

Trabalho de Conclusão de Curso

INFLUÊNCIA DE FATORES DE CRESCIMENTO NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTAIS

Helena Gadotti



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Helena Gadotti

**INFLUÊNCIA DE FATORES DE CRESCIMENTO NA
OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTAIS**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia.
Orientador: Prof. Dr. Rubens
Rodrigues Filho

Florianópolis

2014

Helena Gadotti

INFLUÊNCIA DE FATORES DE CRESCIMENTO NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTAIS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 24 de junho de 2014.

Banca Examinadora:

Prof., Dr. Rubens RodriguesFilho
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a, Dr.^a Gláucia Santos Zimmermann
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr.^a Isis Carvalho Encarnação
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho à
minha família e ao meu
namorado, Júnior; o
amor nos faz seguir
adiante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça da vida. Por minha família, saúde e força nos momentos de angústia, agradeço também a Ele.

Aos meus pais, Paulo Élcio e Denize, pelo amor incondicional, apoio, paciência e carinho prestados no decorrer de minha vida. Agradeço também a oportunidade de dedicar-me integralmente aos estudos ao longo destes cinco anos de graduação. Espero correspondê-los.

Aos meus irmãos, Júlia e Felipe, pela sempre agradável companhia, por compartilharem as alegrias e por me apoiarem nas dificuldades. Seguiremos sempre unidos.

Aos meus avós e a Tia Miriam, todas as suas ações são pensando no bem da família. Agradeço, em especial, às *nonnas* pelas orações direcionadas ao meu estudo.

Ao meu namorado Júnior, por todo amor, carinho e paciência. Guardo na lembrança muitos momentos agradáveis vividos juntos; muitos ainda virão.

Ao meu orientador, Rubens Rodrigues Filho, pela impressionante dedicação à profissão, ávido por conhecimento e generoso por passar esse adiante de forma tão zelosa.

Aos demais mestres, que exercem a arte de ensinar com responsabilidade e afinho, colaborando para o crescimento acadêmico e pessoal de seus alunos.

À minha amiga e dupla, Aline, agradeço pela cumplicidade e compreensão. A amizade e o respeito entre nós foi fundamental para que esta jornada fosse concluída.

Às minhas queridas amigas Bianca, Camila, Daniela e Francieli, o tempo juntas torna a rotina mais leve e agradável. Mesmo por muitas vezes distantes, o carinho e a amizade verdadeira nos mantém unidas.

Aos meus colegas de turma, a convivência com vocês, nesta fase tão importante de nossas vidas, vai ficar marcada na forma de boas lembranças. Juntos nos divertimos, passamos por dificuldades e crescemos, na busca de nos tornarmos profissionais competentes e pessoas melhores.

Aos demais familiares e amigos que estiveram ao meu lado e que, de alguma forma, contribuíram com a minha formação.

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, através de uma revisão da literatura, como os fatores de crescimento influenciam na osseointegração de implantes dentais. Foram pesquisados os fatores de crescimento mais comuns: fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP) e sua viabilidade de aplicação clínica. Comparados à utilização de outras técnicas regenerativas, como em locais onde barreiras e enxertos foram utilizados, essas substâncias indutoras do crescimento demonstraram formação e maturação ósseas estatisticamente maiores e mais rápidas, tendo sido ainda mais eficientes quando associados à utilização de barreiras físicas. Os fatores de crescimento representam uma possibilidade real na estimulação da formação óssea e diminuição do tempo de osseointegração dos implantes dentais.

Palavras-chave: fatores de crescimento; implante dental; osseointegração.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate, through a literature review, as growth factors influence the osseointegration of dental implants. The most common growth factors were investigated: insulin-like growth factor I (IGF-I), platelet-derived growth factor (PDGF) and bone morphogenetic proteins (BMP) and its applications in humans :the most common growth factors were investigated. Compared to the use of other regenerative techniques as barriers and where grafts were used, these substances induce the formation and growth have demonstrated statistically higher and faster bone maturation and has been even more efficient when associated with the use of physical barriers. Growth factors are a real possibility in the stimulation of bone formation and decreasing the time of osseointegration of titanium dental implants.

Keywords: growth factors; dental implant; osseointegration.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS- Esponjas de colágeno absorvíveis
BBM- Osso mineral bovino
BCP- Fosfato de cálcio bifásico
BIC- Contato osso-implante
BMAC- Concentrado aspirado de medula óssea
BMP- Proteínas morfogenéticas ósseas
BVD- Volume da densidade óssea
CCFDAB- Osso alogênico liofilizado
CSA- Ácido cromo sulfúrico
DFDBA- Enxerto ósseo alógeno desmineralizado
DNA- Ácido Desoxirribonúcleico
FDA- Food and Drugs Administration
FDBA- Enxerto ósseo alógeno mineralizado
IGF- Fator de crescimento semelhante à insulina
MBCP- Fosfato de cálcio bifásico macroporoso
PDGF- Fator de crescimento derivado de plaquetas
PDGFr- Receptor para fator de crescimento derivado de plaquetas
PPP- Plasma pobre em plaquetas
PRP- Plasma rico em plaquetas
rhBMP- Proteína óssea morfogenética recombinante humana
ROG- Regeneração óssea guiada
rpm - Rotações por minuto
TC- Tomografia computadorizada
TCP β - Fosfato tricálcico β
TGF β - Fator transformador de crescimento β
VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
1.1	OBJETIVOS.....	27
1.1.1	<i>Objetivo Geral.....</i>	27
1.1.2	<i>Objetivos Específicos.....</i>	27
2	METODOLOGIA.....	29
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	32
3.1	ESTUDOS <i>IN VITRO</i>	35
3.2	ESTUDOS EM ANIMAIS.....	36
3.3	ESTUDOS EM HUMANOS.....	40
4	DISCUSSÃO.....	44
5	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

A reabilitação oral a partir dos implantes osseointegrados proporciona altas taxas de sucesso e ótima previsibilidade no tratamento de pacientes portadores de edentulismo parcial ou total. No entanto, o tratamento pode ser dificultado ou até impossibilitado frente à ausência de estrutura óssea conveniente para a realização desse. Cirurgias ósseas reconstrutivas extensas, previamente à instalação de implantes, por vezes, são necessárias para alcançar um resultado funcional e estético adequado (ADELL et al., 1981; POLO et al., 2013).

A grande taxa de sucesso dos implantes é atribuída à osseointegração, definida como o contato direto entre o implante e o tecido ósseo sem que haja interposição de tecido mole, à microscopia óptica, o que indica uma relação implante-osso harmônica (ALBREKTSSON; SENNERBY, 1990). O termo osseointegração foi primeiramente descrito por Brånemark, por volta do ano 1950, quando, durante sua pesquisa, verificou que câmaras de titânio ficaram fundidas ao osso, não podendo ser removidas desse sem fraturá-lo. Vários fatores afetam a força e a taxa da osseointegração, incluindo a geometria superficial do implante, a química da superfície, a natureza e a técnica usada para preparar o leito receptor e o grau de tensão no implante durante as fases iniciais de osseointegração (MARTIN et al., 1995). Para que o processo de osseointegração ocorra de maneira adequada é necessário aguardar um período médio de 4 a 6 meses, de forma a evitar o deslocamento do implante quando submetido à carga mastigatória, podendo levar a perda do mesmo (LOUREIRO, 2010).

Condições de volume e qualidade óssea são necessárias para que ocorra a instalação do implante dental. Em pacientes que sofreram perda dentária há muito tempo, uma perda óssea significativa é esperada, seja por reabsorção, seja por pneumatização dos seios maxilares, fazendo-se necessária a aplicação de enxertos ósseos para regenerar tais perdas. A regeneração óssea se caracteriza pela devolução das propriedades mecânicas e fisiológicas semelhantes à estrutura original comprometida. Através da técnica de enxertia torna-se possível restabelecer o volume e melhorar a qualidade do tecido ósseo, no entanto, deve ser considerada a necessidade de dois momentos cirúrgicos, aumentando o período de tratamento e a necessidade de rápida formação de tecido de cicatrização para permitir adesão e fornecer vascularização ao enxerto (LENHARO; COSSO, 2001).

Atualmente, o enxerto autógeno é considerado padrão-ouro em material para substituir o osso inexistente. Entretanto, buscam-se novas alternativas menos invasivas e traumáticas que contemplem da mesma forma as características de osseoindução, osseocondução, biocompatibilidade e osteogenicidade (ZIMMERMANN; MOGHADDAM, 2011). A osseoindução se refere à estimulação da osteogênese, esta descrita como a capacidade de formação óssea a partir de células osteogênicas, como os osteoblastos. Materiais utilizados para a osseoindução favorecem a regeneração óssea, que ocorre por meio de proteínas indutivas as quais facilitam a diferenciação celular. Os osseocondutores são guias que servem de substrato para a regeneração óssea, entretanto não estimulam nem induzem a formação de osteoblastos (LENHARO; COSSO, 2001). A biocompatibilidade ocorre quando os tecidos, ao entrarem em contato com um determinado material, não manifestem reação tóxica, alérgica, inflamatória ou de fundo mutagênico (KAO et al., 2007).

