

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Victor Zanini Marineti

**USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA EM DEFEITOS
BUCOMAXILOFACIAIS: APLICABILIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA**

Juiz de Fora
2021

Victor Zanini Marineti

**USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA EM DEFEITOS
BUCOMAXILOFACIAIS: APLICABILIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA**

Monografia apresentada ao curso de
Graduação em Odontologia da
Universidade Federal de Juiz de Fora
como requisito parcial à obtenção do título
de Cirurgião-Dentista

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neuza Maria Souza Picorelli Assis

Juiz de Fora

2021

Marinetti, Victor Zanini.

Uso da proteína morfogenética óssea em defeitos bucomaxilofaciais: aplicabilidade, eficácia e segurança / Victor Zanini Marinetti. -- 2021.

40 p.

Orientadora: : Neuza Maria Souza Picorelli Assis
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia, 2021.

1. Proteína morfogenética óssea. 2. Regeneração óssea por BMP.
3. Ação da BMP. I. Maria Souza Picorelli Assis, : Neuza , orient. II.
Título.

Victor Zanini Marineti

**USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA EM DEFEITOS
BUCOMAXILOFACIAIS: APLICABILIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA**

Monografia apresentada ao curso de
Graduação em Odontologia da
Universidade Federal de Juiz de Fora
como requisito parcial à obtenção do título
de Cirurgião-Dentista

Aprovado em 04 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Neuza Maria Souza Picorelli Assis - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Bruno Salles Sotto Maior
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Matheus Furtado de Carvalho
Universidade Federal de Juiz de Fora



Documento assinado eletronicamente por **Neuza Maria Souza Picorelli Assis, Professor(a)**, em 04/03/2021, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Matheus Furtado de Carvalho, Professor(a)**, em 04/03/2021, às 16:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Salles Sotto Maior, Professor(a)**, em 04/03/2021, às 17:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0268648** e o código CRC **C9AD6D4A**.

Dedico este trabalho a minha família,
minha namorada e aos meus amigos, por
serem meu alicerce durante esta
caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida.

Agradeço aos meus pais, Luiz e Vânia, pelo apoio incondicional e por nunca terem medido esforços para que eu pudesse concluir mais esta etapa.

Aos meus irmãos Bruno e André, e à todos os meus familiares que me ajudaram e torceram por mim.

Agradeço a minha namorada, Izabela, por sempre estar ao meu lado, por seu apoio e companheirismo.

A minha professora e orientadora Neuza, por todo o conhecimento passado, paciência, e suas valiosas contribuições, que foram de suma importância para conclusão deste trabalho.

Agradeço também à Universidade Federal de Juiz de Fora, principalmente a Faculdade de Odontologia, seus professores e funcionários, por toda a dedicação e por sempre zelarem pela elevada qualidade de ensino.

Aos meus amigos e colegas, por todo apoio e incentivo, que foram fundamentais para a conclusão de mais uma etapa.

“Toda ação humana, quer que se torne positiva ou negativa, precisa depender de motivação.”

Dalai Lama

RESUMO

As proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) são membros da superfamília do fator de crescimento transformador-b e estão envolvidas na diferenciação de células mesenquimais pluripotentes e formação de novo osso por indução osteoblástica. O uso da BMP-2 foi extensamente estudado em diferentes sítios das regiões oral e maxilofacial. Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão de literatura a fim de elucidar o uso das BMPs para o tratamento de defeitos ósseos orais e maxilofaciais. A proteína óssea morfogenética mostrou-se intimamente ligada ao processo de diferenciação dos osteoblastos e conseqüentemente da regeneração óssea. Sua eficácia no reparo de defeitos ósseos está ligada ao tipo de carreador, dosagem e fatores de crescimento que podem ser associados, além da boa prática de regeneração do tecido ósseo, oferecendo espaço e suprimento sanguíneo. Embora esteja relacionada a respostas inflamatórias, câncer e formação ectópica de osso, seu uso na região maxilofacial foram somente associados ao edema exacerbado nos artigos consultados. Portanto a aplicação da proteína mostrou-se uma opção eficaz para alcançar a regeneração óssea na região maxilofacial.

Palavras-chave: Proteína morfogenética óssea. Regeneração óssea por BMP. Ação da BMP

ABSTRACT

Bone morphogenetic proteins (BMPs) are members of the transforming growth factor- β superfamily and are involved in the differentiation of pluripotent mesenchymal cells and the formation of new bone by osteoblastic induction. The use of BMP-2 has been extensively studied at different sites in the oral and maxillofacial regions. This study aimed to conduct a literature review in order to elucidate the use of BMPs for the treatment of oral and maxillofacial bone defects. The morphogenetic bone protein has been shown to be closely linked to the osteoblast differentiation process and consequently to bone regeneration. Its effectiveness in the repair of bone defects is linked to the type of carrier, dosage and growth factors that can be associated, in addition to the good practice of bone tissue regeneration, offering space and blood supply. It may be related to inflammatory responses, cancer and ectopic bone formation, its use in the region was maxillofacial only associated with exacerbated edema in the articles consulted. Therefore, the application of the protein is an effective option to achieve bone regeneration in the maxillofacial region.

Keywords: Bone morphogenetic protein. Bone regeneration by BMP. BMP action.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS	Esponja de Colágeno Absorvível
AgCl	Cloreto de Prata
ALP	Fosfatase Alcalina
AMS	Células-tronco Mesenquimais
BMPs	Proteína Morfogenética Óssea
BMP-2	Proteína Morfogenética Óssea - 2
BMP-6	Proteína Morfogenética Óssea – 6
BMP-7	Proteína Morfogenética Óssea - 7
BMSCs	Células do Estroma da Medula Óssea de Rato
BMMSCs	Células-tronco Mesenquimais da Medula Óssea Autólogas
CCK-8	Kit de Contagem de Células 8
CM	Centímetros
C2C12	Células Precursoras Mesenquimais Pluripotentes
C3H10T1	Células pluripotentes
3 D	Três Dimensões
DRX	Difração de Raio X
ECR	Ensaio Clínico Randomizado
F	Sem Fluorescência
GMS	Microesferas de gelatina
HAp	Hidroxiapatita
HA/TCP	Hidroxiapatita de Cálcio e Fosfato Tricálcico
HY	Ácido Hialurônico
HYAFF-11	Arcabouço Derivado de Ácido Hialurônico
ISQ	Quociente de Estabilidade do Implante
MAO	Oxidação por Microarco
Mct	Tomografia Microcomputada de Raio X
MG	Miligramas
microCT	Tomografia Micro computadorizada
µg	Micrograma
ML	Mililitros
MM	Milímetros
10 mSBF	Fluído Corporal Simulado Modificado

nHA	Nano Hidroxiapatita
nHAG	Nano Hidroxiapatita Gel
NG/ML	Nanograma/Mililitro
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PDLSCs	Células Tronco do Ligamento Periodontal Canino
PLGA	Composto químico
RGD	Ácido Arginilglicil Aspártico
rhBMP-2	Proteína Morfogenética Óssea Recombinante Humana
rgVEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular Recombinante Humano
TCFC	Tomografia Computadorizada de feixe cônico
TCP	Fosfato Tricálcico
TGF-b1	Fator de Crescimento Transformador – Beta 1
TGF-h3	Fator de Crescimento Transformador – h
Ti	Titânio
VS	Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
h	Hora
>	Maior
<	Menor
\pm	Mais ou Menos
%	Porcentagem
+	Sinal de baixa intensidade
++	Sinal de média intensidade
+++	Sinal de alta intensidade
V	Volt
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	PROPOSIÇÃO	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
4	DISCUSSÃO	30
5	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O uso de enxertos autógenos em bloco há muito tempo é aceito como o padrão-ouro para reconstrução do rebordo alveolar. No entanto, riscos, como dor, infecção e morbidade, combinados com uma quantidade limitada de tecido do local doador disponível, levaram ao emprego de materiais regenerativos alternativos, incluindo aloenxertos, xenoenxertos ou materiais sintéticos (KATANEC et al., 2014)

Até a presente data, a abordagem predominante na engenharia de tecido ósseo tem sido a combinação de estruturas e moléculas bioativas osteogênicas importantes para promover nova formação óssea e regular comportamentos celulares, como recrutamento, proliferação e diferenciação. Fatores de crescimento, como fator de crescimento transformador- β , fator de crescimento endotelial vascular e proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), são moléculas sinalizadoras e principais fatores que regulam as células durante os processos de desenvolvimento (LI et al., 2019).

Recentemente, o uso adjuvante da proteína morfogênica óssea 2 (BMP-2) tornou-se clinicamente disponível para melhorar a regeneração óssea e produzir resultados previsíveis em casos desafiadores (PARK et al., 2019). As BMPs são membros da superfamília do fator de crescimento transformador- β . Estão envolvidas na diferenciação de células mesenquimais pluripotentes, e um novo osso é formado por indução osteoblástica, estando comumente implicadas na remodelação e regeneração óssea (Misch, 2011).

