

Valerio Galeandro

A osteointegração dos implantes sob o efeito  
da microestimulação

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2019



Valerio Galeandro

A osteointegração dos implantes sob o efeito  
da microestimulação

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2019

A osteointegração dos implantes sob o efeito  
da microestimulação

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Medicina Dentária

---

Valerio Galeandro

## ÍNDICE

RESUMO.....	I
ABSTRACT.....	II
ABREVIATURAS.....	III
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. DESENVOLVIMENTO.....	2
1. Osteointegração dos implantes.....	2
2. Remodelação óssea .....	3
3. A “Teoria do Mechanostat” de Frost.....	4
4. Micro-estimulação vs Osteointegração do implante.....	5
5. Da estimulação mecânica ao efeito piezoelétrico.....	7
6. Proposta de dispositivo.....	8
III. DISCUSSÃO.....	11
IV. CONCLUSÃO.....	13
V. BIBLIOGRAFIA.....	14
VI. ANEXOS.....	17

## **RESUMO**

O osso é um tecido extraordinário que pode responder a estímulos externos. À medida que as cargas funcionais são impostas, múltiplos sinais intracelulares estão envolvidos na mecanotransdução celular, e os processos de remodelação adaptam os tecidos ósseos peri-implantares aos estímulos mecânicos ao longo do tempo, para restabelecer um estado estacionário. O objetivo deste artigo de revisão narrativa é resumir os recentes avanços no mecanismo de sinalização celular relacionados com o fenómeno da remodelação óssea, salientando as mais recentes tecnologias que podem ser usadas para a utilização de dispositivos médicos implantados, em futuras abordagens terapêuticas que possam melhorar e estimular a osteointegração de implantes dentários e acelerar os mecanismos de regeneração.

**Palavras Chave:** implante dentário, osteointegração, mecanotransdução celular, estimulação elétrica terapêutica.

## **ABSTRACT**

Bone is an extraordinary tissue that can respond to external stimuli. As functional charges are imposed, multiple intracellular signals are involved in cellular mechanotransduction, and remodeling processes adapt peri-implant bone tissues to mechanical stimuli over time to reestablish a steady state. The objective of this review article is to summarize the recent advances in cell signaling related to the phenomenon of bone remodeling, highlighting the latest technologies that can be used for the use of implanted medical devices, for future therapeutic approaches that can improve and stimulate the osseointegration of dental implants and accelerate the mechanisms of regeneration.

**Keywords:** dental implant, osseointegration, cellular mechanotransduction, therapeutic electrical stimulation.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>BMP 2</b>	Proteínas morfogenéticas do osso tipo 2
<b>BMP 4</b>	Proteínas morfogenéticas do osso tipo 4
<b>RANK-L</b>	Ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B
<b>RANK</b>	Recetor ativador do fator nuclear kappa B
<b>BMPs</b>	Proteínas morfogenéticas do osso
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Fator de transformação do crescimento beta
<b>FGFs</b>	Fatores de crescimento de fibroblastos
<b>OPG</b>	Osteoprotegerina
<b>MES</b>	Tensão mínima efetiva
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>C-FOS</b>	Proto-oncogene
<b>IGF-1</b>	Fator de crescimento da insulina – I
<b>ATP</b>	Adenosina tri-fosfato
<b>PGE2</b>	Prostaglandina E2
<b>MAP</b>	Kinase - Proteína quinase ativada por mitógeno
<b>ERK 1/2</b>	Quinase regulada pela sinalização extracelular
<b>M-CSF</b>	Fator estimulante de colónias de macrófagos
<b>Wnt</b>	Via de sinalização
<b>ECM</b>	Matriz extracelular natural
<b>PKC</b>	Proteína quinase do tipo C
<b>BEC</b>	Estimulador de corrente elétrica bifásica
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento do endotélio vascular
<b>hMSCs</b>	Células-tronco mesenquimais humanas

## I. INTRODUÇÃO

A reabilitação com os implantes dentários é amplamente utilizada tanto na mandíbula quanto na maxila para restaurar a função oral, incluindo a mastigação e fala bem como melhorar a estética nos pacientes parcialmente ou totalmente desdentados. Eles também são usados para apoiar reconstruções craniofaciais como orbitais, auriculares, próteses, e aparelhos ortodônticos. No entanto, a sobrecarga prematura pode atrapalhar o processo de cura e pode encurtar a expectativa de vida do implante. A taxa de sucesso dos implantes em pacientes com quantidade e qualidade do osso alveolar reduzida, e com doenças como osteoporose, é relativamente baixa. Assim buscar um método fácil e eficaz para melhorar e acelerar a osteointegração dos implantes dentários é necessário para clínicos e pesquisadores em odontologia (Buser *et al.*, 1991). Na estratégia não invasiva com aplicação local, a estimulação biofísica é o tema de pesquisa de interesse para melhorar a regeneração óssea. O tecido ósseo adapta a sua estrutura e massa às tensões da carga mecânica. A complexidade das vias de sinalização celular e os mecanismos envolvidos na mecanorregulação da formação óssea fornecem novas tecnologias e perspectivas para a resposta celular induzida mecanicamente. Novas abordagens terapêuticas baseadas nas vias de sinalização celular podem melhorar e estimular a osteointegração de implantes dentários e acelerar os mecanismos de cura. Portanto, o conhecimento destes mecanismos e controle das vias inibitórias em áreas de má qualidade óssea após a colocação de implantes podem fornecer novas abordagens terapêuticas para melhorar a osteogênese, especialmente em torno de implantes que são imediatamente funcionalmente carregados. Esse caminho de pesquisa poderá aumentar a compreensão dos papéis mecanicistas das vias de sinalização celular no processo de osteointegração e explicar a nova formação óssea em torno de implantes dentários carregados.

Para a presente revisão, realizou-se uma pesquisa bibliográfica com recurso a artigos publicados em revistas científicas indexadas recorrendo a motores de busca na internet, tais como *PubMed* e *B-On*. Foram selecionados artigos e revisões entre os anos 1991 e 2018, escritos em Inglês.

## II. DESENVOLVIMENTO

### 1. Osteointegração dos implantes

A osteointegração dos implantes dentários é caracterizada como uma conexão funcional entre o osso recém-formado e a superfície do implante (Von Wilmowsky *et al.*, 2014).

A osteointegração compreende uma cascata de mecanismos fisiológicos complexos semelhantes aos processos que ocorrem na remodelação direta de uma fratura. Assim, o primeiro componente biológico a entrar em contato com o implante é o sangue. Células do sangue, incluindo glóbulos vermelhos, plaquetas e células tais como granulócitos polimorfonucleares e monócitos emigram das locais pós-capilares para o tecido que envolve o implante. As células do sangue aprisionadas na interface do implante libertam citocinas e outros fatores solúveis de crescimento e diferenciação (Davies, 2018).