O uso de enxerto autógeno conta com benefícios como: liberação de fatores de crescimento e outros mediadores, a presença de osteoblastos e células osteoprogenitoras no enxerto assim como a natureza osteocondutiva do tecido enxertado. Os enxertos autógenos, quando obtidos de sítios intra-orais, costumam ser retirados da sínfise mandibular e do ramo ascendente. Os sítios extra-orais mais utilizados são a crista ilíaca e a tíbia. O enxerto autógeno apresenta como desvantagens a morbidade do sítio doador e disponibilidade óssea limitada (MCALLISTER; HACHIGHAT, 2007). Quando o uso do enxerto autógeno não é possível, outras fontes alternativas são utilizadas para a obtenção de tecido ósseo, sendo estas, o enxerto homogêneo (humano), xenógeno (animal) e sintético ou aloplástico (metal, plástico ou cerâmico) (POLO et al., 2013). Esses materiais podem ser usados sozinhos ou associados à materiais como membranas e malhas de titânio (RETZEPI; DONOS, 2010).

A engenharia tecidual óssea, em seu aspecto básico, envolve quatro elementos para que haja formação óssea: suporte sanguíneo adequado, células formadoras de osso, matriz ou arcabouço e moléculas sinalizadoras (fatores de crescimento). O Arcabouço consiste em uma base que fornece a ligação e proliferação das células nos sítios de defeito ósseo, favorecendo a estabilização do coágulo sanguíneo. Colágeno, osso autógeno ou aloenxerto, polímeros reabsorvíveis e poros cerâmicos de fosfato de cálcio são algumas das matrizes utilizadas na regeneração óssea. Os fatores de crescimento são necessários para

estimular a migração de células ao local de defeito e aumentar a proliferação dessas células, assim, povoando a matriz por meio de sinais quimiotáticos e mitogênicos específicos (MOONEY; SILVA, 2007).

O sucesso na osseointegração dos implantes dentais de titânio está relacionado à sua composição, rugosidade da superfície e topografia da superfície. O fosfato cálcico osteocondutor promove cicatrização e aposição óssea, levando à rápida fixação biológica do implante. Jateamento da superfície, ataque ácido, sprays de pasma, revestimento de fosfato de cálcio são alguns dos tratamentos de superfície aplicados. A superfície dos implantes dentais de titânio pode ser revestida por agentes estimuladores ósseos, como os fatores de crescimento, para aumentar a cicatrização óssea local. Os fatores mais promissores utilizados são: BMPs, IFG-1 e 2, PDGF e TGF- B1. O uso torna-se limitado, pois, a necessidade de liberação dos fatores deve acontecer de maneira gradual, e não em um único momento. (GUEHENNEC et al., 2006).

Estes fatores de crescimento, também conhecidos como sinalizadores moleculares, são polipeptídios que atuam como mediadores biológicos naturais e regulam eventos celulares associados ao reparo tecidual, tais como a síntese de DNA, quimiotaxia, diferenciação e síntese de matriz. (GIANNOBILE, 1996). Têm sido muito utilizados com o intuito de acelerar o processo de osseointegração quando aplicados em loja óssea preparada para receber implante e de maturação óssea de enxertos por intensificar o processo de quimiotaxia das células responsáveis por promover o reparo tecidual, induzindo e acelerando a maturação e neoformação óssea (ANITUA, 2006). A atividade de cada fator de crescimento é controlada por um sistema complexo que envolve outros fatores de crescimento, enzimas e proteínas de ligação (KAIGLER et al., 2011).

Entre os fatores de crescimento já testados em implantodontia, estão o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-I), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP). O uso desses fatores tem mostrado uma melhora em parâmetros de osseointegração, sendo utilizados através do plasma rico em plaquetas (PRP) e da proteína óssea morfogenética 2 recombinante humana (rhBMP-2) (SCHMIDT, 2006).

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) foi identificado pela primeira vez em 1974 como um potente agente mitógeno para células mesenquimais presentes no soro (CHILDS et al., 1982). Encontra-se nos grânulos alfa das plaquetas, sendo liberados na

coagulação e no mecanismo de adesão plaquetária em lesão de vaso sanguíneo. Sua produção também pode ser notada em várias células e tecidos como: monócitos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e abundantemente na matriz óssea (LYNCH, 1991). O PDGF é liberado localmente pelas plaquetas sanguíneas durante o processo de coagulação. Uma vez liberados, ligam-se a receptores específicos presentes superfície da célula receptora, causando rápida migração celular (quimiotaxia) e proliferação (mitogênese) (RÖNNSTRAND; HELDIN, 2001).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), que recebe esse nome por se ligar ao mesmo receptor nas células alvo que a insulina, atua no desenvolvimento de diversos tecidos, inclusive do tecido dental. Os IGFs são mitogênicos para células osteoblásticas e estimulam a formação óssea a partir de osteoblastos diferenciados já existentes. Estão presentes na matriz óssea sob a forma de IGF-I e IGF-II. São secretados por osteoblastos e plaquetas durante a formação óssea com o intuito de aumentar a osteogênese e acelerar a deposição óssea (MARX, 1999).

As proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) compreendem um grupo de proteínas da superfamília TGF- β (fator transformador do crescimento β), semelhantes em estrutura e função. Exercem papel fundamental na indução, manutenção e reparação óssea e, até o momento, cerca de 20 BMPs foram sintetizadas. São produzidas por osteoblastos e atuam na neoformação óssea, e apesar de possuírem alguma atividade sobre outros tipos celulares, não atuam sobre uma ampla gama de diferentes tipos celulares (WOZNEY, 1995). As BMPs apresentam-se de duas formas: proteínas morfogenéticas ósseas derivadas do osso e proteínas morfogenéticas ósseas recombinantes humanas (rhBMP). Com a aprovação da utilização de proteínas humanas pela FDA (Food and Drugs Administration) em 1999 como auxiliares nos processos cicatriciais e regenerativos, estudos com as proteínas ósseas recombinantes humanas passaram a ser amplamente realizados. Essas tem apresentado maior potencial osteoindutor nos processos de enxertia e regeneração óssea, destacando-se as proteínas dos tipos 2 e 7 (rhBMP-2 e rhBMP-7). A proteína morfogenética óssea recombinante humana do tipo 2 (rhBMP-2) é a mais utilizada atualmente, conferindo ampla aplicabilidade clínica em cirurgias de reconstruções maxilares (SCHMIDT, 2006; POLO et al., 2013).

As BMPs são substâncias osseointodutoras, sendo a BMP-2 e BMP-7 as mais estudadas por promoverem melhores índices de

regeneração e neoformação óssea. As BMPs permanecem biologicamente ativas em contato com as superfícies de titânio, tendo inclusive, em alguns de uso da BMP-2, aumento da capacidade osteoindutora (LEE, 1997). A aplicação das BMPs anteriormente a instalação dos implantes promove o preenchimento de defeitos alveolares, com neoformação óssea de densidade e trabeculado similares ao osso normal, além do aumento da cortical e da quantidade óssea em altura. Um dos pontos mais importantes do uso das BMPs é a melhor qualidade da osseointegração. A melhor osseointegração pode ser advinda da alteração da organização dos osteoblastos devido a aplicação de BMP-2, que estimula as respostas celulares importantes ao crescimento e desenvolvimento das células ósseas (SHAH, 1999).

O uso das BMPs apresenta importância clínica por permitir a aplicação protética em um período mais curto. As indicações para o uso de BMPs estão associadas, principalmente a grandes perdas ósseas. As BMPs formam uma classe distinta de fatores de crescimento, por induzirem a formação óssea ectópica e devido a essa capacidade de iniciarem uma cascata programada de eventos celulares podem ser exploradas na formação óssea terapêutica. Apesar de amplamente difundidos, o uso de colágeno e sistemas de colágeno como carreadores mostra-se falho em alguns aspectos, como: fraca estabilidade mecânica, a resposta imunogênica e o potencial de transmissão de antígenos virais, o que determina a busca de um carreador ideal para que as BMPs induzam formação óssea de maneira intacta (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998).

As BMPs são pleomórficas, atuando dessa forma em várias funções, incluindo a iniciação e promoção da formação óssea *in vivo* e também estimulação de células da polpa dentária em um fenótipo odontoblástico. Podem ser encontradas no tecido ósseo e dentina e resultam do metabolismo dos osteoblastos, odontoblastos e várias células tumorais. A OP-1 (BMP-7) é encontrada em altos níveis nos rins o que sugere sua participação endócrina na homeostasia óssea (RIPAMONTI; REDDI, 1994).

