

Jorge Daniel Félix Fernandes

Regeneração Óssea : Biomateriais

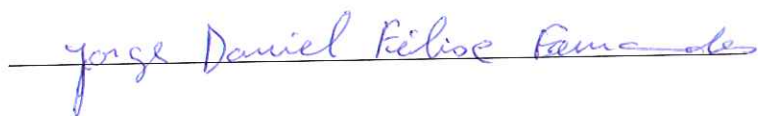
Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2009

Jorge Daniel Félix Fernandes

Regeneração Óssea : Biomateriais

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção
do Grau de Licenciatura em Medicina Dentária.

A handwritten signature in blue ink, reading "Jorge Daniel Félix Fernandes", is written over a horizontal line.

Resumo

Actualmente existem no mercado um elevado conjunto de biomateriais e de técnicas cirúrgicas que podem ser utilizadas na regeneração óssea de várias partes do corpo humano, incluindo a cavidade oral e o crânio em geral. Desde os enxertos autólogos passando por substitutos de origem animal até à utilização das mais recentes células mesenquimatosas e estaminais humanas, importa identificar vantagens e desvantagens dos vários materiais, bem como as suas aplicações nos diversos tipos de intervenções que podem ser realizadas, nomeadamente a colocação de implantes e na regeneração de defeitos ósseos ou fracturas.

Escolhi fazer uma revisão bibliográfica sobre este tema pelo facto de ser bastante actual e de muito interesse ao nível da Medicina Dentária e mesmo em outras especialidades como a ortopedia, fisiologia, biologia celular ou a histologia, o que é comprovado pela profusão de artigos saídos nos últimos anos sobre esta temática, sejam revisões, casos clínicos ou mesmo estudos laboratoriais.

Abstract

Today there are in the market a high number of biomaterials and cirurgical techniques that can be used in bone regeneration of several parts of the human body, including the oral cavity and the cranium in general. From the autografts to the animal substitutes products ending in the more recent mysenchemal and estaminal human cells, it is important to identify the advantages and disadvantages of the this materials, as well as its applications in the several interventions that can be done, especially the dental implant placement and the regeneration of osseous defects of fractures.

I choose to do and bibliographic review, on this subject, because it is a very actual and has a high interest in Dental Medicine and even in other specialties such as Orthopedics, Human Physiology, Celular Biology or Histology, which is proven by the high number of articles that have been published on this subject in the last few years, whether they are revisions, case studies or even laboratorial analysis.

Dedico este trabalho:

À minha família devido ao apoio prestado aos vários níveis e ao longo da licenciatura em geral, e na realização deste trabalho em particular.

Aos meus amigos por toda a ajuda e compreensão e por todos os momentos que proporcionaram ao longo de todos estes anos que nos conhecemos.

Ao professor Pedro Pires pela orientação científica, paciência, amizade e pelo tempo dispendido no auxílio prestado na elaboração e correcção deste trabalho.

Agradeço o seu apoio, veiculado quer através da sua capacidade científica e orientação técnica, quer na disponibilização de material científico e bibliográfico que me facultou.

Sem o aporte indispensável de todos estes intervenientes da minha vida, o resultado final deste trabalho seria bastante diferente.

| <u>Índice</u> | <u>página</u> |
|--|---------------|
| I.Introdução e objectivos | 9 |
| II.Regeneração Óssea: definição e história | 11 |
| III.Tecido Ósseo | 14 |
| IV.Materiais usados em regeneração óssea | 20 |
| V.Técnicas de aumento do rebordo alveolar | 41 |
| VI.Novas tendências: Tecnologia PRGF® | 45 |
| VII.Conclusões | 50 |
| VIII.Bibliografia | 51 |

I. Introdução

A regeneração óssea pode ser definida como o processo de restauração de um determinado tecido ósseo, em que este volta a ter as características do tecido ósseo original.

Este conceito nos últimos anos tem vindo a ser realçado e constantemente referido devido à evolução e democratização da terapêutica com recurso a implantes dentários, ao desenvolvimento de um elevado número de novos biomateriais e ao aparecimento de novos conceitos como o efeito barreira e o desenvolvimento de membranas com o fim de estimular a capacidade de regeneração do organismo, entre outros.

Actualmente novas tendências em estudo ainda laboratorial como o uso das células estaminais, abrem novas e interessantes perspectivas sobre este fenómeno, de vital importância para áreas da Medicina Dentária como a Periodontia ou a Cirurgia, entre outras.

Importa, em primeiro lugar perceber exactamente qual a fisiologia, histologia e biologia do osso, depois o processo de regeneração em si, e finalmente tentar avaliar em que pontos do mesmo os vários biomateriais podem intervir, e qual a sua real importância e eficácia na regeneração do tecido ósseo.

A pesquisa que deu origem a este trabalho foi realizada na Biblioteca da Universidade Fernando Pessoa e na Biblioteca da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto em revistas da especialidade como a JOMI e a JADA nas suas edições divulgadas desde 2005 até ao início de 2009, em livros de referência nesta área e em material científico de divulgação dos seus produtos gentilmente cedido pelos laboratórios BTI.

Também recorri a motores de busca científicos da internet como o Pubmed, Spingler e a Medline utilizando as seguintes palavras chave: “bone regeneration”, “BMP”, “Bioglass”, “autografts”, “xenografts”, “allografts” e “membranes for bone regeneration”.

Os objectivos a que me proponho nesta revisão são:

- Descrever o fenómeno e a importância da regeneração óssea na Medicina Dentária actual.
- Fazer um histórico dos biomateriais já utilizados em regeneração óssea.
- Analisar as suas vantagens e desvantagens bem como compará-los com o uso de enxertos autólogos, em especial os xenoenxertos e os aloenxertos.
- Analisar novas abordagens tendências ou materiais que pode ser usados no futuro em regeneração óssea.

II. Regeneração óssea: definição e história

A definição de biomateriais tal como a conhecemos actualmente, foi descrita na conferência de Chester em 1991, como sendo “ um material destinado a contactar com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função” (Gutierrez et al. 2006).

Os primeiros relatos de aplicações de biomateriais remontam à pré-história com a descoberta de crânios com trepanações utilizando placas de prata e de ouro (Gutierrez et al. 2006).

A primeira descrição detalhada de enxerto ósseo está datada de 1668, pelo cirurgião holandês Job Van Meekeren após um transplante bem sucedido de fragmentos de crânio de um cão para um ser humano. A partir dessa data acumularam-se relatos e informações sobre este tema, até que em 1915 foi publicado o primeiro manual cirúrgico conhecido de enxerto ósseo reposição de perdas e falhas ósseas (Weigel 1996; Dueland et al., 1989).

Nos anos 60 do século 20 foram descobertos por Urist e seus colaboradores, pela primeira vez, agentes osteoindutores, as BMP, uma família de proteínas que podiam ser isoladas a partir de bovinos ou mesmo de fontes humanas. Apesar de actualmente se conhecerem cerca de 20 BMP as mais activas são a 2,4 e a 7, sendo utilizadas no tratamento de fracturas e pseudoartroses devido ao seu efeito osteoindutor.

Nos anos 60 começaram a utilizar-se os xenoenxertos, essencialmente bovinos, no entanto a sua popularidade começou a decrescer devido ao elevado número de reacções auto-imunes apresentadas pelos pacientes na altura, tendo sido posteriormente reintroduzidos nos anos 90 do século passado, mas sem quaisquer elementos orgânicos, o que praticamente elimina as reacções anteriormente citadas. Alguns exemplos deste tipo de materiais são o Bio- Oss®, Laddec®, Bon- Apatite® (Lindhe 2003).

A forma de purificação e manipulação das partículas em si diverge de material para material, o que faz também variar o seu comportamento de marca para marca, no

entanto, estudos histológicos recentes demonstram que a sua utilização aumenta significativamente a quantidade e densidade óssea, o que os torna, juntamente com os aloenxertos e xenoenxertos, os únicos materiais que demonstram cumprir actualmente os requisitos histológicos para a regeneração óssea.

O primeiro biomaterial aloplástico descoberto e convenientemente relatado a ser utilizado em regeneração óssea foi o Bioglass®, descoberto em 1969 na Florida, EUA, com o fim de ser usado em veteranos e feridos da Guerra do Vietname, apenas foi utilizado em casos clínicos a partir de 1985. Era essencialmente constituído por sílica, óxido de sódio e de cálcio mas apresentava má resistência à compressão, apesar de ser bastante bem tolerado pelo organismo.

No final da década de 70 surgiram os primeiros ensaios clínicos utilizando Fosfato Tricálcico. Este material foi testado durante a década de 70 e 80 em animais (Levin et al., 1974; Barney et al. 1986) e em humanos (Dragoo e Kaldahl, 1983; Baldock et al., 1985; Bowers et al., 1986; Stahl e Froum, 1986, 1987; Saffar et al. 1990) tendo sido demonstrado que este tipo de material era rapidamente absorvido ou encapsulado por tecido conectivo, com mínima formação óssea (Lindhe, 2003).

Os primeiros estudos clínicos em humanos com materiais de hidroxiapatite sugeriram a meio da década de 80 (Meffert et al., 1985; Yukna et al., 1985, 1986 e 1989; Galgut et al., 1992) relatavam bons resultados contrariamente aos realizados em animais, (Barney et al., 1986; Minabe et al. 1988; Wilson e Low 1992) e às análises histológicas posteriores em humanos que mostravam formação óssea limitada e as partículas de hidroxiapatite na sua maioria no interior do tecido conjuntivo (Froum et al. 1982; Moskow e Lubarr, 1983; Ganeles et al. 1986; Sapkos 1986).

Também entre a década de 80 e 90 surgiram os factores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF). Estes factores não só aumentam as mitoses celulares, como também auxiliam na deposição da matriz óssea. Juntamente com o IGF (factor de crescimento insulínico), estes factores são utilizados actualmente na regeneração óssea em áreas de colocação de implantes ou mesmo junto a peças dentárias, devido também à sua alegada capacidade de induzir osteogénese em células mesenquimatosas.

O conceito de Regeneração tecidual guiada (RTG) foi desenvolvido primeiramente em ortopedia (Basset 1966; Ruedi, Basset 1967) e, após modificações apropriadas, em odontologia (Nyman, 1991; Baylink et al. 1993; Schenk et al. 1994), com o intuito de promover o crescimento do osso maxilar e mandibular, além do tecidual.

O conceito biológico da RTG baseia-se na observação de que a cicatrização desejada de um determinado tecido, pode ser alcançada pela criação de um espaço segregado, que será posteriormente povoado pelo tipo celular capaz de regenerar esse tecido perdido, como, por exemplo, tecido ósseo (Gottlow et al. 1984; Gottlow et al. 1990; Karring et al. 1993; Majzoub et al. 1999; Carvalho et al. 2003; Aslan et al. 2004).

As primeiras membranas não-absorvíveis comercialmente aprovadas para uso clínico eram feitas de poli-tetrafluoroetileno expandido (e-PTFE), membrana porosa de teflon (Sigurdsson et al. 1994; Simion et al. 1999; Schou et al. 2003). Outras membranas não absorvíveis também foram estudadas, como membranas de poli-tetrafluoroetileno (PTFE) (Walters et al. 2003), silicone (Biobrane®) (Warrer, Karring 1992) e celulose (Novaes Júnior et al. 1993).

Após a realização de estudos que apontavam para melhores resultados das primeiras, membranas absorvíveis com características similares às não-absorvíveis foram então desenvolvidas: membranas de colágeno (OH et al., 2003; Stavropoulos et al. 2004), ácido poliláctico (Guidor®) (Cury et al. 2005), poliglactina 910 (Vicryl®) (LU 2003) e ácido poliláctico glicólico (PLGA®) (Song et al. 2005).

Actualmente a grande novidade reside na utilização de materiais híbridos recorrendo à engenharia tecidual, usando uma matriz porosa onde células medulares podem desenvolver-se e diferenciar-se. Estas células possuem um potencial de diferenciação, podendo maturar-se em células do metabolismo ósseo, um conceito que há alguns anos era considerado ainda muito distante, encontra-se actualmente na fase de teste in vivo.