As interações iniciais das células sanguíneas com o implante, fazem com que haja a formação do coágulo. A matriz de fibrina formada actua como um apoio (osteocondução) para a migração de células osteogénicas e eventual diferenciação (osteoindução) dessas células na cicatrização do local de implantação. As células osteogénicas formam tecido osteóide e novo osso trabecular que remodela em osso lamelar em contacto direto com a maior parte da superfície do implante (Meyer *et al.*, 2004).

Os osteoblastos e as células mesenquimais migram e fixam-se à superfície do implante a partir do primeiro dia após a implantação, depositando proteínas relacionadas com o osso e criando uma camada de matriz não colagénica na superfície do implante que regula a adesão celular e a ligação de minerais. A formação de novo osso inicia a partir dos bordos da cavidade (osteogénese à distância) ou por células osteogénicas diretamente na superfície do implante (osteogénese de contacto). Na osteogénese à distância, os osteoblastos migram em direção à superfície do implante, diferenciam-se, conduzindo à formação de novo osso a partir deste. Assim, o osso cresce de um modo aposicional em relação ao implante; em quanto na osteogénese de contacto as células osteogénicas migram diretamente para a superfície do implante gerando novo osso (Rigo *et al.*, 2004).

A neoformação óssea inicia-se nos estágios iniciais de cicatrização e após 7 dias, começa a formar-se uma matriz provisória rica em fibras de colagénio, estruturas vasculares, osteoblastos e alguma área óssea neoformada (Murai *et al.*, 1996).

Alguns fatores de crescimento, como BMP2 e BMP4, participam estimulando a migração tardia de células mesenquimais não diferenciadas e, diferenciando os osteoblastos. Após 14 dias, a junção implante-osso é ocupada por osso neoformado ou tecido rico em fibras de colagénio, estruturas vasculares e osteoblastos, que formam uma estrutura reticular. Nesta fase os osteoblastos produzem a interface óssea e podem ser encontrados paralelamente à superfície. No centro do tecido ósseo neoformado, alguns osteócitos podem ser observados, enquanto os osteoclastos aparecem na superfície óssea do leito, indicando assim a reabsorção óssea necrótica. Durante o processo de aposição, a estrutura óssea se transforma progressivamente de reticular para lamelar. O osso reticular é frágil e pobre em cristais de fosfato de cálcio, e transforma-se primeiramente em osso rico em fibras paralelas e depois em osso lamelar, que representa o tecido mineralizado capaz de suportar cargas mecânicas. A duração deste processo de aposição óssea pode variar de acordo com o tipo de superfície do implante sendo, de uma forma geral, em torno de 4 semanas (Junker *et al.*, 2009; Terheyden *et al.*, 2012).

De acordo com o conceito de mecanotransdução, a remodelação óssea continua ao longo da vida (Fini *et al.*, 2004).

## **2. Remodelação óssea**

O osso é um tecido dinâmico, submetido a uma renovação contínua durante a vida de cada indivíduo pelo processo de remodelação óssea (Butler *et al.*, 2007; Zaidi, 2007). Este processo fisiológico é necessário para:

1. permitir a substituição do osso primário (ou osso imaturo), por um osso secundário mais mecanicamente competente;
2. remover osso isquêmico ou microfraturado;

3. para garantir uma correta homeostase do cálcio.

A remodelação óssea baseia-se na função correta de duas células principais do tecido ósseo: os osteoclastos, células multinucleadas que destroem a matriz óssea, e os osteoblastos, com funções osteogénicas. Os osteócitos, outro importante tipo celular dos osteoblastos, também estão envolvidos no processo de remodelação, por possuir uma função mecanossensorial. Um correto equilíbrio entre a reabsorção óssea e as funções osteogénicas é obrigatório para manter uma massa óssea constante (Butler *et al.*, 2007; Zaidi, 2007).

É assim possível visualizar de forma esquemática o processo de remodelação óssea. (Figura 1 - ver Anexos). A remodelação óssea começa quando diferentes sinais levam à ativação das células de revestimento, o que aumenta a expressão de RANKL à superfície. O RANKL interage com o seu recetor RANK, desencadeando assim a diferenciação dos osteoclastos (fase de activação). Os osteoclastos reabsorvem o osso (fase de reabsorção) permitindo assim a libertação de fatores geralmente armazenados na matriz (BMPs, TGF $\beta$ , FGFs) que recrutam osteoblastos na área reabsorvida. Uma vez recrutados, os osteoblastos produzem a nova matriz e promovem a sua mineralização (fase de formação), completando assim o processo de remodelação óssea (Nakashima e Crombrughe, 2003).

### 3. A “Teoria do Mechanostat” de Frost

Harold Frost sugeriu a existência de um mecanismo regulador homeostático no osso responsável pela detecção de mudanças sob exigências mecânicas colocadas no osso, alterando posteriormente a massa e a conformação desse último para melhorar em função dessas exigências mecânicas. Especificamente, Frost postulou que vários limiares mecânicos controlam quando deve ser adicionado ou retirado osso do esqueleto. Ele teorizou que abaixo de um certo limiar, o osso é reabsorvido e, portanto, está livre do excesso de massa. Acima de outro limiar, dentro de um intervalo fisiológico, quando o osso é exposto a um pico maior típico das cargas mecânicas, ocorre formação óssea na estrutura existente para aumentar a resistência estrutural (Hughes e Petit, 2010).

Como em qualquer sistema de controle homeostático, também o mecanostato ósseo deve ter vários componentes independentes, incluindo um estímulo, um mecanismo sensorial capaz de detectar o estímulo, e um mecanismo efetivo que faz com que o sistema volte à homeostase.

Assim, o tecido ósseo possui um “mecanostato” intrínseco que regula a adaptação funcional óssea (Hughes e Petit, 2010; Bodamyali *et al.*, 1998)

Entende-se que o sistema proteico OPG / RANK-L / RANK regula o metabolismo ósseo exercendo efeitos biológicos sobre os osteoblastos ou osteoclastos. Frost descreveu a hipótese da mínima tensão efetiva (MES), que prevê o tempo e o local das alterações na arquitetura óssea, como resultado da adaptação a cargas. O MES descreve o sinal mínimo efetivo das cargas mecânicas que converte os seus efeitos na adaptação da arquitetura óssea. As tensões abaixo do MES não produzem remodelação óssea adaptativa, enquanto acima alteram a arquitetura do osso. A faixa de 1.500 a 2500 microstrain ( $\mu E$ ) constitui o limite do MES, para o controle mecânico da remodelação óssea, enquanto se estima que o intervalo de 100 a 300  $\mu E$  é o ponto sob o qual a remodelação pode prosseguir rapidamente. Tensões abaixo ou acima da faixa de 3.500  $\mu E$ , causam uma resposta de tipo SOS do sistema, expressa sob forma de extensa reabsorção (Tyrovola, 2015).