A utilização de fatores de crescimento é uma alternativa sugerida para que haja aceleração do processo de neoformação óssea e aumento da integração do tecido ósseo ao implante dental, causando assim maior contato ósseo diretamente com a superfície do implante, levado à diminuição do tempo de desdentado do paciente (RUTHERFORD et al., 1992). A abordagem de tratamento através do uso de fatores de crescimento, por promover aceleração da regeneração óssea, torna-se

uma maneira interessante e viável de suprir as necessidades estéticas e funcionais do paciente. O intuito deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica dos estudos a cerca do uso de fatores de crescimento, focando no PDGF, IGF e BMPs, e avaliar como esses influenciam na regeneração óssea.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Revisar a literatura a respeito da influência de fatores de crescimento na formação óssea ao redor de implantes dentais.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Demonstrar como fatores de crescimento, PGGF, IGF e BMPs, influenciam na osseointegração;
- Quais os fatores de crescimento mais envolvidos com a osseointegração;
- Quais as perspectivas futuras sobre o uso desses fatores na Implantodontia.

2 METODOLOGIA

Para obter os estudos compilados nesta revisão de literatura, foram realizadas buscas eletrônica nas bases de dado Pubmed e Lilacs.

Primeiramente, foi acessado o site do Pubmed (<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>), utilizando como termos/Mesh terms de pesquisa: “*growth factors*”, “*dental implant*” e “*osseointegration*”. Não foi estabelecido intervalo de tempo para os estudos pesquisados, considerando a relevância de estudos clássicos a cerca do tema pesquisado. Foram excluídos trabalhos em que o idioma não fosse inglês ou português. A respeito da viabilidade dos textos, optou-se por aqueles disponíveis integralmente, utilizando os seguintes filtro do site: “*full text available*” e “*free full text available*”. Dos 300 artigos obtidos através dessa busca, foram selecionados aqueles onde o “abstract” mostrou-se de acordo com os objetivos propostos para a execução desta pesquisa.

Semelhante à busca realizada no site Pubmed, na procura por artigos na base de dados Lilacs, por meio do site (<http://lilacs.bvsalud.org/>), utilizando as palavras-chave: “fatores de crescimento”, “proteína morfogenética óssea”, “osseointegração”, “implante dental” e “fator de crescimento semelhante à insulina”. Novamente, não houve seleção de intervalo de tempo específico. Quanto aos idiomas e disponibilidade de texto, foram selecionados os trabalhos em inglês e português que houvessem texto completo disponível. Dentre os 111 artigos resultantes da busca, através da leitura de seus resumos, foram utilizados aqueles que se mostraram coerentes com assunto abordado por esta pesquisa. De forma completar, mais artigos foram obtidos aleatoriamente por meio de pesquisa em revistas a cerca do assunto do presente trabalho e através de buscas no Google acadêmico.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Os fatores de crescimento são mediadores biológicos encontrados em diversos tecidos, sobretudo quando esses estão em fase de remodelação ou reparação. Atuam no tecido ósseo intensificando o processo de quimiotaxia das células responsáveis pelo reparo tecidual, promovendo formação e aceleração da formação óssea (ANITUA, 2006). Esses fatores de crescimento são proteínas solúveis produzidas por uma grande variedade de células, e a sinalização realizada por eles é mediada por receptores de membrana específicos encontrados na superfície das células sobre as quais atuam, promovendo proliferação ou inibição nas diferentes situações, mostrando especificidade de ação diante de cada situação. Os fatores de crescimento influenciam diretamente nos processos de osseointegração por favorecer a diferenciação de células mesenquimais e, então, a osteogênese (LENHARO; COSSO, 2001).

As plaquetas são fragmentos anucleados originários do megacariócitos, célula presente na medula óssea, que participam do processo de reparo tecidual. As plaquetas contêm seus grânulos alfa fatores de crescimento que atuam nos processos de quimiotaxia, mitogênese e diferenciação. O gel rico em plaquetas, por ser constituído essencialmente por plasma rico em plaquetas (PRP) associado a íons cálcio e outros componentes, vem sendo usado, desde meados dos anos 90, na promoção, na aceleração do reparo tecidual e regeneração óssea, por ser rico em fatores de crescimento. A partir do processamento laboratorial de sangue, preferencialmente autógeno, colhido em fase pré-operatória, é possível obter o plasma rico em plaquetas (PRP) (DUSSE et al., 2008).

O processo de obtenção do PRP, através da técnica descrita por Marx (1998), ocorre por meio de duas etapas básicas: coleta de sangue e posterior centrifugação e preparo do plasma. O volume de sangue colhido varia de acordo com a necessidade específica de cada caso. Após a centrifugação de 5.600 rpm (rotações por minuto), que deve durar 15 minutos, o sangue estará separado em três camadas: células vermelhas, PRP e plasma pobre em plaquetas (PPP). O PPP encontra-se superficialmente ao PRP no tubo de ensaio, já que este apresenta maior densidade, e ao fundo são depositados os eritrócitos. Após a retirada do PPP a velocidade de centrifugação é reduzida para 2.400 rpm para refinar a separação do PRP das células vermelhas. O PRP na quantidade de 6 mL é misturado com 1 mL de cloreto de cálcio a 10%, trombina

bovina tópica e 1 mL de ar para que ocorra mistura na seringa quando esta é agitada por 10 segundos (desencadeando a coagulação) e então é obtido o gel de plaquetas.

Dusse et al. (2008) afirmam encontrar na literatura resultados divergentes quanto a utilização do gel de plaquetas para a neoformação óssea e atribuem o fato, possivelmente, às diferentes técnicas para a obtenção do PRP bem como à falhas na coleta e manuseio do sangue. Landsberg, Roy e Glickman (2000) defende que a técnica de obtenção de sangue deve ser meticulosa, utilizando seringas plásticas e tubos plásticos ou siliconizados para prevenir que as plaquetas sejam ativadas e que os fatores de crescimento sejam liberados dos grânulos alfa antes do desejado.

A vantagem da utilização do PRP é a aceleração da regeneração óssea pelo aumento da quantidade de todos os fatores de crescimento presentes nas plaquetas humanas, a desvantagem deve ser o curto período de vida plaquetária no enxerto, pois todas as plaquetas fragmentam-se em torno de 3 a 5 dias e a atividade de seus fatores se extinguem por volta de 7 a 10 dias (MARX, 1999).

As plaquetas são os primeiros componentes presentes no local traumatizado e, estando ativadas, liberam fatores de crescimento que têm participação ativa no processo de reparo tecidual por regular e estimular eventos celulares de mitogênese, quimiotaxia, diferenciação e metabolismo. Levando em conta o potencial de promover reparo das plaquetas, um aumento na concentração dessas no enxerto ósseo causa melhora no processo de cicatrização. Por conseqüência, obtêm-se regeneração óssea mais rápida e densa. Dentre os fatores de crescimento presentes no PRP, estão o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) que apresenta três isoformas: PDGF-AA, PDGF-BB e PDGF-AB, o fator transformador de crescimento β (TGF- β) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), com os isômeros IGF-I e IGF-II (FRAYMILLER; AGGHALOO, 2004).

O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) é uma proteína presente nos grânulos alfa plaquetários, podendo também ser encontrado em células como macrófagos, células endoteliais, monócitos e, de forma significativa, na matriz óssea. Lynch et al. (1989) foram os primeiros a relatar a regeneração óssea do cemento e ligamento periodontal através do uso do PDGF. Em relação ao metalobismo ósseo, o PDGF atua na proliferação, quimitaxia e produção de matriz extracelular. O PDGF é liberado pelas plaquetas sanguíneas durante a formação de coágulo após a injúria de tecido ósseo e mole. A estrutura

dimérica do PDGF é formada por 2 cadeias de aminoácidos; A e B. Ambas isoformas do PDGF ligam-se às células-alvo por meio da presença de receptores, alpha e beta, presentes nessas células. Ao receptor- α ligam-se as formas A e B do PDGF, e ao receptor- β , apenas a isoforma B. Ambos os receptores induzem repostas mitogênicas, mas apenas o receptor- β faz a estimulação de quimiotaxia. Esses fatores participam de eventos de formação óssea por meio da quimiotaxia de osteoblastos e contribuem na angiogênese (ANITUA, 1999). Sant'Ana (2001) salienta também a importância do PDGF no metabolismo ósseo, atuando na quimiotaxia e estímulo da atividade mitogênica para osteoblastos.

O fator transformador do crescimento β (TGF- β) atua nos processos de reparo do tecido conjuntivo e regeneração óssea. É, principalmente, sintetizado pelas plaquetas, macrófagos, osteoblastos e fibroblastos e impede que haja reabsorção óssea por inibir a formação de osteoclastos. O TGF- β tem como principais funções a quimiotaxia e mitogênese de osteoblastos, estimulando a formação óssea (TÖZÜM, 2003).