O uso da BMP-2 obteve sucesso em diferentes sítios das regiões oral e maxilofacial, como em aumento de crista alveolar em maxila e mandíbula (DE FREITAS et al, 2013; JUNG et al., 2009), aumento do assoalho do seio maxilar (BOYNE et al., 2005), defeitos de descontinuidade mandibular (ZÉTOLA et al., 2015; MOGHADAM et al., 2001) e reparo do rebordo alveolar pós extração (MISH; WANG, 2011). Portanto, torna-se necessário conhecer sua eficácia e segurança.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão de literatura a fim de elucidar as aplicabilidades, eficácia e segurança das BMPs para o tratamento de defeitos ósseos orais e maxilofaciais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Lee et al. (2000) observaram que o tratamento com proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) não apenas bloqueia a diferenciação miogênica de células precursoras mesenquimais pluripotentes C2C12, mas também induz a diferenciação de osteoblastos. Os mecanismos moleculares que regem a capacidade do TGF- β 1 e BMP-2 de induzir respostas específicas do ligante e inibir a diferenciação miogênica não são conhecidos. Seus resultados indicaram que Runx2 é o principal gene alvo compartilhado pelas vias de sinalização de TGF- β e BMP e que a ação coordenada de Runx2 e Smads ativados por BMP leva à indução da expressão gênica específica para osteoblastos em células C2C12.

Kim e Valentini (2001) examinaram *in vitro* o potencial de um arcabouço derivado de ácido hialurônico (Hyaff-11) como um veículo de entrega para BMP-2 humano recombinante (rhBMP-2). A cinética de liberação *in vitro* de rhBMP-2, demonstrada usando ensaio de imunoabsorção enzimática e ensaio de fosfatase alcalina (ALP) revelou uma liberação lenta e sustentada de rhBMP-2 durante 28 dias, com uma liberação cumulativa de 31,82% do rhBMP-2 inicialmente carregado. A retenção de rhBMP-2 nas estruturas de Hyaff-11 foi maior do que nos géis de colágeno, que liberou a maior parte do rhBMP-2 inicialmente carregado em 14 dias. As células permaneceram viáveis ao longo do estudo e expressaram uma expressão de ALP e osteocalcina dependente do tempo e da dose nos grupos de rhBMP-2. Constataram que as estruturas de Hyaff-11 podem ser sistemas de entrega adequados para rhBMP-2 no reparo de osso/cartilagem devido à sua capacidade de reter rhBMP-2, liberar baixos níveis de rhBMP-2 bioativo para o ambiente local de uma maneira sustentada, e estimular a diferenciação de células-tronco pluripotentes.

Moghadam et al. (2001) utilizaram um bioimplante de proteína morfogenética óssea para reconstrução primária de defeito de descontinuidade mandibular de 6 cm, após uma ressecção segmentar de ameloblastoma. Foi realizada uma sutura na musculatura vestibular à borda lateral da placa de reconstrução. Isso criou uma bolsa muscular na qual um bioimplante de 10 ml, consistindo de um gel à base de poloxâmero (DynaGraft Gel, GenSci Regeneration Sciences, Irvine, CA) e 200 mg de BMP humana nativa foi colocado. Evidências radiográficas de indução de osso novo foram vistas em 3 e 9 meses, no pós-operatório. Uma biópsia foi feita em 9 meses e demonstrou formação de osso novo viável no local do bioimplante. Este foi o primeiro

caso relatado usando um bioimplante de proteína morfogenética óssea em um humano, seguido pela confirmação histológica de novo osso.

Simmons et al. (2004) mediram a formação óssea por células do estroma da medula óssea de rato (BMSCs) transplantadas ectopicamente em camundongos SCID usando hidrogéis de alginato. O alginato foi irradiado por gama para variar a taxa de degradação e, em seguida, covalentemente modificado com peptídeos contendo RGD para controlar o comportamento celular. No mesmo veículo de entrega, foram incorporados a proteína morfogenética óssea-2 (BMP2) e fator de crescimento transformador h3 (TGF-h3), individualmente ou em combinação. A entrega individual de BMP2 ou TGF-h3 resultou na formação de tecido ósseo insignificante até 22 semanas, independentemente da taxa de degradação do implante. Em contraste, quando os fatores de crescimento foram administrados juntos a partir de hidrogéis prontamente degradáveis, houve formação óssea significativa pelas BMSCs transplantadas logo em 6 semanas após a implantação. Além disso, a formação óssea, que parecia ocorrer por ossificação endocondral, foi alcançada com a condição de fator de crescimento duplo em concentrações de proteína que eram mais do que uma ordem de magnitude inferior às relatadas anteriormente como necessárias para a formação óssea. Esses dados demonstram que as combinações adequadas de sinais regulatórios solúveis e mediados por biomateriais em sistemas de engenharia de tecidos baseados em células podem resultar em uma regeneração de tecidos mais eficiente e mais eficaz.

Arosarena e Collins (2005) compararam a regeneração óssea mandibular com proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2) administrada com dois carreadores: um polímero de ácido hialurônico (HY) e um carreador de colágeno complexado com hidroxiapatita de cálcio e fosfato tricálcico (colágeno/HA/TCP). Foram criados defeitos nos corpos mandibulares bilaterais de 16 ratos Sprague-Dawley. Os defeitos foram preenchidos com o carreador HY, o carreador HY carregado com BMP-2, o carreador colágeno/HA/TCP ou o carreador colágeno/HA/TCP carregado com BMP-2. As amostras contendo BMP-2 tinham volumes de osso novo e medula significativamente maiores do que as amostras de controle. As amostras do grupo de hialuronano/BMP-2 tendiam a ter maiores volumes de osso novo e osteóide do que as amostras de colágeno/HA/TCP/BMP-2, embora essas diferenças não fossem estatisticamente significativas. Entretanto, o crescimento de osso novo e medula nos grupos contendo rhBMP-2 na maioria dos casos se estendeu bem além das superfícies lingual e

vestibular da mandíbula nativa. Os carreadores HY e colágeno/HA/TCP com BMP-2 tiveram eficácia comparável para reparo ósseo.

Boyne et al. (2005) realizaram um estudo para avaliar duas concentrações de proteína morfogenética óssea humana recombinante-2 (rhBMP-2) para segurança e eficácia na indução de osso adequado para implante dentário endósseo em pacientes que requeriam aumento do assoalho do seio maxilar em estágio. Os pacientes foram tratados com rhBMP-2 (por meio de uma esponja de colágeno absorvível [ACS]), nas concentrações de 0,75 mg/mL (n = 18), 1,50 mg/mL (n = 17) ou com enxerto ósseo (n = 13). A dose total média de rhBMP-2 implantada por seio da face foi de 8,9 mg (variação de 5,2 a 12,0 mg) para pacientes tratados com 0,75 mg/mL e 20,8 mg (variação de 10,8 a 24,0 mg) para pacientes tratados com 1,50 mg/mL. A indução óssea foi avaliada pela altura do rebordo alveolar, largura e medidas de densidade de tomografias computadorizadas obtidas antes e 4 meses após o tratamento e 6 meses pós-carga funcional de implantes dentários (apenas densidade). Os aumentos médios na altura do rebordo alveolar 4 meses após o tratamento foram semelhantes entre os grupos; 11,3 mm, 9,5 mm e 10,2 mm, respectivamente, nos grupos de tratamento de enxerto ósseo, 0,75 mg/mL e 1,50 mg/mL rhBMP-2/ACS. Aumentos médios na largura da crista alveolar (vestibular para lingual) na crista da crista foram estatisticamente diferentes entre os grupos de tratamento; 4,7 mm, 2 mm e 2 mm, respectivamente, no enxerto ósseo, grupos de tratamento de 0,75 mg/mL e 1,50 mg/mL ($p > 0,01$ vs 0,75 mg/mL; $p < 0,01$ vs 1,50 mg/mL). O rhBMP-2/ACS induziu osso adequado com segurança para a colocação e carga funcional de implantes dentários endósseos em pacientes que requereram aumento do assoalho do seio maxilar em estágios. A maior das 2 concentrações de rhBMP-2 foi considerada a mais eficaz para procedimentos de aumento do assoalho do seio maxilar. Embora tenha sido observado no grupo de tratamento com rhBMP-2/ACS de 1,50 mg/mL uma quantidade significativamente maior de edema facial durante os primeiros 4 meses após a cirurgia do que o grupo de enxerto ósseo ($p = 0,0227$) e o grupo de rhBMP-2/ACS com 0,75 mg/mL ($p = 0,0152$).