Conclusivamente, existe um mecanismo, que monitoriza a massa óssea em relação à tensão mecânica exercida sobre o osso. Outros fatores como por exemplo a idade, a genética, as drogas, as hormonas e a doença, podem alterar as faixas de MES mencionadas anteriormente e afetar a arquitetura óssea. Os mecanismos pelos quais o mechanostat trabalha não são completamente esclarecidos, no entanto, eles exigem alguma forma de mecanotransdução celular. Por isso, a mecanotransdução, ou a conversão de uma força biofísica numa resposta celular, é um mecanismo essencial para uma ampla variedade de funções que permitem que os organismos respondam ao ambiente mecânico (Tyrovola, 2015; Lorch *et al.*, 1998). (Figura 2 - ver Anexos)

#### **4. Micro-estimulação vs Osteointegração do implante**

##### **Mecanismo biomolecular de sinalização celular nos implantes dentários após uma carga imediata.**

O tecido ósseo tem a capacidade de se adaptar ao ambiente funcional, de forma que a morfologia e a densidade possam ser otimizadas em resposta ao stress mecânico. Quando um implante dentário é colocado dentro do osso, os osteócitos, os osteoblastos e os osteoclastos são as principais células a ser envolvidas. Assim, quando as cargas funcionais são aplicadas,

os processos de remodelação adaptam os tecidos ósseos peri-implantares aos estímulos mecânicos ao longo do tempo para restabelecer um estado estacionário de equilíbrio. Com base na literatura atual, isso explica-se na conversão de sinais mecânicos em sinais bioquímicos.

Portanto, o primeiro objectivo é salientar de forma resumida como, após uma carga mecânica, as células ósseas conseguem produzir uma resposta bioquímica que se traduz numa remodelação óssea. Incorporados em osteons dispostos concentricamente ao redor dos sistemas haversianos, os osteócitos, as células mais abundantes no osso, têm longos processos dendríticos que entram em contacto com as células circundantes nas junções comunicantes e parecem detetar cargas aplicadas ao osso da seguinte forma. Sob uma carga mecânica, vai ser induzida uma alteração do gradiente de pressão dentro da matriz óssea que cria um movimento do fluxo de fluido e forças deformacionais dentro dos mesmos osteócitos, na rede lacuno-canalicular, enviando sinais parácrinos aos osteoblastos e osteoclastos (Hillsley e Frangos, 1994; Wang *et al.*, 2004). Este fluxo de fluido através da rede, permite que os osteócitos fiquem “esticados” na mesma extensão que o tecido ósseo circundante, de modo que possa criar uma tensão de deformação nas membranas celulares sob forma de stress, capaz de induzir uma resposta bioquímica das células, isto é, mediante a ativação de mecanismos enzimáticos (Dallas *et al.*, 1993; Terai *et al.*, 1999).

A expressão de vários genes foi observada em osteócitos e em células de revestimento ósseo *in vivo* após um estímulo mecânico. Estes incluem o proto-oncogene C-FOS (30 minutos após o carregamento) e o fator de crescimento semelhante à insulina I - (IGF-I) (6 horas após o carregamento) (Lean *et al.*, 2017). Além disso, os osteócitos parecem fornecer sinais quimiotáticos essenciais que visam os osteoclastos para reparar danos e *microcracks* (Verborgt *et al.*, 2000).

Dois dos primeiros eventos na sinalização da mecanotransdução ocorrem no primeiro minuto da aplicação do estímulo, isto é, um aumento nas concentrações intracelulares de Ca<sup>2+</sup>, e liberação de adenosina trifosfato (ATP) da célula (Forwood *et al.*, 1998).

Alguns minutos depois, prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) e óxido nítrico (NO) são libertados, seguido por sinalização MAP-kinase (ativação ERK1 / 2) e finalmente, a expressão de genes da matriz óssea, incluindo osteopontina e colagénio (Genetos *et al.*, 2005). O controle da

osteoclastogénese por células derivadas de estroma ocorre através do eixo de sinalização M-CSF / RANKL / OPG. Este eixo é responsável pelo controlo da osteoclastogénese e viabilidade em resposta a uma grande variedade de estímulos (por ex: hormona paratiróide, prostaglandinas, interleucinas, vitamina D3, corticosteróides), incluindo estimulação mecânica (Fan *et al.*, 2015).

Os precursores dos osteoclastos circulantes saem da circulação periférica perto do local a ser reabsorvido, e na presença do fator estimulador de colónias de macrófagos (M-CSF), fundem-se para formar um osteoclasto imaturo multinucleado. Neste estágio, o receptor ativador do fator nuclear RANK-L, assim como o M-CSF, ligam-se aos receptores expressos na superfície celular dos osteoclastos. Outra molécula é a osteo-protegerina OPG, que se liga ao RANK-L e que inibe competitivamente a sinalização de RANK nos osteoclastos. Em função dos níveis relativos de OPG e RANK-L, as células da linhagem estromal podem controlar a atividade de reabsorção local dos osteoclastos em resposta à carga mecânica. A remodelação óssea também é dependente da esclerostina. A esclerostina é secretada pelos osteócitos e regula negativamente a sinalização Wnt, isto é, uma importante via de sinalização para a diferenciação e função dos osteoblastos (Day *et al.*, 2005; Robling *et al.*, 2008).

Demonstrou-se assim que a esclerostina é inibida por efeitos da carga mecânica. Por essa razão, ao suprimir a liberação de esclerostina, o efeito da carga mecânica resulta na sinalização aumentada de Wnt /  $\beta$ -catenina (Robinson *et al.*, 2006), e conseqüentemente, maior formação óssea. (Figura 3a; Figura 3b - ver Anexos)

## **5. Da estimulação mecânica ao efeito piezoelétrico**

Foi amplamente demonstrado que tecidos como osso, cartilagem, dentina, tendão e queratina têm propriedades diretas de piezoelectricidade (Halperin *et al.*, 2004). Assim, há uma grande necessidade de criar biomateriais “inteligentes”, que podem convenientemente gerar e transferir os sinais bioelétricos análogos aos tecidos nativos para funções fisiológicas apropriadas ou seja, estes materiais piezoelétricos podem gerar sinais elétricos em resposta ao stress aplicado. Em função disso, eles podem estimular as vias de sinalização e assim, aumentar a regeneração do tecido no local comprometido ou no local da implantação. Os materiais piezoelétricos são considerados materiais inteligentes devido ao fato de que esses materiais podem transduzir a pressão mecânica (estímulos mecânicos) que actua sobre eles

para convertê-la posteriormente em sinais elétricos (chamado efeito piezoelétrico direto), ou pelo contrário, converter sinais elétricos em sinais mecânicos (chamado efeito piezoelétrico inverso) (Miara *et al.*, 2005).