As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) são polipeptídeos pertencentes à superfamília TGF- β e são encontradas nas formas de BMPs derivadas dos ossos e BMPs recombinantes humanas. As BMPs atuam na neoformação óssea e são produzidas por osteoblastos, possuindo pouca atividade sobre outros tipos celulares. A BMP-2 é descrita como responsável pelo recrutamento, diferenciação e multiplicação das células osteogênicas (WOZNEY, 1988) As BMPs estimulam, principalmente, a diferenciação de células mesenquimais e da medula óssea em condrócitos, originando uma ossificação do tipo endocondral - ocorre a indução local de formação de cartilagem para posterior substituição óssea, ou através do estímulo da proliferação de células osteoprogenitoras que se diferenciam em odontoblastos maduros, produtores de proteínas da matriz óssea. Células ósseas e cartilaginosas já diferenciadas respondem a ação das BMPs (WOZNEY, 1995). Através de um processo de engenharia genética, a partir da bactéria *E. Coli*, é obtida a proteína morfogenética óssea recombinante humana do tipo 2, a mais utilizada atualmente (POLO et al., 2013).

As BMPs são disponibilizadas juntamente com um carreador para evitar o crescimento de tecido fibroso ou de tecido muscular dentro do defeito ósseo, viabilizando a presença de vasos sanguíneos e células mesenquimais. As esponjas de colágeno absorvíveis (ACS) tem se mostrado como melhor opção de carreador (SCHMIDT, 2006). As

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

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é secretado pelos osteoblastos e plaquetas durante a formação óssea com o intuito de aumentar a osteogênese e acelerar a deposição óssea. Existem dois tipos: IGF-I e IGF-II na matriz óssea, e cada um deles se adere a um receptor de membrana celular IGF-específico que estimula atividade de quinases resultando na mitose de células formadoras de osso. Desse modo, os IGFs são mitogênicos para as células de linhagem osteoblástica e estimuladores da osteogênese a partir dos osteoblastos diferenciados já existentes, podendo atuar de forma autócrina ou parácrina (LYNCH, 1989; MARX 1999). Regulam a formação celular com elevação da síntese de DNA e aumento da expressão de proteínas como a osteocalcina e a fosfatase alcalina (CANALIS; MCCARTHY; CENTRELLA, 1988). *In vitro*, o IGF-I mostrou ter efeito mitogênico e quimiotático semelhante ao PDGF quando em concentração consideravelmente maior que este (MATSUDA et al., 1992).

3.1 ESTUDOS *IN VITRO*

Pfeilschifter et al. (1990) estudaram os efeitos dos fatores de crescimento IGF-1, PDGF e TGF- β sobre a estimulação de aposição de matriz óssea em cultura de calvária de feto de rato. Foram utilizadas concentrações equimolares dos fatores de crescimento. A partir da comparação direta entre a capacidade dos três fatores de crescimento em estimular a aposição de matriz, observou-se que o TGF- β foi significativamente mais potente do que de PDGF e IGF-I, na mesma concentração. IGF-I mostrou ser o menos eficiente, embora a diferença quando comparado ao PDGF não tenha sido significativa. Foi ainda observado que uma combinação dos três fatores levou a um significativo aumento na aposição óssea, sendo que quando administrados isoladamente na mesma concentração não apresentaram efeito. Embora grande parte dos efeitos do PDGF, IGF-I e TGF- β sobre o metabolismo dos osteoblastos se sobreponham, esses apresentam particularidades no espectro de ação. O PDGF se mostra mais importante na proliferação de precursores de células osteoblásticas, enquanto o TGF- β se destaca na síntese de matriz por osteoblastos maduros. Esses efeitos complementares sobre o metabolismo dos osteoblastos podem explicar por que os fatores tem a ação potencializada quando administrados

juntamente. No entanto, é difícil determinar, na forma de cultura utilizada pela pesquisa, se a combinação de efeitos dos fatores funciona de forma sinérgica ou simplesmente adicional. Em baixa concentração, os três fatores aparentaram ser mais do que adicionais, pois a combinação dos mesmos pode induzir um crescimento na aposição de matriz óssea em uma concentração na qual cada um isoladamente não foi capaz de causar o mesmo efeito.

Bateman et al. (2005) realizaram um estudo utilizando fosfato tricálcico β (β - TCP) e sulfato de cálcio (CaSO_4) como matrizes aloplásticas associados ao PDGF-BB, com o intuito de aumentar a capacidade osteogênica desses materiais, já que os substitutos ósseos aloplásticos geralmente têm propriedades de formação óssea limitadas. A aplicação de PDFG-BB juntamente com o TCP mostrou um significativo aumento da proliferação de células osteoblásticas quando comparado ao grupo controle, contendo TCP isoladamente. Os resultados obtidos demonstram a viabilidade da associação entre materiais aloplásticos, como β - TCP ou CaSO_4 , e o fator de crescimento PDGF-BB, tornando-o um material de enxerto mais eficiente.

No estudo realizado por Sanchez-Fernandes et al. (2008), concluiu-se que osteoclastos podem controlar a quimiotaxia de osteoblastos. Foram utilizadas células da osteoclastogênese e osteoblastogênese *in vitro*, demonstrando que osteoclastos maduros secretam PDGF-BB, que é reconhecido por receptor de PDGF- B (PDGF- β) na superfície de osteoblastos, regulando assim a quimiotaxia destes. Para que ocorra formação óssea, quimiotaxia e migração celular são eventos necessários. A atividade quimiotática é dependente do estado de diferenciação dos osteoclastos, considerando que os precursores de osteoclastos foram falhos em produzir resposta quimiotática efetiva. Este estudo fornece dados para ajudar a esclarecer o controle que os osteoclastos exercem na formação óssea *in vivo*, assim como mostra a importância da remodelação na manutenção do tecido ósseo.

3.2 ESTUDOS EM ANIMAIS

Em uma pesquisa recente realizada por Polo et al. (2013) avaliou-se a formação óssea vertical em calvária de 22 coelhos utilizando rhBMP-2 associada a três diferentes materiais em um modelo de regeneração óssea guiada (ROG). Os animais foram divididos em 2

grupos; no grupo tratado (n=12) foi aplicada rhBMP-2, no grupo controle (n=10) a proteína não foi administrada. Em cada coelho do grupo controle (sem rhBMP-2), foram fixados 4 cilindros de titânio na calota craniana. Posteriormente, foram realizadas pequenas perfurações com broca para fornecer aporte sanguíneo ao enxerto e a presença de células osteoprogenitoras no local. Os cilindros, então, foram preenchidos aleatoriamente com fostato tricálcico beta (β -TCP), fosfato de cálcio bifásico (BCP), osso mineral bovino (BBM), coágulo sanguíneo e ao final, vedados por uma tampa. No grupo tratado foi utilizado o mesmo protocolo descrito para o grupo controle, entretanto, os quatro cilindros de cada um dos 12 coelhos, além de contarem com os materiais de enxerto, foram acrescidos de rhBMP-2, sendo que um cilindro continha apenas coágulo com rhBMP-2. O tempo de duração da pesquisa foi de 14 semanas. Na análise clínica dos resultados, ficou evidente que o volume ósseo e a sua média no grupo em que a rhBMP-2 foi usada foram maiores que no grupo sem rhBMP-2, independente dos materiais associados. Histologicamente observou-se quantidades de tecido ósseo neoformado significativas em ambos os grupos, no entanto, no grupo controle, visualizou-se a presença de osso maduro lamelar predominante na região inferior do cilindro e osso imaturo na região superior o que indica formação óssea originária da base, porém, com preenchimento incompleto. No grupo em que foi utilizado o rhBMP-2, observou-se quantidades significativas de tecido ósseo neoformado e que o crescimento ósseo na porção superior se igualou ao crescimento na porção inferior. Independente de qualquer variável, o período em que ocorreu maior formação óssea foi no intervalo de 10 a 14 semanas, confirmando a relação tempo-dependente na formação óssea. Porém, por se tratar de um estudo transversal, não se consegue obter informações detalhadas a respeito da osteogênese.