Wan et al. (2005) estudaram os efeitos de várias combinações de rhBMP-2 (0,3,30 e 300 ng/mL) e rhVEGF (0 e 25 ng/mL) no potencial de osteoclastogênese. A presença de rhBMP-2 a 30 e 300 ng/mL mostrou efeitos inibitórios na diferenciação de osteoclastos e sua capacidade de reabsorção no sistema de cultura de osteoclastos humanos. O rhVEGF (25 ng/mL) aumentou a função de reabsorção dos

osteoclastos sempre que foi usado sozinho ou combinado com 3 ng/mL de rhBMP-2. No entanto, a função de reabsorção induzida por rhVEGF foi inibida em 30 ng/mL e 300 ng/mL de rhBMP-2 de uma maneira dose dependente. A análise estatística demonstrou que existe um efeito interativo entre rhBMP-2 e rhVEGF na osteoclastogênese humana. Essas descobertas sugeriram que uma regulação interativa pode existir entre BMPs e sinalização de VEGF.

Herford e Boyne (2008) revisaram casos de 14 pacientes que receberam BMP-2 em diferentes categorias de defeitos mandibulares. O rhBMP-2 em todos os casos relatados foi usado sozinho com o carreador de colágeno sem materiais ósseos concomitantes. Os casos envolveram lesões do corpo e ângulo da mandíbula em 2 categorias: 1) defeitos decorrentes de doenças neoplásicas e 2) defeitos secundários à osteomielite (relacionados a bifosfonatos ou irradiação). Uma dose total de 4 a 8 mg de rhBMP-2 foi administrada no local da cirurgia em concentrações de 1,5 mg por cc (dependendo do tamanho da lesão). Os casos foram acompanhados por um período de 6 a 18 meses. A função oclusal foi restaurada com próteses implantadas ou convencionais. Todos os casos relatados tiveram sucesso na restauração óssea da área edêntula seguida de tratamento protético. A formação óssea na área cirúrgica pode ser palpada ao final de 3 a 4 meses e identificada radiograficamente ao final de 5 a 6 meses. A manutenção do envelope periosteal foi efetuada com a utilização de mini placa posicionada superiormente na porção superior do defeito ou com a utilização de tela de titânio superiormente. Acredita-se que essa extensão metálica até a mucosa seja necessária para manter o espaço para a regeneração óssea. Em todos os pacientes, o tecido mole com componentes periosteais foi mantido sobre o defeito contínuo. Isso é importante porque o perióstio e o tecido conjuntivo pré-periosteal fornecem uma fonte de células-tronco mesenquimais (suplementando as células AMS disponíveis nos espaços vasculares da medula das paredes do defeito cirúrgico) para diferenciação indutiva pelo rhBMP-2. Em conclusão o estudo indicou que o uso de rhBMP-2 sem materiais de enxerto ósseo concomitantes em defeitos mandibulares de grande porte crítico produziu excelente regeneração da área estabelecendo a base para o retorno da função protodôntica.

Patel et al. (2008) investigaram os efeitos da entrega dupla de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2) para a regeneração óssea em um defeito de tamanho crítico do crânio de rato. Quatro grupos de estruturas foram gerados com VEGF (12 µg), BMP-2 (2 µg), ambos VEGF

(12 µg) e BMP-2 (2 µg), ou nenhum fator de crescimento liberado das micropartículas de gelatina incorporadas nos poros da estrutura. Estas estruturas foram implantadas dentro de um defeito de tamanho crítico do crânio de rato de 8 mm (n = 8–9 para cada grupo). Após 4 e 12 semanas, os implantes foram recuperados e avaliados por tomografia microcomputadorizada (microCT) e análise de pontuação histológica. Além disso, animais de 4 semanas foram perfundidos com um material radiopaco para visualizar e quantificar a formação de vasos sanguíneos. A análise histológica revelou que para todos os grupos em 4 semanas, a maior parte do volume da estrutura porosa foi preenchida com tecido fibroso vascularizado; no entanto, a formação óssea parecia mais abundante no grupo de liberação dupla neste momento. Às 12 semanas, os grupos de liberação dupla e BMP-2 mostraram grandes quantidades de formação óssea dentro dos poros e ao longo das superfícies externas da estrutura. A secreção e mineralização de osteóide eram aparentes e o osso novo estava frequentemente em contato próximo ou direto com a interface da estrutura. Os resultados da MicroCT não mostraram diferenças significativas entre os grupos para a formação de vasos sanguíneos em 4 semanas (<4% do volume dos vasos sanguíneos); entretanto, o grupo de liberação dupla apresentou formação óssea significativamente maior ($16,1 \pm 9,2\%$ do volume ósseo) do que outros grupos neste momento. Em 12 semanas, os grupos de liberação dupla e BMP-2 exibiram formação óssea significativamente maior ($39,7 \pm 14,1\%$ e $37,4 \pm 18,8\%$ do volume ósseo, respectivamente) do que o grupo VEGF ou estruturas sem preenchimento ($6,3 \pm 4,8\%$ e $7,8 \pm 7,1\%$ do osso volume, respectivamente). Este trabalho indica um efeito sinérgico da entrega dupla de VEGF e BMP-2 na formação óssea em 4 semanas e sugere uma interação entre esses fatores de crescimento para a regeneração óssea inicial. Para as doses investigadas, os resultados mostram que a adição de VEGF não afeta a quantidade de formação óssea alcançada por BMP-2 em 12 semanas; no entanto, eles também indicam que o fornecimento de ambos os fatores de crescimento pode melhorar a ligação óssea e a união do defeito de tamanho crítico em comparação com o fornecimento de BMP-2 sozinho.

Jung et al. (2009) realizaram um ensaio clínico controlado randomizado com finalidade de avaliar o resultado em longo prazo de implantes colocados em osso aumentado com um material substituto ósseo xenogênico (Bio-Oss spongiosa granules 0,25-1mm; Geistlich AG, Wolhusen, Suíça) e uma membrana de colágeno com ou sem a adição de proteína óssea morfogenética recombinante humana-2

(rhBMP-2). Onze pacientes receberam um total de 34 implantes colocados em locais que exibiam defeitos ósseos laterais. Em um projeto de boca dividida, os defeitos foram tratados aleatoriamente com o material do enxerto e a membrana de colágeno com (teste) ou sem (controle) rhBMP-2. A dose média de rhBMP-2 usada para os locais de teste foi 0,18 mg (SD 0,13, intervalo 0,06–0,48 mg). Os pacientes foram examinados 3 e 5 anos após a inserção da restauração protética. O teste t pareado de Student foi realizado para detectar diferenças entre os dois grupos. A taxa de sobrevivência em 3 e 5 anos foi de 100% para ambos os grupos. Os tecidos moles peri-implantar eram estáveis e saudáveis, sem qualquer diferença entre os dois grupos. A reavaliação protética demonstrou quatro parafusos protéticos soltos durante os primeiros 3 anos e sete lascas de cerâmica após 3 e 5 anos. A distância média entre o contato do nível ósseo marginal com o implante e a junção do pilar do implante aos 3 anos foi de 1,37 mm (teste), 1,22 mm (controle) e 1,38 mm (teste) e 1,23 mm (controle) em 5 anos. A diferença de 0,2 mm entre os implantes de teste e controle não foi estatisticamente significativa. A mudança média do nível do osso marginal entre o início e 5 anos variou de 0,07 mm (mesial, teste), 0,11 mm (distal, teste), 0,03 mm (mesial, controle), a \pm 0,13 mm (distal, controle). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os locais de teste e controle. Os implantes colocados em osso aumentado com e sem rhBMP-2 revelaram excelentes resultados clínicos e radiológicos após 3 e 5 anos.

Lissenberg-Thunnissen et al. (2011) revisaram a literatura a fim de avaliar a aplicação de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) no reparo ósseo tardio, visando um público amplo de médicos a cientistas. Além de uma visão geral do papel dos diferentes BMPs, seus antagonistas e suas aplicações atuais, atenção especial é focada em novos desenvolvimentos científicos que melhoram os efeitos da terapia baseada em BMP para o reparo ósseo. Pesquisas de publicação no PubMed e Embase revelaram 850 artigos relevantes sobre os critérios 'BMP' e 'bone repair' (em maio de 2011). Os resumos foram cuidadosamente revisados e os artigos selecionados de acordo com o conteúdo. As publicações resultantes mostraram que BMP-2 e BMP-7 são claramente as BMPs mais extensivamente avaliadas, em geral com resultados positivos na consolidação óssea, comparáveis ao uso de preparações inespecíficas, como enxertos ósseos autólogos ou plasma rico em plaquetas. Embora a eficácia dos BMPs como estimuladores do reparo ósseo tenha sido demonstrada em sistemas modelo e estudos clínicos, o uso de BMPs para aumentar a consolidação

de fraturas no ambiente clínico ainda é controverso. Os efeitos colaterais do BMP-2, como formação óssea ectópica no tratamento de fraturas e inchaço crítico dos tecidos moles para fusões da coluna cervical, que foram observados, estavam associados ao uso de doses muito altas de BMP em estudos com animais e variaram entre as espécies e, em última análise, ocorreu a remodelação para o contorno ósseo normal. Questões como quando, onde e quanto de qual BMP é o mais eficaz e lucrativo para usar ainda precisam ser elucidadas. Entretanto, a otimização dos produtos BMP usados em combinação com métodos de produção mais baratos inevitavelmente estimulará o uso clínico de BMPs para a cura de fraturas ósseas em um futuro próximo.