Por exemplo, dispositivos como suportes piezoelétricos podem produzir sinais bioelétricos adequados, semelhantes aos da matriz extracelular natural ECM, que normalmente se observa durante o fenómeno de remodelação no osso e na cartilagem (Arinze *et al.*, 2015). A literatura sugere fortemente que o osso rico em colagénio, converte as tensões funcionais (estimulação mecânica) em estímulos elétricos para regeneração e remodelação. Vários estudos relatam que a estimulação elétrica pode produzir TGF- $\beta$  através da via cálcio / calmodulina, em que o TGF- $\beta$  é o fator chave potencial para promover os processos celulares, incluindo crescimento e diferenciação celular, síntese de matriz extracelular, inflamação e reparação tecidual. Estas ações pleiotrópicas do TGF- $\beta$  são devidas ao seu envolvimento na inibição ou estimulação de algumas vias reguladoras comuns, responsáveis pelos eventos celulares. Pode ser assim considerado como um importante fator de crescimento para a formação de osso e cartilagem (Riddle e Donahue, 2009). (Figura 4 - ver Anexos)

O diagrama esquemático (Figura 4 - ver Anexos) mostra a via de transdução de sinal de  $Ca^{2+}$  e outras vias diversas que são activadas em resposta a estímulos elétricos e mecânicos. A estimulação mecânica no suporte piezoelétrico deverá resultar na geração de um sinal elétrico que estimulará o canal  $Ca^{2+}$  que, por sua vez, causará a expressão de genes. Também a própria estimulação mecânica pode ativar os mecanorreceptores presentes na membrana que levarão à ativação das cascatas de sinalização PKC e MAP-K, a partir das quais os mesmos efeitos serão obtidos (Kanno *et al.*, 2007).

## **6. Proposta de dispositivo**

Embora seja bem consolidado o facto que os implantes de titânio podem ser bem osteointegrados após períodos latentes de vários meses, os implantes para carga imediata e para má qualidade óssea poderão exigir estimulantes adicionais para favorecer a osteogénese; esses são atualmente os principais tópicos de interesse da implantologia hodierna. Portanto, o desenvolvimento de técnicas que podem acelerar a formação óssea e diminuir o período de osteointegração é necessário para reduzir o tempo de tratamento e aumentar a taxa de sucesso

em osso de baixa densidade/qualidade com vista a melhorar a qualidade de vida do paciente (Ciombor *et al.*, 2002).

Com base na demonstração das propriedades piezoelétricas nos ossos, vários tipos de estimulações têm sido amplamente utilizadas para melhorar a sua formação (Lew e Marino, 1991). Estas técnicas de estimulação elétrica podem ser classificadas em tipos invasivos e não invasivos, dependendo da localização do estimulador. Em rigor disso, nós propomos que a estimulação elétrica pode ser uma forma eficaz e um método útil para acelerar a osteointegração. A dificuldade técnica de construir um pequeno estimulador elétrico que seja suficiente para integrar-se no implante tem sido a principal barreira para a realização desta ideia, mas com o avanço da nanotecnologia dos dispositivos semicondutores, tem sido permitido a construção de um estimulador elétrico muito pequeno de baixa potência que pode ser regulado em função do uso nos implantes dentários (Kim *et al.*, 2006; Brighton *et al.*, 2001).

Apresentamos assim o estimulador de corrente elétrica bifásica BEC implantável, que foi projetado para permitir uma micro-estimulação elétrica. Segundo o procedimento convencional de dois estágios, na segunda cirurgia o implante submerso é exposto à cavidade oral, sendo inserido nesta fase um pilar temporário de cicatrização. O implante é osteointegrado durante o período latente de 2 - 3 meses na mandíbula, e 4 - 6 meses no maxila. Para reduzir esse período, o pilar com o estimulador elétrico é inserido no implante imediatamente após a cirurgia de inserção do implante no osso, em vez de colocar o pilar convencional de cicatrização. Assim, a corrente do estimulador BEC viaja entre o dispositivo e o tecido ósseo circundante por 7 dias. Depois do período de estimulação, o pilar estimulador é trocado com o pilar convencional de cicatrização permanecendo por 1 ou 3 semanas, dependendo do período de observação. Posteriormente, é substituído o pilar temporário de cicatrização com o pilar protético, que por sua vez será coberto por uma coroa. (Figura 5 - ver Anexos)

O chip estimulador e as baterias são integrados no pilar de cicatrização num contentor de policarbonato. O sistema tem um diâmetro de 5,5 mm e uma altura de 6,5 mm. O chip estimulador BEC é anexado a uma placa de circuito, cujo diâmetro é de 4,5 mm, suficientemente estreito para colocar-se no contentor. Na placa de circuito, quatro terminais são ligados com um eletrodo dentro desse dispositivo. O eletrodo de referência é feito de

titânio com um diâmetro de 3 mm, sendo assim um tipo de parafuso que pode ser facilmente montado. Para fornecer energia ao chip, utilizam-se duas baterias de óxido de zinco-prata de tamanho reduzido para encaixar-se nesse sistema. Além disso, eles têm a característica de produzir uma descarga plana e contínua que lhe permite fornecer uma tensão estável durante todo o período de estimulação. A capacidade nominal é de 12 mAh, que é o suficiente para que o chip possa operar entre 7-10 dias no local implantado, com uma estimulação de 20  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  de amplitude, 125  $\mu\text{s}$  de duração e 100 pulsos / s. (Figura 6 - ver Anexos)

### **Resultados *in vivo***

Num relatório recente, foi demonstrado que a estimulação com o dispositivo BEC acelerou a proliferação e a indução de VEGF em osteoblastos de ratos num estágio inicial (Kim *et al.*, 2006).

Ainda, num estudo *in vitro* as proporções de osso em contacto com o implante e a área óssea, foram significativamente aumentadas após as aplicações do campo elétrico gerado por o dispositivo BEC em comparação com o grupo controle (Matsumoto *et al.*, 2000).

Além disso, resultados semelhantes foram observados em células-tronco mesenquimais humanas (hMSCs), e células-tronco mesenquimais de ratos submetidas à estimulação com esse dispositivo. Com base nesses resultados, hipotetizamos que o processo de formação óssea é acelerado pela estimulação com o BEC, resultando num aumento da proliferação de osteoblastos pré-existentes e células-tronco mesenquimais. O aumento da proliferação pode afetar o número de células osteoprogenitoras que participam da formação óssea. Um número aumentado de tais células que secretam VEGF mais abundante nos tecidos circundantes resultará, conseqüentemente, numa rápida invasão dos vasos sanguíneos. A geração de novos vasos sanguíneos, promovida pelo VEGF, fornece aos tecidos circundantes um suprimento rico de nutrientes para manter o ambiente local para que as células osteoprogenitoras possam diferenciarem-se. Estas interpretações são consistentes para melhorar a formação óssea nos tecidos circundantes a o implante dentário. No entanto, a via de sinalização precisa, pela qual a estimulação elétrica induz a formação óssea, ainda não está esclarecida e novos estudos com um número maior de animais serão necessários antes da aplicação clínica (Zipfel *et al.*, 2003).