Park et al. (2012) instalaram mini-implantes em blocos de fosfato de cálcio bifásico macroporoso (MBCP), substituto ósseo sintético, carregado de rhBMP-2, em cavidades subcutâneas de 10 ratos. O grupo controle foi composto por solução tampão de fosfato também em matriz de MBCP. Os padrões avaliados foram o contato entre osso e implante (BIC), definido como a extensão da osseointegração junto à superfície da rosca do implante e em contato direto com o osso neoformado e também a densidade óssea na região próxima ao implante. A cinética da liberação do rhBMP-2 do MBCP foi avaliada por estudo *in vitro*. Cerca de 80% da proteína foi liberada durante os primeiros 4 dias, no entanto, a liberação de BMP-2 continuou

até duas semanas. O osso neoformado exibiu alta densidade quando avaliado por coloração de hematoxilina-eosina. A distribuição do osso neoformado foi observada de forma uniforme ao longo da superfície do implante e do MBCP. No grupo controle não houve formação de tecido duro. O osso neoformado mostrou-se bem mineralizado e com numerosas lacunas. Osteócitos também foram observados assim como alguns osteoblastos foram vistos na superfície do novo osso. A porcentagem do BIC foi de $41,23 \pm 4,13\%$ no grupo testado ($n=5$) e densidade óssea de $33,47\% \pm 5,73\%$, enquanto o grupo controle ($n=5$) não exibiu formação óssea paralelamente ao mini-implante. Para avaliar os padrões de formação de osso lamelar, que é considerada importante indicação de maturação óssea, foi usada microscopia de luz polarizada. Foi observado, no grupo tratado, fibras colágenas mineralizadas com vários osteócitos e neoformação óssea em contato direto com MBCP e a superfície óssea. Atividade osteocondutiva significativa foi induzida no grupo rhBMP/bMBCP.

Wikesjö et al. (2008) realizaram estudo em cães com o intuito de determinar se a proteína óssea morfogenética recombinante humana-2 (rhBMP-2) associada a instalação de implante de superfície (titânio óxido poroso) deve aumentar ou acelerar a formação óssea local e auxiliar na osseointegração. Oito cachorros da raça labrador foram selecionados para receber implantes estéreis revestidos por rhBMP-2 e sem revestimento (grupo controle), instalados em mandíbulas edêntulas. Quatro animais receberam 2 implantes envoltos em rhBMP-2 (0,2mg/ml) em um quadrante da mandíbula, e no quadrante contralateral, foram instalados implantes sem o revestimento da proteína (grupo controle). Os quatro animais restantes receberam o mesmo tratamento, entretanto, os implantes foram revestidos por 0,4mg/ml de rhBMP-2. Após 8 semanas da instalação dos implantes foi feita a eutanásia dos animais, e blocos contendo os implantes, osso alveolar e a mucosa circundante foram coletados e radiografados. Clinicamente, pode-se observar um aumento localizado nos sítios que receberam implantes cobertos por rhBMP-2, sendo mais pronunciados na maior concentração da proteína (0,4 mg/ml) e praticamente igual nos implantes revestidos por rhBMP-2 (0,2 mg/ml) e grupo controle. Na avaliação radiográfica e por microscopia de fluorescência sugeriu-se que há remodelação óssea perimplantar e a formação de osso fisiologicamente normal na presença de rhBMP-2, variando de acordo com a dose da proteína. A remodelação óssea ocorreu na presença de BMP de forma dose-dependente e, observou-se que a proteína, quando

na concentração de 0,4 mg/ml, causou aumento considerável no metabolismo ósseo quando comparado com a proteína BMP-2 na dose de 0,2 mg/ml e ao grupo controle. Por meio da reabertura cirúrgica, observou-se também que os implantes e *cover-screws* estavam cobertos por osso em todos os implantes associados a rhBMP-2 0,4mg/ml. Dos implantes revestidos pela proteína na menor concentração, dois estavam cobertos por osso completamente, e dois, parcialmente.

O trabalho de Ramazanoglu et al. (2010) investigou os efeitos da associação entre a combinação de rhBMP-2 e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e a atuação individual de cada fator comparados ao grupo controle de implantes biomiméticos sem aplicação de fatores de crescimento, no processo de osseointegração de implantes biomiméticos revestidos por fosfato octacálcico. Os implantes foram aplicados no osso frontal do crânio de nove porcos domésticos e a qualidade da osseointegração foi avaliada por meio de microradiografias e análise histomorfométrica da formação óssea dentro de quarto câmaras ósseas contendo os implantes em 1, 2 e 4 semanas. Os implantes biomiméticos, com e sem fatores de crescimento, mostraram aumento do volume de densidade óssea (BVD) após 2 e 4 semanas. Esse aumento foi significativo para os grupos que receberam BMP e BMP associada ao VEGF comparados ao grupo controle, após duas semanas. Todos os implantes biomiméticos revestidos por fosfato octacálcico apresentaram significativo aumento na superfície de contato entre implante e osso (BIC) comparados ao grupo controle (implantes sem tratamento de superfície), após duas semanas. Entretanto, após quatro semanas, a associação entre BMP e VEGF causou aumento significativo da superfície de contato entre implante e osso.

Becker et al. (2006) avaliaram a aposição óssea em implantes revestidos com rhBMP-2 comparados a grupo contendo implantes não revestidos e implantados na mandíbula e tibia de dois cães. Um total de 24 implantes foram utilizados: 6 tiveram a superfície jateada e sofreram ataque ácido (C); 18 implantes tiveram a superfície tratada por ácido cromo-sulfúrico (CSA), sendo que 12 desses implantes foram divididos em dois grupos, grupo BMP-A e BMP-B. No grupo BMP-A, os implantes foram cobertos pela proteína rhBMP-2 na forma não-covalente, enquanto no grupo BMP-B os implantes foram cobertos pela proteína na forma covalente imobilizada. Todos os implantes inseridos na mandíbula apresentaram neoformação óssea com contato direto com a superfície do implante. No entanto, a neoformação óssea diretamente em contato com a superfície do implante mostrou-se maior nos grupos

BMPs. Os valores de BIC apresentaram-se particularmente maiores no grupo BMP-B. Em comparação às trabéculas ósseas organizadas na mandíbula, aquelas presentes na tíbia mostraram-se na forma esponjosa, formando trabéculas finas. A análise histomorfométrica da densidade óssea na tíbia revelou que ambos os grupos BMP exibiram os maiores valores, seguidos pelo CSA e controle, respectivamente.

3.3 ESTUDOS EM HUMANOS

Feres Junior et al. (2004) realizaram uma pesquisa de análise comparativa do índice de sucesso dos implantes osseointegrados com e sem a utilização de PRP no protocolo de fixação. Foi feito um levantamento de dados de 1267 prontuários, sendo analisados no total 1572 implantes. Deste total, em 642 implantes foi utilizado o PRP no protocolo de fixação. Na avaliação observou-se que dos 642 implantes que utilizaram PRP no protocolo de fixação, 16 foram perdidos, indicando taxa de sucesso de 97, 51%. Dos 930 implantes que não utilizaram PRP no protocolo de fixação, houve perda de 66, resultando no índice de sucesso de 92,90%. Para a instalação do implante ser considerada caso de sucesso, a condição era estar estável e sem sintomatologia na boca há pelo menos um ano, com ou sem carga. Verificou-se que nos casos em que o PRP foi empregado no protocolo de fixação o índice de perda dos implantes foi menor, acrescentando ainda que a taxa de sucesso foi consideravelmente maior na maxila do que na mandíbula. Assim, conclui-se que o PRP é um material promissor nos processos de reconstrução óssea, sendo recomendado seu emprego em determinadas situações de colocação de implantes.

Simion et al. (2007) publicaram um relato de caso de dois pacientes onde foram avaliados os efeitos do PDGF-BB associado a enxerto xenógeno em reconstruções ósseas para a colocação de implantes. Em ambos os casos observava-se extensos defeitos ósseos verticais de rebordo. O primeiro paciente recebeu um bloco de matriz bovina embebida em PDGF-BB e fixada com parafusos. No segundo caso, matriz óssea bovina particulada embebida em matriz de colágeno contendo PDGF-BB. Implantes de titânio foram instalados após 5 meses nos dois pacientes. Os resultados clínicos e histológicos demonstraram excelente regeneração dos tecidos moles e duros, evidenciando o sucesso da associação entre osso bovino desproteínizado e PDGF-BB. Nos dois pacientes pode-se observar quantidade considerável de osso neoformado circundando as trabéculas de enxerto xenógeno juntamente

com alta taxa de atividade celular. Os resultados deste estudo mostraram-se promissores na regeneração óssea em pacientes que apresentam defeitos ósseos extensos, no entanto, novas pesquisas com maior número de pacientes são necessárias para obtermos resultados mais concretos.

Em 2001, Lenharo e Cosso publicaram um outro relato de caso em que os elementos dentais 21 e 22 do paciente foram extraídos em decorrência de reabsorção interna apresentando também perda do osso vestibular por doença periodontal associada. Três meses após as extrações, foi feito procedendo de RTG incluindo o uso de enxerto autógeno, PRP e membrana não absorvível. Após 7 meses, foi feita a instalação de dois implantes no osso que apresentou qualidade. O artigo relatou que a regeneração epitelial e óssea de áreas tratadas com PDGF obtiveram melhores resultados em comparação às áreas controle. Afirmaram também, que a técnica para a obtenção de PRP, com a finalidade de separar uma concentração elevada de fatores de crescimento derivados de plaquetas, mostra-se como um boa técnica auxiliar em cirurgias de regeneração tecidual, em que a necessidade de quantidade e qualidade desses tecidos reflete diretamente no tecido ósseo formado em contato com a superfície do implante.