Misch e Wang (2011) discutiram o uso clínico de rhBMP-2/ACS (BMP-2 usando como veículo carreador a esponja de colágeno absorvível) para reparo do rebordo alveolar após procedimentos de extração e aumento do rebordo antes da colocação do implante dentário em dois casos clínicos. Antes da colocação do implante dentário, foram tratados com rhBMP-2/ACS. No aumento do alvéolo, rhBMP-2/ACS e 20% por volume do aloenxerto de osso cortical e esponjoso mineralizado foram usados. Para o aumento da crista, foi realizada a regeneração óssea guiada com tela de titânio com pinos de fixação e uma mistura de rhBMP-2/ACS e enxerto ósseo mineralizado. A avaliação clínica e radiográfica das áreas tratadas após 6 meses de reparação mostrou excelente regeneração óssea que facilitou a colocação subsequente do implante. Além disso, a cicatrização de tecidos moles em locais enxertados com rhBMP-2 pareceu ser acelerada. Concluíram que o rhBMP-2 pode ser um agente usado para promover o reparo do alvéolo, bem como o aumento do rebordo, quando combinado com um pequeno componente de enxerto ósseo mineralizado.

De Freitas et al. (2013) compararam o efeito da proteína morfogenética óssea humana recombinante 2 (rhBMP-2) em um carreador de esponja de colágeno absorvível (ACS) com enxerto ósseo autógeno para aumento da maxila anterior atrófica edêntula. Foram incluídos vinte e quatro indivíduos em um ensaio clínico randomizado, controlado, de grupo paralelo e aberto. Os indivíduos receberam rhBMP-2/ACS (1,5 mg / ml) ou osso autógeno particulado colhido da região retromolar mandibular. Uma tela de titânio foi usada para fornecer espaço e estabilidade à ferida. Um guia foi usado para padronizar os registros clínicos usando um paquímetro analógico. A largura do rebordo alveolar também foi avaliada por meio de tomografia computadorizada de feixe cônico. A rhBMP-2/ACS rendeu ganho ósseo horizontal

radiográfico significativamente maior em comparação com enxerto ósseo autógeno em níveis subcrestais imediatos (1,5 - 0,7 versus 0,5 - 0,9 mm; $p = 0,01$); diferenças não significativas foram observadas nos níveis crestais médio (2,9 - 0,8 versus 2,9 - 0,9 mm; $p = 0,98$) e apical (1,7 - 0,9 versus 1,8 - 1,1 mm; $p = 0,85$). Não foram observadas diferenças significativas no ganho ósseo horizontal clínico em 6 meses entre rhBMP-2/ACS e enxerto ósseo autógeno (3,2 - 0,9 mm versus 3,7 - 1,4 mm; $p = 0,31$). Sessenta e dois implantes foram colocados após 6 meses de cicatrização sem diferenças significativas entre os grupos para o número de implantes, tamanho do implante, estabilidade primária e sobrevivência. Edema facial, edema e/ou eritema local foram comuns, sendo mais frequentes e graves entre os indivíduos que receberam rhBMP-2/ACS. Em conclusão a rhBMP-2/ACS parece uma alternativa realista para o aumento da maxila anterior atrófica edêntula.

Park et al. (2015) avaliaram a entrega gênica da proteína morfogenética óssea 2 (BMP2) ex vivo usando células-tronco do ligamento periodontal canino (PDLSCs) para regeneração de defeitos de peri-implantite. Os PDLSCs caninos foram transduzidos com vetores adenovirais contendo BMP2 (BMP2 / PDLSCs). Após a peri-implantite ter sido induzida pela colocação de ligaduras em seis cães beagle, foram realizados procedimentos regenerativos; partículas de hidroxiapatita (HA) e gel de colágeno com PDLSCs caninos autólogos (grupo PDLSC) ou BMP2/PDLSCs (grupo BMP/PDLSC) ou sem células (grupo controle) foram enxertados nos defeitos e cobertos por uma membrana absorvível. Três meses depois, os animais foram sacrificados. In vitro, as BMP2/PDLSCs mostraram níveis semelhantes de propriedades das células-tronco às PDLSCs, como eficiência na formação de colônias e expressão dos marcadores MSC STRO-1 e CD 146. As BMP2/PDLSCs produziram BMP-2 até o dia 21 em uma concentração de 4 - 8 ng / mL. A expressão de BMP-2 aumentou por 7 dias e depois diminuiu até o dia 21. In vivo, o grupo BMP2/PDLSC mostrou significativamente mais nova formação óssea e re-osseointegração em defeitos peri-implantite em comparação com os outros grupos. Em conclusão, a entrega do gene BMP2 ex vivo usando PDLSCs melhorou a formação óssea e a re-osseointegração em defeitos peri-implantite.

Katanec et al. (2014) relataram o uso clínico de BMP-2 humano recombinante para aumento da crista alveolar vertical bilateral em um caso de paciente de 61 anos com deficiência óssea vertical bilateral significativa da mandíbula. O rhBMP-2 administrado por meio de um carreador de esponja de colágeno absorvível

(ACS) foi usado para indução óssea do rebordo alveolar bilateral. Os locais aumentados foram cobertos e fixados com tela de titânio e foram reabertos 6 meses após a cirurgia. A membrana de titânio e os parafusos de retenção foram removidos e três implantes dentários foram colocados. As amostras de tecido para análise histológica foram colhidas. Após um período de cicatrização de 3 meses, os implantes submersos foram descobertos e restaurados com coroas de cerâmica de zircônia. Tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), radiografia panorâmica e avaliação radiográfica 3D foram obtidas antes e após o procedimento cirúrgico. O ganho vertical do osso foi de 5,5 mm à esquerda e 5 mm à direita, com 6 mm de largura do osso. A análise histológica revelou a formação de osso trabecular maduro com sinais de proliferação osteoblástica. Os valores do quociente de estabilidade do implante (ISQ) variaram entre 69 e 75 para todos os três implantes. Não houve supuração, recessão gengival ou dor 24 meses após a cirurgia. O aumento ósseo vertical usando rhBMP-2 é uma modalidade de tratamento opcional a ser considerada ao planejar a colocação de implantes dentários em locais onde existe insuficiência vertical grave.

Zétola et. al (2015) realizaram um relato de caso documentando resultados de longo prazo usando rh-BMP-2/ β -fosfato tricálcico (TCP) para aumento de enxerto vertical. Paciente de 58 anos com atrofia extrema da mandíbula posterior esquerda foi tratada com rh-BMP-2/ β -TCP para aumento ósseo vertical. No momento da colocação do implante, foi realizada biópsia óssea para avaliação histológica. Sete meses após a cirurgia, a tomografia computadorizada demonstrou aproximadamente 8 mm de ganho ósseo em altura. Os resultados histológicos revelaram um tecido ósseo vital neoformado, predominantemente lamelar com densidade variável. Os níveis ósseos permaneceram inalterados durante todo o período de tratamento (5,5 anos). Esta técnica demonstrou potencial para reconstrução de sítios atróficos quando o ganho ósseo vertical é desejável. Além disso, o ganho ósseo tem mostrado manutenção em longo prazo sem reabsorção. Futuros ensaios clínicos prospectivos de longo prazo são necessários para confirmar esses achados.

Silva et al. (2017) analisaram a utilização da rhBMP-2 na regeneração óssea de um ameloblastoma mandibular unicístico. A área receptora foi preparada e, por meio da técnica de enxertia óssea, a rhBMP-2 (INFUSE Bone Graft®, Medtronic Sofamor Danek, Memphis, Tennessee, Estados Unidos) foi preparada em associação ao Bio-Oss® (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suíça) e adaptada de forma

satisfatória ao sítio cirúrgico, com subsequente adaptação de uma malha de titânio do sistema 1.0, promovendo uma barreira mecânica. No pós-cirúrgico imediato, o paciente teve edema compatível com o procedimento realizado e discreta paresia do nervo alveolar inferior esquerdo. Foi observada uma reação inflamatória tardia. O acompanhamento clínico e radiográfico foi realizado em 1, 3 e 6 meses, com resultado estético e funcional satisfatório.

