



FACULDADE  
**ILAPEO**

Ana Daisy Zacharias

**Aspectos imunológicos na reconstrução da maxila atrófica anterior com  
rhBMP-2**

CURITIBA  
2018

Ana Daisy Zacharias

Aspectos imunológicos na reconstrução da maxila atrófica anterior com  
rhBMP-2

Dissertação apresentada à Faculdade ILAPEO,  
como parte dos requisitos para obtenção do título  
de Mestre em Odontologia com área de  
concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Rubens Moreno de Freitas

CURITIBA  
2018

Ana Daisy Zacharias

Aspectos imunológicos na reconstrução da maxila atrófica anterior com rhBMP-2

Presidente da banca (Orientador): Prof. Dr. Rubens Moreno de Freitas

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Élcio Marcantonio Junior

Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira

Aprovada em: 03/04/2018

## **Agradecimentos**

A Deus, por sua fidelidade, por ter me sustentado com paz, saúde e felicidade durante esta caminhada e por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho.

A minha família pelo carinho, apoio e incentivo em todas as etapas da minha vida.

Ao meu namorado Arthur Hoffmann que deu incentivo a realização do curso e pela compreensão da ausência nesse período.

Aos colegas de curso, pelos momentos de convivência, companheirismo, trabalho em conjunto e as diferenças que nos proporcionaram crescimento ao longo do curso.

Ao meu trio, pelo grande aprendizado, principalmente nos momentos de diferenças entre nós, que soubemos entender um ao outro e escutar as opiniões distintas, pelo companheirismo em todos os momentos.

Ao colega Fernando Anunziato Ogg de Salles Santos, por acreditar e conceder a continuidade da pesquisa de elementos finitos, obrigada pela paciência.

E principalmente ao orientador Dr. Rubens Moreno de Freitas, pelas recomendações, orientações, ensinamentos sábios, pela disponibilidade em escutar os alunos, por todo o auxílio nos projetos iniciados, os quais proporcionaram grande conhecimento. Obrigada por conceder a mim a continuidade de sua pesquisa.

A professora Dra. Rogéria Macedo pela dedicação em compartilhar seus conhecimentos sábios, com vossa humildade e muita paciência.

Ao coordenador Dr. Luiz Eduardo Padovan pela dedicação com todos, disponibilidade em

todos os momentos, pela vontade em transmitir seus conhecimentos e pela coordenação excelente, sempre em busca do melhor para seus alunos.

A diretora Dra Ana Claudia Mello, pela coordenação excepcional e pela sua disponibilidade, uma pessoa admirável.

Ao professor Dr. Élcio Marcantonio Jr, pela humildade em transmitir seus ensinamentos e orientações, por todo o auxílio nos projetos iniciados, por nos conceder seus maravilhosos conhecimentos durante a clínica e toda disponibilidade durante esse período.

Ao professor Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira, que aceitou prontamente o convite para a banca, por suas orientações pertinentes e sua disposição.

Ao professor Dr. Leandro Eduardo Kluppel, por toda a ajuda durante os planejamentos e na clínica, passando sempre muita tranquilidade durante todos os procedimentos.

A professora Dra Ivete Sartori, pelos grandes conhecimentos que nos passou em poucos meses de convivência. Pela orientação inicial no trabalho de elementos finitos.

Agradeço ao Dr. Ricardo Sommerfield, projetista dos elementos finitos no artigo aqui apresentado, pelo suporte e muito trabalho durante a realização do mesmo.

Aos pacientes, pela confiança em nosso trabalho e compreensão. Sempre nos proporcionando grandes aprendizados.

Ao bibliotecário Vitor Raimundi, o qual não está mais entre nós, mas foi uma pessoa grandiosa, sempre generoso e afável com as pessoas.

A bibliotecária Tânia, sempre muito atenciosa com todos e com excelentes orientações.

Aos professores e funcionários desta instituição, os quais através de trabalho árduo e com muita dedicação tornam possível a realização de um curso organizado, de qualidade e

engrandecimento técnico-científico aos alunos.

## Sumário

Resumo	
1. Introdução.....	10
2. Revisão de literatura.....	15
3. Proposição.....	46
4. Material e Métodos.....	47
5. Artigos científicos.....	50
6. Referências.....	85
7. Apêndice.....	89
8. Anexos.....	91

## Lista de Abreviaturas

ACS - *Absorbable Collagen Sponge* (Esponja de Colágeno Reabsorvível)

AT - *Autogenous* (Autógeno)

ABG - *Autogenous bone graft* (Enxerto Ósseo Autógeno)

BMP - *Bone Morphogenetic Protein* (Proteína Morfogenética Óssea)

CI - *Confidence Interval* (Intervalo de Confiança)

ELISA - *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (Ensaio de imunoabsorção enzimática)

FDA - *Food and Drug Administration*

ICBG - *Iliac crest bone graft* (Enxerto ósseo da crista ilíaca)

IFN - *Interferon*

IgG - Imunoglobulina G

ILAPEO - Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico

IL-1 - *Interleukin-1* (Interleucina-1)

IL-10 - *Human Interleukin-10* (Interleucina humana-10)

mm - Milímetro

PRP – Plasma rico em plaqueta

RCTs - *Randomized controlled trial* (Ensaio Controlado Randomizado)

rhBMP-2 - *Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2* (Proteína Morfogenética Óssea Recombinante Humana-2)

SNP- Sistema nervoso periférico

TNF- $\alpha$  - *Tumor necrosis factor  $\alpha$  protein levels* (Fator de Necrose Tumoral Alfa)

TGF-  $\beta$ - *Transforming growth factor beta* (fator de crescimento transformador beta)

US- *United States* (Estados Unidos)

USA- *United States of America* (Estados Unidos da América)

WMD- *Weighted mean difference* (Diferença de média ponderada)

$\mu m$ - micrômetros

## Resumo

Os resultados clinicamente favoráveis obtidos nas reabilitações implantossuportadas estão fortemente associados à disponibilidade óssea dos rebordos a serem reabilitados. Várias técnicas cirúrgicas podem ser utilizadas para reconstruir o rebordo atrófico, incluindo a regeneração óssea guiada com base na utilização de membranas reforçadas com titânio, que podem estar associadas com enxerto ósseo autógeno ou proteínas ósteoindutoras. Este trabalho propôs comparar aspectos imunológicos de pacientes enxertados com a proteína morfogenética óssea humana (*rhBMP-2*) embebida em esponja reabsorvível de colágeno (*ACS*) ou com enxerto ósseo autógeno, utilizados para aumento ósseo em espessura na região anterior da maxila, com base na avaliação quantitativa de *IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$*  séricas. Vinte e quatro pacientes com necessidade de reabilitação na maxila anterior participaram do estudo. Foram divididos de forma randomizada em dois grupos: Grupo 1- *rhBMP-2/ACS* (12 pacientes) e Grupo 2 - enxerto ósseo autógeno intraoral particulado (12 pacientes). Foram coletadas amostras de sangue de cada paciente em vários tempos, durante um período de seis meses (linha de base, 7, 15, 30, 90 e 180 dias pós-operatório). A avaliação quantitativa de *IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$*  foi realizada por ensaio imunoenzimático ligado a enzima (*ELISA*). Com base no teste de Mann-Whitney, não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos quanto aos níveis séricos dos diferentes marcadores estudados, em quaisquer dos tempos avaliados. Os testes de Kruskal-Wallis usados para avaliações intragrupo também não mostraram diferenças significativas nos níveis séricos das diferentes citocinas nos vários tempos de observação, em ambos os grupos. Não foram observadas diferenças significativas dos parâmetros testados no dia zero (linha da base) e aos 90 ou 180 dias após os enxertos ( $P < 0,05$ ), estando os valores dentro de níveis normais. Desta forma podemos concluir que o enxerto de *rhBMP-2/ACS* utilizado em região anterior de maxila com a finalidade de se obter aumento ósseo horizontal apresenta resultados semelhantes ao enxerto ósseo autógeno a nível sistêmico e ambos os procedimentos não resultam em processo inflamatório importante.

Palavras Chave: maxila, BMP, osso autógeno, ELISA, avaliação imunológica, regeneração óssea

## **Abstract**

The clinically favorable results obtained in implant supported rehabilitations are strongly associated with bone availability of the flaps to be rehabilitated. Various surgical techniques can be used to reconstruct the atrophic ridge, including guided bone regeneration based on the use of titanium-reinforced membranes, which may be associated with autogenous bone graft or osteoinductive proteins. This work proposed to compare the immune aspects of recombinant human bone morphogenetic protein- 2 (rhBMP-2) in a reabsorveral sponge of collagen (ACS) with autogenous bone graft used for bone augmentation of the edentulous atrophic anterior maxilla, based on the quantitative assessment of IL-10, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in patients sera. Twenty-four patients in need of rehabilitation of the edentulous anterior maxilla participated in this study. They were randomized into two groups. 1st group: rhBMP-2 1.5 mg/ml (12 patients) and 2nd group: autogenous bone graft intra-oral particulate (12 patients). Blood samples were collected from each patient at various time-points during a period of 6 months (baseline, 7, 15, 30, 90 and 180 days postoperatively). Based on the quantitative assessment of the good count associated with the IL-10, IL-1 $\beta$ , IFN-  $\gamma$  and TNF- $\alpha$  was performed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Based on the Mann-Whitney test, no significant differences were observed between the two groups regarding the serum levels of the different markers studied at any of the times evaluated. The Kruskal-Wallis tests used for intragroup evaluations also didn't show significant differences in the serum levels of the different cytokines at the various observation times in both groups. No significant differences were observed in the parameters tested at day zero (baseline) and at 90 or 180 days after grafting ( $P < 0.05$ ), with values within normal levels. In this way we can conclude that the rhBMP-2 / ACS graft used in the anterior region of the maxilla with the purpose of obtaining horizontal bone enlargement presents results similar to the autogenous bone graft at the systemic level and both procedures do not result in an important inflammatory process.

**Keywords:** maxilla, BMP, bone autograft, ELISA, imunological evaluation, bone regeneration

## 1. Introdução

A necessidade de correção de pequenos ou grandes defeitos ósseos para instalação de implantes e posterior reabilitação protética, tornou-se rotineira na odontologia (HERFORD & BOYNE 2008).