### III. DISCUSSÃO

A inserção de um implante dentário activa uma sequência de eventos fisiológicos que terminam com a formação óssea e a osteointegração do implante. Esta sequência começa com o processo de coagulação do sangue e a formação de uma rede de fibrina. Com base em observações experimentais das propriedades elétricas do osso, apresentamos a hipótese relacionada com o mecanismo do estímulo elétrico no controle da formação do coágulo sanguíneo e conseqüentemente com a formação de novo osso ao redor do implante dentário. Vários tipos de estímulos elétricos foram investigados pelos seus efeitos na regeneração óssea em modelos animais e em estudos *in vitro*. Portanto, a neoformação óssea seria limitada às áreas próximas da ponta do eléctrodo não abrangendo a grande extensão do tecido ósseo danificado ou fraturado. No entanto, esta característica pode ser vantajosa quando se trata de uma região restrita, como um implante dentário, porque uma estimulação contínua numa área restrita específica pode maximizar a eficácia da formação óssea sem ser limitada pelo espaço e pela carga de grandes equipamentos. A estimulação elétrica pode ser aplicada em modos diferentes, dependendo do formato da onda, frequência, amplitude e tempo de exposição. Sendo um tipo de corrente elétrica direta pulsátil, o efeito do dispositivo estimulador de corrente elétrica bifásica BEC na função dos osteoblastos foi analisado *in vitro*. Num estudo publicado (Kim *et al.*, 2006), foi demonstrado que a estimulação de modo contínuo (24 h) poderia promover a proliferação dos osteoblastos de ratos, e também poderia induzir a produção do fator de crescimento endotelial vascular VEGF *in vitro*. Com base nesses resultados, apresentamos a ideia de um dispositivo usando um pequeno sistema estimulante implantável, que foi projetado para permitir a estimulação efetiva em implantes dentários. Existem inúmeros relatos de que a estimulação de corrente direta, quando aplicada, promove a formação óssea, como mencionado anteriormente, em particular em intervalos de 10 a 20 mA, para minimizar a elevação do pH e favorecer a formação óssea (Lew e Marino, 1991; Bodamyali *et al.*, 1998). Em outros estudos em que se utilizou o campo elétrico acoplado, sugeriu que a via de cálcio / calmodulina ativada pelo aumento da concentração de cálcio intracelular através dos canais de cálcio, dependente da voltagem aplicada, mediava a resposta proliferativa das células ósseas (Lorich *et al.*, 1998; Brighton *et al.*, 2001). Na literatura atual, não há evidências concretas sobre os benefícios deste novo dispositivo, portanto, estudos em animais *in vivo* ainda são necessários para demonstrar a segurança e eficácia deste projeto.

Contudo, esta revisão foi útil para aferir que este dispositivo, através de alguns estudos, pode ser proposto como um novo tipo de protótipo de estimulação elétrica com relevância para a osteogênese, na regeneração dos tecidos, ou nas situações em que se requer um rápido aumento da angiogênese.

#### **IV. CONCLUSÃO**

A complexidade das vias de sinalização celular e os mecanismos envolvidos na mecanorregulação da formação óssea fornecem novas tecnologias e perspectivas para entender a resposta celular induzida mecanicamente. Em conclusão, este estudo mostra que um sistema eletrónico para melhorar a formação óssea nos tecidos circundantes de um implante dentário, foi desenvolvido através da sua implementação dentro de um pilar de cicatrização temporária. Novas abordagens acopladas a ideia deste dispositivo de estimulação de corrente elétrica bifásica BEC, contribuirão para o avanço da moderna tecnologia convencional dos implantes dentários e serão aplicadas em diversas áreas médicas relacionadas com a formação óssea, nomeadamente, em ortopedia e em patologias crónicas como a osteoporose.

## V. BIBLIOGRAFIA

- Arinzeh, T. L., Rajabi, A. H. e Jaffe, M. (2015). Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review. *Acta Biomaterialia*, 24, pp. 12–23.
- Bodamyali, T. *et al.* (1998). Pulsed electromagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and upregulate transcription of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in rat osteoblasts in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 250(2), pp. 458–461.
- Brighton, C. T. *et al.* (2001). Signal Transduction in Electrically. *The Journal of Bone & Joint Surgery. American volume*, 83(10), pp. 1514–1523.
- Buser, D. *et al.* (1991). Influence of Surface Characteristics on Bone Integration of Titanium Implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 25(7), pp. 889–902.
- Butler, M. G. *et al.* (2007). Energy Expenditure and Physical Activity in Prader-Willi Syndrome. *American journal of medical genetics. Part A*, 143(18), pp. 449–459.
- Ciombor, D. M. K. *et al.* (2002). Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. *Journal of Orthopaedic Research*, 20(1), pp. 40–50.
- Dallas, S. L. *et al.* (1993). Early strain-related changes in cultured embryonic chick tibiotarsi parallel those associated with adaptive modeling in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(3), pp. 251–259.
- Davies, J. E. (2018). Mechanisms of endosseous integration. *The International journal of prosthodontics*, 11(5), pp. 391–401.
- Day, T. F. *et al.* (2005). Wnt Catenin Signaling in Mesenchymal Progenitors Controls Osteoblast and Chondrocyte Differentiation during Vertebrate Skeletogenesis. *Developmental Cell*, 8, pp. 739–750.
- Fan, X. *et al.* (2015). Nitric Oxide Regulates Receptor Activator of Nuclear Factor - B Ligand and Osteoprotegerin Expression in. *Endocrinology*, 145(2), pp. 751–759.
- Fini, M. *et al.* (2004). Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 58(9), pp. 487–493.
- Forwood, M. R., Kelly, W. L. e Worth, N. F. (1998). Localization of prostaglandin endoperoxide H synthase (PGHS)-1 and PGHS- 2 in bone following mechanical loading in vivo. *The Anatomical Record*, 252(4), pp. 580–586.
- Genetos, D. C. *et al.* (2005). Fluid Shear-Induced ATP Secretion Mediates Prostaglandin Release in MC3T3-E1 Osteoblasts. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American for Bone and Mineral Research.*, 20(1), pp. 41–49.
- Halperin, C. *et al.* (2004). Piezoelectric Effect in Human Bones Studied in Nanometer Scale. *Nano Letters*, 4(7), pp. 1253–1256.
- Hillsley, M. V. e Frangos, J. A. (1994). Review: Bone tissue engineering: The role of interstitial fluid flow. *Biotechnology and Bioengineering*, 43(7), pp. 573–581.
- Hughes, J. M. e Petit, M. A. (2010). Biological underpinnings of Frost's mechanostat thresholds: the important role of osteocytes. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 10(2), pp. 128–35.
- Junker, R. *et al.* (2009). Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 20(4), pp. 185–206.