Huang et al. (2018) estudaram uma camada de revestimento híbrido de hidroxiapatita (HAp) com a liberação sequencial da proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) depositada em um substrato de titânio gravado por deposição eletroquímica sendo em tensão constante de $-0,4$, $-0,8$, $-1,2$ e $-1,6$ V por 1 h. A liberação resultante de BMP-2 de Ti-HAp foi avaliada imergindo amostras em uma solução de fluido tampão simulada. Por meio da co-cultura, foram avaliadas a proliferação celular de osteossarcoma humano e a atividade da fosfatase alcalina. As características e o efeito sobre a proliferação celular dos revestimentos híbridos foram investigados quanto à sua funcionalidade através de ensaios de difração de raios X (DRX) e proliferação celular. Os resultados revelaram que $-0,8$ V vs. Ag/AgCl (3 M KCl) exibiram as propriedades ótimas de HAp e uma camada de revestimento de HAp com sucesso. A DRX confirmou a cristalinidade da HAp depositada na superfície do titânio. A amostra de Ti-0,8 V Ti-HAp com co-revestimento de BMP exibiu a maior eficiência de proliferação celular e foi mais favorável ao crescimento celular. A proliferação celular que ocorreu no Ti-HAp-BMP poder ser resultado do aumento da quantidade de Ca na superfície do Ti, aumentando a concentração local do íon cálcio. Um revestimento híbrido biocompatível de sucesso com tensão redox otimizada aprimorou o processo de osseointegração. Os resultados sugerem que esta técnica pode ter aplicações clínicas promissoras para melhorar os tempos de cicatrização e as taxas de sucesso da implantação dentária. Cultura de células sobre aplicação de camada de revestimento híbrido de hidroxiapatita (HAp) com a liberação sequencial da proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) depositada em um substrato de titânio.

Boda et al. (2019) demonstraram o potencial de segmentos de nanofibras mineralizados acoplados ao peptídeo mimetizante da proteína morfogenética óssea ligadora de cálcio 2 (BMP-2) para regeneração óssea periodontal. Membranas finas de nanofibras eletrofiadas de PLGA-colágeno-gelatina (2: 1: 1 proporções em peso) foram mineralizadas em 10 fluido corporal simulado modificado (10 mSBF) e criocortado em segmentos de 20 mm. Para pesos pré-determinados dos segmentos

de nanofibras mineralizados, foi possível carregar várias quantidades de peptídeo BMP-2 conjugado com heptaglutamato E7domain. Enxertos de fibras curtas mineralizadas (2 mg), com e sem peptídeos E7-BMP-2, foram implantados em defeitos de alvéolos de tamanho crítico de 2 mm x 2 mm (profundidade de diâmetro) criados em maxilas de ratos, após a extração dos primeiros dentes molares. Um perfil de liberação sustentada de E7-BMP-2 dos segmentos de nanofibras mineralizadas foi registrado ao longo de 4 semanas. A análise de tomografia microcomputada de raios-X (mCT) de defeitos preenchidos com enxerto de nanofibra carregado com peptídeo revelou volume de osso novo e densidade mineral óssea 3 vezes maior em 4 semanas em comparação com defeitos de controle não preenchidos. Além disso, os dados histopatológicos confirmaram a formação de um novo tecido ósseo maior no grupo de segmento de nanofibra mineralizado carregado com peptídeo BMP2 do que o de tecido conjuntivo fibroso no grupo de defeito não preenchido. Ao todo, os segmentos de nanofibras mineralizados acoplados aos peptídeos E7-BMP-2 podem ser uma opção de tratamento eficaz para a perda óssea alveolar e defeitos. Como a utilização da proteína BMP-2 inteira traz riscos de respostas inflamatórias, câncer e formação ectópica de osso e pode trazer complicações para o reparo ósseo, os autores investigaram a associação do peptídeo mimetizante E7-BMP-2 com nanofibras mineralizadas. Consideraram que os fragmentos de nanofibras mineralizadas podem ser uma opção mais potente para a cicatrização de defeitos alveolares do que micro e nanopartículas similares.

Li et al. (2019) realizaram um estudo com o objetivo de imitar o processo natural de reparo ósseo utilizando uma estrutura de nano-hidroxiapatita com carga óssea osteoindutora de proteína morfogenética óssea (BMP)-6 (nHA)/gelatina (Gel)/microesfera de gelatina (GMS) pré-semeada com caule mesenquimal da medula óssea células (BMMSCs). GMSs carregados com BMP-6 foram preparados por reticulação e as estruturas de BMP-6/nHAG/GMS foram fabricados por uma combinação de técnicas de mistura e liofilização. Microscopia eletrônica de varredura, microscopia confocal de varredura a laser e ensaios de CCK-8 foram realizados para determinar a biocompatibilidade das estruturas in vitro. A atividade da fosfatase alcalina (ALP) foi medida para avaliar a osteoindutividade das estruturas. Para exame in vivo, defeitos ósseos de tamanho crítico em calvárias de ratos Sprague – Dawley receberam aleatoriamente ~~em~~ os andaimes BMMSC/nHAG/GMS e BMMSC/BMP-6/nHAG/GMS e comparados com um grupo controle com defeitos vazios não tratados.

A liberação de BMP-6 da estrutura foi detectada continuamente por 20 dias e a quantidade cumulativa de liberação atingiu aproximadamente 95%. As estruturas carregadas de BMP-6 mostraram citocompatibilidade, favorecendo a adesão ao BMMSC, proliferação e diferenciação osteogênica. Nas análises radiológicas e histológicas, as estruturas semeadas em BMMSC, especialmente as semeadas em BMMSC, BMP-6/nHAG/GMS, aceleraram significativamente a nova formação óssea. Concluiu-se que o andaime BMP-6/nHAG/GMS possui excelente biocompatibilidade e boa indução osteogênica atividade in vitro e in vivo e poderia ser um substituto bioativo ideal para a engenharia de tecidos ósseos. Estudo com defeitos críticos em calvaria de ratos usando estrutura de nano-hidroxiapatita com carga óssea osteoindutora de proteína morfogenética óssea (BMP)-6 (nHA)/gelatina (Gel)/microesfera de gelatina (GMS).

De Moraes et al. (2019) analisaram o uso de uma nova matriz polimérica de elastina combinada com a proteína morfogenética óssea no reparo de defeitos cranianos em ratos. Trinta ratos foram divididos em cinco grupos: defeito controle (C) sem enxerto, E24 (defeito preenchido com matriz de elastina submetida a hidrólise alcalina a 50 ° C por 24 h), E24/BMP (defeito preenchido com matriz de elastina tratada a 50 ° C por 24 h mais BMP), E96 (defeito preenchido com matriz de elastina tratada a 37 ° C por 96 h) e E96/BMP (defeito preenchido com matriz de elastina tratada a 37 ° C por 96 h mais BMP). Os animais foram mortos após 6 semanas. A integridade da calota craniana foi mantida, sem sinais de granulomas, erosões, edema ou outras alterações indicando reação imunológica causada pelos materiais dos grupos enxertados (E24, E24 / BMP, E96 e E96 / BMP), que persistiram em local do enxerto e não foram completamente reabsorvidos. Na análise histológica e microtomográfica, todos os grupos apresentaram crescimento ósseo das margens de defeitos remanescentes nessa região sem processo inflamatório acentuado, mas no grupo E96/BMP as lamelas eram mais espessas e as fibras colágenas mais organizadas. Histometricamente, o mesmo grupo apresentou maior percentual de nova formação ($43,25 \pm 3,72$) em relação aos demais grupos. Concluiu-se que o sistema de suporte e entrega formado pela matriz de elastina associada às BMPs teve um efeito positivo no processo de reparo ósseo. Avaliaram o uso de matriz polimérica de elastina combinada com a proteína morfogenética óssea no reparo de defeitos cranianos em ratos.

Park et al. (2019) relataram que a proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2) é um potente fator de crescimento que afeta a formação óssea. Embora a BMP-2 humana recombinante (rhBMP-2) esteja disponível comercialmente para casos de fratura por não união e fusão espinhal em ortopedia, ela também foi aplicada para melhorar a regeneração óssea em casos desafiadores que requerem tratamento com implante dentário. No entanto, complicações relacionadas a uma dosagem inicialmente alta para manter uma concentração fisiológica efetiva no local do defeito foram relatadas, embora uma dosagem de rhBMP-2 eficaz e segura para regeneração óssea ainda não tenha sido determinada. Em contraste com a entrega de proteína, a transferência do gene BMP-2 para o local do defeito induz a síntese de BMP-2 in vivo e leva à secreção por semanas a meses, dependendo do vetor, a uma concentração de nanogramas por mililitro. A entrega do gene BMP-2 é vantajosa para o processo de cicatrização de feridas ósseas em termos de dosagem e duração. Por exemplo, PDGF é um fator de crescimento de ação precoce, enquanto BMP-2 é um fator de crescimento de ação tardia que opera após a conclusão do processo de cicatrização inflamatória inicial. Portanto, sistemas de entrega eficazes que considerem a ação de cada fator de crescimento devem ser projetados. No entanto, as preocupações com a segurança relacionadas aos vetores virais são um dos obstáculos que precisam ser superados para que a entrega do gene seja usada na prática clínica. Recentemente, a terapia gênica comercialmente disponível foi introduzida na ortopedia e os ensaios clínicos em odontologia estão em andamento. Em termos de transferência de genes estáveis, produção de BMP-2 e regeneração óssea, a entrega de genes de BMP-2 ex vivo usando células autólogas tem alguns méritos. No entanto, o alto custo das boas práticas de fabricação (GMPs) relacionadas aos sistemas de cultura de células ex vivo aumenta a dificuldade dessa aplicação clínica. Esta revisão examina a aplicação da terapia gênica com BMP-2 para regeneração óssea nas regiões oral e maxilofacial e discute as perspectivas futuras da terapia gênica com BMP-2 em odontologia.