O resultado estético é vital para obtermos sucesso com tratamento de implantes dentários, uma quantidade e qualidade óssea adequadas, arquitetura gengival, forma da estrutura óssea adjacente, presença de cristas ósseas e a relação dos dentes adjacentes são fatores importantes a serem avaliados e planejados, a fim de, devolver uma estrutura ideal para instalação dos implantes (POLIDO & MARINE 2004).

Várias técnicas cirúrgicas podem ser utilizadas para reconstruir o rebordo atrófico, técnicas isoladas ou associadas com enxerto ósseo autógeno, alógeno, biomateriais ósseos de origem xenógeno ou sintético (MISCH et al. 1992; CHIAPASCO et al. 2009). O uso do enxerto autógeno foi discutido originalmente por Branemark et al. (1975) e até os dias de hoje é um procedimento bem aceito na reabilitação oral e maxilofacial, sendo considerado “padrão-ouro” por sua atividade osteocondutiva, osteoindutiva e osteogênica (BRANEMARK et al. 1975; DE FREITAS et al. 2015) e não há preocupações imunológicas quanto ao seu uso (WILLIAMS & SZABO 2004). Mais recentemente, proteínas morfogenéticas foram introduzidas com o objetivo de apoiar o potencial regenerativo natural de pacientes com necessidade de aumento ósseo (WIKESJÖ et al. 2009).

Em 1965, as proteínas morfogenéticas ósseas (*Bone Morphogenetic Protein - BMPs*) foram identificadas por Urist (1965) que relatou a capacidade de uma matriz óssea desmineralizada induzir a diferenciação de cartilagem e de osso em uma localização extra-esquelética em roedores, sendo de grande importância para a complexa cascata biológica da osteogênese. Desde então, várias *BMPs* nativas foram purificadas ou obtidas por clonagem

em sistemas de expressão, como a *BMP-2* ou *rhBMP-2* (proteína morfogenética óssea recombinante humana - 2), viabilizando seu uso clínico (WOZNEY et al. 1988; WANG et al. 1990; WOZNEY 1992).

As *BMPs* são membros da superfamília do fator de crescimento de proteínas transformante- $\beta$  (*TGF- $\beta$* ), sendo 60 membros da família já identificados com dois ramos gerais: (1) *BMP* / crescimento e fator de diferenciação e (2) o *TGF- $\beta$*  / activina / ramo nodal / substância inibidora de mullerian ou hormônio anti-mulleriano e crescimento e fatores de diferenciação (CAO & CHEN 2005). As *BMPs* são sintetizadas no citoplasma como proteína dimérica complexos que são proteoliticamente clivados gerando fragmentos N-terminal e C-terminal. Após uma cascata de eventos, moléculas de *BMP* biologicamente ativas são segregadas e transmitem seu efeito não só através da Via *SMAD*, mas também através de outras rotas de sinalização, como a quinase 1 e 2 regulada pelo sinal extracelular, p38 e Caminhos de JNK (BRAGDON et al. 2011). Sendo estas moléculas responsáveis por iniciar os sinais para a diferenciação dos osteoblastos (LORENZO et al. 2008).

De acordo com a sequência de aminoácidos, estruturas e funções das ligações de *BMP*, é possível definir 4 subfamílias: (1) *BMPs*-2 e 4; (2) *BMPs*-5, 6, 7, 8a e 8b; (3) *BMPs*-9 e 10; e (4) *BMPs*-12, 13 e 14. As *BMP-2*, *BMP-4*, *BMP-7* e *BMP-9* são importantes reguladores da formação óssea e cartilagem, tornam-se osteoblastos totalmente funcionais ou condrócitos, podendo induzir grandes volumes ósseos, induzindo a ossificação endocondral / intramembranosa e condrogênese direcionando a diferenciação das células mesenquimais para a linhagem osteoblástica (especialmente *BMP 2, 7 e 9*) (WOZNEY et al. 1988; WANG et al. 1990). No sistema musculoesquelético, elas orquestram a arquitetura do tecido ósseo, estas citocinas essenciais estão envolvidas no desenvolvimento, homeostase e reparação do sistema músculo-esquelético, bem como, de outros tecidos (POUNTOS et al. 2014; BAMI et al. 2016), desempenham um papel nas vias de seleção de eventos, na

determinação do destino e nas funções das células (Pountos 2014). Mais recentemente, autores descobriram que elas também desempenham um papel importante durante o desenvolvimento embrionário e são essenciais para a formação de membros, vasculogênese e organogênese (HOGAN 2017).

A *rhBMP-2* (*INFUSE*<sup>®</sup>; Medtronic, Memphis, Tennessee USA) utilizada juntamente com a membrana de colágeno bovino (*Absorbable Collagen Sponge - ACS*) como agente carreador, foi aprovada pela *FDA* (*Food and Drug Administration*). Primeiramente, em 2002, a aprovação se deu para uso em fusão lombar anterior de nível único, fratura aberta de tibia em 2004, e posteriormente para aumento de seio maxilar e alvéolo pós extração em 2007, como uma alternativa ao enxerto ósseo autógeno, após importantes publicações científicas mostrarem resultados favoráveis (BOYNE et al. 1997; FIORELLINI et al. 2005; TRIPLETT et al. 2009) relatados em estudos in vitro (WOZNEY et al. 1988; WANG et al. 1990), em animais e humanos (COCHRAN et al. 2000; BOYNE et al. 2005; DE FREITAS et al. 2013; de FREITAS et al. 2015) mostrando um aumento ósseo significativo.

Como também, elimam a morbidade associada com a remoção do enxerto ósseo autógeno, tendo como vantagens, não necessitar de um local doador secundário, diminuição dos riscos de lesão do nervo alveolar inferior e menor tempo cirúrgico (BURKUS et al. 2003; BENGLIS et al. 2008; TRIPLETT et al. 2009; DE FREITAS et al. 2015). Estudos iniciais mostraram que *rhBMP-2 / ACS* produz resultados comparáveis com enxerto ósseo autógeno (BOYNE et al. 2005; TRIPLETT et al. 2009; DE FREITAS et al. 2013). Além disso, foram documentados muitos estudos com uso fora do rótulo "*off-label*", incluindo a continuidade mandibular e os defeitos relacionados a cisto, combinados com técnicas de regeneração óssea guiada (HERFORD & BOYNE 2008; WIKESJÖ et al. 2009; de FREITAS et al. 2013), na reconstrução de defeitos na fenda palatina maxilar (JUNG et al. 2003), tratamento de osteonecrose por bifosfonatos (HERFORD & BOYNE 2008), utilizando transportadores

alternativos e/ou combinados com outros biomateriais.

Contudo, os fatores de crescimento, como os *BMPs*, estimulam a proliferação de alguns tipos de células, sendo o seu potencial de estimulação ou progressão de neoplasmas um motivo de preocupação (BENGLIS et al. 2008; BAMI et al. 2016). Estudos mostram, o envolvimento da *BMP* em doenças esqueléticas, autoimunes, doenças cardiovasculares e câncer, quando ocorrem distúrbios na sua regulação (POUNTOS et al. 2014).

Cada vez mais, eventos adversos atribuídos à utilização “*off-label*” de *rhBMP/2* na cirurgia da coluna cervical anterior estão sendo relatados (CARTER et al. 2008; BENGLIS et al. 2008). Em 2008, a FDA emitiu uma advertência, sobre o risco de eventos adversos decorrentes da utilização de *BMP / INFUSE* nessas cirurgias, entre os quais o câncer, observado principalmente em formulações de alta dose. Estudos subsequentes deram atenção aos eventos adversos, segundo Carragee et al. (2011) observaram que os estudos originais de cirurgia da coluna vertebral com utilização de *rhBMP-2* não constavam efeitos adversos relatados, assim, propôs uma revisão crítica dos ensaios clínicos de *rhBMP-2* e da FDA, avaliando os dados de segurança e evidenciando o possível risco de câncer, foram questionados os métodos estatísticos utilizados para analisar um infrequente, mas sério, evento adverso.

Esta adversidade é consistente com estudos *in vitro*, mostrando que muitos tipos de câncer têm receptores de membrana celular para *BMP* que podem ser estimulados para promover desenvolvimento de neoplasias e metástase. Pode-se argumentar que a utilização dessas moléculas em altas concentrações não fisiológicas poderiam predispor e induzir a carcinogênese em humanos (POUNTOS et al. 2014). Contudo, não se tem conhecimento de dados pré-clínicos que demonstrem que as *BMPs* podem induzir câncer (BURKUS et al., 2003; MCKAY et al. 2007; BENGLIS et al. 2008; DIMAR 2009; THAWANI et al. 2010; SMOLJANOVIC et al. 2010; SIMMONDS et al. 2013; Fu 2013; POUNTOS et al. 2014;

KELLY et al. 2014).

Em vista dos relatos sobre efeitos adversos, como o risco aumentado de câncer e outras complicações, se restringirem a usuários que se submeteram a cirurgia de fusão de coluna vertebral com a utilização de *rhBMP-2*, sem que haja relatos de efeitos semelhantes quando de sua utilização na região craniofacial, os dados reportados não podem ser imediatamente transpostos para a prática odontológica.

Assim, esse trabalho tem por objetivo apresentar aspectos imunológicos de pacientes submetidos ao enxerto com *rhBMP-2 / ACS*, empregado para aumento ósseo horizontal na região anterior da maxila, com base na avaliação dos níveis séricos de marcadores inflamatórios, como as citocinas *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$* , *TNF- $\alpha$*  e *IL-10*, representativos de possíveis reações imunológicas desencadeadas pelo enxerto da proteína recombinante em comparação com o enxerto ósseo autógeno.