- Kanno, T. *et al.* (2007). Mechanical stress-mediated Runx2 activation is dependent on Ras/ERK1/2 MAPK signaling in osteoblasts. *Journal of Cellular Biochemistry*, 101(5), pp. 1266–1277.
- Kim, I. S. *et al.* (2006). Biphasic electric current stimulates proliferation and induces VEGF production in osteoblasts. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1763(9), pp. 907–916.
- Lean, J. M. *et al.* (2017). Osteocytic expression of mRNA for c-fos and IGF-I: an immediate early gene response to an osteogenic stimulus. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 270(6), pp. 937–945.
- Lew, D. e Marino, A. (1991). The effect of electrical stimulation on bone formation around hydroxyapatite implants placed on the rabbit mandible. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 49(7), pp. 735–739.
- Lorich, D. G. *et al.* (1998). Biochemical pathway mediating the response of bone cells to capacitive coupling. *Clinical orthopaedics and related research*, (350), pp. 246–56.
- Matsumoto, H. *et al.* (2000). Pulsed electromagnetic fields promote bone formation around dental implants inserted into the femur of rabbits. *Clinical Oral Implants Research*, 11(4), pp. 354–360.
- Meyer, U. *et al.* (2004). Ultrastructural characterization of the implant/bone interface of immediately loaded dental implants. *Biomaterials*, 25(10), pp. 1959–67.
- Miara, B., Rohan, E. e Zidi, M. (2005). Piezomaterials for bone regeneration design - homogenization approach, 53(11), pp. 2529–2556.
- Murai, K. *et al.* (1996). Light and electron microscopic studies of bone-titanium interface in the tibiae of young and mature rats. *Journal of Biomedical Materials Research*, 30(4), pp. 523–533.
- Nakashima, K. e Crombrughe, B. De. (2003). Transcriptional mechanisms in osteoblast differentiation and bone formation. *Trends in genetics : TIG*, 19(8), pp. 458–466.
- Riddle, R. C. e Donahue, H. J. (2009). From streaming potentials to shear stress: 25 Years of bone cell mechanotransduction. *Journal of Orthopaedic Research*, 27(2), pp. 143–149.
- Rigo, E. C. S. *et al.* (2004). Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. *Materials Science and Engineering C*, 24(5), pp. 647–651.
- Robinson, J. A. *et al.* (2006). Wnt / Catenin Signaling Is a Normal Physiological Response to Mechanical Loading in Bone. *The Journal of biological chemistry*, 281(42), pp. 31720–31728.
- Robling, A. G. *et al.* (2008). Mechanical Stimulation of Bone in Vivo Reduces Osteocyte Expression of Sost / Sclerostin. *The Journal of biological chemistry*, 283(9), pp. 5866–5875.
- Terai, K. *et al.* (1999). Role of osteopontin in bone remodeling caused by mechanical stress. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(6), pp. 839–849.
- Terheyden, H. *et al.* (2012). Osseointegration - communication of cells. *Clinical Oral Implants Research*, 23(10), pp. 1127–1135.
- Tyrovola, J. B. (2015). The “mechanostat Theory” of Frost and the OPG/RANKL/RANK System. *Journal of Cellular Biochemistry*, 116(12), pp. 2724–2729.
- Verborgt, O., Gibson, G. J. e Schaffler, M. B. (2000). Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(1), pp. 60–67.
- Wang, L. *et al.* (2004). Delineating bone’s interstitial fluid pathway in vivo. *Bone*, 34(3), pp. 499–509.
- von Wilmsky, C. *et al.* (2014). Implants in bone: part I. A current overview about tissue response, surface

modifications and future perspectives. *Oral and maxillofacial surgery*, 18(3), pp. 243–257.

Zaidi, M. (2007). Skeletal remodeling in health and disease. *Nature Medicine*, 13(7), pp. 791–801.

Zipfel, G.J., Guiot, B.H, Fessler, R.G. (2003). Bone grafting. *Neurosurgical focus*, 13(2), pp. 811-- 819.

VI. ANEXOS

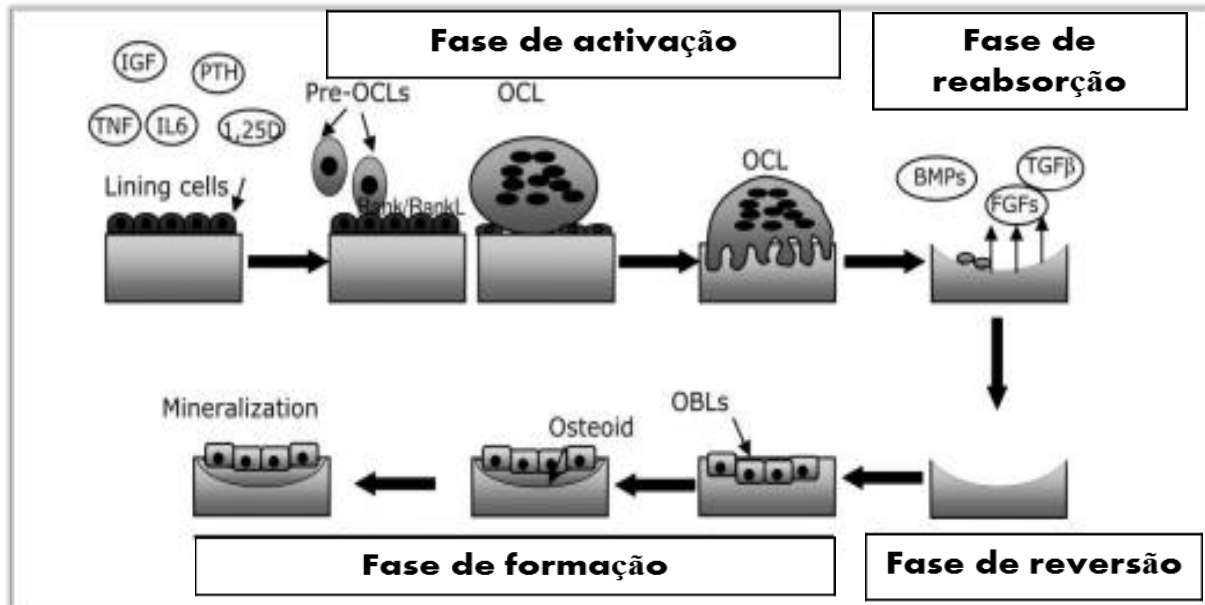


Figura 1 -Representação esquemática do processo de remodelação óssea.

Fonte : Adaptado de N. Rucci, 2008;