Ramly et al. (2019) consideraram que a proteína morfogenética óssea humana recombinante-2 (rhBMP-2) é um dos agentes osteogênicos mais comumente usados no esqueleto craniofacial. Analisaram a segurança e eficácia do rhBMP-2 aplicado à reconstrução craniofacial e avaliaram o nível de evidência científica atualmente disponível por meio de uma extensa pesquisa bibliográfica. Os ensaios clínicos randomizados (ECR), séries de casos e relatórios no idioma inglês, bem como os relatórios da Food and Drug Administration foram revisados. Os estudos foram

classificados usando a Escala de Níveis de Evidência de Medicina Baseada em Evidências de Oxford. A heterogeneidade dos dados impediu a análise quantitativa. Dezesete ensaios clínicos randomizados (níveis de evidência: Ib-IIb) foram identificados avaliando o uso de rhBMP-2 no seio maxilar, crista alveolar, fenda alveolar ou reconstrução de defeitos cranianos (tamanho da amostra: 7-160; idade: 8-75 anos). Os desenhos dos estudos variaram em rigor, com acompanhamento variando de 3 a 36 meses, e a avaliação dos resultados com base em exame clínico, radiologia e/ou histologia. Houve grande variação nas concentrações de rh-BMP-2, portadores e controles. A maioria dos estudos que avaliaram rhBMP-2 para fechamento de defeitos cranianos, reconstrução mandibular ou osteogênese por distração consistiu em coortes retrospectivas e relatos de casos. As evidências falham em apoiar o uso de RhBMP-2 no aumento da parede do seio maxilar, reconstrução de calvária, reconstrução mandibular ou distração osteogênica. O RhBMP-2 pode ser eficaz na reconstrução alveolar em adultos, mas está associado ao aumento do edema pós-operatório. Concluíram que uma relação risco-benefício que favorece o rhBMP-2 em vez de substitutos alternativos ainda precisa ser demonstrada na maioria das aplicações em cirurgia plástica e reconstrutiva. Faltam dados a longo prazo sobre o crescimento craniofacial, e o uso de rhBMP-2 em pacientes com menos de 18 anos permanece fora do rótulo.

Teng et al. (2019) realizaram um estudo onde um implante poroso à base de liga de Ti com uma estrutura de canal interconectado (MAO-CaP-BMP2) é foi fabricado usando um método que combina impressão 3D, tratamento com oxidação por microarc (MAO) e co-precipitação da camada de Ca, P com BMP -2 técnica. A estrutura macroporosa com tamanho de poro de 600 µm feita pela impressão 3D não apenas melhora o crescimento das células, mas também permite a formação de vasos sanguíneos no interior do implante. Como resultado, a nova formação de títulos é promovida. Além disso, a camada de dióxido microporoso formada na superfície do implante pela MAO fornece os locais para a co-precipitação da camada de Ca, P com BMP-2. A microestrutura permitiu a liberação prolongada de BMP-2. Os resultados mostraram que uma liberação sustentada de BMP-2 por 35 dias é alcançada para o grupo MAOCaP-BMP2 por mais tempo que o Ti sem o grupo de modificação da MAO e sem o grupo de deposição eletroquímica de Ca, P. A liberação lenta de BMP-2 na interface osso/implante por um longo período de tempo leva ao aprimoramento da osseointegração entre o implante e os ossos circundantes. Este resultado indicou que

o MAO-CaP-BMP2 é um bom candidato ao portador do fator de crescimento. A regeneração bem-sucedida do osso requer processos concomitantes de osteogênese e neovascularização. O implante de liga de Ti modificado com MAO-CaP-BMP2 é osteoindutor e osteocondutor, o que pode criar melhor osteogênese e angiogênese. Como resultado, pode melhorar a formação óssea.

4 DISCUSSÃO

Os sistemas de entrega de BMP-2 atualmente disponíveis usam rhBMP-2 na forma de proteína, que são aplicadas sobre um carreador que geralmente são uma membrana de colágeno (ACS) ou substitutos ósseos. Segundo Lee et al. (2000), o tratamento com proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) induz a diferenciação de osteoblastos. Durante a reparação óssea, a angiogênese e a osteogênese são processos intimamente associados que compartilham alguns mediadores comuns. Wan et al. (2005) observaram que existe um efeito interativo entre rhBMP-2 e rhVEGF na osteoclastogênese em cultura humana. E o rhBMP-2 quando utilizado sozinho no sistema de cultura teve efeitos inibitórios sobre a diferenciação osteoclástica e sua atividade de reabsorção óssea.

Um efeito sinérgico da entrega dupla de VEGF e BMP-2 na formação óssea foi observada e sugere uma interação entre esses fatores de crescimento para a regeneração óssea inicial. Para as doses investigadas, os resultados mostram que a adição de VEGF não afetou a quantidade de formação óssea alcançada por BMP-2; no entanto, também indicaram que o fornecimento de ambos os fatores de crescimento pode melhorar a ligação óssea e a união do defeito de tamanho crítico em comparação com o fornecimento de BMP-2 sozinho (PATEL et al., 2008).

Um método proposto por Simmons et al. (2004) mediu a formação óssea por células do estroma da medula óssea de rato (BMSCs) transplantadas ectopicamente em camundongos SCID usando hidrogéis de alginato. Quando BMP e fator de crescimento transformador (TGF- β 3) foram administrados juntos em concentrações fisiológicas, houve formação óssea rápida e extensa, confirmando a hipótese de que a entrega dupla de BMP2 e TGF- β 3 aumenta a formação óssea. Esses fatores de crescimento foram selecionados porque ambos são expressos durante a regeneração óssea natural, mas parecem desempenhar papéis distintos. Esses dados demonstraram que as combinações adequadas de sinais regulatórios solúveis e mediados por biomateriais em sistemas de engenharia de tecidos baseados em células podem resultar em uma regeneração de tecidos mais eficiente e mais eficaz.

Em um estudo de uma camada de revestimento híbrido de hidroxiapatita (HAp) com liberação sequencial da proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) depositada em um substrato de titânio gravado por deposição eletroquímica em tensão constante de $-0,4$, $-0,8$, $-1,2$ e $-1,6$ V por 1 h, Huang et al. (2018) observaram que a amostra de

Ti-0,8 V Ti-HAp com co-revestimento de BMP exibiu a maior eficiência de proliferação celular e foi mais favorável ao crescimento celular. A proliferação celular que ocorreu no Ti-HAp-BMP poderia ser resultado do aumento da quantidade de Ca na superfície do Ti, aumentando a concentração local do íon cálcio. Os resultados sugeriram que esta técnica pode ter aplicações clínicas promissoras para melhorar os tempos de cicatrização e as taxas de sucesso da implantação dentária.