## 2. Revisão de Literatura

Wang et al. (1990) purificaram e caracterizaram a proteína morfogenética óssea recombinante humana (*BMP*) 2A. As células de ovário de *hamster* chinês foram cultivadas em um mamífero vetor, para atingir altos níveis de expressão da proteína *BMP-2A*, então a implantação da proteína recombinante em ratos mostrou que uma *BMP* simples pode induzir a formação óssea *in vivo*. O ensaio de formação revelou que a implantação de 0,5-115  $\mu\text{m}$  de *BMP-2A hamster* recombinante parcialmente purificado resultou em cartilagem no sétimo dia e formação óssea no décimo quarto dia. O tempo cuja formação óssea ocorreu dependeu da quantidade de *BMP-2* implantada, em doses elevadas, a formação óssea pôde ser observada no quinto dia. A atividade indutiva de cartilagem e osso do *BMP-2A* recombinante é histologicamente indistinguível quando comparado aos biomateriais ósseos. Assim, os autores afirmam que o *BMP-2A* recombinante tem potencial terapêutico para promover a formação óssea, a partir de ossificação endocondral, em hamster.

Cochran et al. (2000) com objetivo de monitorar a segurança a longo prazo dos pacientes tratados com *rhBMP-2 / ACS*, avaliaram os pacientes que utilizaram *rhBMP-2 / ACS* em locais de extração dentária, a fim de, manter o alvéolo ou em locais com crista óssea deficiente, seguido da avaliação dos implantes dentários instalados. Após a observação do relatório anterior, sobre os mesmos pacientes realizados por Howell et al., 1997, relataram que após 4 meses de acompanhamento, a colocação de *rhBMP-2 / ACS* foi segura, já, neste trabalho, o acompanhamento foi realizado ao longo de 3 anos, em uma amostra de 12 pacientes. Os pacientes elegíveis, ao total 10 pacientes, foram restaurados com implantes dentários endósseos na área tratada com *rhBMP-2 / ACS* e foram realizadas amostras de biópsia óssea para análise histológica. A segurança do paciente foi avaliada por exames

clínicos, radiografias periapicais e ocorrência de eventos adversos. Os implantes dentários foram avaliados por exame radiográfico e clínico. Nenhum efeito adverso grave ocorreu no acompanhamento de 2 anos, como também, nenhum evento adverso foi verificado, sendo algumas das experiências adversas compatíveis com a cirurgia de implantes dentários. A infiltração de células inflamatórias mononucleares ou células misturadas foi observada em pequenos números, portanto, a extensão e gravidade desta resposta celular não foi considerada como uma resposta inflamatória ou imune significativa. O colágeno residual da *ACS* utilizado para administrar *rhBMP-2* não foi identificado em nenhum dos espécimes examinados. Todos os implantes apresentaram-se clinicamente estáveis em todas as avaliações e foram restaurados funcionalmente. A avaliação histológica das biópsias ósseas revelou formação de tecido ósseo normal e idêntica ao osso nativo circundante. Após três anos de acompanhamento clínico todos os implantes apresentaram níveis ósseos marginais estáveis e tecidos periimplantares saudáveis. Os resultados deste estudo sugerem que *rhBMP-2 / ACS* (0,43 mg / ml) pode ser usado com segurança em locais de extração dentária e em procedimentos de aumento da crista óssea, mostrando que os implantes instalados nessas áreas permaneceram estáveis e sem complicações radiográficas ou clínicas ao longo de 3 anos de acompanhamento.

Burkus et al. (2003) realizaram estudos clínicos multicêntricos em humanos que apresentavam à fusão lombar anterior com a utilização do *rhBMP-2* em uma esponja de colágeno reabsorvível comparado com a cirurgia de enxerto autógeno. Uma análise integrada de vários estudos clínicos foram realizados utilizando variáveis pré-operatórias em um total de 679 pacientes. Destes pacientes, 277 tinham realizado cirurgia com implantação de *rhBMP-2* em uma esponja de colágeno absorvível e 402 receberam enxerto autógeno removido da crista ilíaca. Os pacientes tratados com *rhBMP-2* apresentaram estatisticamente

resultados melhores em relação à duração da cirurgia, perda de sangue, internação hospitalar, taxa de reoperação, tempo médio para retornar ao trabalho e taxas de fusão aos 6, 12 e 24 meses. A taxa de sucesso de fusão com a proteína morfogenética foi de 94,5% aos 24 meses após a cirurgia comparado com 88,7% no grupo do enxerto autógeno. A escala em 3, 6, 12 e 24 meses mostrou resultados estatisticamente superiores no grupo *rhBMP-2*, o que levou a suposição relatada pelos autores, que *rhBMP-2* pode tornar-se o novo padrão-ouro para cirurgia de fusão de coluna vertebral.

Fiorellini et al. (2005) tiveram como objetivo avaliar a eficácia da reconstrução óssea com duas concentrações distintas de *rhBMP-2* juntamente com uma esponja de colágeno reabsorvível (*ACS*) em comparação com o grupo placebo (utilizando somente *ACS*) e sem nenhum tratamento da parede vestibular realizado após a extração do dente, e posterior instalação de implantes dentários. A amostra foi de oitenta pacientes que necessitavam de aumento da crista alveolar com defeito na parede vestibular ( $\geq 50\%$  perda óssea vestibular após extração) nos dentes maxilares. Os grupos foram randomizados de forma dupla e mascarada para receber 0.75 mg / ml ou 1.50 mg / ml de *rhBMP-2* / *ACS*, placebo (*ACS* sozinho), ou nenhum tratamento em uma proporção 2: 1: 1. A avaliação do osso alveolar indicou que os pacientes tratados com 1.50 mg / ml de *rhBMP-2* / *ACS* tiveram significativamente maior aumento ósseo em comparação com os controles ( $P \leq 0,05$ ), sendo necessário menos procedimentos. A adequação óssea para a instalação de um implante dentário foi aproximadamente duas vezes maior nos grupos *rhBMP-2* / *ACS* em comparação com nenhum tratamento ou placebo. Além disso, a densidade óssea e a histologia revelaram que o osso neoformado apresentou-se semelhante ao osso residual. Ao total foram 250 efeitos adversos relatados para 78 dos 80 indivíduos incluídos, sendo edema oral (75%), dor (68%), eritema oral (68%). A formação de anticorpos *torhBMP-2*, colágeno bovino de Tipo

I e colágeno humano de Tipo I foram avaliadas nos 80 sujeitos. Os anticorpos para o colágeno do tipo I bovino foram detectados em 11 indivíduos. Dois no grupo 0,75 mg / ml e um no grupo de 1,50 mg / ml, apresentaram anticorpos positivos na linha de base. Dos oito pacientes, quatro apresentavam uma resposta imune transitória, retornando ao nível basal aos 4 meses. Os autores concluíram que a combinação com *rhBMP-2 / ACS* teve um resultado notável sobre a formação óssea e instalação de implantes dentários.

Boyne et al. (2005) avaliou duas concentrações da proteína morfogenética óssea recombinante humana (*rhBMP-2*) para segurança e eficácia na indução óssea adequada, com objetivo da instalação de implante dentário em pacientes com necessidade de aumento ósseo na região de seio maxilar, este estudo pertenceu a segunda fase de um estudo inicial em que foram utilizados somente *rhBMP-2* na concentração de 0,75 mg / ml em ensaios clínicos. Os pacientes foram tratados com *rhBMP-2 / ACS*, com concentrações de 0,75 mg / ml (n= 18) e 1,50 mg / ml (n= 17), ou com utilização de enxerto ósseo autógeno ou autógeno com alógeno (n= 13). A indução óssea foi avaliada por medições de altura, largura e densidade do osso alveolar a partir de tomografias computadorizadas obtidas anteriormente, 4 meses após o tratamento e 6 meses de carregamento dos implantes dentários, avaliando apenas a densidade óssea. O ganho ósseo da crista alveolar aos 4 meses após o tratamento foi semelhante entre os grupos: 11,3 mm, 9,5 mm e 10,2 mm, respectivamente, nos grupos de enxerto ósseo, 0,75 mg / ml e 1,50 mg / ml de *rhBMP-2 / ACS*. Os aumentos médios de espessura do alvéolo (vestibular ao lingual) foram estatisticamente diferente entre os grupos de tratamento: 4,7 mm, 2,0 mm e 2,0 mm. Após 4 meses avaliando a densidade óssea pós-operatória foi observado diferença estatística entre os grupos de tratamento: 350 mg / cc, 84 mg / cc e 134 mg / cc. As biópsias ósseas foram obtidas no momento da instalação do implante dentário, confirmando a formação óssea normal. Avaliando a proporção de pacientes que receberam implantes dentários, que foram carregados funcionalmente e

permaneceram funcionais aos 36 meses, foi observado 62%, 67% e 76%. A segurança foi monitorada através de exames orais, radiográficos, monitoramento da ocorrência de eventos adversos e a coleta de amostras de sangue para quimioterapia sérica, hematologia e formação de anticorpo para avaliar a resposta imune. Também foram avaliados por ensaio de imunoabsorção enzimática (*ELISA*) a formação de anticorpos para *rhBMP-2*, colágeno bovino de tipo I e colágeno humano. As amostras para anticorpos foram coletadas na linha de base (antes da cirurgia), 1 e 4 meses pós-cirurgia, e em um tempo adicional, aos 4 meses no pós-operatório, para os pacientes com valores elevados. A partir do primeiro estudo controlado randomizado que demonstra o crescimento de tecido ósseo em humanos de uma proteína recombinante humana, os autores concluíram que ambas as concentrações de *rhBMP-2* são seguras, promovem indução óssea, sendo semelhantes ao enxerto ósseo (autógeno ou autógeno mais alógeno). Mostraram que a maior concentração de *rhBMP-2* induz a formação óssea mais rapidamente em comparação com a menor concentração. Como também, foi observado segurança para formação óssea adequada, carregamento funcional de implantes dentários e avaliação a longo prazo dos implantes com sucesso de aproximadamente 75% a 80% em pacientes submetidos ao aumento ósseo em região de seio maxilar.