III. Tecido Ósseo

Durante a embriogénese, o osso forma-se dentro do tecido conjuntivo primário. Este processo designa-se por ossificação intra-membranosa e ocorre também na abóbada craniana e nas diáfises dos ossos largos; ao contrário, a formação de osso nas restantes partes do esqueleto produz-se por via de um depósito inicial de um molde cartilágneo que depois é substituído por osso (ossificação endocondral).

A regeneração de osso alveolar perdido como consequência de uma doença, de um traumatismo ou de modelação pós – extracção pode apresentar problemas na odontologia reconstrutiva ou de implantes.

Para permitir o crescimento de osso novo criaram-se diferentes terapias regenerativas. No entanto, todas elas tem um aspecto em comum: o respeito dos princípios biológicos da biologia óssea.

O osso é um tecido conjuntivo especializado, caracterizado principalmente pela sua matriz orgânica mineralizada. A matriz orgânica é composta por colagénio, proteínas não colagénicas e proteoglicanos. Dentro desta matriz depositam-se iões de cálcio e fosfato na forma definitiva da hidroxiapatite.

Esta composição permite ao osso: resistir a cargas, proteger das forças exteriores os órgãos altamente sensíveis e participar como reservatório de minerais que contribuem para a homeostasia do corpo.

Os osteoblastos são as células responsáveis pela formação do osso já que sintetizam os componentes da matriz orgânica e controlam a mineralização da matriz. Localizam-se na superfície do osso, depositam activamente matriz óssea e podem diferenciar-se em células revestimento ósseo e osteócitos.

Os osteoblastos são células plenamente diferenciadas mas carecem da capacidade de migração e de proliferação, logo, para que se forme o osso num determinado sítio, é

preciso que células indiferenciadas progenitoras migrem para esse local, e proliferem para se converter em osteoblastos.

Os osteócitos são células de forma estrelada que estão incluídas na matriz óssea mineralizada, mas que permanecem em contacto com outras células do osso por meio de delgados processos celulares.

Estão organizados de forma a promover uma área de contacto muito grande entre as células (e os seus processos) e a parte não celular do tecido ósseo. Esta disposição permite-lhes participar na regulação de homeostasia do cálcio no sangue, perceber as cargas mecânicas e transmitir esta informação a outras células dentro do osso.

Friedenstein (1973) dividiu as células osteoprogenitoras em 2 grupos: células determinadas e células induzíveis como precursoras osteogénicas. As células osteoprogenitoras determinadas estão presentes na medula óssea, no endostio e no perióstio que reveste a superfície dos ossos. Estas células têm capacidade intrínseca de proliferar e diferenciar-se em osteoblastos. Por outro lado, as células induzíveis como precursoras osteogénicas representam células mesenquimáticas presentes noutros órgãos e tecidos, que se podem converter em células formadoras de osso quando são expostas a estímulos específicos.

A diferenciação e desenvolvimento de osteoblastos a partir de células osteoprogenitoras dependem da libertação de proteínas morfogenéticas (BMP), e outros factores de crescimento como o factor de crescimento insulínico (IFG), o factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e o factor de crescimento de fibroblastos. A actividade formadora de osso está sempre acoplada com a reabsorção óssea, que é iniciada e mantida pelos osteoclastos.

Uma vez formado o osso, o novo tecido mineralizado começa a ser reformado e renovado por processos de reabsorção e aposição, isto é, modelação e remodelação.

A modelação representa um processo que permite o câmbio inicial da arquitectura do osso, algo que pode ser provocado por forças externas como cargas sobre o tecido ósseo.

Por outro lado, a remodelação representa uma mudança que ocorre no interior do osso mineralizado, sem alteração concomitante de arquitectura do tecido. Este processo é importante durante a formação do osso e quando o osso mais antigo é substituído por osso mais novo. Durante a formação do osso, a remodelação permite a substituição do osso primário (reticular), por osso laminar que é mais resistente às cargas.

A remodelação óssea envolve dois processos: reabsorção óssea e aposição (formação). Estes processos estão ligados temporalmente e caracterizam-se pelas chamadas unidades ósseas multicelulares (BMU).

Estas unidades são formadas por: uma frente osteoclástica residente na superfície do osso recém absorvido, um compartimento que contém vasos e pericitos e uma capa de osteoblastos presentes na matriz orgânica neoformada: a frente de depósito.

Localmente, todo este fenómeno está ligado a estímulos locais como a libertação de hormonas como a paratiroideia (PTH), a hormona de crescimento, a leptina e a calcitonina.

A modelação e remodelação ocorrem durante toda a vida e permitem a adaptação a exigências internas e externas.

Após a lesão de um tecido, a sua cura leva à formação de um tecido diferente do original pela sua morfologia e função. Este tipo de cura designa-se por reparação. Quando existe uma restauração completa da morfologia e função damos o nome de regeneração tecidual.

A falta de vasos sanguíneos, estabilização incorrecta do coágulo e tecido de granulação no defeito, crescimento no interior da lesão de tecido não ósseo com actividade

proliferativa elevada e contaminação bacteriana são factores que podem limitar os processos anteriormente descritos.

Existem 4 fases para a cura de uma ferida:

1. Formação de um coágulo.
2. Limpeza da ferida.
3. Formação de tecido.
4. Modelação e remodelação do tecido.

Tal como num alvéolo pós-extracção, imediatamente após a extracção dentária, o sangue dos vasos sanguíneos cortados chega à cavidade. As proteínas derivadas da ruptura dos vasos e das células lesadas iniciam uma série de acontecimentos que levam à formação de uma rede de fibrina. As plaquetas formam agregados e interagem com a rede de fibrina produzindo um coágulo sanguíneo que tampona eficazmente os vasos seccionados e detém o sangramento. Este coágulo direcciona os movimentos celulares e contém substâncias importantes para a continuação do processo de cura, pois contém: substâncias que influem nas células mesenquimatosas e que afectam as células inflamatórias. Estas substâncias induzem e intensificam a migração de diversos tipos de células, bem como a proliferação, diferenciação e actividade sintética dentro do coágulo.

Apesar do coágulo sanguíneo ser essencial à fase inicial da cura da ferida, a sua eliminação é imprescindível para possibilitar a formação de tecido novo, algo que acontece poucos dias após a extracção dentária, e se designa por fibronólise.

Depois macrófagos e neutrófilos migram para a ferida, englobam bactérias e tecido danificado e limpam o local antes que se inicie a formação de tecido novo. Os macrófagos chegam mais tarde à ferida, e ocupam-se de limpeza, libertam factores de

crescimento e citocinas e promovem adicionalmente a migração, proliferação e diferenciação das células mesenquimatosas. Por fim, os neutrófilos sofrem apoptose e são eliminados do local por acção dos macrófagos, que de seguida se retiram da ferida. Os osteoclastos também participam neste processo, já que eliminam uma parte do osso traumatizado.

Na formação de tecido as células mesenquimatosas similares a fibroblastos, migram para a ferida e começam a proliferar depositando componentes da matriz em localizações extracelulares. Desta forma o tecido de granulação, substituí gradualmente o coágulo sanguíneo.

O tecido de granulação pode ser dividido em tecido preliminar e tecido tardio. O primeiro é formado por uma grande quantidade de macrófagos, algumas células mesenquimatosas, pequena quantidade de fibras de colagénio e início de vasos. O segundo contém poucos macrófagos, grande quantidade de células similares a fibroblastos, vasos sanguíneos neoformados e uma matriz conectiva. Estas células similares aos fibroblastos libertam factores de crescimento, multiplicam-se e depositam uma nova matriz extracelular que guia a chegada de novas células e a diferenciação do tecido. Os vasos neoformados proporcionam oxigénio e nutrientes para as células do tecido.

A combinação da fibroplastia (síntese de componentes da matriz pelas células mesenquimatosas) e angiogénese (formação de novos vasos), estabelece um tecido conjuntivo provisório, e a sua transição para um tecido ósseo ocorre ao largo de estruturas vasculares.

Deste modo, as células osteoprogenitoras (futuros osteoblastos) migram e congregam-se perto dos vasos, produzindo depois uma matriz de fibras de colagénio que adopta um padrão reticulado. Assim se forma o osteóide e se inicia a mineralização nas porções centrais.

Os osteoblastos continuam depositando osteóide e ocasionalmente as células que ficam presas na matriz se convertem em osteócitos. Este tecido designa-se por osso reticular.

O osso reticular tem uma matriz de colagénio pouco organizada devido à grande quantidade de células aprisionadas na matriz mineralizada, bem como tem uma baixa capacidade de carga. No entanto, oferece uma armação estável, superfície sólida, uma fonte de células osteoprogenitoras e uma rica irrigação sanguínea para o funcionamento das células e mineralização da matriz.

Este osso é posteriormente substituído por osso laminar e medula óssea mediante um processo de modelação e remodelação onde as osteonas primárias são substituídas por secundárias, após o osso primário ser reabsorvido até um certo nível pelos osteoclastos.

Este nível da frente de reabsorção é chamada de linha de reversão e é o ponto de partida para a construção do novo osso da osteona secundária. Ainda que a modelação e remodelação possam começar cedo (algumas semanas), a substituição de osso reticular por osso laminar, num alvéolo pós – extraccional pode demorar vários meses.

(Este capítulo deste trabalho foi traduzido e resumido a partir do livro de Jan Lindhe “Periodontologia Clínica e Implantología Odontológica “ capítulo 38, 4ª edição, de 2003).

IV. Materiais usados em regeneração óssea.

De uma forma geral, os biomateriais pode classificar-se segundo duas vertentes: a sua composição química e o seu comportamento biológico.

A primeira subdivide os biomateriais em 4 classes:

1. Metais e ligas
2. Cerâmicos
3. Polímeros
4. Compósitos

Consoante o seu comportamento biológico podem ser:

- Bioinertes – são aqueles que não provocam reacção de corpo estranho no organismo, encontrando-se em ligação directa ao tecido receptor. Incluem-se materiais como titânio, zircónia e o alumínio (Gutierrez et al. 2006).
- Biotolerados – são moderadamente aceites pelo tecido receptor, sendo geralmente envolvidos por uma cápsula fibrosa. Neste grupo podemos incluir aço inoxidável, ligas de cromo – cobalto e polimetilmetacrilato (Gutierrez et al. 2006).
- Bioactivos – materiais onde existe a formação de uma ligação directa aos tecidos vivos, já que contém na sua composição íões de cálcio e /ou fósforo, e por isso, estabelecem uma ponte química com o osso envolvente. Os vidros bioactivos e a hidroxiapatite encontram-se neste grupo (Gutierrez et al. 2006).

- Reabsorvíveis – São aqueles que são lentamente degradáveis pelos tecidos onde são implantados. O fosfato tricálcico e os vidros bioactivos são exemplos deste tipo de materiais (Gutierrez et al. 2006).

IV.1 Enxerto usados em Medicina Dentária

IV.1.i Enxertos autólogos

A utilização dos enxertos autólogos está actualmente generalizada a nível mundial, sendo considerado o “gold standart”, no que toca a enxertos ósseos. Existe, geralmente, uma zona dadora, onde se faz a recolha da quantidade de osso necessária, e uma zona receptora, que é aquela onde se pretende aumentar o conteúdo ósseo.

Os sítios dadores devem ser ricos em osso esponjoso, já que este tipo de osso quando usado em enxertos, tem simultaneamente potencial osteoindutivo (induz a proliferação e diferenciação de células indiferenciadas para osteoblastos), osteocondutivo (fornecem a “base por onde as células osteogénicas podem proliferar), osteoproliferativo e osteogénico (funcionam como um reservatório de células progenitoras que pode formar novo osso), sendo o único material usado que apresenta todas estas características em conjunto. (Lindhe 2003).

Podem empregar-se zonas dadoras intra e extra-orais. Se são necessárias pequenas quantidades de osso, a tuberosidade do maxilar, o ramo montante e o mento do maxilar inferior são as zonas mais indicadas (Correia e Alves 2002).