Diferentes tipos de carreadores são estudados atualmente para a BMP, com o intuito de obter um carreador de liberação lenta e contínua, com propriedades osteocondutoras. Kim e Valentini (2001) examinaram *in vitro* o potencial de um arcabouço derivado de ácido hialurônico (Hyaff-11). Constataram que as estruturas de Hyaff-11 podem ser sistemas de entrega adequados para rhBMP-2 no reparo de osso/cartilagem devido à sua capacidade de reter rhBMP-2, liberar baixos níveis de rhBMP-2 bioativo para o ambiente local de uma maneira sustentada, e estimular a diferenciação de células-tronco pluripotentes. Dois carreadores foram comparados por Arosarena e Collins (2005), um polímero de ácido hialurônico (HY) e um carreador de colágeno complexado com hidroxiapatita de cálcio e fosfato tricálcico (colágeno/HA/TCP) para regeneração óssea mandibular com proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2) em defeitos criados nos corpos mandibulares bilaterais de 16 ratos Sprague-Dawley. Os carreadores HY e colágeno/HA/TCP com BMP-2 tiveram eficácia comparável para reparo ósseo. Uma estrutura de nano-hidroxiapatita com proteína morfogenética óssea 6 (BMP-6) e microesfera de gelatina (GMS) foi testada em defeitos críticos em calvária de ratos com o objetivo de imitar o processo natural de reparo ósseo. As estruturas carregadas de BMP-6 mostraram citocompatibilidade, favorecendo a adesão ao BMMSC, proliferação e diferenciação osteogênica. O andaime BMP-6/nHAG/GMS apresentou excelente biocompatibilidade e boa indução osteogênica em atividade *in vitro* e *in vivo* e poderia ser um substituto bioativo ideal para a engenharia de tecidos ósseos. As micrografias revelaram que a superfície dos andaimes era áspera e irregular, com deposição de um grande número de partículas de nHA. Além disso, a estrutura tinha uma arquitetura tridimensional com poros interconectados de diferentes tamanhos, variando de 100 a 200 μm formados durante a liofilização. Durante os testes mecânicos, os andaimes exibiram boas propriedades mecânicas e a resistência à compressão foi medida em 4,07 Mpa. A liberação de BMP-6 do andaime foi detectada continuamente por 20 dias e a quantidade cumulativa de liberação atingiu aproximadamente 95% (LI et al. 2019). Outro carreador com

estrutura porosa e com boa resistência mecânica foi proposto por Teng et al. (2019), onde placas de Ti-6Al-4V com uma estrutura de canal interconectados foram fabricadas pelo processo de impressão 3D com sinterização a laser. A largura do poro foi de cerca de 600 μm . Estes foram então submetidos ao tratamento com oxidação de micro-arco (MAO) para formar uma camada de óxido poroso na superfície do implante de Ti. Depois disso, o filme de fosfato de cálcio foi depositado no Ti oxidado por micro-arco por um método eletroquímico. Ao adicionar BMP-2 no eletrólito, o BMP-2 pode ser co-precipitado na camada de Ca, P recém-formada, formando um implante poroso à base de liga de Ti (MAO-CaP-BMP2). Devido à sua estrutura porosa, o gradiente de concentração de BMP-2 existente na periferia e no centro do implante poroso levaram a fatores de crescimento difusos da região central para a região periférica do implante, o que foi benéfico para a ósseo-integração. Foi obtida uma liberação sustentada de BMP-2 por 35 dias. O implante de liga de Ti modificado com MAO-CaP-BMP2 é osteoindutor e osteocondutor, o que pode criar melhor osteogênese e angiogênese e pode melhorar a formação óssea.

De Moraes et al. (2019) analisaram o uso de uma nova matriz polimérica de elastina combinada com a proteína morfogenética óssea no reparo de defeitos cranianos em ratos e concluíram que o sistema de suporte e entrega formado pela matriz de elastina associada às BMPs teve um efeito positivo no processo de reparo ósseo. Park et al. (2015) avaliaram a entrega gênica da proteína morfogenética óssea 2 (BMP2) ex vivo usando células-tronco do ligamento periodontal canino (PDLSCs) para regeneração de defeitos de peri-implantite em cães beagles. In vivo, o grupo BMP2/PDLSC mostrou significativamente mais nova formação óssea e reosseointegração em defeitos peri-implantite em comparação com os outros grupos.

A BMP-2 tem sido escolhida em casos onde a enxertia por osso autógeno não seja possível ou seja questionável, como no caso de Moghadam et al. (2001) onde o paciente passou por tratamento de radiação corporal total. Foi utilizado um bioimplante de proteína morfogenética óssea para reconstrução primária de defeito de descontinuidade mandibular de 6 cm, após uma ressecção segmentar de ameloblastoma. Este foi o primeiro caso relatado usando um bioimplante de proteína morfogenética óssea em um humano, seguido pela confirmação histológica de novo osso.

Um dos principais questionamentos relacionados a BMP diz respeito a dosagem necessária para que possa ser promovida regeneração óssea. Boyne et al.

(2005) em seu estudo avaliaram 2 concentrações de proteína morfogenética óssea humana recombinante-2 (rhBMP-2) para segurança e eficácia na indução de osso adequado para implante dentário em pacientes que requeriam aumento do assoalho do seio maxilar em estágio. Os pesquisadores avaliaram o dobro de pacientes com osso tipo IV no grupo de 0,75 mg/mL em comparação com o grupo de rhBMP-2/ACS de 1,50 mg/mL no momento da colocação do implante dentário. No entanto, após 6 meses de carga funcional, a densidade do osso induzido aumentou significativamente para os grupos de tratamento de 0,75 e 1,50 mg/mL e tornou-se comparável ao grupo de enxerto ósseo. O rhBMP-2/ACS induziu osso adequado com segurança para a colocação e carga funcional de implantes dentários endósseos em pacientes que requereram aumento do assoalho do seio maxilar em estágios. A maior concentração de rhBMP-2 foi considerada a mais eficaz, embora tenha sido observado uma quantidade significativamente maior de edema facial durante os primeiros 4 meses após a cirurgia do que o grupo de enxerto ósseo e o grupo com menor concentração.

A proteína foi aplicada em diversos tipos de defeitos ósseos da região maxilofacial. Herford e Boyne (2008) revisaram casos de 14 pacientes que receberam rhBMP-2 sozinho com o carreador de colágeno sem materiais ósseos concomitantes em defeitos mandibulares como: neoplásica, atrofia da mandíbula edêntula, osteomielites e deformidades congênitas. Foi observado excelente regeneração da área estabelecendo a base para o retorno da função protodôntica.

Estudos clínicos e radiográficos de 5 anos obtiveram bons resultados em um ensaio clínico controlado randomizado, após a colocação de implantes em osso aumentado com um material substituto ósseo xenogênico (Bio-Oss spongiosa granules 0,25-1mm; Geistlich AG, Wolhusen, Suíça) e uma membrana de colágeno com ou sem a adição de proteína óssea morfogenética recombinante humana-2 (rhBMP-2). A dose média de rhBMP-2 usada para os locais de teste foi 0,18 mg. Não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros examinados entre os locais de teste e controle (JUNG et al.; 2009).

Misch e Wang (2011) concluíram que o rhBMP-2/ACS pode ser um agente usado para promover o reparo do alvéolo após a exodontia, bem como o aumento do rebordo; embora o carreador de esponja de colágeno (ACS) pareça ter limitações de espaço que podem exigir a adição de uma matriz, como um substituto de osso, ou o uso de um andaime, como uma tela de titânio, para proteção do enxerto nas aplicações. Uma tela de titânio com 0,2 mm de espessura (Stryker, Freiburg,

Alemanha) foi utilizada por De Freitas et al. (2013) para fornecer espaço para aumento ósseo na comparação entre (rhBMP-2/ACS) 1,5mg/ml com enxerto ósseo autógeno, para aumento da maxila anterior atrófica edêntula e não observaram diferenças significativas no ganho ósseo horizontal clínico entre os dois tratamentos. Também não observaram diferenças significativas entre os grupos para o número, tamanho, estabilidade primária e sobrevivência quando foram instalados 62 implantes após 6 meses de cicatrização. Edema facial, edema e/ou eritema local foram comuns, sendo mais frequentes e graves entre os indivíduos que receberam rhBMP-2/ACS. Consideraram a rhBMP-2/ACS como uma alternativa realista para o aumento da maxila anterior atrófica edêntula.

Em um caso de paciente de 61 anos com deficiência óssea vertical bilateral significativa da mandíbula, Katanec et al. (2014) relataram o uso de BMP-2 recombinante humano administrado por meio de um carreador de esponja de colágeno absorvível (ACS) para aumento da crista alveolar vertical bilateral. Consideraram que o aumento ósseo vertical usando rhBMP-2 é uma modalidade de tratamento opcional a ser considerada ao planejar a colocação de implantes dentários em locais onde existe insuficiência vertical grave.

Em outro caso com deficiência óssea significativa, Zétola et al. (2015) realizaram tratamento em um paciente de 58 anos com atrofia extrema da mandíbula posterior esquerda com rh-BMP-2/ β -TCP (fosfato b-tricálcico) para aumento ósseo vertical. Os resultados histológicos revelaram um tecido ósseo vital neoformado, predominantemente lamelar com densidade variável e os níveis ósseos permaneceram inalterados durante todo o período de tratamento (5,5 anos).

O uso da proteína morfogenética óssea para aumentar a consolidação de fraturas no ambiente clínico ainda é controverso. Lissenberg-Thunnissen et al. (2011) revisaram a literatura e concluíram que a eficácia dos BMPs como estimuladores do reparo ósseo foi demonstrada em sistemas modelo e estudos clínicos. Os efeitos colaterais do BMP-2, como formação óssea ectópica no tratamento de fraturas e inchaço crítico dos tecidos moles para fusões da coluna cervical, que foram observados, estavam associados ao uso de doses muito altas de BMP em estudos com animais e variaram entre as espécies e, em última análise, ocorreu a remodelação para o contorno ósseo normal.