Mckay et al. (2007) realizaram uma revisão com estudos em animais e clínicos com utilização do *rhBMP-2* na coluna vertebral, na ortopedia e aplicações maxilofaciais, incluindo a aprovação da *FDA* e os estudos relacionados para obtenção dessa aprovação. Todos esses estudos envolveram o uso de *rhBMP-2 / ACS* a uma concentração de 1,5 mg / cc administrada com *ACS*. Os autores enfatizaram que a combinação de *rhBMP-2 / ACS* demonstrou induzir formação óssea em uma série de investigações pré-clínicas e clínicas. Em 2002, *rhBMP-2 / ACS* foi aprovado pela *FDA* como uma substituição do enxerto

autógeno para procedimento cirúrgico de fusão do corpo espinhal. Em 2004, foi aprovado para fratura da tíbia aberta e mais recentemente, em março de 2007, *INFUSE*<sup>®</sup> foi aprovado como uma alternativa ao enxerto ósseo autógeno, para aumento de seio maxilar e para alvéolo com defeito após a extração. Os estudos em animais utilizados para aprovação (Boyne PJ 2001, Wikesjö UME et al., 2001, Fiorellini et al. 2009), e as pesquisas clínicas avaliadas (Boyne PJ et al., 1997), com a identificação da concentração de 1.5 mg / cc de *rhBMP-2* proposta como concentração ideal. Os autores também realizaram um estudo randomizado, multicêntrico, examinando a segurança e a eficácia do enxerto *INFUSE*<sup>®</sup> em elevação de seio maxilar. A histologia demonstrou que ambos os grupos experimentaram uma formação significativa de osso trabecular que foi biologicamente e estruturalmente semelhante ao local do hospedeiro. A taxa de sobrevivência dos implantes foi de 79% após 6 meses de carregamento funcional, excedendo o osso autógeno, que atingiu a taxa de sucesso de 73%. As taxas de sucesso dos implantes para ambos os grupos foram similares ( $P > 0,05$ ), aos 12 meses no momento do carregamento protético. Além disso, não foi observado nenhum evento adverso clínico significativo. A extensa literatura e as três aprovações da *FDA* fizeram o *rhBMP-2* um dos enxertos mais estudados, publicados e um significativo avanço em ortopedia. Os autores concluíram que a concentração de *rhBMP-2* / *ACS* em 1,5 mg / cc é equivalente ao osso autógeno, tanto na capacidade de formar novo osso, como também nos resultados clínicos. Os ensaios clínicos de fratura de tíbia e da elevação do seio maxilar mostraram a importância da concentração de *rhBMP-2*, sendo a concentração de 1,5 mg / cc mais eficaz do que a concentração de 0,75 mg / cc. Além disso, evidenciaram que o excesso de preenchimento de um defeito ou dispositivo com *rhBMP-2* / *ACS* pode resultar em aumento inesperado na concentração local de *rhBMP-2* acima de 1,5 mg / cc e efeitos locais indesejados. Quando usado corretamente, o *rhBMP-2* / *ACS* pode eliminar a necessidade de remover o osso autógeno em procedimentos de enxerto.

Benglis et al. (2008) realizaram uma revisão de literatura relatando as aplicações da *BMP* na cirurgia da coluna vertebral, como também, a evidência de eventos adversos associados ao uso de *BMP* e possíveis métodos de prevenção das complicações. O uso "off-label" em vários procedimentos espinhais foram relatados. Autores afirmam que as diretrizes específicas para o uso de *rhBMP-2* e *rhBMP-7* não estão evidentes devido à disponibilidade limitada de ensaios clínicos controlados randomizados e seu uso sendo diversificado em muitas aplicações da coluna vertebral. A maior vantagem clínica de *rhBMP-2* e *rhBMP-7* é a prevenção da morbidade da região autógena doadora. Mecanismos de entrega, tipo de transportador, posição do enxerto, localização cirúrgica e variações na concentração de *BMP* podem diferir de uma cirurgia para a outra. Os eventos adversos vinculados tanto ao uso de *rhBMP-2* como o de *rhBMP-7* incluem formação óssea ectópica, reabsorção óssea ou remodelação no local do enxerto, hematoma e inchaço do pescoço. E outras potenciais preocupações incluem carcinogenicidade e efeitos teratogênicos, visto que podem influenciar a diferenciação de células em desenvolvimento, incluindo as células do sistema nervoso, e que os receptores de *BMP* estão presentes no embrião humano em desenvolvimento. No entanto, não existe evidência clínica que associe a *BMP-2* aos defeitos de desenvolvimento em seres humanos. As doses recomendadas para os procedimentos ainda não foram estabelecidas e, portanto, aumentar as doses de *BMP* não resulta necessariamente em maior fusão. Com as evidências clínicas, os autores mostram, que *rhBMP-2* e *rhBMP-7* são agentes eficazes para cirurgia de fusão de coluna vertebral quando utilizados com auxiliares como o aloenxerto. O cirurgião deve levar em consideração o custo, a dosagem e a distribuição da *BMP*, bem como os efeitos colaterais potenciais de uma das moléculas mais poderosas. Ainda são necessários trabalhos para determinar as melhores indicações, contra-indicações, dosagens e métodos de entrega necessários para as *BMPs*.

Triplett et al. (2009) realizaram um estudo prospectivo com objetivo de avaliar a segurança e eficácia do *rhBMP-2 / ACS* em uma concentração de 1,50 mg / ml, comparando com o enxerto ósseo autógeno em aumento do assoalho do seio maxilar em 2 estágios. O estudo avaliou a formação óssea, integração e a carga funcional após 6 meses e a longo prazo, por 2 anos. Um total de 160 indivíduos foram randomizados no período de janeiro de 1999 a fevereiro de 2004 em 21 centros nos Estados Unidos. Os indivíduos que apresentavam menos de 6 mm de altura óssea residual foram incluídos. A altura e a densidade foram quantificadas por tomografia computadorizada e as biópsias foram realizadas no momento da instalação dos implantes dentários. A segurança foi avaliada por exames orais, radiografias, quimioterapia sérica e hematologia. Além disso, as amostras do soro foram analisadas utilizando ensaio de imunoabsorção enzimática (*ELISA*), medições de ensaios foram realizados para detectar a presença de anticorpos *IgG* para *rhBMP-2*, colágeno bovino de tipo I e colágeno humano de tipo I. As amostras para anticorpos foram coletadas na linha de base (antes da cirurgia), 1 e 4 meses pós-cirurgia, e em um tempo adicional, aos 4 meses no pós-operatório para aqueles pacientes que tiveram um valor elevado ( $> 50$ ). Os pacientes com anticorpo positivo para colágeno bovino de tipo I e colágeno humano de tipo I receberam sangue adicional para monitorar e levar ao nível normal. O ganho em altura óssea em média, nos indivíduos *rhBMP-2 / ACS* foi de  $7,83 \pm 3,52$  mm versus  $9,46 \pm 4,11$  mm em enxerto ósseo. Aos 6 meses após a instalação da prótese, quando avaliado o osso no grupo *rhBMP-2 / ACS* apresentou-se mais denso do que no grupo do enxerto autógeno, sendo comparáveis ao osso nativo. Não foram encontradas diferenças entre os parâmetros histológicos avaliados entre os dois grupos. A taxa de sucesso para o grupo *rhBMP-2 / ACS* foi de 79% (64 de 81 indivíduos) e de 201 de 251 implantes instalados no grupo do enxerto autógeno e 199 de 241 implantes instalados no grupo *rhBMP-2 / ACS* foram integrados e permaneceram funcionais aos 6 meses após o carregamento. A perda óssea crestal

estabilizou-se para 0,1 mm / ano ou menos aos 18 meses de carregamento funcional, sustentando a capacidade de *rhBMP-2 / ACS* suportar o carregamento funcional a longo prazo. Os eventos adversos foram consistentes com os procedimentos cirúrgicos realizados, o grupo do enxerto autógeno teve maior incidência de edema, dor, perda sensorial, artralgia e eritema, refletindo a morbidade associada à colheita de enxerto ósseo, sendo a perda sensorial presente em 17% dos indivíduos aos 6 meses do pós-operatório. O edema facial foi mais notável no grupo *rhBMP-2 / ACS*, e foi atribuído a quimiotaxia e neovascularização da área enxertada, entretanto, não afetou negativamente o resultado. Nenhum dos 78 pacientes tratados com enxerto autógeno desenvolveram anticorpos anti-*rhBMP-2* e 2 (2%) de 82 pacientes tratados com *rhBMP-2 / ACS* desenvolveram. O número de pacientes que desenvolveram anticorpos bovinos ou colágeno tipo I foi de 25 (32%) no enxerto autógeno e 24 (29%) no *rhBMP-2 / ACS*. Os autores concluíram, que a imunogenicidade com *rhBMP-2 / ACS* foi baixa e não representou um risco aumentado em comparação ao tratamento com enxerto ósseo autógeno. Os dados demonstram que o osso induzido por *rhBMP-2 / ACS* foi de excelente qualidade e a quantidade (altura e densidade) foi capaz de suportar o carregamento funcional, mostrando segurança e efetividade durante o tratamento.

Carragee et al. (2011) tiveram como objetivo dessa revisão sistemática, comparar as conclusões publicadas em trabalhos patrocinados pela indústria *INFUSE*<sup>®</sup> sobre segurança e a eficácia do *rhBMP-2* em cirurgias de fusão de coluna vertebral. Foram comparados resultados e conclusões das publicações com dados disponíveis no *FDA*. Ao total foram 13 publicações originais de *rhBMP-2*, incluindo relatórios e análises de 780 pacientes que receberam *rhBMP-2* dentro de controles prospectivos. Nenhum evento adverso associado a *rhBMP-2* (0%) foi relatado em todos os estudos (99% de intervalo de confiança da taxa de eventos adversos 0,5%). Os ensaios de *rhBMP-2* utilizados em fusões póstero-laterais e