Se se necessita de quantidades de osso maiores as zonas extra - orais de eleição são: a crista ilíaca, costela e calote craneana. Estes últimos procedimentos cirúrgicos são mais honorosos, pois nem sempre se consegue fazer em regime de ambulatório, necessitando, portanto, muitas vezes de internamento (Correia e Alves 2002).

No sítio dador podem surgir algumas complicações pós-operatórias, como a possibilidade de infecção do material de preenchimento, quando se utiliza outro tipo de substância para evitar a visibilidade do defeito ósseo remanescente, podem também aparecer distúrbios sensoriais, recessão gengival com sensibilidade dentinária e, ou deiscência da sutura (Correia e Alves 2002).

Na zona receptora, a falta de fixação rígida, a falta de suprimento sanguíneo, a dificuldade de preenchimento total do defeito ósseo, e a dificuldade de fechar a ferida cirúrgica totalmente sem pressão dos tecidos moles, são situações que se nos podem deparar aumentando tanto a morbidade como o fracasso da cirurgia. Estima-se que este tipo de enxerto tem uma taxa de insucesso que varia entre os 13 e os 30% (Correia e Alves 2002).

As razões apontadas para a não utilização dos autoenxertos têm a ver com os procedimentos cirúrgicos mais agressivos, aumentando a morbidade da zona dadora, com as quantidades limitadas de osso em zonas intra - orais, com o alto custo, e muitas vezes, com o tipo de cirurgias complexas para encontrar zonas dadoras extra - orais, e dependendo do tipo de osso utilizado, poderemos ter mais ou menos reabsorção óssea (Correia e Alves 2002).

Neste momento os únicos materiais que demonstraram cumprir os requisitos histológicos para a Regeneração são os enxertos autólogos, xenoenxertos e aloenxertos (Correia e Alves 2002).

Clinicamente podemos usar os enxertos autólogos praticamente para todo o tipo de procedimentos onde seja necessária regeneração óssea como elevação do seio maxilar, aumento do rebordo alveolar para colocação posterior de implantes ou a nível maxilofacial para reconstrução após fracturas verticais do maciço facial, da mandíbula ou mesmo para reconstruções mais extensas de trauma facial complexo.

Actualmente, os substitutos ósseos ganharam uma aceitação crescente como alternativas ao osso autólogo em pacientes que necessitam de aumentos ósseos num esforço para diminuir a morbidade associada à colheita de enxertos de osso autólogo (Russel 2000).

IV.1.ii Aloenxertos:

É aquele que é proveniente de um dador da mesma espécie. Actualmente já não é usado sem preparação prévia, (fresco), devido à resposta inflamatória que desencadeia e aos riscos de transmissão de doenças.

Pode ser conservado em 2 formas (Vaccaro et al. 2002):

1. Congelado (fresh-frozen) - - 70° após uma lavagem com antibiótico (a sua utilização pode ir de 1 ano, se for mantido a - 20°, até 5 anos se a -70°.
2. Liofilizado (fresh dried) – lavagem dupla com antibiótico, congelação a -70° e secagem até ficar com um conteúdo em água de cerca de 5% (duração limitada).

A congelação reduz a imunogenicidade e consequente rejeição crónica, mas não elimina o risco de transmissão de HIV. Pelo contrário, a liofilização reduz ainda mais a imunogenicidade e elimina o risco de HIV, mas diminui também a capacidade de osteoindução e as propriedades mecânicas do enxerto (Gutierrez et al. 2006).

Para além dos problemas imunogénicos e infecciosos, os aloenxertos apresentam ainda outras desvantagens como a sua inexistente capacidade osteogénica, a variabilidade dos resultados clínicos da sua aplicação e, por fim, o seu elevado custo (Gutierrez et al. 2006).

A quantidade disponível, comparativamente com o enxerto autólogo, é sem dúvida uma vantagem em relação a este, assim como é, a dispensabilidade de um procedimento cirúrgico adicional no paciente, para a sua colheita (Gutierrez et al. 2006).

É possível ter acesso a aloenxerto ósseo com uma grande variedade de formas físicas como gel, pó, fibras, pastas, etc. Actualmente, está a ser desenvolvido um grande esforço na investigação no sentido de melhorar a integração e modelação deste tipo de enxerto através de modificações físico – químicas, como a incorporação de BMP -2 e

BMP – 7, cortes a laser tendo em vista a obtenção de formatos especiais que promovem a vascularização, entre outros.

IV.1.iii Xenoenxertos

Este tipo de enxerto é uma matriz mineral óssea purificada de origem bovina e derivados de matriz de esmalte dos germens dentários porcinos. É um substituto de osso, produzido pela extracção química de todo o material orgânico do osso cortical e esponjoso de origem bovina. É similar ao osso humano no que concerne à sua superfície interna, porosidade, tamanho do cristal e relação cálcio – fósforo. Este material pode gerar uma boa vascularização e integração no osso receptor e não produz resposta imune sistémica ou local (Correia e Alves 2002).

Em estudos histológicos demonstrou-se que a utilização de Xenoenxertos em defeitos intra – ósseos, aumentam significativamente a quantidade e a densidade óssea (Correia e Alves 2002).

Actualmente assiste-se a uma grande discussão em torno da segurança dos materiais biológicos, quando incorporados no corpo humano, mais especificamente, e no que diz respeito a materiais de proveniência animal, à transferência da Encefalopatia Espongiforme (BSE) ao Homem (Correia e Alves 2002).

Quando são usados medicamentos e produtos médicos de origem bovina, um grande número de cuidados tem sido tomado ao longo dos anos em relação aos requerimentos necessários para a comercialização destes produtos.

Mais recentemente confirmou-se que uma matriz de mineral ósseo xenógeno purificado estimula a neoformação de osso nos seres humanos, e o efeito parece se multiplicar quando se utiliza simultaneamente uma membrana de colagénio (Correia e Alves 2002).

No entanto o osso neoformado parece que não é da mesma qualidade e quantidade que o que se produzia no osso alveolar circundante, por isso deve-se misturar o osso

costicoesponjoso autólogo numa proporção de 1:1 hidratando-se com soro salino estéril (Correia e Alves 2002).

As partículas de osso autógeno e as de osso xenógeno actuam como andaime para a formação óssea. O uso de matriz mineral óssea impede o afundamento dos autoenxertos e aumenta a densidade do osso regenerado, melhorando assim em comparação com o uso exclusivo de autoenxertos.

Há que salientar também a necessidade de usar sempre uma quantidade de partículas superior aquela que é necessária, já que existe sempre um fenómeno de reabsorção, durante todo este fenómeno.

Xenoenxertos e materiais aloplásticos têm sido utilizados para corrigir defeitos ósseos adjacentes aos implantes dentários e preservar o rebordo alveolar anterior à colocação de implantes, mostraram resultados promissores (Smiler 2001).

IV.2 Materiais osteoindutores:

Os enxertos de materiais osteoindutores estimulam as células mesenquimatosas pluripotenciais para se diferenciar em osteoblastos que podem formar novo osso, no entanto, actualmente apenas são usados como inductores para as células crescerem, permitindo aos osteoblastos da margem das feridas infiltrar-se no defeito e migrar ao longo do enxerto (Feinber e Fonseca 1986).

IV.2.iMateriais Cerâmicos

Sulfato de Cálcio

Vulgarmente denominado por gesso (“plaster de Paris”), utilizado para efectuar imobilizações em ortopedia, já existem descrições da sua aplicação datadas de 1892 (Hench 2004), essencialmente no preenchimento de cavidades. Actualmente a sua utilização como material de regeneração óssea é nula.

Vidros

Larry Hench foi o pioneiro na utilização de vidros bioactivos para fins biomédicos (Gutierrez et al. 2006). A principal característica dos vidros bioactivos é a sua capacidade para promover uma rápida duração química, através de uma interface apatítico, com tecido ósseo (Gatti et al. 1992 ; Hench et al. 1998).

A constituição dos vidros é essencialmente à base de sílica ou de fósforo. A importância dos grupos fosfatos (PO_4^{3-}) associados ao cálcio (Ca^{2+}) na formação do tecido ósseo é de salientar. A capacidade de um vidro se ligar ao tecido ósseo, sofrer biodegradação e formar uma camada de apatite superficial, varia em função da sua composição e relação dos seus constituintes (Gutierrez et al. 2006).

Na utilização de vidros silicatados como biomateriais, o tamanho das partículas é um factor importante, para prevenir a sua migração através do sistema linfático. Sabe-se

agora que a utilização clínica de biovidros, cujo tamanho oscila entre os 90 e os 710 micras de diâmetro, não origina problemas de migração que ocorrem com partículas menores (Oonishi, Hench, Wilson 2000; Oonishi, Kushitani, Yasukawa, et al. 1997).

Dado que os osteoblastos necessitam de sílica, cálcio e fósforo para a produção de osso, as partículas habitualmente são incorporadas neste processo. Em termos de aplicação clínica, o vidro silicatado mais utilizado é o Bioglass® 45S5, que apesar de levar à formação de osso mais rapidamente que a hidroxiapatite apresenta uma baixa resistência mecânica que não lhe permite a sua aplicação em zonas de carga. Vários autores como Kukubo, Vogel e Burnie tentaram posteriormente alterar este facto, sem resultados ao nível clínico de relevo.

IV.2.ii Fosfato Tricálcico

Existem 2 formas alotrópicas: α e β . Possui a fórmula química $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ contendo 39% de cálcio e 20% de fósforo. O seu mecanismo de acção depende, pois da alta concentração de cálcio e fósforo na superfície que melhora a sua osteointegração, iniciando a biomineralização, estimulando os osteoclastos e influenciando a diferenciação fenotípica das células osteoprogenitoras (Gutierrez et al. 2006).

Pode ser associado a amido ou naftaleno para aumentar a sua osteointegração (Gaasbeek R., et al. 2005). A forma granular é a mais eficiente, porque os espaços entre os grânulos aumentam a porosidade da matriz e também a sua superfície de contacto (Gutierrez et al. 2006).

As principais desvantagens deste material, comparativamente com a hidroxiapatite, prendem-se com a sua falta de suporte estrutural provocada pela sua rápida reabsorção, em função da sua macroporosidade (Gutierrez et al. 2006).

IV.2.iii Hidroxiapatite

Há uma grande semelhança entre a hidroxiapatite natural e a sintetizada em laboratório, no que diz respeito à sua composição química e comportamento in vivo pelo que a sua aplicação se generalizou não só na reparação óssea, no preenchimento de cavidades pós exérese de tumores (Tadic 2004), osteotomias de valginção tibial (Santos 1999) e no revestimento de próteses dentárias e ortopédicas (Lopes 1999).

A hidroxiapatite é um fosfato de cálcio cuja composição é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ apresenta, ao contrário do fosfato tricálcico muito lenta reabsorção na remodelação óssea, o que leva a que se mantenha no organismo durante anos (Lopes 1999).

Apesar da sua estrutura favorável à invasão vascular, a lentidão de reabsorção e integração bem, como a dificuldade de manter os grânulos no local, levou à necessidade de criar pastas e compósitos com características superiores às dos seus constituintes individualmente (Gutierrez et al. 2006).

Os fosfatos de cálcio bifásicos, são compósitos de Hidroxiapatite e fosfato tricálcico. A sua proporção é geralmente de 2 terços para um terço, com porosidade de 40 a 60 % favorecendo a velocidade, qualidade de osteointegração e a sua reabsorção, mas mantendo resistência à compressão (Meynet 1998).

A hidroxiapatite é um dos candidatos mais promissores como suporte adequado para a regeneração de tecido ósseo na área maxilofacial devido à sua excelente biocompatibilidade e bioactividade.

A cristalografia e propriedades químicas da HA são semelhantes à do osso sendo também importante o facto da HA ser capaz de se ligar directamente aos tecidos e promover um elevado crescimento ósseo em aplicações ortopédicas e maxilofacial (Hench 1998, Bucholz 2002).