Spagnoli e Marx em 2011, relataram dois casos clínicos. O primeiro caso trata-se de um aumento vertical completo, na maxila, em uma paciente com perda severa em altura e largura no osso alveolar devido a perda precoce de dentes. Uma “rede/malha” de titânio foi construída para abrigar, proteger e dar o formato ideal ao enxerto. A composição do tecido enxertado consistia em 12 mg de rhBMP-2/ACS na proporção de 1:1 com osso alo gênico liofilizado (CCFDAB) e PRP. Após 6 meses de maturação óssea, o enxerto apresentou significativa consolidação na TC Cone Beam. O intuito de obter aumento de 1cm vertical e 1 cm horizontal foi obtido, para então receber os implantes dentais. O segundo caso relatado pelo estudo trata de um enxerto de fíbula para cobrir um defeito ósseo de mandíbula proveniente de um osteosarcoma. Semelhante ao primeiro caso, 12 mg de rhBMP-2/ACS foi usado, assim como CCFDAB, no entanto, ao invés de utilizar PRP, optou-se por 10 mL de concentrado aspirado de medula óssea (BMAC). Após 6 meses de maturação óssea, a área enxertada mostrou a formação de um ossículo sólido com altura e contorno ideal, pronto para receber implantes. Os implantes aplicados tiveram o tempo de 6 meses para osseointegração prévios a instalação da prótese.

Por outro lado, Shanaman et al. (2001) realizaram um estudo utilizando enxerto ósseo homogêneo associado à técnica regeneração óssea guiada (ROG), com e sem PRP. O objetivo do estudo foi avaliar o potencial do PRP, junto ao enxerto homogêneo, em aumentar a regeneração óssea em defeitos que apresentem perda óssea em altura e espessura. Concluíram, entretanto, que a adição de PRP não alterou a qualidade nem a quantidade de osso neoformado em comparação a ROG sem PRP.

4 DISCUSSÃO

A substituição de dentes perdidos por implantes dentais é um tratamento efetivo e aceitável. Com o aumento de idade da população um maior número de indivíduos é definido como parcialmente edêntulo, e as opções de tratamento e padrões de cuidados inclui o uso de implantes dentais. Isso requer considerações especiais, e para que tenha êxito, o implante tem que integrar com os tecidos duros para futura reabilitação protética.

Com o surgimento dos implantes osseointegrados, a partir de 1969, com Brånemark, algumas inovações no protocolo original foram introduzidas, visando melhorar as condições para alcançar os objetivos básicos da população, sendo esses o restabelecimento das suas necessidades odontológicas em nível funcional, estético, fonético e psicológico. A necessidade de volume ósseo adequado para a inserção e posicionamento do implante é um dos principais requisitos para a colocação desse em um paciente. Essa necessidade de qualidade e quantidade óssea tem induzido a uma busca por um melhor resultado na osseointegração. (FERES JUNIOR et al., 2004).

Desta forma, estão sendo desenvolvidas novas tecnologias para promover a regeneração óssea ao redor de implantes, e todas relacionadas com o uso de fatores de crescimento. Os fatores de crescimento são mediadores biológicos naturais ou sintéticos, que regulam importantes eventos celulares envolvidos no processo de regeneração tecidual, como proliferação celular, diferenciação, quimiotaxia e síntese de matriz (GIANNOBILE, 1996). No contexto da implantodontia destacamos o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento semelhante a insulina (IGF), e as proteínas ósseas morfogenéticas (principalmente a BMP-2) que foram pesquisados com a finalidade de aumentar a quantidade e a qualidade óssea na cicatrização e também ao redor de implantes (URIST; DELANGE; FINERMAN, 1983).

A obtenção dos fatores de crescimento inicialmente foi através de processamento, purificação e isolamento de fontes animais, pois a sequência primária de genes dos fatores de crescimento foi relativamente bem preservada durante a evolução, de tal maneira que a atividade biológica dos fatores de crescimento entre espécies diferentes não se alterou (MATSUDA, et al. 1992) e não há reação imune (SAILER; KOLB, 1994). Com o conhecimento da técnica de produção de fatores de crescimento recombinantes humanos, eliminou-se a

necessidade do processamento de grandes quantidades de tecido para a obtenção de poucas gramas de fator, permitindo assim que os mesmos fossem produzidos em maiores quantidades, com potencial de ação semelhante ou até mesmo maior do que aquele dos fatores de crescimento naturais, diminuindo o custo de sua produção, o risco de reação imunológica ou até mesmo de contaminação e tornando-os mais acessíveis para uma possível utilização clínica (MATSUDA, et al. 1992). Considerando a aplicação clínica, é importante ressaltar que a utilização irrestrita de fatores de crescimento está relacionada à propriedade de indução quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular.

Estudos *in vitro* demonstraram que mesmo em doses consideradas acima das fisiológicas, os fatores de crescimento não alteraram a morfologia celular, o padrão de crescimento, nem o padrão de aposição óssea, sugerindo ausência de toxicidade desses fatores (PFEILSCHIFTER et al., 1990). Outro aspecto importante a ser considerado é a meia vida plasmática do PDGF e do IGF-I. Estudo em cães estabeleceu a meia vida plasmática em 4,2 e 3,0 horas respectivamente; sendo que, após 96 horas da administração, 96% dos fatores de crescimento já haviam desaparecido. Entretanto, os efeitos dos fatores de crescimento sobre a regeneração periodontal dos defeitos em cães continuaram até cinco semanas após a sua aplicação, sugerindo o início de uma cascata de eventos que se manteve após a sua absorção pelo organismo (LYNCH et al., 1991).

Howell et al (1997) avaliaram a segurança clínica em seres humanos da aplicação de doses altas de rhPDGF-BB e rhIGF-1 (50 e 150 mg/ml) quando aplicados em defeitos ósseos periodontais. A análise da segurança incluiu exames físico, hematológico, químico sorológico, urinálise, presença de anticorpos e avaliação radiográfica das alterações ósseas. Nenhuma alteração geral ou local foi observada em função da aplicação dos fatores de crescimento. Não foram observados efeitos adversos importantes, mortes ou descontinuações atribuídas à droga utilizada, nem alterações teciduais descontroladas, como a hiperplasia gengival. Nenhum dos voluntários examinados desenvolveu anticorpos para os fatores de crescimento utilizados. Os resultados desse estudo sugeriram que a aplicação local de rhPDGF-BB e IGF-I em lesões periodontais foi segura nas doses estudadas.

Vários estudos demonstraram que o PDGF podia promover regeneração de osso, cemento e ligamento periodontal (MELLONIG; VALDERRAMA; COCHRAN, 2009; LYNCH et al., 1991;

GIANNOBILE, 1996) intensificando o seu uso no tratamento de defeitos periodontais. O mecanismo de ação do PDGF ocorre através da ligação com receptores específicos localizados nos osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal, com consequente efeito na replicação do DNA celular e quimiotaxia destas células (MUMFORD, 2001). Um recente estudo mostrou a importância do PDGF na expressão de piridinolina (molécula interligadora do colágeno tipo I), atuando como um importante modulador do *turn-over* ósseo (SARMENT et al., 2006).

PDGF foi o primeiro fator de crescimento a ser avaliado em estudo pré-clínico. Estudos com cultura de células, demonstraram proliferação celular, quimiotaxia e síntese de matriz, incluindo fibroblastos do ligamento periodontal, pré-osteoblastos e osteoblastos (SANCHEZ-FERNANDEZ et al., 2008; BATEMAN et al., 2005). Em relação aos estudos em animais, vários trabalhos demonstraram diferenças estatisticamente significantes em relação à neoformação óssea, quando o PDGF-BB foi utilizado e comparado ao grupo controle (LEE et al., 2000; SCHWARZ et al., 2010; NOCITI JUNIOR et al., 2000). Entretanto, um estudo em ratos mostrou pouca neoformação óssea tanto nos sítios que receberam PDGF-BB e matriz óssea bovina, quanto nos sítios que receberam esta matriz isoladamente, quando estes foram associados à membrana de Teflon (LIOUBAVINA-HACK et al., 2005). Em relação ao contato osso-implante (BIC), alguns trabalhos demonstraram maior contacto do tecido ósseo à superfície dos implantes quando PDGF-BB foi utilizado (NOCITI JUNIOR et al., 2000; LYNCH et al., 1991). Todos esses estudos em animais foram importantes para demonstrar o potencial desse fator na regeneração em animais, que culminou com o primeiro estudo em humanos que verificou a atuação do PDGF-BB na regeneração periodontal. Neste ensaio clínico fase I /II demonstrou-se que o PDGF-BB é seguro, resultando em significativo aumento do crescimento ósseo e preenchimento dos defeitos periodontais, comparado a terapia cirúrgica convencional (HOWELL, 1997).

