniomaxillofac Surg 1994;22(4):191-9.
- Schilephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction [Review]. Int J Oral Maxillofac Surg 2002;31(5):469-84.
- Sasano Y, Mizoguchi I, Takahashi I, Kagayama M, Saito T, Kuboki Y. BMPs Induce endochondral ossification in rats when implanted ectopically within a carrier made of fibrous glass membrane. Anat Rec 1997; 247(4):472-8.
- Seto I, Asahina I, Oda M, Enomoto S. Reconstruction of the primate mandible with a combination graft of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and bone marrow. J Oral Maxillofac Surg 2001;59(1):53-61.
- Si X, Jin Y, Yang L. Induction of new bone by ceramic bovine with recombinant human bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor β . Int J Oral Maxillofac Surg 1998;27(4):310-4.
- Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjo UME. Periodontal repair in dogs? Recombinant human bone morphogenetic protein -2 significantly enhances periodontal regeneration. J Periodontol 1995a; 66(2):131-8.
- Song JJ, Celeste JA, Kong F, Jirtle RL, Rosen V, Thies RS. Bone morphogenetic protein -9 binds to liver cells and stimulates proliferation. Endocrinology 1995;136(10): 4293-7.
- Stone CA. A molecular approach to bone regeneration. [Review]. Br J Plast Surg 1997; 50(5):369-73.

Taga R, Cestari TM, Silva TL, Stipp ACM. Reparo de defeitos ósseos perene em crânio de cobaia pela aplicação de ossebond. *Rev Bras Implant* 1997;13:13-20.

Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg P, Holtrop ME, Wang EA. Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;117(10):1101-12.

Urist MR. Bone Formation by autoinduction. *Science* 1965;150:839-99.

Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1971;50(6):1392-406.

Urist MR, Lietze A, Mizutani H, Takagi K, Triffitt JT, Amstutz J, et al. A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein (BMP) fraction. *Clin Orthop* 1982;(162):219-32.

Urist MR, Delange JR, Firmem GAM. Bone cell differentiation and growth factors. *Science* 1983;220:680-6

Urist MR, Huo YK, Brownell AG, Hohl WM, Buyske J, Lietze A, et al. Purification of bovine bone morphogenetic protein by hydroxyapatite chromatography. *Proc Natl Acad Sci*. 1984;81(2):371-5.

Wang X, Jin Y, Liu B, Zhou S, Yang L, XI Y, White FH. Tissue reactions to titanium implants containing bovine bone morphogenetic protein: a scanning electron microscopic investigation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1994;23:115-9.

Wozney JM. The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. *J Periodontol* 1995; 66(6):506-10.

Wozney JM. The bone morphogenetic protein family: Multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur J Oral Sci* 1998;106(1):160-6.

Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988;242(?):1528-38.

Xiang W, Baolin L, Yan J, Yang X. The effect of bone morphogenetic protein on osseointegration of titanium implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993;51(6):647-51.

Zellin G, Linde A. Treatment of segmental defects in long bones using osteopromotive membranes and recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand* 1997;31: 97-104.

APÊNCIDES

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este questionário é parte integrante de um estudo que está sendo realizado pelo Departamento de Traumatologia Buco-maxilo-facial da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. O assunto abordado é sobre proteína óssea morfogenética (BMP) como enxerto ósseo para defeitos dos ossos da face. Solicitamos, por gentileza, que o questionário seja preenchido com atenção e de maneira mais fidedigna possível. Solicitamos ainda que durante o preenchimento não seja utilizado nenhum tipo de fonte bibliográfica ou comunicação com os colegas, pois o intuito da pesquisa é verificar seu conhecimento adquirido até o momento sobre o assunto referido. É de fundamental importância informar que o preenchimento deste questionário é voluntário e com seu consentimento através de assinatura no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido abaixo, e também que o profissional poderá se retirar da pesquisa a qualquer momento. Informamos também que será mantido sigilo absoluto quanto a identificação dos participantes, e só terá acesso aos dados da pesquisa os profissionais ligados a área da cirurgia buco-maxilo-facial, e os resultados da pesquisa só serão divulgados em revista científica e congressos relacionados à área. Agradecemos sua colaboração e lembramos que participando deste estudo você estará contribuindo para o avanço das pesquisas científicas no Brasil. O questionário constará de duas partes: Uma com dados pessoais, e outra específica sobre seu conhecimento sobre o material. Aceito participar da pesquisa intitulada “Estudo bibliográfico sobre a eficiência das BMPs em grandes defeitos ósseos da face”, ou seja, defeitos críticos, através do preenchimento do questionário anexo, sob a condição de receber um relatório com o resumo do estudo depois de pronto, por e-mail. Estou ciente que esta pesquisa visa certificar o conhecimento dos cirurgiões buco-maxilo-faciais no Brasil a

respeito de materiais biológicos, em especial as BMPs, para substituição do enxerto ósseo autólogo.

Ass: _____

CRO n. _____

APÊNDICE B

Questionário

I - Dados Pessoais (* é opcional)

- 1) Nome*: _____
- 2) e-mail*: _____
- 3) Onde se formou? _____
- 4) Em que estado trabalha? _____
- 5) Sexo: Feminino Masculino
- 6) Idade: 20 a 30 31 a 40 41 a 50 51 a 60 mais de 60
- 7) Quantos anos de formado? 0 a 3 4 a 7 8 a 11 12 a 15
 16 a 20 21 a 25 26 a 30 mais de 30
- 8) Qual sua especialidade? Cirurgião dentista Periodontista Cirurgião
 Buco-maxilo-facial Implantodontista Médico Outro _____
- 9) É ligado à área acadêmica? sim Não
- 10) Trabalha em Hospital? Sim Não
- 11) Trabalha em Consultório? Sim Não

II – Específicas

- 1) Conhece o Produto (BMP)? Sim Não
- 2) Utiliza ou já utilizou? Sim Não
- Se a resposta acima foi positiva continue, se foi negativa, passe para a questão 7
- 3) Qual seu grau de satisfação? Regular Bom Ótimo
- 4) Há quanto tempo utiliza? 6 meses 1 ano 2 anos Mais
- 5) Qual tipo de BMP utiliza? recombinante humana - rhBMP Qual tipo?
 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
 bovina
 Combinações. Especifique _____
 Outra. Especifique _____

6) De que forma utiliza? Marque a ou as opções abaixo

- Em alvéolos após exodontias simples
- Em alvéolos após exodontias múltiplas
- Para a ósseointegração de implantes dentários
- Em levantamento de seio maxilar
- Na reconstrução de defeitos ósseos mandibulares
- Na reconstrução de defeitos ósseos maxilares
- Outros _____

- Se não utiliza, responda as questões abaixo ou pule para a questão 10

Por que não utiliza:

- 7) Falta de conhecimento adequado sobre o material? Sim Não
 - 8) Falta de oportunidade cirúrgica? Sim Não
 - 9) Acha que o material apresenta alto custo? Sim Não
 - 10) Difícil manuseio? Sim Não
 - 11) Difícil acesso? Sim Não
 - 12) Tem vontade de utilizar? Sim Não
 - 13) Gostaria de sugerir mudanças para diminuir suas dificuldades?
-

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

77

PARECER n° 201/03
Protocolo 207/03

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa *"Estudo Bibliográfico sobre a eficácia das BMPs em grandes defeitos ósseos da face"*, de responsabilidade da pesquisadora Alessandra Arnaud Moreira.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 17 de novembro de 2003.

Profª Drª ROSA HELENA MIRANDA GRANDE
Coordenadora do CEP-FOUSP