Actualmente a HA proveniente de duas algas marinhas tem sido usada para vários procedimentos. Estudos prévios mostram que este material tem propriedades

biocompatíveis como substituto ósseo in vivo (Hench 1998, Bucholz 2002, Ewers et al. 2004). Em estudos in vitro este material demonstrou suportar a proliferação e diferenciação de células osteogênicas humanas na sua superfície em monocamada (Turhani et al. 2003, Turhani et al. 2005a e 2005b) e colocada em compósitos de osso em 3D (Turhani et al. 2005c, Petite et al. 2000).

Desde 5 de Setembro de 1990 até 1 de Setembro de 2004 um total de 209 elevações do seio maxilar foram realizadas usando um produto de HA extraída de algas, em 114 pacientes. Neste procedimento foi usada uma mistura de 90% de HA e 10% de osso autólogo misturado com sangue venoso ou plasma rico em plaquetas (Turhani 2005).

Os pacientes deste estudo apresentavam o processo alveolar severamente reabsorvidos com 1 a 5 mm de osso remanescente. O osso remanescente era inferior a osso de classe C, de acordo com a classificação de Jensen (1994), ou comparável com classe D proposta por Simion e outros (2004).

Os implantes foram colocados 6 meses após a realização do enxerto, e 6 meses depois foram colocados em carga. O período mais longo de observação foram 13 anos. Os 614 implantes colocados em carga demonstrando uma taxa de sobrevivência de 95,6%. Mulheres e pacientes fumadores estavam incluídos.

Apesar da HA passar por um processo de reabsorção, foi encontrada apenas uma perda de 14% de volume após 6,4 meses, comparado com 49,5% após 6 meses usando osso autólogo.

Recentemente foi aprovado pelo Infarmed, um compósito sintético de origem nacional designado por Bonelike®, desenvolvido com a finalidade de obter melhor bioactividade e propriedades mecânicas que os actualmente disponíveis no mercado.

Este material apresenta uma matriz de hidroxiapatite e fases α e β do fosfato triálcico dispersas na sua microestrutura, apresentando, por isso, resultados bastante superiores aos da hidroxiapatite convencional e uma reabsorção de cerca de 1%, ao ano após a sua colocação.

IV.2.iv Proteínas Morfogenéticas do osso (BMP)

Nos anos 50, Urist e seus colaboradores isolaram uma família de proteínas ósseas, com propriedades osteoindutoras: as proteínas morfogenéticas do osso.

Estas proteínas fazem parte de uma família mais alargada de factores de crescimento, referidos como TGF – β , cuja sequência de aminoácidos é 30 a 40 % homóloga entre si (Sándor et al. 2003).

Apesar de actualmente se conhecerem cerca de 20 BMP as mais activas são as números 2,4 e a 7, no entanto, pensa-se que esta família de proteínas actua através de uma sinergia entre elas.

As BMP actuam como uma molécula extracelular que pode ser classificada como morfogénica. A sua acção recapitula a formação embriogénica do osso. Fontes bovinas e porcinas foram utilizadas, ao longo dos anos, na tentativa de isolar e purificar a estas moléculas, que vêm demonstrando forte capacidade osteoinductiva e baixa imunogenicidade, mesmo quando extraídas de outras espécies animais (Sándor et al. 2003).

Actualmente em estudo em diversas espécies animais, as BMP tem-se vindo a demonstrar eficazes na reparação de defeitos ósseos críticos, defeitos estes que não são reparados espontaneamente pelo tecido ósseo. Estes defeitos podem estar localizados em áreas tão distintas como a abóbada craniana, ossos longos e defeitos de continuidade ao nível da mandíbula. (Sándor et al. 2003).

Também tem sido relatado o uso de BMP nativas humanas no tratamento de defeitos mandibulares, em fracturas e reconstruções mandibulares igualmente.

Um dos problemas com o uso de BMP em geral, é a regulação dos seus efeitos. Actualmente estão a ser usadas em concentrações “super – fisiológicas”, o que resulta normalmente em efeitos exagerados ao nível clínico. Ao nível dos tecidos moles as

reações incluem edema, eritema e inflamação considerável, por isso o seu efeito deve ser regulado (Sándor et al. 2003).

Diferentes veículos transportadores têm também sido utilizados para libertar estas proteínas, tais como outras proteínas não colagénicas, DBM, colagénio, Hidroxiapatite, PLA e PLG ou combinações, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio e colas de fibrina. Mais recentemente formas em gel biodegradáveis, esponjas de colagénio impregnadas e partículas de sílica têm sido usadas como transportadores (Sándor et al. 2003).

IV.3 Membranas

Para ocorrer regeneração tecidual *in vivo* a utilização de uma barreira física é essencial. Afinal, quando ocorre lesão tecidual, a área ao redor é gradualmente preenchida por tecido fibroso, impossibilitando o reparo por tecido original. Dessa forma, ao se inserir uma membrana junto da lesão, previne-se o crescimento de tecidos indesejáveis (Tabata 2001).

Em 1976 Melcher sugeriu que a cicatrização do periodonto era determinada pelo tipo celular que ocupava primariamente a superfície da ferida. Estudos experimentais (Karring et al. 1980; Nyman et al. 1980; Buser et al. 1990a,b e Warrer et al. 1993) antes descritos documentam que as células progenitoras para a formação de uma nova inserção de tecido conjuntivo residem no ligamento periodontal.

Este conceito influenciou Nyman (1982) a usar barreiras oclusivas em estudos de regeneração periodontal, que formaram as bases para uma técnica posteriormente conhecida por Regeneração Tecidual Guiada (RTG).

A aplicação clínica da regeneração tecidual guiada envolve a separação de uma barreira física, para assegurar que a superfície radicular previamente afectada seja repovoada por células do ligamento periodontal.

Em 1982 Nyman e colegas, informaram sobre o primeiro caso de um dente humano tratado utilizando a técnica de regeneração tecidual guiada (RTG). Infelizmente este dente foi posteriormente destinado a extracção, no entanto, a informação histológica recolhida permitiu obter documentação sobre os resultados do tratamento, que provava a formação de novo cemento e fibras colagénicas sobre a superfície radicular exposta e posteriormente coberta com uma membrana.

Nas últimas décadas a RTG tem sido utilizada em numerosos ensaios clínicos para tratamento de diversos defeitos como os defeitos intraósseos (Cortellini e Bowers 1995), lesões de furca (Matchei e Schallhorn 1995; Karring e Cortellini, 1999) e defeitos de retracção gengival localizados (Pini-Prato et al. 1996).

Baseando-nos em informações acerca do aparato de nova inserção em amostras histológicas recolhidas de biopsias humanas, depois do tratamento com RTG, foi sugerido que os sinais de ganho do nível de inserção por sondagem e relevo ósseo pode aceitar-se como evidência de regeneração periodontal na avaliação de procedimentos de RTG (Lindhe e Etcheverria 1994).

Nas primeiras tentativas de RTG, foi empregue um filtro bacteriano produzido de acetato de celulose usado como membrana oclusiva (Nyman et al. 1982; Gottlow et al., 1984; Magnusson et al. 1985b). Ainda que esta membrana tenha cumprido o seu propósito, a sua aplicação clínica não foi a ideal.

Estudos posteriores usaram membranas de politetrafluoretileno expandido (e – PTFE) desenhadas especialmente para regeneração periodontal. A molécula básica deste material consiste num enlace carbono – carbono com 4 átomos de flúor incorporados, para formar um polímero. É inerte e não gera nenhuma reacção tecidular quando é implantada no osso. Estas membranas são não - reabsorvíveis e foram aplicadas com êxito em numerosos estudos animais e clínicos.

Observando a criação de espaço como pré-requisito de uma barreira para RTG, as membranas de politetrafluoretileno expandido (e-PTFE), reforçadas com malhas de titânio, foram usadas para tratamento de defeitos ósseos associados a implantes. Essas membranas foram investigadas, para avaliar a sua capacidade de manter um espaço protegido entre a membrana e a superfície óssea, sem a adição de artificios de suporte. A membrana providenciou o desenvolvimento de excelente espaço, sem mostrar nenhuma reacção adversa ao tecido mole ou duro (Jovanovic e Nevins, 1995).

Com o mesmo objectivo, foi desenvolvida uma membrana de titânio microperfurada, que tem sido usada desde 1995. Estas membranas apresentam-se na forma triangular ou oval. As suas propriedades mecânicas previnem o colapso, mantendo um espaço adequado para a regeneração óssea na área operada. As perfurações existentes permitem a difusão de fluido intersticial, porém proíbem a invasão de células do tecido conjuntivo e epitelial. Essas membranas necessitam ser pré-moldadas ao defeito e fixadas com pinos de titânio à superfície óssea da área (Watzinger et al.2000).

A experiência recolhida ao longo dos anos em vários estudos evidência também alguns critérios de desenho para que seja possível alcançar sucesso clínico utilizando membranas (Lindhe 2003).

1. Para permitir boa aceitação tecidual o material deve ser biocompatível. Não deve provocar nenhuma resposta imune, sensibilização nem inflamação crónica que interfiram com a cicatrização e representem um perigo para o paciente.
2. O material utilizado deve actuar como uma barreira para excluir tipos celulares indesejáveis, de modo a que não penetrem no espaço fechado adjacente à superfície radicular. Considera-se também importante que deixe passar nutrientes e gases.
3. O tecido deve crescer no material de barreira, mas sem penetrá-lo de um lado ao outro. O objectivo da integração tecidual é evitar o rápido crescimento em profundidade sobre a superfície externa do material, a sua encapsulação, alteração de estabilidade ou do retalho subjacente.
4. É também essencial que o material de barreira seja capaz de criar e manter espaço adjacente à superfície radicular, para permitir o crescimento dentro do tecido a partir do ligamento periodontal. Logo não pode ser tão rígido que perfure o tecido adjacente ou tão moles e flexíveis que colapsem no defeito.
5. Por fim devem ser comercializadas membranas com configurações cujo recorte e colocação sejam fáceis de realizar.

Nos últimos anos foram introduzidos materiais sintéticos reabsorvíveis, para membranas aplicadas em RTG, com a finalidade de evitar a necessidade de uma segunda cirurgia para retirar a membrana do local.

Foram avaliados diversos materiais de colagénio de distintas espécies e de diferentes sítios anatómicos em animais e em seres humanos (Blumenthal, 1988, 1993; Pitaru et al., 1998; Tanner et al. 1998; Paul et al. 1992; Wang et al. 1994; Camelo et al. 1998; Mellonig, 2000).

Com frequência, o colagénio tem sido utilizado a partir de origens porcinas ou bovinas. O colagénio funciona como um agente hemostático e possui a capacidade de estimular a

agregação plaquetária, promove a ligação com fibrina, que pode levar à formação inicial do coágulo, estabilização e maturação (Sableman 1985).

Além disso, o colagénio tem demonstrado ser quimiotático para os fibroblastos *in vitro* (Postlethwaite et al. 1978), propriedade que aumenta a migração celular e promove o encerramento primário da ferida, algo fundamental para o crescimento ósseo. Quando uma membrana é implantada, a sua reabsorção é feita por actividade enzimática de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (Tatakis et al. 1999).

Ficou demonstrado o êxito do tratamento recorrendo a este tipo de membranas, mas foram também detectadas várias complicações como a degradação precoce, crescimento epitelial em profundidade e em redor do material e perda prematura da membrana.

Materiais de barreira como o ácido poliláctico ou dos copolímeros de ácido poliláctico e de ácido glicólico foram avaliados em estudos em animais e com seres humanos (Magnusson et al. 1988; Caffese et al. 1994; Laurell et al. 1994; Hugosan et al. 1995; Polson et al. 1995^a; Hurzeler et al. 1997; Sculean et al. 1999a). Estes materiais são biocompatíveis, mas não são inertes, logo é de esperar alguma reacção tecidual durante a sua degradação. Estes materiais degradam-se por meio de hidrólise e são eliminados do organismo por meio do ciclo de Krebs, em forma de dióxido de carbono e água (Tatakis et al. 1999).