Dentre os estudos clínicos em humanos, alguns deles demonstraram regeneração periodontal comprovada histologicamente (MELLONIG; VALDERRAMA; COCHRAN, 2009; CAMELO et al., 2003; NEVINS et al. 2003). Em relação aos biomateriais utilizados como matrizes, o β -TCP foi o arcabouço escolhido para ser aprovado pelo FDA como matriz osteocondutora que acompanha o rhPDGF-BB. Entretanto, outros materiais podem ser associados ao rhPDGF-BB, com

resultados interessantes como matriz (MCALLISTER et al, 2010; NEVINS et al., 2005) dentre eles o enxerto ósseo alógeno mineralizado (FDDBA) e desmineralizado (DFDBA) mostraram resultados satisfatórios quando associados ao rhPDGF-BB (CAMELO et al., 2003; NEVINS et al., 2003; FAGAN et al., 2008). Osso bovino inorgânico embebido em rhPDGF-BB (SIMION et al., 2006; NEVINS et al, 2009; SIMION et al. 2008) bem como osso autógeno (SIMION et al., 2008) também apresentaram resultados surpreendentes na reconstrução óssea, demonstrando o potencial regenerativo desse sinalizador molecular com diversos tipos de materiais implantáveis (NEVINS et al., 2009). Os resultados obtidos nos estudos em defeitos periodontais culminaram com os estudos envolvendo regeneração óssea em rebordos alveolares para implantologia. Os resultados dos estudos clínicos e histológicos em humanos sugerem um potencial de utilização de fator de crescimento na reconstrução óssea em sítios que irão receber implantes osteointegrados (SIMION et al., 2006).

De acordo com a literatura revista, as BMP parecem se constituir nas substâncias de opção, principalmente em função da sua atuação específica e ampla sobre o tecido ósseo. Segundo Urist et al.(1983) as BMPs e outros fatores de crescimento presentes no tecido ósseo atuam como coeficientes na regeneração óssea: as BMPs iniciando o processo não visível (proliferação e diferenciação celular) e os fatores de crescimento estimulando o estágio visível (síntese e aposição de matriz) durante o desenvolvimento ósseo. As BMPs induzem a diferenciação de células mesenquimais perivascularares em células produtoras de cartilagem e osso. Por outro lado, os fatores de crescimento estimulam a síntese de DNA e outros processos metabólicos. Assim, o desenvolvimento promovido pelas BMPs é irreversível, enquanto, o estímulo dos fatores de crescimento é reversível (URIST et al., 1983) Os fatores de crescimento em geral afetam células diferenciadas ou precursoras de osteoblastos presentes no tecido ósseo, promovendo sua proliferação e/ou aumento da secreção de moléculas da matriz extracelular. Afetando as células do próprio osso, os fatores de crescimento têm uma capacidade relativamente limitada para regeneração óssea. Por outro lado, as BMPs, principalmente a BMP-2 e a BMP-7 afetam células precursoras tanto da medula óssea como células mesenquimais indiferenciadas dos tecidos moles circundantes ao local do defeito, que infiltram a área e se diferenciam em cartilagem e em células ósseas. A ação da BMP-2 resulta em ossificação endocondral, mas também é capaz de estimular a proliferação de células

osteoprogenitoras e induzir sua diferenciação em osteoblastos mais maduros com capacidade de produzir proteínas da matriz óssea, ao mesmo tempo inibindo a diferenciação das células mesenquimais precursoras imaturas em células não-osteoblásticas (YAMAGUCHI et al., 1991). Já a BMP-7 induz preferencialmente a formação de cartilagem à formação óssea, assim como a maioria das BMPs, através de ossificação endocondral. O que varia é a quantidade de osso formado para determinada quantia de BMP e a taxa de formação de cartilagem ou osso, mas o resultado final para todas elas é a neoformação óssea (WOZNEY, 1995).

5 CONCLUSÃO

Os estudos apresentados na presente revisão demonstraram que os fatores de crescimento são capazes de promover a formação óssea ao redor de implantes dentais de titânio em quantidade e qualidade estatisticamente superior aos locais em que não houve aplicação dessas substâncias. Comparados à utilização de outras técnicas regenerativas, estas substâncias indutoras do crescimento demonstraram formação e maturação ósseas estatisticamente maiores e mais rápidas, tendo sido ainda mais eficientes quando associados à utilização de barreiras físicas. Além disso, as BMP demonstraram potencial para a substituição de enxertos ósseos autógenos em procedimentos cirúrgicos pré implantares, promovendo a formação de um tecido ósseo de mesma qualidade e com a mesma capacidade de osseointegração do preexistente.

REFERÊNCIAS

- ADELL, R et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **International Journal Of Oral Surgery**. [s.l.], p. 387-416. dez. 1981.
- ALBREKTSSON, Tomas; SENNERBY, Lars. Direct bone anchorage of oral implants: clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. **International Journal Of Prosthodontics**. [s.l.], p. 30-41. jan.1990 .
- ANITUA, Eduardo. Enhancement of Osseointegration by Generating a Dynamic Implant Surface. **Journal Of Oral Implantology**. Chicago, Illinois, p. 72-76. abr. 2006.
- ANITUA, Eduardo. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **The International Journal Of Oral & Maxillofacial Implants**. [s.l.], p. 529-535. jan. 1999.
- BATEMAN, Jeremy et al. Platelet-Derived Growth Factor Enhancement of Two Alloplastic Bone Matrices. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 1833-1841. nov. 2005.
- BECKER, Jürgen et al. Bone apposition to titanium implants bio coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). A pilot study in dogs. **Clinical Oral Investigations**. Springer (Alemanha), p. 217-224. set. 2006.
- BLOCK, Michael S.; ACHONG, Ronald. Bone morphogenetic protein for sinus augmentation. **Atlas Of The Oral & Maxillofacial Surgery Clinics Of North America**. New Orleans, p. 99-105. mar. 2006.
- CAMELO, Marcelo et al. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. **International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 213-225. jun. 2003.
- CANALIS, Ernesto; MCCARTHY, Thomas; CENTRELLA, Michael. Isolation and Characterization of Insulin-Like Growth Factor I

- (Somatomedin-C) from Cultures of Fetal Rat Calvariae. **Endocrinology**. Bethesda, p. 22-27. jan. 1988.
- CHILDS, C B et al. Serum contains a platelet-derived transforming growth factor. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America**. [s.l.], p. 5312-5316. set. 1982.
- DUSSE, Lucia Maria Sant'ana et al. Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e sua aplicação em Odontologia. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p.193-197, jan. 2008.
- FERES JUNIOR, Feis et al. Análise Comparativa do Índice de Sucesso dos Implantes Osteointegrados com e sem a Utilização de PRP, no Protocolo de Fixação. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina -pr, v. 25, n. 1, p.9-22, jan. 2004. Semestral.
- FREYMILLER, Earl G; AGHALOO, Tara L. Platelet-rich plasma: ready or not? **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**. [s.l.], p. 484-488. abr. 2004.
- GIANNOBILE, W V. Periodontal tissue engineering by growth factors. **The Bone Journal**. New York, p. 235-375. jul. 1996.
- GONÇALVES, Evelyn Almeida Lucas; GUIMARÃES, Sérgio Augusto Catanzaro; GARCIA, Roberto Brandão. Proteínas morfogenéticas ósseas: terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**. Sao Paulo, p. 594-606. set. 1998.
- GUEHENNEC, L. Le et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**. S.i., p. 844-854. 20 jun. 2006.
- HOWELL, T. Howard et al. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 1186-1193. dez. 1997.
- KAIGLER, Darnell et al. Platelet-derived growth factor applications in

periodontal and peri-implant bone regeneration. **Expert Opinion On Biological Therapy**. London, p. 375-385. mar. 2011.

KAO, Chia Tzé et al. The cytotoxicity of orthodontic metal bracket immersion media. **European Journal Of Orthodontics**. Oxford, p. 198-203. abr. 2007.

LANDESBURG, Regina; ROY, Martin; GLICKMAN, Robert S.. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. **Oral And Maxillofacial Surgery**. [s.l.], p. 297-300. mar. 2000.

LEE, Michael B. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. **Journal Of Clinical Periodontology**. S.i., p. 355-365. jun. 1997.

LEE, Yong-moo et al. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 418-424. mar. 2000.