fusão de lateral-posterior tiveram um potencial viés metodológico contra o grupo controle. A morbidade relatada na dor do local do doador da crista ilíaca também teve um viés de projeto. A análise comparativa de documentos da *FDA* e publicações subsequentes revelaram inéditos eventos adversos e inconsistências internas. A partir desta revisão, os autores sugerem uma estimativa de eventos adversos associados com uso de *rhBMP-2* na fusão da coluna vertebral variando de 10% a 50% dependendo da abordagem, sendo a fusão cervical anterior com um risco estimado de 40% mais eventos adversos no início do pós-operatório, incluindo eventos que ameaçam a vida. Essas complicações foram associadas ao inchaço do pescoço e da garganta, o que resultou em compressão das estruturas respiratórias e / ou neurológicas. Alguns relatórios descrevem dificuldade em engolir, respiração ou fala e disfagia grave. A maioria das complicações ocorreu entre 2 e 14 dias pós-operatório com apenas alguns eventos ocorrendo antes do segundo dia. Após interconexão anterior, taxas de fusão lombar de deslocamento do implante, subsidência, infecção, eventos urogenitais e a ejaculação retrógrada (condição que causa esterilidade) que ocorrem aproximadamente em 5% a 7% e possivelmente duas a quatro vezes maior após o uso de *rhBMP-2*. Em interação lombar posterior, o uso de fusão foi associado à radiculite, formação óssea ectópica, osteólise e resultados pobres. Nas fusões postero/laterais, o risco de efeitos adversos associados ao uso de *rhBMP-2* foi equivalente ou superior ao da remoção do osso ilíaco e 15% a 20% dos indivíduos relataram eventos adversos na coluna e dor nas pernas. As doses mais elevadas de *rhBMP-2* (*Amplify*<sup>®</sup>), que é uma dose triplicada de fator de crescimento (40 mg de *rhBMP-2* por nível) e é utilizada com outro método transportador em fusões postero/laterais foram associadas com maior risco aparente de nova neoplasia maligna. Foram notificados nove novas neoplasias malignas em 239 indivíduos; uma taxa de 3,8%, o que significa uma probabilidade aproximada de 90% a 95% de que esta é uma associação real. Pôde-se concluir que as evidências de nível I e nível II dos resumos originais da *FDA* publicados, sugerem

possíveis viés no projeto, bem como um aumento do risco de complicações e eventos adversos para pacientes que recebem *rhBMP-2* na fusão da coluna vertebral, como também, os autores não mencionaram o risco ao desenvolvimento de neoplasias com a associação de *Amplify*<sup>®</sup>. Portanto, os riscos de eventos adversos associados ao *rhBMP-2* são 10 a 50 vezes as estimativas originais relatadas nas publicações patrocinadas pela indústria.

Woo (2012) juntamente com o governo dos *EUA*, tiveram como objetivo caracterizar os eventos adversos relatados após o uso de *rhBMP-2* em procedimentos orais e maxilofaciais. Foram avaliados os bancos de dados do Fabricante, da *FDA* e o banco de dados Experience (*MAUDE*), que contém relatórios de eventos adversos envolvendo dispositivos médicos, estes foram pesquisados com o nome *Infuse Bone Graft*. O conjunto de dados públicos não inclui dados demográficos (idade, sexo) e informação de histórico médico, registros clínicos e radiológicos relacionados ao evento adverso relatado, ou informações de acompanhamento de complicações e resultados a longo prazo, como fatores de risco e etiologia. Desde a data de 30 de abril de 2011, *MAUDE* recebeu 929 relatos de eventos adversos envolvendo *rhBMP-2*, dos quais 83 (8,9%) foram relatos de eventos adversos após cirurgias orais e maxilofaciais, 55 (66,3%) descreveram uso fora do rótulo, como reconstrução da mandíbula após fratura ou câncer e reparo da fenda alveolar. Os eventos adversos mais comumente relatados incluíram reações locais, falha no enxerto, infecções e outras complicações de cicatrização. Dos relatórios, 25 (30,1%) declararam a necessidade de cirurgia adicional. Sete relatórios descreveram o uso de *rhBMP-2* no local de um tumor ressecado. Não haviam relatos de uso de *rhBMP-2* em gravidez / lactação ou em pessoas com hipersensibilidade conhecida a qualquer um dos componentes do dispositivo. Não foram relatados óbitos após a administração oral e cirurgia maxilofacial utilizando *rhBMP-2*. A falha do enxerto e a pseudoartrose foram mais comumente relatados

após uso fora do rótulo de *rhBMP-2* do que em procedimentos aprovados pela *FDA*. Os autores concluem que a utilização do *rhBMP-2* em procedimentos orais e maxilofaciais podem levar a eventos adversos graves, sendo alguns deles necessários uma segunda cirurgia.

Esse relatório foi elaborado pelo comitê de finanças (*United States Senate Finance Committee*) em 2013, mostrando dados que a *Medtronic* influenciou indevidamente os estudos clínicos do produto de crescimento ósseo *Medtronic Infuse*<sup>®</sup>, também conhecido como proteína morfogenética óssea 2 (*BMP-2*). A aprovação da *Infuse* pela *FDA* em 2002 foi limitada para cirurgias espinhais utilizando a técnica de fusão intermediária lombar anterior, entretanto o produto também foi utilizado para outras cirurgias de coluna "*off label*". A abordagem da fusão intermediária lombar anterior permite aos cirurgiões acessar a coluna vertebral através do abdômen, não envolvendo "retração dos nervos espinhais e estruturas neurológicas" diminuindo o risco de lesão neurológica. Em março de 2011, a *FDA* recusou-se a aprovar uma versão de *Infuse*<sup>®</sup> de maior concentração chamada *Amplify*<sup>®</sup>, pois relataram preocupações em que o produto poderia causar câncer. Naquele ano, Dr. Eugene Carragee apresentou dados em uma conferência de cirurgia espinhal em que o grupo de pacientes que recebeu *Amplify*<sup>®</sup> experimentaram um número significativamente maior de câncer comparado com o grupo controle que recebeu enxerto ósseo autógeno, mas esses resultados não foram relatados na publicação patrocinada pela indústria em 2009. Em resposta ao pedido de 21 de junho de 2011, pelo presidente Baucus e Senador Grassley, *Medtronic* produziu mais de 5000 documentos pertencentes a 13 estudos patrocinados pela *Medtronic*, onde não havia absolutamente nenhum relatório de eventos adversos associados ao *Infuse*<sup>®</sup>. Em 28 de junho de 2011 o *The Spine Journal* dedicou uma publicação inteira para expor médicos que tinham vínculos financeiros com a *Medtronic* e que omitiram a menção de efeitos colaterais graves associados com *Infuse*<sup>®</sup> utilizado em cirurgia de fusão

de coluna vertebral. A análise, liderada pelo Dr. Eugene Carragee na Universidade de Stanford, encontrou uma taxa de eventos adversos de 10 a 50% relacionados ao uso de *Infuse*<sup>®</sup>. A equipe do comitê de investigação descobriu que a *Medtronic* estava fortemente envolvida na elaboração, edição e modelagem do conteúdo de artigos de revistas médicas escritas por seus consultores médicos, alterando dados, a fim de, apresentar positivamente os resultados, como também, patrocinando um total de aproximadamente 210 milhões de dólares para os autores. Através do acesso aos emails trocados obtiveram provas que um funcionário da *Medtronic* foi contra a publicação de uma lista completa de eventos adversos possivelmente associados com *Infuse*<sup>®</sup>, sendo que um funcionário envolvido na elaboração de um artigo científico deveria ser listado como um autor. Para abordar o problema da pesquisa tendenciosa na literatura médica, os fabricantes de dispositivos e editores de jornais precisam implementar políticas de divulgação rigorosa que detalham o financiamento da indústria para os leitores, como também, examinar de forma criteriosa os estudos, para não ocorrer um viés da indústria e assim, os estudos tendenciosos não serem divulgados com possíveis prejuízos aos pacientes.

Simmonds et al. (2013) realizaram uma meta-análise de dados dos participantes que submeteram-se a cirurgia de fusão de coluna vertebral com utilização do *rhBMP-2*, avaliando sua segurança e eficácia. Foram incluídos ensaios da formulação *Infuse*<sup>®</sup> licenciada (concentração de *rhBMP-2*, 1,5 g / L), as não licenciadas que possuem composição maior de *BMP*, *Amplify*<sup>®</sup> (concentração de *rhBMP-2*, 2 g / L) e formulação bifásica de fosfato de cálcio. Os dados obtidos pelo patrocinador ou pesquisador foram reavaliados e incluídos os dados extraídos de publicações sistemáticas até junho de 2012. Os ensaios foram randomizados e controlados, *rhBMP-2* versus enxerto ósseo da crista ilíaca (ICBG) para cirurgia de fusão espinhal em doença degenerativa, doença do disco ou doenças

relacionadas. Foram avaliados dados de 1302 pacientes que tiveram patrocínio da *Medtronic*, ensaios publicados, como também os ensaios não publicados pela empresa e 106 pacientes de estudos adicionais. Foram extraídos dados de eventos adversos de 35 estudos observacionais publicados. Também foram realizados estudos observacionais em populações similares para investigação de eventos adversos. Os autores afirmaram que essa revisão difere da revisão realizada por Carragee et al., 2011, nessa pesquisa os autores relatam que tiveram acesso a dados mais extensos e detalhados, foram avaliados todos os ensaios, independentemente se foram publicados ou submetidos ao *FDA*, já Carragee et al., 2011, usaram dados agregados extraídos de publicações de ensaios patrocinados pela indústria, resumos da *FDA* publicamente disponíveis e documentos de reunião pública. Os materiais da *FDA* parecem fornecer dados incompletos de um subconjunto de ensaios que avaliam o *rhBMP-2*. Os resultados primários avaliados foram a dor, fusão e eventos adversos. Todos os ensaios da *Medtronic* forneceram dados sobre eventos adversos em todos os tempos, até a quarta semanas após a cirurgia. Aos 24 meses, os escores foram 3,5% mais baixos (melhores) com *rhBMP-2* do que com ICBG (IC 95%, 0,5% a 6,5%) e a fusão radiográfica foi 12% maior (CI, 2% a 23%) e logo após a cirurgia a dor foi mais comum com *rhBMP-2*. Apesar do câncer ser mais comum após a cirurgia com *rhBMP-2* (risco relativo, 1,98 [IC, 0,86 a 4,54]), devido o pequeno número de eventos não foi possível realizar conclusões definitivas. Entre as reações adversas, o *rhBMP-2* pode aumentar o risco de formação de ossos ectópicos, osteólise, radiculite e ejaculação retrógrada. Foi observado limitações nos estudos observacionais realizados com patrocínio da empresa *Medtronic*, como por exemplo, a randomização não foi adequada em todos os ensaios, já que os participantes não foram cegados para todos tratamentos, como para dor, mas foram cegados para avaliação radiológica da fusão, podendo levar a risco de viés. Foi observado novas descobertas a partir dessa meta-análise, os autores afirmam que *rhBMP-2* melhora a dor na

coluna e a qualidade de vida em comparação com ICBG entre 6 e 24 meses após a cirurgia. Como conclusão, o *rhBMP-2* aumentou as taxas de fusão, aumentou antecipadamente a dor pós-cirúrgica em comparação com ICBG e a evidência de aumento da incidência do câncer não é conclusiva em acompanhamento aos 24 meses.