De entre os polímeros reabsorvíveis, o citosan ganhou recentemente interesse no uso em membranas para RTG, devido à sua flexibilidade, biocompatibilidade, ser biodegradável, ter propriedades antibacterianas e envolver baixos custos (Kratz 1997; Teng, 2008).

Para além destas características, a sua capacidade de separar as células e o tecido ósseo é bastante assinalável, podendo ser também utilizado em forma de gel, juntamente com partículas de sílica ou vidros bioactivos (Radin et al. 2005; Santos et al 1998).

Nos últimos anos, várias investigações relataram um total de 1283 defeitos intraósseos tratados com RTG. Nestes estudos avaliou-se a previsibilidade dos resultados clínicos

posteriores à aplicação de RTG. A média ponderada dos resultados relatados indica um aumento médio de inserção clínica de 3,8 a 1,7mm, com um intervalo de confiança de 95% que oscilou entre 3,7 e os 4mm (Cortellini e Tonetti 2000a).

Uma revisão recente (Lang 2000) sobre cirurgia de retalhos, entre os procedimentos envolvendo RTG e os procedimentos mais clássicos, relatou uma média ponderada de 1172 defeitos em 40 estudos, com aumentos do nível de inserção clínica entre 1,8 e 1,4 mm com um intervalo de confiança de 95% que oscilou entre 1,6 e 1,9 mm.

Estudos demonstram o sucesso de uma variedade de membranas para aumento do rebordo alveolar, incluindo membranas reabsorvíveis, membranas não – reabsorvíveis, e enxertos alogénicos (Wang et al.2004a, Zitzmann 1999).

O sucesso clínico de todas estas técnicas está sempre, obviamente, dependente de factores do paciente (controlo da placa bacteriana, o facto de ser fumador e nível de infecção periodontal), factores do defeito (morfologia do mesmo, profundidade, componente intraósseo do defeito, número de paredes óssea residuais, estado endodôntico da peça, e hiper mobilidade dentária severa) e factores associados à técnica (cuidadoso desenho do retalho, inserção correcta do material de enxerto e membrana, bom encerramento da ferida e óptimo controlo da placa pós - operatório).

IV.3.i Factor de Crescimento transformador β

Tem 3 isoformas, sendo a TGF – β 1 a mais abundante no tecido ósseo (O’Kane e Ferguson 1997). Trata-se de um factor de crescimento implicado na proliferação, migração diferenciação e sobrevivência de muitos tipos de células, pelo que tem influência em processos tão diversos como a embriogénese, angiogénese, inflamação (Siegel 2003) e cicatrização (Derynck 2001).

Em contraste com as BMP, é incapaz de induzir a osteogénese a partir de células mesenquimatosas, pluripotenciais, mas uma vez desencadeado o processo, aumenta o pool de células osteoprogenitoras por indução da quimiotaxia e proliferação (Hock 1994).

IV.3.ii Factor de crescimento derivado das plaquetas

O factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) é angiogénico e é conhecido por estimular a produção e quimiotaxia de células do tecido conectivo e deposição de matriz, propriedades cruciais para a cura do osso (Singh 1983; Antonaides 1983; Bowen 1984; Ross 1986). Estudos animais demonstram que a simples injeção deste factor num foco de osteotomia aumenta a densidade óssea e o volume de calo ósseo quando comparado com um grupo controle (Koskinen 1978).

Foram encontrados pela primeira vez nos grânulos das plaquetas, o PDGF pode encontrar-se em outras células como macrófagos, células endoteliais, monócitos e fibroblastos e na matriz óssea (Anitua 2001).

O PDGF é um polipéptido termoestável até aos 100° de natureza catiónica. O seu ponto isoeléctrico é muito básico e tem um peso molecular de 300 daltons. Tem uma estrutura dimérica formada por duas cadeias de aminoácidos designadas por A e B (Anitua 2001).

Sabe-se que estes factores favorecem a angiogénese através da activação dos macrófagos mediante a indução da formação de novos capilares por parte das células

endoteliais. Também foi demonstrado que estes factores de crescimento aumentam a taxa de proliferação das stem cells (Anitua 2001).

IV.3.iii Factor de Crescimento Insulínico

É uma família de proteínas séricas com uma estrutura de cadeia simples que possuem uma semelhança de 50% com a insulina. Existem 2 tipos, e a maior proporção destes factores encontram-se no fígado (Anitua 2001).

Em menor proporção, encontram-se circulando no sistema vascular transportado por complexos com proteínas específicas de união. Entre as suas acções biológicas podemos destacar a sua capacidade de estimular a síntese de matriz óssea por efeito directo na função diferenciadora dos osteoblastos, por aumento de replicação das células progenitoras e é capaz de estimular a actividade mitogénica actuando como factor quimiotático das células do ligamento periodontal (Anitua 2001).

É também capaz de estimular a síntese de glucogénio no fígado e actuar de forma sinérgica com o PDGF aumentando a regeneração periodontal (Anitua 2001).

IV.3.iv Factor de Crescimento Fibroblástico

São uma família de polipéptidos cuja missão é controlar a proliferação, diferenciação e outras funções celulares em células derivadas da mesoderme e neuroderme. Não são libertadas de forma solúvel, estando associadas com componentes da matriz extracelular, e são transportados para a zona exterior da célula onde interactivam com os receptores celulares (Anitua 2001).

Existe o factor de crescimento fibroblástico ácido e o factor de crescimento fibroblástico básico, sendo este último o mais potente. O TGF- β é capaz de potenciar ou inibir a actividade provocada pelo factor de crescimento fibroblástico, dependendo do tipo celular sobre o qual actua (Anitua 2001).

Entre as suas acções biológicas estão: estimulação de angiogénese por um mecanismo directo, ao estimular a mitose e migração das células endoteliais, e a estimulação e coordenação da mitogénese de múltiplos tipos celulares durante o crescimento animal, manutenção e reparação tecidual (Anitua 2001).

Actualmente a investigação foca-se na terapia genética para o controle da formação óssea, permitindo assim obter níveis locais mais fisiológicos de factores de crescimento e a sua expressão celular mais prolongada (Schneider 1991).

Um das mais promissoras tecnologias ligada a este tipo de factores e que tem vindo a ser desenvolvida é a tecnologia PRGF®, cuja descrição pormenorizada será feita mais a frente neste trabalho.

V. Técnicas de aumento do rebordo alveolar

Apesar da diversidade de biomateriais existentes para realizar regeneração óssea, é necessário recorrer a técnicas cirúrgicas específicas, para que os enxertos ósseos tenham o sucesso necessário, com o mínimo de complicações.

Assim sendo, após a extracção dentária o alvéolo deve ser cuidadosamente inspeccionado e a decisão de qual das técnicas a utilizar deve ter em conta os seguintes factores: integridade e espessura da vertente bucal, presença de lesões periapicais e número e morfologia das raízes do dente extraído.

De seguida, serão apresentadas algumas abordagens cirúrgicas mais recentes, e que tem demonstrado ser eficazes na obtenção de regeneração óssea.

V.1 Técnica tradicional de manuseamento do alvéolo com ou sem membrana de colagénio

A parede bucal do alvéolo deve ser medida quanto à sua espessura, com a ajuda de uma sonda aproximadamente 2-3 mm abaixo da crista alveolar.

Se encontramos uma parede bucal fina (espessura inferior a 1mm), nenhum enxerto ósseo é necessário porque parede bucais finas são menos propensas a futura reabsorção, e têm uma capacidade de cicatrização mais favorável. (Korsnes 2002, Spray et al. 2000).

Uma membrana reabsorvível de colagénio pode ser usada para promover a estabilização do coágulo. Uma sutura cruzada é por fim usada para manter a membrana de colagénio no alvéolo nos primeiros 14 dias do processo de cura.

V.2 Técnica de camadas

A técnica de camadas foi desenvolvida para maximizar o processo de cura óssea em alvéolos com um processo de cura aparentemente comprometido. A combinação de enxertos autólogos com substitutos ósseos e uma membrana de colagénio pode ser usada quando a parede bucal do alvéolo tem uma espessura inferior ou igual a 1mm quando a 2-3 mm abaixo da crista alveolar e/ou com ocorrência de deiscências ou fenestrações são encontrados.

Os enxertos ósseos particulados são os mais indicados e devem ser colocados cuidadosamente, mas sem exceder os limites do alvéolo. Espaço adequado entre as partículas é algo fundamental para a revascularização e propagação ao longo do enxerto, trazendo consigo proteínas e factores de crescimento necessários para o crescimento ósseo (Becker et al.1992, Mellonig 1996).

O preenchimento em excesso do alvéolo pode levar a sequestro das partículas, e pode conduzir a processos infecciosos que podem afectar negativamente a formação óssea (Sclar 1999), logo os enxertos ósseos devem ser colocados apenas até 2mm abaixo da crista alveolar.

Para este efeito, uma membrana de colagénio deve ser utilizada e adaptada à área mais coronal do alvéolo para promover estabilização e facilitar a cura dos tecidos na área enxertada, e encerrada com uma sutura cruzada durante os primeiros 14 dias da cura.

Recentemente Korsnes na Universidade do Michigan desenvolveu uma nova técnica para o promover o crescimento ósseo no alvéolo. Esta técnica utiliza usa enxertos ósseos mineralizados de origem alogénica coberta com uma membrana de colagénio como anteriormente foi descrito.

Dados histológicos de estudos ainda não publicados indicam a presença de 68% de osso vital, 5% de partículas residuais e 27 % de tecido conjuntivo. Os locais onde foi utilizada esta técnica incluíam dentes ou alvéolos com patologias periapicais e alvéolos de dentes multiradiculares com perda óssea multiradicular.

V.3 Regeneração Óssea Guiada

Em casos onde a parede bucal está ausente ou foi perdida durante a exodontia, é necessária uma abordagem diferente. As técnicas de regeneração óssea guiada combinadas ou não com colocação imediata de implantes são requeridas para o tratamento destes defeitos.

Uma colocação dos implantes tardia é a abordagem indicada quando a estabilidade primária dos implantes não pode ser previsivelmente alcançada, em particular em alvéolos de dentes multiradiculares. Nestes casos, as técnicas de regeneração óssea guiada como o aumento de osso em sandwich estão indicadas (Wang et al. 2004b).

Nesta técnica, várias camadas de diferentes materiais de enxerto ósseo são usados para maximizar a formação de osso novo. A camada mais interna é composta de uma combinação de sangue com osso autólogo obtido durante a osteotomia de preparação da colocação dos implantes e aloenxertos de absorção rápida, como osso fresco de origem alogénica, que permitem um rápido turnover e substituição por osso alcançando um maior contacto de osso com o implante (Goldberg and Stevenson 1987, Lyford et al. 2003).

A combinação de sangue com osso autólogo mais interna fornece células vivas em contacto íntimo com a área receptora.

Os Aloenxertos podem possuir propriedades osteoindutivas pela libertação de proteínas morfogénicas (BMP) em adição à osteocondutividade servindo como a base perfeita para a migração osteoblástica e sua proliferação.

A camada mais externa do enxerto é composta por material de absorção mais lenta como osso cortical humano ou hidroxiapatite de origem bovina, por forma a actuarem como base e manterem o espaço essencial para o aumento ósseo. O osso cortical humano passa por um processo de reabsorção lento, permitindo ao osso mais interno maturar (Goldberg e Stevenson 1987, Lyfold et al.2003).

Uma membrana de colagénio é depois colocada para cobrir o local do enxerto, facilitar a estabilidade da ferida e excluir todas as células não desejadas. O retalho mucoperósseo é depois reposicionado coronalmente para completa cobertura da ferida com tensão passiva.

A regeneração óssea, uma vez activada, progride de uma sequência programada, através de uma série de passos de maturação, que se assemelham ao desenvolvimento e crescimento ósseo (Fugazzotto 2002). A colocação de implantes nestes locais só deve ser realizada 5 a 6 meses após este procedimento.

V.4 Colocação imediata de implantes juntamente com regeneração óssea guiada

É verdade que a colocação imediata de implantes juntamente com regeneração óssea guiada tem um sucesso similar aquele alcançado com a abordagem faseada, anteriormente descrita (Araujo 2005, Schenk et al. 1994).