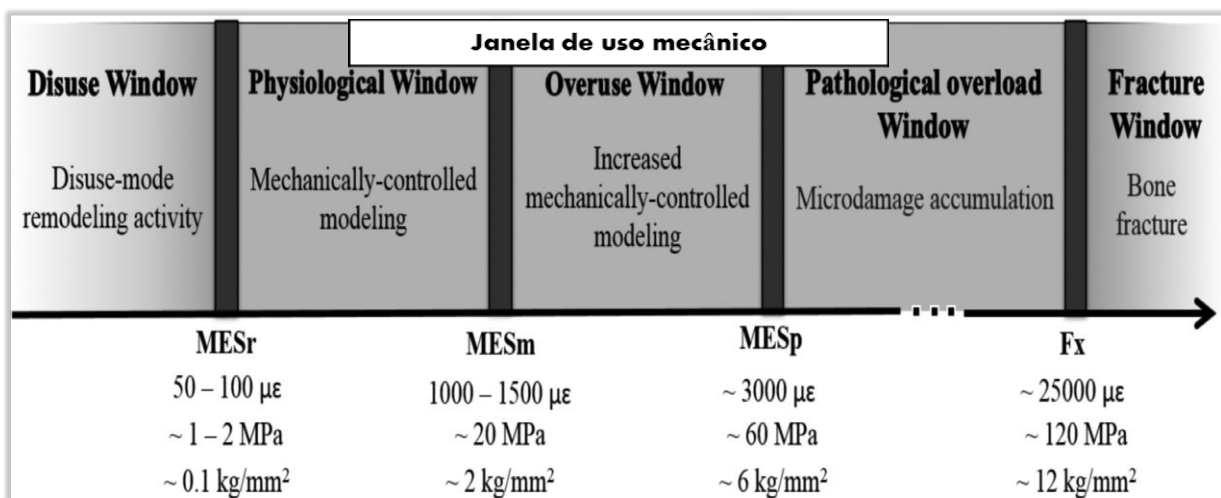
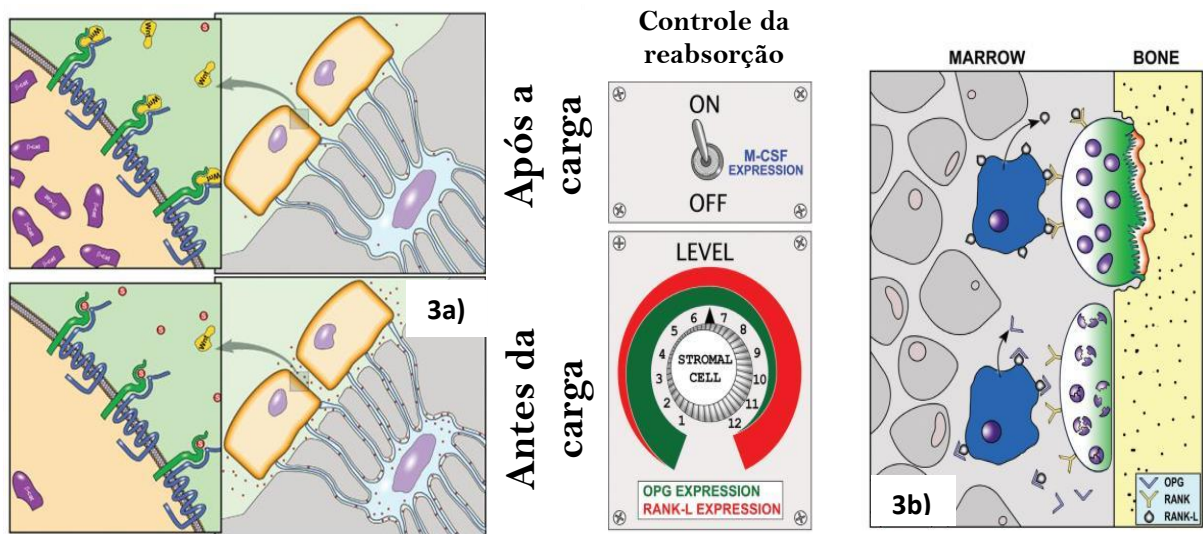


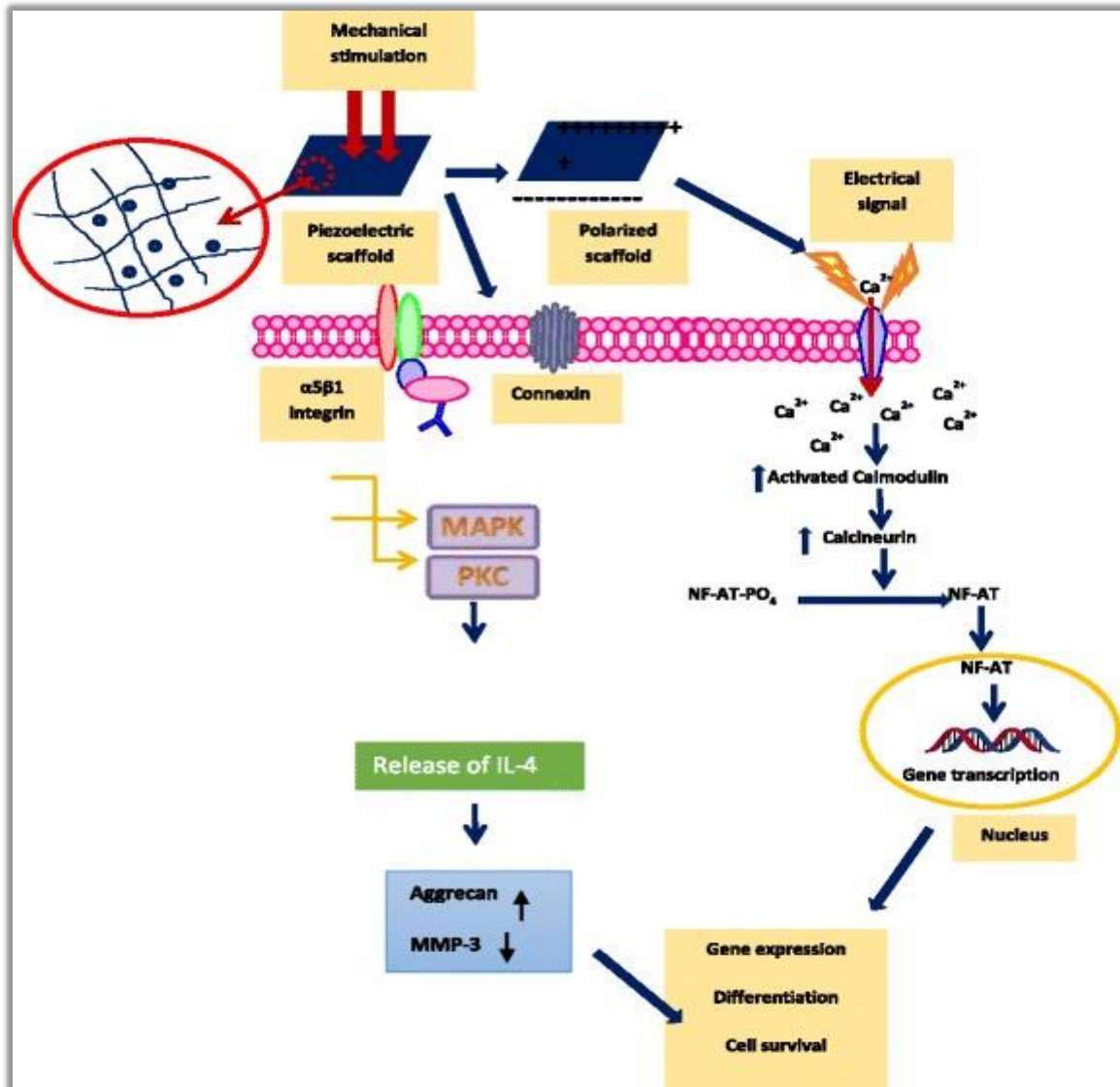
Figura 2 - Janela de uso mecânico definida pela teoria "mecanostática" de Frost da adaptação óssea à deformação.