Fu et al. (2013) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise com propósito de, avaliar a eficácia e os danos da *rhBMP-2* na cirurgia de fusão de coluna vertebral, e avaliar o viés de publicação e resultados, a qualidade dos relatórios dos artigos publicados com patrocínio da indústria *Medtronic*, já que a precisão e fidelidade dos dados realizados por essas pesquisas foram questionadas. Em 23 de fevereiro de 2012 foi inserido o protocolo completo do Projeto de acesso a dados abertos na Universidade de Yale (*YODA*), mas nem o Projeto *YODA* e nem a *Medtronic* influenciou a condução das análises ou o conteúdo deste artigo. Os dados foram coletados de pacientes individuais de 13 estudos patrocinados pelas empresas, 12 dos quais foram patrocinados pela *Medtronic* (n= 1879) e 1 pela *Norton Healthcare* (n= 102), acrescidos de 31 estudos de coorte. Todos os ensaios compararam *rhBMP-2* com ICBG, exceto um, que comparou a substituição do disco artificial com a fusão utilizando *rhBMP-2*, foram removidos dados dos documentos internos relacionados com a *Medtronic*, documentos do site da *FDA* e pesquisas no *Medline* (1996 a agosto de 2012). Os autores afirmaram que esse estudo teve uma avaliação completa e padronizada dos resultados, pois foram utilizados dados de estudos não publicados e dados que não foram relatados ou relatados de forma incompleta por estudos publicados, reduzindo assim os possíveis efeitos de publicação e notificação de viés. Os resultados obtidos para fusão da coluna lombar com *rhBMP-2* ou enxerto ósseo da crista ilíaca foram similares no sucesso geral, quando avaliado a fusão, função, dor e o risco para eventos adversos, embora as taxas fossem altas em todas as intervenções (77% a 93% aos 24 meses da cirurgia), foi observado

algumas associações: para fusão intermediária lombar anterior, o *rhBMP-2* foi associado ao risco não significativo de ejaculação retrógrada e problemas urogenitais. Para a fusão da coluna cervical anterior, o *rhBMP-2* foi associado ao aumento estatisticamente significativo de eventos adversos gerais, como o risco de complicações pós cirúrgicas, disfagia ou disfonia. Aos 24 meses, o risco de câncer foi aumentado com o *rhBMP-2* (relação de risco, 3,45 [IC 95%, 1,98 a 6,00]), mas as taxas de eventos foram baixas e os dados foram insuficientes para determinar o efeito de dose de *rhBMP-2* com estimativas de risco de câncer. Embora 10 de 17 casos de câncer com *rhBMP-2* tenham ocorrido em ensaios clínicos utilizando alta dose de *rhBMP-2*. E aos 48 meses, o risco aumentado de câncer não foi mais estatisticamente significativo, sendo que o risco de morte em 24 meses não diferiu entre o *rhBMP-2* e o grupo controle. Os autores observaram que as publicações anteriores do periódico falsificaram a eficácia e os danos através de relatórios seletivos e foi observado que a avaliação de resultados não foi cegada, exceto para avaliação radiológica final e a verificação de danos nos ensaios foi insuficiente, sendo que nenhum julgamento foi verdadeiramente independente do patrocínio da indústria. Para fusão espinhal, os autores concluem que o *rhBMP-2* não possui vantagem clínica comprovada quando comparado ao enxerto ósseo autógeno e pode estar associado a importantes efeitos prejudiciais, dificultando a identificação de indicações claras para *rhBMP-2*. Ainda ressaltam que evidências definitivas sobre danos seriam necessárias antes do *rhBMP-2* tornar-se amplamente utilizado.

de Freitas et al. (2013) realizaram um ensaio clínico randomizado com o propósito de comparar o efeito do *rhBMP-2* / ACS com enxerto ósseo autógeno para aumento horizontal da maxila atrófica anterior. Foram selecionados vinte e quatro pacientes e os indivíduos receberam *rhBMP-2* / ACS (1,5 mg / ml) ou osso autógeno particulado coletado da região

retromolar mandibular. Utilizou-se uma malha de titânio para proporcionar espaço e estabilização da ferida. A largura da crista óssea alveolar também foi avaliada usando tomografia computadorizada de feixe cônico, inicial e aos 6 meses. As medidas foram realizadas após a elevação do tecido mucoperiosteal, sendo utilizado um guia suportado por dentes para padronizar as medidas clínicas e as posições que o especímetro era colocado em boca, dependendo do tamanho do defeito, três a seis medidas foram realizadas aproximadamente 4 mm abaixo do osso alveolar. A inflamação da face, edema local e / ou eritema foram comuns, sendo mais frequentes e graves em indivíduos que receberam *rhBMP-2 / ACS*. As complicações pós-cirúrgicas foram resolvidas dentro de 1 semana para indivíduos que receberam enxertos ósseos autógenos, enquanto que um intervalo de recuperação de 2 semanas foi necessário para indivíduos que receberam *rhBMP-2 / ACS*. Foi realizada uma prótese removível provisória fixa em dente. No entanto, a maioria dos indivíduos que receberam *rhBMP-2 / ACS* não conseguiu usá-la até 2 semanas após a cirurgia quando o edema local havia diminuído. A exposição da malha de titânio foi observada em dois indivíduos que receberam enxerto ósseo autógeno em 7 e 30 dias, respectivamente, e 4 meses em um indivíduo que recebeu *rhBMP-2 / ACS*. Estes indivíduos foram orientados a usar o enxaguatório de clorexidina até que a cicatrização de tecidos moles fosse alcançada. O *rhBMP-2 / ACS* produziu um ganho ósseo horizontal radiográfico significativamente maior em comparação com o enxerto ósseo autógeno em níveis subcrestais imediatos (1,5+- 0,7 contra 0,5+- 0,9 mm; p = 0,01); as diferenças não significativas foram observadas nos níveis crestais de média (2,9+- 0,8 versus 2,9+- 0,9 mm; p = 0,98) e apical (1,7+- 0,9 versus 1,8+- 1,1 mm; p = 0,85). Não foram observadas diferenças clínicas significativas no ganho ósseo horizontal aos 6 meses entre *rhBMP-2 / ACS* e enxerto ósseo autógeno (3,2+- 0,9 mm versus 3,7+- 1,4 mm; p = 0,31). Destacando-se que uma grande proporção dos locais em ambos os grupos ganhou  $\geq 2$  mm na largura do

osso alveolar. Um total de 62 implantes foram instalados após 6 meses de cicatrização, 54 alcançaram estabilidade maior do que  $30 \text{ N / cm}^2$  sem diferenças significativas entre os grupos experimentais. Nenhum implante foi perdido aos 6 meses de acompanhamento. Mostrando que o *rhBMP-2 / ACS* parece ser uma alternativa realista para o aumento de maxila atrófica anterior.

Kim et al. (2014) realizaram um ensaio clínico controlado e randomizado com o objetivo de determinar a segurança e a eficácia do gel de matriz óssea desmineralizada injetável (DBM) combinado com *rhBMP-2* na preservação do rebordo alveolar após a extração dentária. Ao total, 69 pacientes foram distribuídos aleatoriamente ao grupo teste ( $n = 35$ ) e ( $n = 34$ ) ao grupo controle. No grupo teste, DBM, juntamente com *rhBMP-2* (0,05 mg / ml, *rhBMP-2 / DBM*) foi colocado nos alvéolos pós extração e o grupo controle recebeu somente DBM. A segurança do *rhBMP-2 / DBM* foi avaliada por exame oral, química sérica e exame hematológico, acompanhado por 3 anos. Não foi observado intercorrência na cicatrização, sem eventos adversos e sem alterações clinicamente significativas na química do soro e nos achados hematológicos. Nenhuma resposta imune significativa foi encontrada entre os grupos de estudo e não houve diferença significativa nas alterações radiográficas de altura e largura do osso alveolar ( $P > 0,05$ ). Os autores concluem que a associação de *rhBMP-2* com o biomaterial injetável pode ser usado de forma fácil e segura em aplicações clínicas.

Kelly et al. (2014) realizaram uma investigação a fim de determinar o risco de câncer após a realização de cirurgia em pacientes com artrodese espinhal utilizando *BMP*, visto que a *FDA* relatou uma maior incidência de câncer em pacientes que apresentaram artrodese espinhal e foram expostos a uma elevada dose de *rhBMP-2* em comparação com o grupo controle em ensaio clínico randomizado. Foram analisados retrospectivamente a possível incidência de câncer em 467.916 pacientes com Medicare submetidos a cirurgia de coluna

vertebral de 2005 a 2010. Os pacientes com diagnóstico preexistente de câncer foram excluídos. O tempo médio de seguimento foi de 2,85 anos para o grupo *BMP* e 2,94 anos para o grupo controle, sendo este período adequado para captar incidência de câncer e consistente com o estudo *Amplify*<sup>®</sup>, que observou o risco aumentado de câncer. O risco relativo de desenvolver câncer após a exposição ao *BMP* foi de 0,938 (intervalo de confiança de 95% [IC 95%]: 0,913 para 0,964), o que foi significativo. No grupo *BMP*, 5,9% dos pacientes desenvolveram um câncer invasivo em comparação com 6,5% dos pacientes do grupo controle. O risco relativo de desenvolver câncer após a exposição ao *BMP* foi de 0,98 nos homens (IC a 95%: 0,94 a 1,02) e 0,93 (IC 95%: 0,90 a 0,97) nas mulheres. O câncer de pulmão, brônquios, mama e câncer de próstata foram os mais comuns em ambos grupos. O grupo controle apresentou maior incidência de desenvolvimento de câncer, 6,2% maior do que no grupo *BMP*, exceto câncer de pâncreas. Os autores podem afirmar que o uso clínico de *BMP* não foi associado a um aumento detectável no risco de desenvolvimento de câncer dentro de uma janela de tempo de 2,9 anos.