Quando os alvéolos estão livres de infecção, como resíduos de infecções endodónticas ou periodontais, o clínico deve confiar no procedimento que está a realizar, especialmente no caso de enxertos para regeneração óssea guiada e quando a estabilidade primária dos implantes foi alcançada, e a colocação imediata dos implantes pode ser realizada. Se estas situações não forem cumpridas, um aumento do rebordo alveolar faseado é o mais indicado.

A técnica de sandwich para regeneração óssea guiada é normalmente a técnica de eleição (Wang e Neiva 2007). 80% da altura óssea é recuperada bem como uma espessura de 1,7 mm de osso, ou mais, é recuperada quando esta técnica é aplicada (Park e Wang 2005a, Park 2006).

As suturas são geralmente removidas 10 a 14 dias após a cirurgia e os implantes só devem ser descobertos e realizado o subsequente tratamento restaurador 5 a 6 meses após o período de cura.

VI. Novas descobertas: Tecnologia PRGF ®

A tecnologia PRGF ® baseia-se no estudo pormenorizado, uso, formulação e activação de um preparado autólogo rico em plaquetas e caracterizado, entre outras propriedades pela sua biocompatibilidade e fácil obtenção (Anitua et al. 2008).

A tecnologia PRGF ®, desenvolvida pelos laboratórios BTI, apresenta as seguintes propriedades e características (Anitua et al 2008).

- É um produto 100% autólogo e biocompatível.
- É um conjunto de formulações com actividade terapêutica que se obtém facilmente do sangue do paciente.

Esta tecnologia consiste em várias porções distintas, que se obtêm por um protocolo que será posteriormente descrito em detalhe. Estas porções são:

- Sobrenadante PRGF: constitui um excelente meio de cultura para manter as células primárias e osso autólogo já que contém elevado número de factores de crescimento.
- PRGF líquido activado: a activação com cloro cálcico (PRGF ativador ®), permite libertar o conteúdo proteico e factores de crescimento plaquetários, dando lugar a uma formulação líquida com a qual podemos criar uma superfície bioactiva nos implantes dentários, que acelere a osteointegração dos mesmos.
- Coágulo PRGF: Em apenas 4-5 minutos, o PRGF líquido activado converte-se numa matriz tridimensional de fibrina e componentes celulares empapada em factores de crescimento que pode ser usada em múltiplas aplicações.
- Fibrina autóloga: A retracção do coágulo PRGF permite obter uma fibrina densa, elástica e totalmente biocompatível que pode ser usada como membrana.

A versatilidade desta nova tecnologia permite igualmente combinar estas formulações com um grande número de biomateriais, incluindo osso autólogo, enxertos de pele, etc.

Protocolo de obtenção

Para obter o PRGF ® partimos de pequenos volumes de sangue, que se adapta a cada caso clínico, podendo variar entre 5 e 80 cm³. Extraímos o sangue a partir de uma veia periférica, utilizando citrato sódico como anticoagulante, já que esta substância não altera a forma das plaquetas ou interfere na agregação plaquetária (Anitua et al 2004).

Os sistemas actuais de centrifugação de concentrações plaquetárias utilizam várias centrifugações, a velocidades distintas. O objectivo final é obter um precipitado de plaquetas, mas esta precipitação não é selectiva, estando incluídos todos os leucócitos correspondentes ao volume de sangue inicial (Anitua et al 2004).

O PRGF ® prepara-se mediante uma só etapa de centrifugação. Utilizando os parâmetros de tempo e velocidade estabelecidos no protocolo, consegue-se concentrar as plaquetas no cm³ de plasma situado imediatamente acima da série vermelha. Além disso consegue que os leucócitos sedimentem numa capa imediatamente acima dos hematócitos, o que permite recolher o PRGF ® sem nenhuma contaminação de células brancas (Anitua et al 2004).

Desta forma conseguimos um plasma sem leucócitos e com uma concentração de plaquetas 3 vezes superior às presentes no sangue periférico (Anitua et al 2004).

Está provado mediante microscopia óptica e electrónica e com técnicas anticorpos mononucleares que utilizando o protocolo PRGF ®, as plaquetas não sofrem alterações estruturais nem morfológicas. Este protocolo utiliza o Ca²⁺ para induzir a activação plaquetária e exostose dos grânulos, sendo o cálcio um co-factor necessário para agregação plaquetária (Anitua et al 2004).

A trombina é a iniciadora da formação do coágulo, sendo responsável pela formação de rede de fibrina onde se encontram as plaquetas (Anitua et al 2004).

Quando as plaquetas são activadas inicia-se uma cascata de sinalização que conduz à reorganização do citoesqueleto da plaqueta, e libertação das proteínas precedentes dos grânulos plaquetários (Anitua et al 2004).

No sistema PRGF® a concentração de cálcio é óptima, otimizando o processo de secreção dos factores de crescimento e dos grânulos. Este protocolo também não usa trombina bovina, o que elimina a possibilidade de reacções sistémicas adversas (Anitua et al 2004).

90 a 95 % dos factores de crescimento são libertados uma hora após a activação, o que faz com que após a activação, o PRGF® deve ser imediatamente utilizado (Anitua et al 2004).

Aplicações terapêuticas PRGF®

Existem numerosas aplicações desta tecnologia, uma vez que esta estimula uma rápida cicatrização, regeneração ou reparação tecidual (Anitua et al 2008).

Um campo de especial interesse é a regeneração óssea, especialmente ao nível oral, podendo ser associada a diferentes biomateriais, acelerando a formação de osso nos defeitos ósseos e estimula a regeneração dos tecidos moles adjacentes (Anitua et al 2008).

Também na medicina desportiva, o PRGF® permite terapêutica de lesões tendinosas e intervenções na área da regeneração facial e no tratamento de úlceras crónicas (Anitua et al 2008).

Uma vez activado, o PRGF® liberta factores de crescimento que têm um papel fundamental na vascularização e regeneração óssea, exercendo um efeito mitogénico e proliferativo nas células endoteliais e osteoprogenitoras (Anitua et al 2008).

Destes factores o PDGF, o TGB- β e o IGF-I são os mais abundantes, estando os seus efeitos na cicatrização e regeneração amplamente descritos na literatura (Anitua et al 2006).

O PDGF aumenta a proliferação dos osteoblastos, o TGB- β aumenta a síntese de proteínas derivadas do colagénio I e V, aumenta a mineralização óssea e favorece a fixação dos implantes. Quanto o IGF-I estimula a formação do osso induzindo a proliferação tecidual, diferenciação e síntese de colagénio tipo I (Anitua et al 2006).

De realçar também que a combinação destes factores tem um efeito sinérgico na regeneração óssea.

Para avaliar convenientemente a eficácia desta nova tecnologia, a BTI propôs uma nova classificação mais precisa e quantificável de correlação de densitometria com a qualidade óssea (Anitua et al 2006):

Osso tipo I – 1000 – 1600 Hounsfield

Osso tipo II – 600 – 1000 Hounsfield

Osso tipo III – 300 – 600 Hounsfield

Osso tipo IV – 100 – 300 Hounsfield

Osso tipo V - ≤ 0 – 100 Hounsfield

Num estudo clínico multicentros realizado em 1000 pacientes com a colocação de um total de 5787 implantes, avaliando a sobrevida durante 5 anos foi avaliada clinicamente esta tecnologia (Anitua et al 2008).

Passados 2-3 meses (8 a 13 semanas mais concretamente), após a extracção dentária e colocação do PRGF [®] e selamento dos alvéolos com fibrina autóloga, foram detectadas

densiometrias de osso adequadas com uma média de 534 Hounsfield no centro do alvéolo, onde inicialmente tínhamos 0 e uma média de 600 Hounsfield no perímetro do futuro implante (Anitua et al 2006).

Estes resultados demonstram que esta técnica representa um grande avanço em procedimentos imediatos e diferidos a curto e médio prazo, diminuindo assim drasticamente o período de espera entre cirurgias, podendo reduzir este período actualmente de aproximadamente 12 meses, em cerca de 50% (Anitua et al 2006).

Não foram também detectadas lesões, inflamação ou infecções após o procedimento de extracção e preenchimento com PRGF® (Anitua et al 2006).

VII. Discussão/Conclusão

- Praticamente desde a pré-história, o homem tem buscado materiais que permitam a realização de regeneração óssea, por forma a regenerar e/ou compensar tecido ósseo perdido.
- Actualmente os enxertos de osso autólogo continuam a ser considerados o “gold standart”, quando é necessário realizar regeneração óssea devido à sua predictibilidade, capacidade osteogénica, osteoconductora, osteoindutiva e osteoproliferativa, mesmo apesar da morbilidade que causa nos locais dadores.
- Um elevado número de alternativas aos enxertos autólogos têm surgido ao longo dos anos. Os que têm sido mais bem aplicados e estudados são os aloenxertos e os xenoenxertos, com resultados bastante positivos. No entanto outras alternativas válidas existem também actualmente como a hidroxiapatite, as BMP e os factores de crescimento.
- A introdução e generalização de conceitos e técnicas como a Regeneração Tecidual Guiada e de novas formas de realizar aumento do rebordo alveolar, como descritas anteriormente, foram uma autêntica revolução e permitiram ao longo dos anos mais recentes níveis de sucesso muito elevados, algo que é comprovado pelos dados de estudos realizados ao longo dos últimos anos.
- Mais recentemente, algumas novas inovações no campo dos biomateriais como o Bonelike® e a tecnologia PRGF®, foram patenteados e postos em comercialização após estudos extensos e completos, que demonstram que estes novos biomateriais podem ser muito importantes e ter óptimas aplicabilidade e eficácia num futuro próximo.

VIII. Bibliografía:

- Anitua, E. (2001). *La Utilización de los Factores de Crecimiento Plasmáticos en Cirugía Oral, Maxilofacial y Peridoncia (P.R.G.E.)*. Revista del Ilustre Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España, Volume 6, Número 3.
- Anitua, E., Andía, I., Sánchez, M. (2004). *PRGF (Plasma Rico en Factores de Crecimiento)*. Dental dialogue, volume 3.
- Anitua, E., Orive, G., Andía, I. (2006). *Uso del PRGF para acelerar la regeneración ósea y tejidos blandos en alveolos post-extracción*. Dental dialogue, volume 1.
- Anitua, E., Sánchez, M., Orive, G., Andía, I. (2008). *Potencial terapéutico de la tecnología PRGF®*. Tecnología PRGF®, volume 1.
- Antonaides HN, Williams IT. (1983). *Human platelet-derived growth factor: Structure and functions*. Federation Proc. 42:2630-2634.
- Araujo, M.G., Lindhe, J. (2005). *Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog*, J. Clinical Periodontology 32, pp.212-218.
- Araujo, M.G., Sukekava, F., Wennstrom, J.L., Lindhe, J. (2005). *Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: An experimental study in the dog*. J. Clinical Periodontology 32, pp.645-652.
- Askary, Abd. (2007). *Fundamentals of Esthetic Implant Dentistry*. Capítulos 7 e 9, Blackwell Munksgaard.
- Aslan, M.; Simsek, G.; Dayl, E. (2004). *Guided bone regeneration (GBR) on healing bone defects: a histological study in rabbits*. Journal of Contemporary Dental Practice, Turkey, v.2, n.5, p.114-23.
- Baldock, W.T., Hutchens, L.H. Jr., Mcfall, W.T., Simpson, D.M. (1985). *An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periondontal osseous defects of two patients*. Journal of Periodontology 56, 1-7.