LENHARO, Ariel; COSSO, Fernando. Fatores de crescimento quando usar? **Innovations Journal**. [s.l.], p. 21-25. jan. 2001.

LIOUBAVINA-HACK, Natalia et al. Effect of Bio-Oss® with or without platelet-derived growth factor on bone formation by “guided tissue regeneration”: a pilot study in rats. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 1254-1260. dez. 2005.

LOUREIRO, Caio Cesar de Souza. PRP ou BMPs: qual a melhor opção para enxertia e aceleração de osseointegração nas reabilitações com implantes? Revisão de literatura. **Innovations Implant Journal: Biomaterials And Esthetics**. São Paulo, p. 45-50. jul. 2010.

LYNCH, Samuel E. et al. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. **Journal Of Clinical Periodontology**. Copenhagen, p. 545-548. set. 1989.

LYNCH, Samuel E. et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on

periodontal wound healing. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 458-467. jul. 1991.

MCALLISTER, Bradley S.; HAGHIGHAT, Kamran. Bone Augmentation Techniques. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 377-396. mar. 2007.

MARTIN, J y et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**. [s.l.], p. 389-401. mar. 1995.

MARX, Robert e et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**. [s.l.], p. 638-641. jan. 1998.

MARX, Robert e; GARG, Arun K. Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen: the sinus bone graft. **Quintessence Books**. Colorado, p. 183-196. 1999.

MATSUDA, N et al. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 515-525. jun. 1992.

MELLONIG, James T; VALDERRAMA, Maria del Pilar; COCHRAN, David L. Histological and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor combined with beta tricalcium phosphate for the treatment of human Class III furcation defects. **International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 169-177. abr. 2009.

MOONEY, David J.; SILVA, Eduardo A.. Tissue Engineering: A glue for biomaterials. **Nature Materials**. [s.l.], p. 327-328. jun. 2007.

MUMFORD, John H. et al. The Effects of Platelet-Derived Growth Factor-BB on Periodontal Cells in an In Vitro Wound Model. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 331-340. mar. 2001.

NEVINS, Myron et al. Platelet-Derived Growth Factor Stimulates Bone

Fill and Rate of Attachment Level Gain: Results of a Large Multicenter Randomized Controlled Trial. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 2205-2215. dez. 2005.

NEVINS, Myron et al. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 1282-1292. set. 2003.

NEVINS, Marc L et al. Human histologic evaluation of mineralized collagen bone substitute and recombinant platelet-derived growth factor-BB to create bone for implant placement in extraction socket defects at 4 and 6 months: a case series. **International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 128-139. abr. 2009.

NOCITI, Júnior Fh et al. Histometric evaluation of bone regeneration around immediate implants partially in contact with bone: a pilot study in dogs. **Implant Dentistry**. [s.l.], p. 321-328. set. 2000.

PARK, Jung-chul et al. Novel analysis model for implant osseointegration using ectopic bone formation via the recombinant human bone morphogenetic protein-2/macroporous biphasic calcium phosphate block system in rats: a proof-of-concept study. **Journal Of Periodontal & Implant Science**. Korean, p. 136-147. jun. 2012.

PFEILSCHIFTER, Johannes et al. Stimulation of Bone Matrix Apposition in Vitro by Local Growth Factors: A Comparison between Insulin-like Growth Factor I, Platelet-Derived Growth Factor, and Transforming Growth Factor β . **Endocrinology**. [s.l.], p. 69-75. jul. 1990.

POLO, Cristiane Ibanhes et al. A rhBMP-2 aumenta e acelera a formação óssea vertical quando associada a biomateriais em calvária de coelhos. **Implantnews: o universo científico da nova implantodontia**, [s.l.], v. 3, n. 10, p.381-391, jun. 2013. Disponível em: <<http://www.inpn.com.br/ImplantNews/Artigo/Index/1359>>. Acesso em: 13 fev. 2014.

RAMAZANOGLU, Mustafa et al. The effect of combined delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and recombinant

human vascular endothelial growth factor 165 from biomimetic calcium-phosphate-coated implants on osseointegration. **Clinical Oral Implants Research**. [s.l.], p. 1433-1439. dez. 2011.

RETZEPI, Maria; DONOS, N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications. **Clinical Oral Implants Research**. [s.l.], p. 567-576. 1 jun. 2010.

RIPAMONTI, U; REDDI, A H. Periodontal regeneration: potential role of bone morphogenetic proteins. **Journal Of Periodontal Research**. S.i., p. 225-235. jul. 1994.

RÖNNSTRAND, Lars; HELDIN, Carl-henrik. Mechanisms of platelet-derived growth factor-induced chemotaxis. **International Journal Of Cancer**. [s.l.], p. 757-762. mar. 2001.

RUTHERFORD, Bruce R et al. Use of Bovine Osteogenic Protein to Promote Rapid Osseointegration of Endosseous Dental Implants. **International Journal Of Oral & Maxillofacial Implants**. [s.l.], p. 126-135. set. 1992.

SAILER, H F; KOLB, e. Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) in cranio-maxillo-facial surgery. BMP in compromised surgical reconstructions using titanium implants. **Journal Of Cranio-maxillo-facial Surgery**. [s.l.], p. 2-11. fev. 1994.

SANCHEZ-FERNANDEZ, Maria Arantzazu et al. Osteoclasts Control Osteoblast Chemotaxis via PDGF-BB/ PDGF Receptor Beta Signaling. **Plos One**. [s.l.], p. 1-8. 27 out. 2008. Disponível em: <www.plosone.org>. Acesso em: 04 mar. 2008.

SANT'ANA, Adrinana C. P. **Efeitos da aplicação de diferentes fatores de crescimento (PDGF-BB, IGF-1 e TGF-B1) isolados ou combinados na taxa de proliferação e na adesão de fibroblastos derivados de ligamento periodontal humano a fragmentos radiculares tratados ou não com ácido cítrico e tetraciclina após a raspagem**. 2001. 159 f. Tese (Doutorado) - Curso de Odontologia, Usp, Bauru, 2001.

SARMENT, David P.. Effect of rhPDGF-BB on bone turnover during

periodontal repair. **Journal Of Periodontology**. Chicago, Illinois, p. 135-140. fev. 2006.

SCHMIDT, Caroline. Futuro da odontologia impregnado com BMP. **Nnovations Implant Journal: Biomaterials and Esthetics**. [s.l.], p. 19-24. fev. 2006.

SHAH, A K. Mechanism of BMP-2 stimulated adhesion of osteoblastic cells to titanium alloy. **Biology Of The Cell**. S.i., p. 131-142. mar. 1999.

SHANAMAN, Richard; FILSTEIN, M R; DANESH-MEYER, M J. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. **The International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. Chicago, Illinois, p. 345-355. ago. 2001.

SIMION, Massimo et al. Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet-derived growth factor-BB: a histologic study in a dog model. **International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 415-423. out. 2006.

SCHWARZ, Frank et al. Initial pattern of angiogenesis and bone formation following lateral ridge augmentation using rhPDGF and guided bone regeneration: an immunohistochemical study in dogs. **Clinical Oral Implants Research**. [s.l.], p. 90-99. jan. 2010.

SIMION, Massimo; ROCCHIETTA, Isabella; DELLAVIA, Claudia. Three-Dimensional Ridge Augmentation with Xenograft and Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB in Humans: Report of Two Cases. **The International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 109-115. abr. 2007.

SIMION, Massimo et al. Three-Dimensional Alveolar Bone Reconstruction with a Combination of Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor BB and Guided Bone Regeneration: A Case Report. **International Journal Of Periodontics & Restorative Dentistry**. [s.l.], p. 239-243. abr. 2008.

SPAGNOLI, Daniel B.; MARX, Robert E..Dental Implants and the Use of rhBMP-2. **Oral And Maxillofacial Surgery Clinics Of North**

America. [s.l.], p. 347-361. maio 2011.

TÖZÜM, TolgaFikret; DEMIRALP, Burak. Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. **Journal Of The Canadian Dental Association.** Toronto, p. 664-664h.nov. 2003.

URIST, M R; DELANGE, R J; FINERMAN, G A M. Bone cell differentiation and growth factors. **Science**, [s.l.], v. 220, n. 4598, p.680-686, maio 1983.

YAMAGUCHI, Akira et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblastic maturation and inhibits myogenic differentiation in vitro. **The Journal Of Cell Biology.** [s.l.], p. 681-687. maio 1991.

WIKESJÖ, Ulf M. E. et al. Bone formation at recombinant human bone morphogenetic protein-2-coated titanium implants in the posterior mandible (Type II bone) in dogs.**Journal Of Clinical Periodontology.** Copenhagen, p. 985-991. nov. 2008.

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

ZIMMERMANN, Gerald; MOGHADDAM, Arash. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. **International Journal Of The Care Of The Injured.** [s.l.], p. 16-21. set. 2011.