Pountos et al. (2014) oferecem uma revisão abrangente da literatura sobre os estudos clínicos que analisaram o papel das *BMPs* na carcinogênese. Junto com a análise da literatura os autores relatam as potenciais vias de sinalização que podem ser afetadas a partir dos estudos disponíveis em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*. Os bancos de dados em que os artigos foram coletados foram: *PubMed Medline*; *Ovid Medline*; *Embase*; *Scopus*; *Google Scholar*; e a *Cochrane Library*. Os termos utilizados para a pesquisa incluíram: 'Proteínas Morfogenéticas Ósseas', 'não-união', 'fusão espinhal', 'câncer', 'neoplasma' isolados ou em combinação com palavras incluindo "células osteoprogenitoras", '*BMP-2*', '*BMP-7*' e "metástase". Dos artigos identificados foram incluídas suas bibliografias com revisões relevantes. As *BMPs* regulam vários processos celulares, incluindo a proliferação,

diferenciação, apoptose, quimiotaxia, angiogênese e migração de vários tipos de células. No entanto, mais recentemente, autores descobriram que elas também desempenham um papel importante durante o desenvolvimento embrionário e são essenciais para a formação de membros, vasculogênese, padrão esquelético e organogênese. No sistema musculoesquelético, elas orquestram a arquitetura do tecido ósseo, estão envolvidos no desenvolvimento de osso e cartilagem e desempenham um papel na homeostase. Exercem um efeito direto sobre células osteoprogenitoras para migração, proliferação e, tornam-se osteoblastos totalmente funcionais ou condrócitos, podendo induzir grandes volumes ósseos, e tem sido usado para o tratamento de cirurgia de fusão da coluna vertebral. Apesar de alguns estudos encontrarem associação com a neoplasia, eles não mostram a indução da neoplasia específica, parecendo haver uma grande variabilidade e fatores associados. Os autores relatam que os dados experimentais disponíveis e os estudos clínicos fornecem evidências incompletas para permitir conclusões científicas seguras de que as *BMPs* são cancerígenas, e a literatura disponível tem várias limitações, incluindo documentação incompleta, dados não relatados e viés inerente em um grande número de testes que foram financiados pela indústria. Os autores recomendam que as *BMPs* sejam utilizadas com cautela, evitando-se as altas doses. E a necessidade de estudos bem estruturados tornam-se essenciais para resolver as preocupações de segurança.

de Freitas et al. (2015) revisaram na literatura os dados clínicos e de segurança do *rhBMP-2*, utilizando como carreador a esponja de colágeno absorvível (*ACS*) quando utilizada para aumento alveolar e do seio maxilar em humanos. A busca foi realizada pela combinação dos termos de "MeSH": "*bone morphogenetic proteins*," "*BMP*," "*alveolar ridge augmentation*," "*bone regeneration*," and "*maxillary sinus augmentation*". *Cochrane*, *Cochrane Central Register of Controlled Trials*, *ClinicalTrials.gov*, *EMBASE*, *SciELO* e

*LILACS* também foram pesquisados usando estratégia similar. A pesquisa foi limitada a estudos em humanos e os seguintes tipos de estudo: ensaios clínicos, ensaios clínicos controlados, ensaios controlados randomizados, relatos de casos, fase experimental de fase I, II, III e IV. Apenas foram estudados os artigos publicados nas línguas inglesa, alemã, espanhola ou portuguesa e no período de 1980 até junho de 2012 que utilizaram *rhBMP-2 / ACS*. Os critérios de inclusão deste estudo foram: mais de 10 indivíduos na amostra de levantamento de seio maxilar ou aumento da crista óssea alveolar, não devendo ser concomitante a instalação de implantes. Sete das 69 publicações foram elegíveis para revisão. O *rhBMP-2 / ACS* produziu formação óssea clinicamente significativa para o aumento do seio maxilar, possibilitando a instalação de implantes dentários sem diferenças consistentes entre as concentrações de *rhBMP-2*, que variaram de 0,43, 0,75 e 1,5 mg / ml, mas pôde-se observar maior inflamação pós-operatória na concentração de 1,5mg / ml. A dose média de *rhBMP-2* variou entre 2,9 e 20,8 mg por local. No entanto, a análise estatística mostrou que o aumento do seio maxilar após o enxerto ósseo autógeno foi significativamente maior (altura óssea média: 1,6 mm, IC 95%: 0,5-2,7 mm) do que para *rhBMP-2 / ACS* (*rhBMP-2* a 1,5 mg / mL), entretanto a formação óssea foi clinicamente relevante, permitindo a instalação dos implantes. A densidade óssea em 4 a 6 meses foi significativamente maior para o enxerto ósseo autógeno, enquanto a densidade óssea após carregamento funcional foi maior para *rhBMP-2 / ACS*. Não foram observadas diferenças histológicas importantes entre as biópsias dos dois grupos, como também, não foi observado diferença na quantidade de infiltrados inflamatórios. Nas tomadas de extração, *rhBMP-2 / ACS* manteve a altura do alvéolo enquanto realizava o aumento da largura alveolar. Os relatórios de segurança não representavam preocupações com as indicações propostas. Foram observados eventos clínicos adversos, que se limitaram a edema, dor, perda sensorial e eritema, sendo todos transitórios, parecendo não afetar os resultados do tratamento. Como

conclusão, os autores mostraram que *rhBMP-2 / ACS* é uma alternativa promissora aos enxertos ósseos autógenos para aumento do osso alveolar e aumento do seio maxilar, mostrando que a otimização de dose e dos carreadores pode expandir sua eficácia, uso e aplicação clínica.

de Freitas et al. (2016), tiveram como objetivo apresentar características histológicas e perfil de expressão gênica do osso recém formado após aumento ósseo horizontal da maxila atrófica anterior usando *rhBMP-2 / ACS* (1,5mg/ml, com dose total de 4,2 mg) comparado com enxerto ósseo autógeno (*ABG*) particulado, removido da região retromolar mandibular. Utilizou-se uma malha de titânio para proporcionar espaço e estabilidade da ferida para formação óssea. Foi realizado um ensaio clínico randomizado, controlado, em grupo paralelo. Foram realizadas 24 biópsias de núcleos ósseos, sendo obtidas no momento da instalação do implante dentário e 6 meses após o enxerto. Esta análise incluiu observações histológicas / histométricas e perfil de expressão gênica do osso recém formado. O *rhBMP-2 / ACS* produziu uma medula óssea rica em capilares, células indiferenciadas e células de revestimento ósseo em comparação com o enxerto autógeno, entretanto não foram observadas diferenças significativas na fração óssea total e partículas ósseas não vitais presas ao osso vital lamelar foram observadas no grupo *ABG*. Nenhum infiltrado inflamatório evidente foi observado para qualquer grupo, no entanto, os espécimes de *ABG* exibiram valores de coloração significativamente elevados em comparação com amostras de *rhBMP-2 / ACS*. A *ACS* residual não foi observada. Como resultados obtiveram uma expressão de *BMP-2* e *RUNX2* para *rhBMP-2 / ACS* predominando sobre o *ABG*. Enquanto o *ABG* apresentou maior expressão de *RANKL: OPG, BSP* e *OPN* sobre *rhBMP-2 / ACS*. Os autores não encontraram diferenças significativas entre *rhBMP-2/ACS* e osso autógeno, mas pode-se concluir que os processos biológicos da inflamação e edema explicam a formação óssea

após a implantação de *rhBMP-2 / ACS*, enquanto a remodelação é predominante nos locais que recebem osso autógeno.

Kelly et al. (2016) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise com o objetivo de avaliar se o *rhBMP-2* seria um substituto efetivo de enxerto ósseo em aumento da crista alveolar localizada e aumento do assoalho do seio maxilar, e quais seriam os seus potenciais eventos adversos. A pesquisa foi realizada no *MEDLINE* de janeiro de 1980 a janeiro de 2014 usando *PubMed*, *Cochrane*, base de dados de revisões sistemáticas e ensaios controlados, *CINAHL* e *EMBASE*. A principal variável de resultado foi a formação óssea, mensurada pela tomografia computadorizada. Uma revisão sistemática de eventos adversos também foi realizada. Dez estudos preencheram os critérios da revisão sistemática, sendo incluídos oito estudos na meta-análise. Dentre os estudos, apresentavam *BMP* em baixa dosagem, inferior ou igual a 1,0 mg / ml de *rhBMP-2* e alta dosagem de *rhBMP-2* definido como superior a 1,0 mg / ml, e a maioria dos estudos utilizaram a esponja de colágeno como carreador da proteína, sabendo que a liberação lenta fornece um ótimo efeito biológico, e que, se os transportadores não vincularem bem o material, o *BMP* é liberado em alta concentração e pode estar associado a eventos adversos. De acordo com os autores, não foi possível avaliar o efeito de diferentes transportadores na análise, já que a maioria dos estudos utilizaram a esponja de colágeno. Cinco estudos avaliaram o aumento da crista alveolar localizada e resultaram em uma diferença significativa de média padronizada geral de 0,56 (IC 0,20, 0,92) a favor da *BMP*. Três estudos avaliaram o aumento do assoalho do seio maxilar e resultaram em uma diferença significativa de média padrão padronizada de 0,50 (CI -0,93, -0,09) a favor do grupo de controle. Os eventos adversos foram relatados inconsistentemente, variando de nenhuma complicação em alguns estudos, para eventos adversos generalizados em outros, sendo aumento de edema oral e eritema os eventos adversos mais comuns, mas nenhum comprometimento com a via aérea foi relatado. Os

autores concluem que o *rhBMP-2* aumenta significativamente a crista alveolar e o mesmo não funciona tão bem quanto o enxerto autógeno ou aloenxerto na cirurgia de assoalho do seio maxilar, os autores explicam que, em defeitos de até 0,56 (em aumento alveolar localizado) os resultados favorecem o *BMP*, já em defeitos maiores, como regiões de seios maxilares, *BMP* não age tão bem na formação óssea em comparação com o grupo controle. Entretanto, quando foi utilizado baixa dose de *BMP* os estudos não foram significativos. Sendo que a dose ideal pode variar dependendo do tipo de osso, localização e material de condução. O aumento da capacidade de formação óssea em doses mais elevadas deve ser equilibrado com o maior potencial de eventos adversos, devido maior resposta de inflamação local. Sucesso clínico a longo prazo e eventos adversos precisam ser relatados com mais consistência antes que conclusões definitivas possam ser feitas.