- Baylink, D. J.; Finkelman, R. D.; Mohan, S. (1993). *Growth factors to stimulate bone formation. Journal of Bone and Mineral Research*, Washington, v.8, supl.2., p.565-572.
- Basset, C. A. (1984) *Environmental and cellular factors regulating osteogenesis*. In: FROST, H. (Ed). *Bone Biodynamics*. Boston: Little Brown, 1966. p.233-244. -503.
- Becker, W., Lynch, S.E., Lekholm, U., Becker, R., Caffesse, R., Donath, K. (1992). *Comparasion of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor I demineralizad freeze-dried bone in promoting bone formation around implants immediate extraction socket implants*. *J. Periodontoly* 63, (11), 929-940.
- Bowers, G.M., Vargo, J.W., Lerg, B., Emerson J.R., Berquist, J.J. (1986). *Histologic observations following the placement of tricalcium phosphate implants in human intrabony defects*. *Journal of Periodontology* 57 286-287.
- Blumenthal, N.M. (1988). *The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs*. *Journal of Periodontology* 59, 830-836.
- Bowen-Pope D.F., Vogel A, Ross R. (1984). *Production of platelet-derived growth factor like molecules reduced expression of platelet-derived growth factor receptors accompany transformation by a wide spectrum of agents*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 81:2396-2400.
- Buser, d., Warrer, K, Karring, T. (1990a). *“Formation of a periodontal ligament around titanium implants”*. *Journal of Periodontology* 61, 597-601.
- Buser, d., Warrer, K, Karring, T. (1990b). *Titanium implants with a true periodontal ligament, An alternative to osteointegrated implants*. *International Journal of Oral and Maxilofacial Implants*, 5, 113-116.
- Caffesse, R., Nasjleti, C.,E., Morrison, E.C., Sanchez, R. (1994). *Guided tissue regeneration: comparasion of bioabsorbable an non-absorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs*. *Journal of Periodontology* 65, 583-591.
- Camelo, M., Nevins, M, Schenk, R., Simion, M., Rasperini, C., Lynch, S. Nevins, M. (1998). *Clinical radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss® and Bio-Guide®*. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 18, 321-331.
- Carvalho, R. S.; Nelson, D.; Keldernian, H.; Wise, R. (2003). *“Guided bone regeneration to repair an osseous defect”*. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, Saint Louis, v.123, n.4, p.455-67.
- Correia, Luis Filipe, Alves, Gil. (2002). *“Auto e xenoenxertos na prática da clínica implantológica”*, Portugal implantológica nº1.

- Cortellini, P., Tonetti, M. (2000a). *Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration (GTR)*. *Periodontology* 2000 22, 104-132.
- Cury, P. R.; Furuse, C.; Martins, M. T.; Sallum, E. A; Araujo, N. S. (2005) *Root resorption and ankylosis associated with guided tissue regeneration*. *Journal of the American Dental Association*, São Paulo, v.136, n.3, p.337-341.
- Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A.(2001).*TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression.*, *Nat. Genet.*;29:117-29.
- Dragoo, M.R., Kaldhal, W.B., (1983), *Clinical Histological evaluation of alloplasts and allografts in regenerative periodontal surgery in humans*. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 3, 8-29.
- Dueland, R. T. et al.(1989).*Cryopreserved Intercalary Bone Allografts: Early Experience (1975– 1980) in Eighth Canine Cases*. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 25, p.305316.
- Friedenstein A. (1973). *Determined and inducible osteogenic precursor cells*. *Ciba Found Sympos (new series)*.11:170-185.
- Froum, S.J., Kushnek, L., Scopp, I.W., Stahl, S.S. (1982). *Human clinical and histologic responses to durapatite in intraosseous lesions. Case reports*. *Journal of Periodontology* 53, 719-729.
- Fugazzoto, P.A. (2002).*Implant placement in maxillary first premolar fresh extraction sockets: description of technique and report or preliminary results*.*J. Periodontology*, 73, pp. 669-674.
- Gaasbeek R, Toonen H, Heerwaarden R, Buma P.(2005).*Mechanism of bone incorporation of β -TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients*. *Biomaterials*;26;33:6713-9.
- Galgut, P.N., Waite, I.M., Brookshaw, J.D., Kingston C.P., (1992). *A 4-year controlled clinical study into the use of a ceramic hydroxiapatite material implant material for the treatment of periodontal bone defects*. *Journal of Clinical Periodontology* 19, 570-577.
- Goldberg, V.M., and Stevenson, S.(1987).*Natural history of autografts and allografts*.*Clin. Orthop. Related Res.*, 225, pp.7-15.
- Gottlow, J, Laurell, L., Lundgren, D., Mathiesen, T., Nyman, S., Rylander, H., Bogentoft, C. (1994).*Periodontal tissue response to a new biosorbable guided tissue regeneration device. A longitudinal study on monkeys*.*International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 14, 437-449.
- Gottlow, J., Karring, T.; Nyman, S. (1990).*Guided tissue regeneration following treatment of “recession typedefects” in the monkey*. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.61, n.11, p.680-685.

- Granelles, J., Listgarten, M.A., Evian C.I. (1986). *Ultrastructure of durapatite periodontal tissue interface in human intrabony defects*. *Journal of Periodontology* 57, 133-140.
- Gutierrez, M., Lopes, M.A., Nandyala, H., Cabral, A., Almeida, L., Santos, J. (2006). *Substitutos ósseos – Conceitos gerais e Estado actual*. *Arquivos de Medicina*, 19(4): 153-162.
- Hench, L.L. (2006). *The story of Bioglass®*, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Springer Netherlands, Volume 17, Number 11 ,967-978.
- Hench L.L. (2004). *Best S. Ceramic, glasses and glass ceramics*. In: Ratner BD, editors. *Biomaterial sciences*, 2nd Edition. pp.155-70.
- Hock JM, Canalis E. (1994). *Platelet derived growth factor enhances bone cell replication, but not differentiate function of osteoblasts*. *Endocrinol.*;134:1423-8.
- Hugoson, A., Ravald, N., Fornell, J., Johard, G., Teiwik, A., Gottlow, J. (1995). *Treatment of Class II furcation involvements in humans with bioabsorbable an nonreabsorbable guided tissue regeneration barriers. A randomized multicenter study*. *Journal of Periodontology* 66, 624-634.
- Hurzeller, M.B., Quinones, C.R., Caffese, R.G., Schupback, P., Morrison, E.C., (1997). *Guided Periodontal tissue regeneration in the interproximal defects following treatment with a sintetic bioabsorbable barrier*. *Journal of Periodontology* 68, 489-497.
- Jensen, O.T. (2004). *Guided bone graft augmentation*. In D. Buser, C. Dhalin and R.K. Schenk, Editors, *Guided Bone Regeneration In Implant Dentistry*. Quintessence, Chicago, IL, p.235.
- Jovanovic, S.A.; Nevins, M. (1995). *Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes*. *Int. J. periodontics restorative dent.*, Chicago, vol. 15, no. 1, p. 57-69.
- Karring, T.; Nyman, S.; Gottlow, J.; Laurell, L. (1993). *Development of the biological concept of guided tissue regeneration: animal and human studies*. *Periodontology 2000*, Copenhagen, v.1, p.26-35.
- Karring, T, Nyman, S., Lindhe, J.(1980). *Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue*. *Journal of Clinical Periodontology* 7, 96-105.
- Karring, T, Cortellini, P. (1999). *Regenerative Terapy: furcation defects*. *Periodontology 2000*, 19, 115-137.
- Koskinen EV, Lindholm RV, Nieminen RA, Puranen JP, Attila U. (1978) *Human growth hormone in delayed union and nonunion of fractures*. *Int Orthop.*;1:317-22.

- Korsnes, J. (2002). *The effects of demineralization bone matrix on healing of extraction sockets*. Master Thesis, University of Michigan, School of Dentistry, Unpublished data.
- Kratz G., Arnander C., Swedenborg J., Back M., Falk C., Gouda I., et alii. (1997). *Heparin-chitosan complexes stimulate wound healing in human skin*. Scand J. Plast. Reconstr. Surg, Hand. Surg.;31:119–23.
- Lang, N.P.(2000). *Focus on intrabony defects – conservative therapy*, Periodontology 2000 22, 51-58.
- Laurell, L., Falk, H., Fornell, L., Johard, G., Gottlow, J.(1994). *Clinical use of a bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy. Case Series*. Journal of Periodontology 65, 967-975.
- Levin, M.P., Getter, L., Adrian, J., Cutright. D.E. (1974) *Healing of periodontal defects with ceramic implants*. Journal of Clinical Periodontology 1, 197-205.
- Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P.(2003). *Periodontologia Clínica e Implantologia Odontológica*. Editorial médica panamericana , 4ª edição.
- Lindhe, J., Echeverria J. (1994). *Consensus report of a session II*. In: Lang, N.P., Karring, T., eds *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology*. London, Quintessence Publishing Co.Ltd, 210-214.
- Lopes M.A. (1999). *Glass reinforced hydroxyapatite composites: structure, physico chemical characterization and biological performance*. PhD Thesis. FEUP.
- Lopes MA, Santos JD, Monteiro FJ, Ohtsuki C, Osaka A ,Kaneko S, Inove H. (1999). *Osteocompatibility and in vivo evaluation of glass reinforced hydroxyapatite composite*. Bioceramics;12:421-4.
- Lu, S. (2003). *Guided bone regeneration using an absorbable membrane combined with a one-stage implant into a recent extraction site: a case report*. Quintessence International, Berlin, v.34, p.253-7.
- Lyford, R.H., Mills, M.P., Knapp, C.I., Sheyer, E.T., Mellonig, J.T. (2003). *Clinical Evaluation of freeze-dried bone block allografts for alveolar ridge augmentation: a case series*. Int. J. Periodontics Restorative Dent., 23, 417-425.
- Magnusson, I., Nyman, S., Karring, T., Egelber, J. (1985b). *Connective tissue attachment formation following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing*. Journal of Periodontal Research 20, 201-208.
- Majzoub, Z.; Berengo, M.; Giardino, R.; Aldini; N. N.; Cordioli, G. (1999). *Role of intra marrow penetration in osseous repair: a pilot study in the rabbit calvaria*. Journal of Periodontology, Chicago, v.70, n.12, p.1501-10.

- Matchei, E., Sschallhorn, R.G.(1995).*Sucessful regeneration of mandibular classe II furcation defects. An evidence based treatment approach.* International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry, 15, 146 -167.
- Matsumoto T, Okazaki M, Inove M, et alii. (2005).*Hydroxyapatite particles as a controlled release carrier of protein.*Biomaterials;25:3807-12.
- Meffert, R.M., Thomas, J.R., Hamilton K.M., Browstein, C.R. (1985). *Hydroxiapatite as an alloplastic graft in the treatment of human periodontal osseous defects.* Journal of Periodontology 56, 63-73.
- Melcher, A.H. (1976).*On the repair potencial of periodontal tissues.*Journal of Periodontology, 47, 256, 260.
- Mellonig, J.T. (2000). *Human histologic evaluation of a bovine-derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects.*International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry 20, 18-29.
- Mellonig, J.T.(1996).*Bone allografts in periodontal therapy.*Clin. Orthop., (324), pp. 116-125.
- Meynet J. (1998).*Osteotomie tibiale de valgisation par ouverture interne: place des substituts osseux.* Ann. Orthopediques de L'Ouest; 30:171-3.
- Minabe, M., Sugaya, A., Satou, H., Tamara, T., Ogawa, Y., Huri, T., Watanabe, Y. (1998). *Histologic study of the hidroxyapatite-collagen complex implants in periodontal osseous defects ind dogs.* Journal of Periodontology 59, 671-678.
- Moskow, B.S., Lubarr, A. (1983). *Histological assesement of human periodontal defects after durapatite ceramic implant.* Journal of Periodontology 51, 455-464.
- Novaes Junior., A. B.; Novaes, A. B.; Grisi, M. F. M.; Soares, U. N.; Gabarra, F. (1993). *Gengiflex, an alkalicellulose membrane for GTR: histologic observations.* Brazilian Dental Journal, Ribeirão Preto, v.4, n.2, p.65-71.
- Nyman, S.(1991).*Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration.* Journal Clinical Periodontology, Copenhagen, v.18, p.494-8.
- Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J., Planten, S. (1980). *Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue.* Journal of Clinical Periodontology 7, 394-401.
- Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Rylander, H.(1982).*New atachment following surgical treatment of human periodontal disease.*Journal of Clinical Periodontology 9, 290-296.
- OH, T.; Meraw, S. J.; Lee, E.; Giannobile, W. V.; Wang, H. L. (2003).*Comparative analyses of implant dehiscence defects.*Clinical Oral Implant Research, Copenhagen, v.14, n.1, p.80-90.