Fonte : Adaptado de Rosa *et al*, 2015;



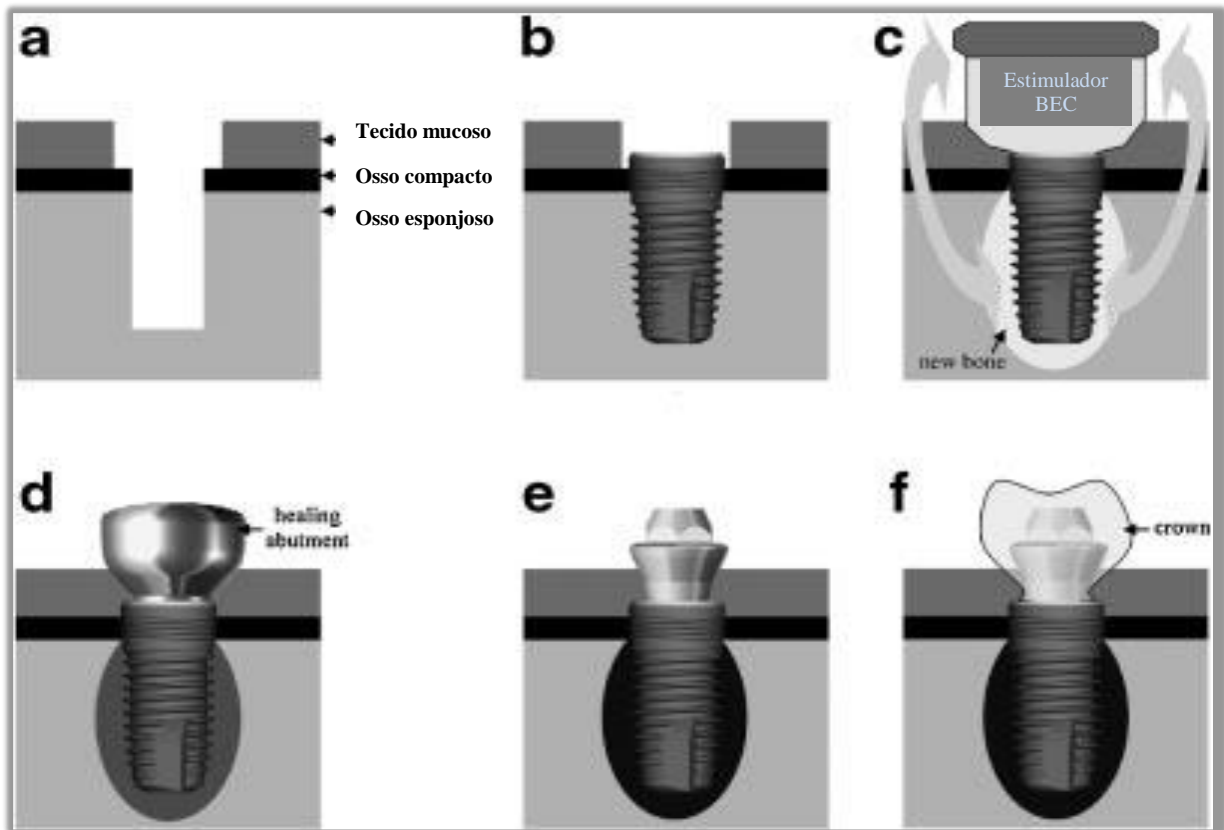
**Figura 3 – Processo de sinalização bioquímica: a) mediação de esclerostina durante o carregamento mecânico; b) Controle molecular da reabsorção óssea**

Fonte: Adaptado de Robling & Turner, 2013;



**Figura 4 - Diagrama esquemático da via de transdução do sinal  $Ca^{2+}$  é ativado em resposta às estimulações elétricas e mecânicas.**

Fonte : Adaptado de Jacob et al, 2018;



**Figura 5 – Procedimento de tratamento para implantes dentários com dispositivo BEC**

Fonte : Adaptado de Song *et al*, 2009;

(a) Perfuração do osso da mandíbula com um kit de perfuração cirúrgica, (b) inserção do implante, (c) estimulação elétrica do tecido circundante por 7 dias após a conexão de um pilar de cicatrização temporário contendo um estimulador BEC, (d) ligação de um pilar de cicatrização convencional após a remoção do suporte de cicatrização temporário contendo o estimulador de BEC, (e) ligação de um pilar protético, (f) coroa do dente no pilar protético.

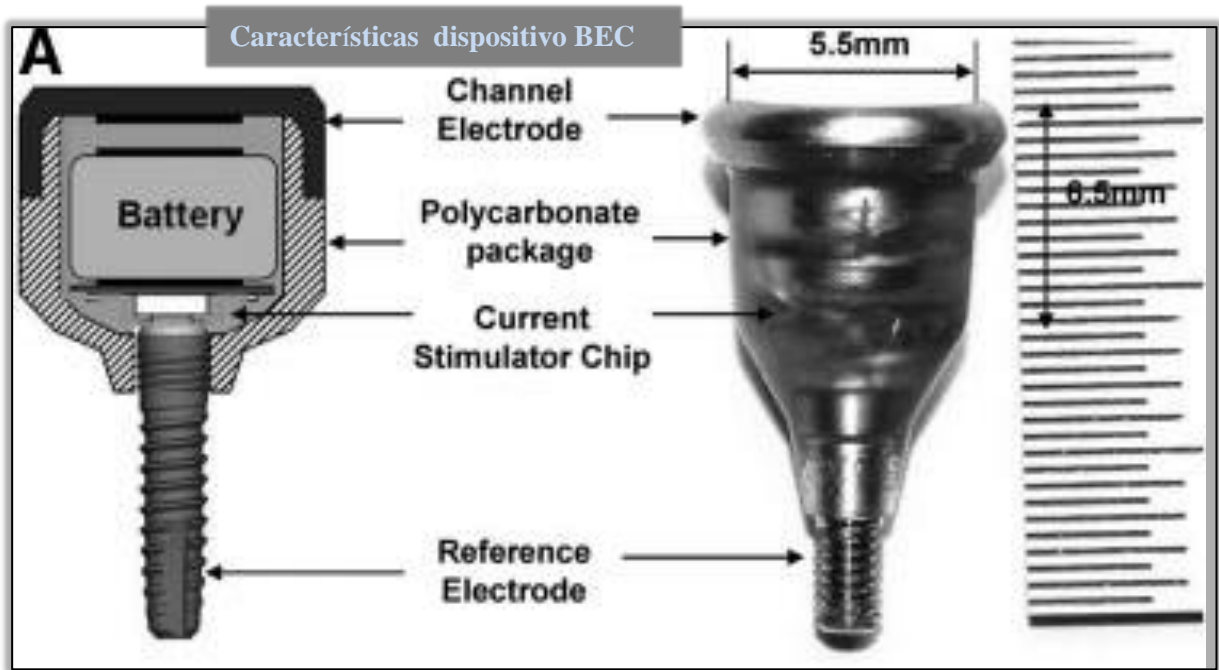


Figura 6 -Dispositivo BEC e micro-batérias num pacote de policarbonato

Fonte : Adaptado de Song et al, 2009;