Edema facial, edema e/ou eritema local foram observados por De Freitas et al. (2013), sendo mais frequentes e graves entre os indivíduos que receberam rhBMP-

2/ACS para aumento da maxila anterior atrófica edêntula. Silva et al. (2017) relataram edema compatível com o procedimento realizado e discreta paresia do nervo alveolar inferior esquerdo e uma reação inflamatória tardia, quando utilizaram a rhBMP-2 na regeneração óssea de um ameloblastoma mandibular unicístico.

Riscos da utilização da proteína BMP-2 inteira foram relatados por Boda et al. (2019) gerando respostas inflamatórias, câncer e formação ectópica de osso e podendo trazer complicações para o reparo ósseo; assim, investigaram a associação do peptídeo mimetizante E7-BMP-2 com nanofibras mineralizadas. Consideraram que os fragmentos de nanofibras mineralizadas podem ser uma opção mais potente para a cicatrização de defeitos alveolares do que micro e nanopartículas similares.

Complicações relacionadas a uma dosagem inicialmente alta para manter uma concentração fisiológica efetiva no local do defeito foram relatadas por Park et al. (2019). Em contraste com a entrega de proteína, a transferência do gene BMP-2 para o local do defeito induz a síntese de BMP-2 in vivo e leva à secreção por semanas a meses, dependendo do vetor, a uma concentração de nanogramas por mililitro. Uma dosagem de rhBMP-2 eficaz e segura para regeneração óssea ainda não foi determinada. Portanto, sistemas de entrega eficazes que considerem a ação de cada fator de crescimento devem ser projetados. No entanto, as preocupações com a segurança relacionadas aos vetores virais são um dos obstáculos que precisam ser superados para que a entrega do gene seja usada na prática clínica.

Evidências encontradas por Ramly et al. (2019) falharam em apoiar o uso de RhBMP-2 no aumento da parede do seio maxilar, reconstrução de calvária, reconstrução mandibular ou distração osteogênica. Consideraram que a proteína morfogenética óssea humana recombinante-2 (rhBMP-2) é um dos agentes osteogênicos mais comumente usados no esqueleto craniofacial. Analisaram a segurança e eficácia do rhBMP-2 aplicado à reconstrução craniofacial e avaliaram o nível de evidência científica atualmente disponível por meio de uma extensa pesquisa bibliográfica. O RhBMP-2 pode ser eficaz na reconstrução alveolar em adultos, mas está associado ao aumento do edema pós-operatório. Concluíram que uma relação risco-benefício que favorece o rhBMP-2 em vez de substitutos alternativos ainda precisa ser demonstrada na maioria das aplicações em cirurgia plástica e reconstrutiva.

A proteína foi associada a edemas exacerbados no pós operatório e apresentou complicações relacionadas a uma dosagem inicialmente alta para manter uma concentração fisiológica efetiva no local do defeito. No entanto a utilização de diferentes carreadores, associação de fatores de crescimento e aplicações de novas técnicas como a entrega do gene da proteína, se mostraram propostas otimistas para sua aplicação. Sendo assim sugere-se mais estudos clínicos avaliando quais carreadores e fatores de crescimento se mostram sinérgicos a aplicação das BMPs.

5 CONCLUSÃO

A proteína óssea morfogenética mostrou-se intimamente ligada ao processo de diferenciação dos osteoblastos e conseqüentemente da regeneração óssea. Sua eficácia no reparo de defeitos ósseos está ligada ao tipo de carreador, dosagem e fatores de crescimento que podem ser associados, além da boa prática de regeneração do tecido ósseo, oferecendo espaço e suprimento sanguíneo. Embora esteja relacionada a respostas inflamatórias, câncer e formação ectópica de osso, seu uso na região maxilofacial foram somente associados ao edema exacerbado nos artigos consultados. Portanto a aplicação da proteína mostrou-se uma opção eficaz para alcançar a regeneração óssea na região maxilofacial.

REFERÊNCIAS

AROSARENA, O. A.; COLLINS, W. L. Bone regeneration in the rat mandible with bone morphogenetic protein-2: a comparison of two carriers. **Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 132, n. 4, p. 592-597, 2005.

BODA, SK. et al. Mineralized nanofiber segments coupled with calcium-binding BMP-2 peptides for alveolar bone regeneration. **Acta Biomater**, v. 85, p. 282-293, 2019.

BOYNE, PJ. et al. Indução óssea de novo pela proteína morfogenética óssea humana recombinante-2 (rhBMP-2) no aumento do assoalho do seio maxilar. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 63, n. 12, p. 1693-1707, 2005.

DE FREITAS, RM. et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of-concept randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 40, n. 10, p. 968-975, 2013.

DE MORAES, R. et al. Suitability of the use of an elastin matrix combined with bone morphogenetic protein for the repair of cranial defects. **Am J Transl Res**, v. 11, n. 8, p. 5261, 2019.

HERFORD, AS.; BOYNE, PJ. Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). **J Oral Maxillofac Surg**, v. 66, n. 4, p. 616-624, 2008.

HUANG, HY. et al. Effect of hydroxyapatite formation on titanium surface with bone morphogenetic protein-2 loading through electrochemical deposition on MG-63 cells. **Materials**, v. 11, n. 10, p. 1897, 2018.

JUNG, RE. et al. A randomized-controlled clinical trial evaluating clinical and radiological outcomes after 3 and 5 years of dental implants placed in bone regenerated by means of GBR techniques with or without the addition of BMP-2. **Clin Oral Implants Res**, v. 20, n. 7, p. 660-666, 2009.

KATANEC, D. et al. Use of recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP2) in bilateral alveolar ridge augmentation: case report. **Coll Antropol**, v. 38, n. 1, p. 325-330, 2014.

KIM, HD.; VALENTINI, RF. Retention and activity of BMP-2 in hyaluronic acid-based scaffolds in vitro. **J Biomed Mater Res**, v. 59, n. 3, p. 573-584, 2002.

LI, X. et al. Synthesis and evaluation of BMMSC-seeded BMP-6/nHAG/GMS scaffolds for bone regeneration. **Int J Med Sci**, v. 16, n. 7, p. 1007, 2019.

LISSENBERG-THUNNISSEN, SN. et al. Use and efficacy of bone morphogenetic proteins in fracture healing. **Int Orthop**, v. 35, n. 9, p. 1271-1280, 2011.

LEE, KS. et al. Runx2 is a common target of transforming growth factor beta1 and bone morphogenetic protein 2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces

osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 23, p. 8783-8792, 2000.

MISCH, C.; WANG, HL. Clinical Applications of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 for Bone Augmentation Before Dental Implant Placement. **Clin Adv Periodontics**, v. 1, n. 2, p. 118-131, 2011.

MOGHADAM, HG. et al. Successful mandibular reconstruction using a BMP bioimplant. **J Craniofac Surg**, v. 12, n. 2, p. 119-127, 2001.

PARK, SY. et al. BMP-2 gene delivery-based bone regeneration in dentistry. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 8, p. 393, 2019.

PARK, SY. et al. Ex vivo bone morphogenetic protein 2 gene delivery using periodontal ligament stem cells for enhanced re-osseointegration in the regenerative treatment of peri-implantitis. **J Biomed Mater Res A**, v. 103, n. 1, p. 38-47, 2015.

PATEL, ZS. et al. Dual delivery of an angiogenic and an osteogenic growth factor for bone regeneration in a critical size defect model. **Bone**, v. 43, n. 5, p. 931-940, 2008.

RAMLY, EP. et al. Safety and Efficacy of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) in Craniofacial Surgery. **Plast Reconstr Surg Glob Open**, v. 7, n. 8, 2019.

SILVA, HCL. et al. Utilização off-label das rhBMP-2 como estratégia de regeneração do tecido ósseo em ameloblastoma mandibular. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 1, p. 92-95, 2017.

SIMMONS, CA. et al. Dual growth factor delivery and controlled scaffold degradation enhance in vivo bone formation by transplanted bone marrow stromal cells. **Bone**, v. 35, n. 2, p. 562-569, 2004.

TENG, FY. et al. Controlled release of BMP-2 from titanium with electrodeposition modification enhancing critical size bone formation. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 105, 2019.

WAN, C.; HE, Q.; LI, G. Osteoclastogenesis in the nonadherent cell population of human bone marrow is inhibited by rhBMP-2 alone or together with rhVEGF. **J Orthop Res**, v. 24, n. 1, p. 29-36, 2006.

ZÉTOLA, A. et al. Use of rhBMP-2/ β -TCP for Interpositional Vertical Grafting Augmentation: 5.5-Year Follow-up Clinically and Histologically. **Implant Dent**, v. 24, n. 3, p. 349-353, 2015.