- O'Kane S , Ferguson MW. (1997).*Transforming growth factor beta and wound healing*. Int J Biochem Cell Biol.;29:63-78.
- Oonishi H, H, Hench LL, Wilson I. (2000).*Quantitative comparison of bone growth behavior in ceramics of Bioglass ®. A-W glass ceramics and HA*. J. Biomed Mater Res.;51:37-46.
- Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, et alii. (1997).*Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute*. Clin. Orthop. Rel. Research;334:316-25.
- Park, S.H., Lang, H.L.(2005a).*Mucogingival pouch flap (MPF), for sandwich bone augmentation*. Implant Dentistry 14, (4), 349-356.
- Park, S.H. (2006).*Comparison of two absorbable membranes in guided bone regeneration on implant dehiscence defects in humans*. University of Michigan, Thesis 2006.
- Paul, B.F., Mellonig, J.T., Towle, H.J., Gray J.L. (1992).*The use of a collagen barrier to enhance healing in human periodontal furcation defects*. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry 12, 123-131.
- Pini-Prato, G., Clauser, C., Tonetti, M.S., Cortellini, P. (1996).*Guided tissue regeneration in gingival recessions*. Periodontology 2000, 11, 49-57.
- Pitaru, S., Tal, H., Solding, M., Grosskopf, A., Noff, M. (1988).*Partial regeneration of periodontal tissue using collagen barriers. Initial observations in the canine*. Journal of Periodontology 59, 380-386.
- Polson, A.M., Southard, G.L., Dunn, R.L., Polson, A.P., Yewey, G.L., Swanbom, D.D., Fulfs, J.C., Rodgers, P.W.(1995a).*Periodontal healing after guided tissue regeneration with Atrisorb barriers in beagle dogs*. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry 15. 574-589.
- Radin S., El-Bassyouni G., Vresilovic E.J., Schepers E., Ducheyne P.(2005).*In vivo tissueresponse to resorbable silica xerogels as controlled-release materials*. Biomaterials;26:1043–52.
- Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. (1986).*The biology of platelet-derived growth factor*. Cell.;46:155-169.
- Ruedi, T. P.; Basset, C. A. (1967).*Repair and remodeling in Millipore-isolated defects in cortical bone*. Acta Anatomica, Basel, v.68, p.509-31.
- Russel, J.L., 2000. *Grafton demineralized bone matrix: Performance consistency, utility, and value*. Tissue Engineering , 6, pp.435-440.

- Sableman, E. (1985). *Biology, Biotechnology, and Biocompatibility of Collagen*. Biocompatibility of Tissue analogs. CRS Press, First Edition, Boca Raton, FL, 27.
- Saffar, J.L., Colombier, M.L., Detienville R. (1990). *Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans*. Journal Periodontology 61, 209-216.
- Sandor, G.K.B., Lindholm T.C., Clokie, C.M.L. (2003). *Bone Regeneration of the Craniomaxillofacial and Dento-alveolar Skeletons in the Framework of Tissue Engineering*. Topics in tissue engineering, Eds. N. Ashammakhi & P. Ferretti.
- Santos E.M., Radin S., Shenker B.J., Shapiro I.M., Ducheyne P. (1998). *Si-Ca-P xerogels and bone morphogenetic protein act synergistically on rat stromal marrow cell differentiation in vitro*. J. Biomed Mater Res A;41:87-94.
- Santos J.D., Hastings G.W., Knowles J.C.(1999). *Sintered hydroxyapatite compositions and method for the preparation thereof*. European Patent WO 0068164.
- Sapkos, S.W. (1986). *The use of periograft in periodontal defects*. Histologic findings. Journal of Periodontology 57, 7-13.
- Schenk, R. K.; Buser, D.; Hardwick, W. R.; Dahlin, C. (1994). *Healing pattern of bone regeneration in membraneprotect defects: A histologic study in the canine mandible*. International Journal of Oral Maxillofacial Implants, Carol Stream, v.9, p.13-29.
- Schneider, S.J.(1991). *Ceramic and Glasses. Engineered Materials Handbook*. ASM International 4.
- Schou, S.; Holmstrup, P.; Jorgensen, T.; Skovgaard, L. T.; Stoltze, K.; Hjorting-Hansen, E.; Wenzel, A. (2005). *Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss®) and e-PTFE membrane in the treatment of periimplantitis in cynomolgus monkey*. Clinical Oral Implants Research, Copenhagen, v.14, n.5, p.535-47, 2003. Copenhagen, v.19, n.6, p.373-80.
- Sclar, A.G. (1999). *Preserving alveolar ridge anatomy following tooth removal in conjunction with immediate implant placement*. The Bio-Col Technique. Atlas Oral Maxillofacial Surg. Clin. North. Am., 7, pp 39-59.
- Sculean, A., Donos, N., Chiantella, G.C., Wundisch, P., Reich, E., Brex, M. (1999a). *GTR with bioabsorbable membranes in the treatment of intrabony defects: a clinical and histologic study*. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry 19, 501-509.
- Siegel PM, Massague J.(2003). *Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer*. Nat Rev Cancer;3:807-21.
- Sigurdsson, T. J.; Hardwick, R.; Bogle, G. C. Wikesjo U. (1994). *Periodontal repair in dogs: space provision by reinforced e-PTFE membranes enhances bone and*

cementum regeneration in large supra-alveolar defects. Journal Periodontology, Chicago, v.65, p.350-6.

- Simion, M., Fontana, F., Rasperini, G., Maiorana, C. (2004). *Long-term evaluation of osseointegrated implants placed in sites augmented with sinus floor elevation associated with vertical ridge augmentation. A retrospective study of 38 consecutive implants with 1-7 year follow-up*. *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 24, pp. 208-221.
- Simion, M.; Dahlin, C.; Blair, K.; Schenk, R. (1999). *Effect of different microstructures of e-PTFE membranes on bone regeneration and soft tissue response: a histologic study in canine mandible*. *Clinical Oral Implants Research*, Copenhagen, v.10, n.2, p.73-84.
- Singh JP, Chaikin MA, Stiles CD. (1982). *Phylogenetic analysis of platelet-derived growth factor by radio-receptor assay*. *J. Cell Biol.*; 95:667-671.
- Smiler, D.G., 2001. *Comparison of anorganic bovine material with and without synthetic peptide in a sinus elevation: a case study*. *Implant Dent.*, 10, pp.139-142.
- Song, W. S.; Kim, C. S.; Choi, S. H.; Jhon, G. J.; Kim, H. Y.; Cho, K. S.; Kim, C. K.; Chai, J. C. (2005). *The effects of a bioabsorbable barrier membrane containing a flower seed extracts on periodontal healing of 1-wall intrabony defects in beagle dogs*. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.76, n.1, p.22-33.
- Spray, J.R., Black, C.J., Morris, H.F., Ochi, S. (2000). *The influence of bone thickness on facial marginal bone response: stage 1 placement through stage 2 uncovering*. *Am. Periodonto.*, 5, (1), pp.119-128.
- Stahl, S., Froum, S. (1987), *Histologic evaluation of human intraosseous healing responses to the placement of tricalcium phosphate ceramic implants I. Three to eight months*. *Journal of Periodontology* 57, 211-217.
- Stavropoulos, F.; Dahlin, C. L.; Ruskin, J. D.; Johansson, C. A. (2004). *A comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects: an experimental study in a canine model*. *Clinical Oral Implants Research*, Copenhagen, v.15, n.4, p.435-42.
- Tanner, M.G., Solt, C.W., Vuddhakanok, S. (1988). *An evaluation of new attachment formation using microfibrillar collagen barrier*. *Journal of Periodontology* 59, 524-530.
- Walters, S. P.; Greewell, H.; Hill, M.; Drisko, C.; Pickman, K.; Scheetz, J. P. (2003). *Comparison of porous and non-porous Teflon membranes plus a xenograft in the treatment of vertical osseous defects: a clinical reentry study*. *Journal of Periodontology*, Chicago, v.74, p.1161-8.
- Wang, H., O'Neil, R., Thomas, C., Shyr, Y, Macneil, R. (1994). *Evaluation of an absorbable collagen membrane in treating Class II furcation invasions*. *Journal of Periodontology* 65, 1029-1036.

- Wang, H.L., Kyonobu, K., Neiva, R.F.(2004a).*Socket augmentation : rationale and technique*. Implant Dentistry 13, pp.286-296.
- Wang, H.L., Misch C., Neiva, R.F.(2004b).*Sandwich bone augmentation technique: rationale and report of pilot cases*. Int. Journal Periodontics Restorative Dent., 24, (3), pp. 232-245.
- Warrer, K.; Karring, T.(1992).*Guided tissue regeneration combined with osseous graft in suprabony periodontal lesions*. Journal of Clinical Periodontology, Copenhagen, v.19, n.6, p.373-80.
- Warrer, K., Karring T., Gotfredsen, K.(1993).*Periodontal ligament formation around the different types of dental titanium implants. I. The selfstapping screw type implant system*.Journal of Periodontology,64, 29-34.
- Watzinger, F. et alii.(2000).*Guided bone regeneration with titanium membranes: a clinical study*.Br. j. oral maxillofac. surg., Edinburgh, vol. 38, p. 312-15.
- Weigel, J. P. (1996). *Enxerto Ósseo*. In: BORJAB, M. J. *Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais*. ed. 2, São Paulo: Manole,p. 791 – 798.
- Wilson, J., Low, S.B., (1992) *Bioactive ceramics for periodontal treatment: comparative studies in the Patus monkey*. Journal of Aplied Biomaterials 3, 123-129.
- Tabata, Y.(2001).*Recent progress in tissue engineering*.Drug Discovery Today, Kidlington, v.6, n.1, p.483-7.
- Turhani, D., Cvikl, B., Watzinger, E., Weinßenbock, M., Yerit, K., Thurnher, D., Lauer, G., Ewers, R.(2005b).*In vitro growth and Differentiation of Osteoblastic-like Cels on Hidroxyapatite Ceramic Granule Calcificated Red Algae*. J.Oral Maxillofacial Surgery, 63, 793, 799.
- Turhani, D., Weinßenbock, M., Watzinger, E., Yerit, B., Cvikl, B., K., Ewers, R., Thurnher, D.(2005b).*In vitro study of adherent mandibular osteoblast-like cells Carrier Materials*.Int. J. Oral Maxillofacial Surg., 34,pp.543-550.
- Turhani, D., Watzinger, E., Weinßenbock, M., Cvikl, B., K., Thurnher, D., Wittwer, G., Yerit,B., Ewers, R.(2005c).*Analysis of Cell-seeded Three-dimensional Bone Constructs Manufactured in vitro Hydroxyapatite Ceramic Granulae obtained from Red Algae*.Int. J. Oral Maxillofacial Surg., 63,pp.673-681.
- Tadic D, Epple M. (2004).*A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone*.Biomaterials; 25: 987-994.
- Tatakis, D.N., Prosudhti, A., Wkesjo, U.M.E. (1999).*Devices of periodontal regeneration*.Periodontology 2000 19, 524-530.

- Teng SH, Lee EJ, Wang P, Shin DS, Kim HE.(2008).*Three-Layered membranes of collagen/hydroxyapatite and chitosan for guided bone regeneration*.J. Biomed. Mater Res.;87B:132–8.
- Vaccaro A.R., Chiba K., Heller J.G., et al.(2002).*Bone grafting alternatives in spinal surgery*.Spine J.;2:206-15.
- Yukna, R. (1992). *Clinical human comparison of expanded polytetrafluoroethylene barrier membrane and freeze dried dura mater allografts for guided tissue regeneration of lost periodontal support*. Journal of Periodontology 63, 431-442.
- Zitzmann, N. U.; Scharer, P., Marinello, C.P.(1999).*Factors influencing the success of GTR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration*. Journal of Clinical Periodontology, 26, pp. 673-682.