Gomes-Ferreira et al. (2016), tiveram como objetivo do estudo avaliar as principais indicações do *rhBMP-2* para reparo e manutenção óssea na maxila e mandíbula, avaliando a viabilidade do seu uso na instalação de implantes, na osseointegração e na formação óssea a longo prazo. A pesquisa foi realizada a partir da busca do banco de dados PubMed e Medline. Ao total, 17 estudos foram filtrados e 2 foram excluídos, restando 15 estudos incluídos nesta revisão. No estudo de (Boyne et al., 1997) 9 pacientes desenvolveram anti-*rhBMP-2*, colágeno humano tipo 1, entre as complicações observaram 4 casos de sinusites e 2 casos de rinite. Já, (Howel et al., 1997) mostraram que todos os pacientes tiveram formação de anticorpos abaixo do limite e não apresentaram complicações pós operatórias. (Cochran et al., 2000) relataram somente 2 casos de colite. (Fiorelline et al., 2005) obtiveram 11 pacientes que desenvolveram anticorpos para colágeno bovino tipo I. (Boyne et al., 2005) tiveram 2 pacientes (grupo *rhBMP-2/ ACS* 1.50mg/ml) que desenvolveram anticorpo anti *rhBMP-2*; 3 pacientes (grupo autógeno ou autógeno+ alógeno), 2 pacientes (grupo *rhBMP-*

2 / ACS 0.75 mg/ml), 4 pacientes (grupo *rhBMP-2* / ACS 1.50mg/ml) desenvolveram a formação de anticorpo colágeno anti-bovino tipo I. Entre as complicações observaram deiscência (15% no grupo autógeno ou autógeno mais alógeno; 11% no grupo *rhBMP-2* / ACS 0.75 mg/ml; 6% no grupo *rhBMP-2* / ACS 1.50mg/ml). Destes, desenvolveram sinusite (31% no grupo autógeno ou autógeno mais alógeno); 17% no grupo *rhBMP-2* / ACS 0.75 mg/ml; 6% no grupo *rhBMP-2* / ACS 1.50mg/ml). E os outros autores não relataram complicações e potencial de formação de anticorpos. Apesar das altas taxas de sucesso da aplicação de *rhBMP-2*, o desenvolvimento de fatores imunológicos tais como anti-*rhBMP-2*, anticorpos de colágeno anti-bovino tipo I e colágeno anti-humano tipo I, são fatores que podem afetar potencialmente a segurança e a eficácia do *rhBMP-2*. Os autores relatam que a produção de anticorpos em resposta ao *rhBMP-2* devem ser avaliados com intuito de monitorar a longo prazo a segurança do *rhBMP-2*. Como conclusão do trabalho, os autores mostraram que o uso de *rhBMP-2* para a preservação alveolar após a extração dentária ou para aumentar os defeitos locais é seguro e viável. O uso de *rhBMP-2* / *Bio-Oss*<sup>®</sup> para a elevação da membrana do seio maxilar é desnecessária e pode melhorar e acelerar o processo de maturação em casos de regeneração óssea guiada em defeitos peri-implantes. Compostos constituídos com *rhBMP-2*, osso alógeno e com plasma rico em plaquetas (PRP) podem atuar como substitutos do enxerto autógeno em defeitos críticos mandibulares.

Bami et al. (2016) realizaram uma revisão da literatura com objetivo de avaliar a sinalização das proteínas morfogenéticas do osso em iniciação e progressão do câncer musculoesquelético. Inicialmente foram nomeadas proteínas morfogenéticas do osso (*BMPs*), pois identificavam três proteínas purificadas a partir de uma desmineralização de osso bovino, sendo observado uma capacidade de induzir formação óssea ectópica, enquanto, nos dias atuais, as *BMPs* referem-se a um grande número de moléculas, que

regulam diferentes processos biológicos, como, proliferação celular, importantes reguladores da formação óssea e cartilagem, da apoptose, morfogênese, diferenciação, embriogênese, manutenção da homeostasia dos tecidos e estão envolvidos no desenvolvimento de quase todos os tecidos. Já, outros estudos mostram as propriedades, funções e envolvimento da *BMP* em doenças esqueléticas, autoimunes, doenças cardiovasculares e câncer, quando ocorrem distúrbios na sua regulação. As *BMPs* pertencem a superfamília do fator de crescimento de proteínas *transformante- $\beta$*  (*TGF- $\beta$* ), sendo 60 membros da família já identificados com dois ramos gerais: (1) *BMP* / crescimento e fator de diferenciação e (2) o *TGF- $\beta$*  / activina / ramo nodal / substância inibidora de *muller* ou hormônio anti-mulleriano. De acordo com a sequência de aminoácidos, estruturas e funções das ligações de *BMP*, é possível definir 4 subfamílias: (1) *BMPs*-2 e 4; (2) *BMPs*-5, 6, 7, 8a e 8b; (3) *BMPs*-9 e 10; e (4) *BMPs*-12, 13 e 14. As *BMP*-2, *BMP*-4, *BMP*-7 e *BMP*-9 demonstraram induzir a ossificação endocondral / intramembranosa e condrogênese direcionando a diferenciação das células mesenquimais para a linhagem osteoblástica (especialmente *BMP* 2, 7 e 9). A revisão enfatiza que a sinalização do *BMP* parece estar envolvida na iniciação e progressão de vários tipos de câncer e nos processos oncogênicos, tais como, metástase e angiogênese. As mesmas *BMPs* podem promover ou suprimir o processo oncogênico dependendo da dose, do tipo de célula ou tecido, e o ambiente circundante, refletindo a complexidade das redes e caminhos envolvidos em um câncer. Além disso, há algumas evidências, embora controverso que as *BMPs* poderiam ter um prognóstico pior em pacientes diagnosticados com câncer. Em estudos, 20 de 30 amostras de osteossarcoma com sinalização *BMP* ativa, mostraram resistência à quimioterapia e tendência à metástase. Já outros autores, alegaram que a expressão de *BMP* e o resultado clínico não estão correlacionados. Além do tipo de célula e ambiente que podem afetar a sinalização do *BMP* em vários tipos de câncer, são muitos outros fatores que estão

implicados na regulação dos PGR, como mutações, variantes de SNP, micro-RNAs e regulação epigenética. Todos esses parâmetros devem ser levados em consideração para esclarecer o papel das *BMPs* no câncer.

Lin et al. (2016) tiveram como objetivo estudar o efeito do *rhBMP-2* em alterações volumétricas e histométricas após aumento de seio maxilar em comparação com o uso de material de enxerto ósseo não biológico com utilização da abordagem convencional. A pesquisa eletrônica foi realizada a partir de 4 bases de dados (janeiro de 1990 a fevereiro de 2015), incluindo *PubMed / MEDLINE*, *EMBASE*, *Web of Science* e *Cochrane Central*, e uma busca manual de revisões relatadas em artigos relevantes foram realizadas. Foram incluídos os ensaios clínicos em humanos com dados de comparação dos resultados volumétricos e / ou histológicos do seio com ou sem uso de *rhBMP-2* nos procedimentos de enxerto sinusal, com  $\geq 10$  locais de aumento em cada grupo de estudo, e com período de pelo menos 6 meses de acompanhamento. As meta-análises de efeitos aleatórios foram realizadas para analisar a diferença de média ponderada (*WMD*) e o intervalo de confiança (*CI*) para as variáveis gravadas de acordo com as diretrizes do *PRISMA*. Foram incluídos seis ensaios controlados randomizados (RCTs). Os resultados das meta-análises mostraram que o *WMD* do aumento vertical da altura óssea foi de 0,14 mm (*CI* 95% = 1,91 a 1,62 mm,  $P = 0,87$ ), a *WMD* da densidade óssea foi de 142,42 mg / cm<sup>3</sup> (*CI* 95% = 310,62-25,78 mg / cm<sup>3</sup>,  $P = 0,10$ ), a *WMD* da porcentagem de osso vital foi de 4,59% (*CI* 95% = 11,73-2,56%,  $P = 0,21$ ), e as *WMD* da porcentagem de material de enxerto ósseo residual foi de 9,90% (95% *CI* = 26,38-6,58%,  $P = 0,21$ ). A comparação da taxa de sobrevivência dos implantes apresentou uma relação de risco geral de 1,00 (*CI* 95% = 0,94-1,07). Alguns estudos relataram que a maioria das falhas de implantes ocorreu antes do carregamento protético e resultou em qualidade óssea inadequada durante a osseointegração, portanto, um período de

cicatrização mais longo (> 6 meses) poderia ser necessário antes da instalação do implante. Esta revisão sistemática revelou que o uso de *rhBMP-2* para aumento do assoalho do seio maxilar alcançou resultados clínicos e histométricos semelhantes quando comparados aos procedimentos de enxertos sinusais convencionais após um período de cicatrização de 6 a 9 meses. Yon et al., 2015, mostraram que a *BMP-2* foi liberado do transportador durante os primeiros 3 dias *in vitro* e mantido em um nível reduzido ao longo do dia 21, mostrando a formação óssea no local significativamente melhorada. Portanto, o efeito da *rhBMP-2* na formação óssea é maior no estágio inicial do período de cicatrização, mas essa diferença possivelmente diminui 6 a 9 meses após a cirurgia. Embora o estudo atual não tenha mostrado uma diferença significativa entre o grupo *rhBMP-2* e o grupo controle, há uma falta de ensaios clínicos em humanos, afim de, investigar indicações potenciais, tais como altura óssea residual limitada e acompanhamento a longo prazo. Alguns estudos, mostraram que a morbidade e outros resultados relatados pelo paciente foram melhores nas abordagens com *rhBMP-2* em comparação com procedimentos de enxerto ósseo autógeno (remoção de osso intraoral e extraoral), sendo eles, edema oral, equimose, dor, artralgia, sinusite, erupção cutânea e eritema, pois nenhum local doador é necessário. Contudo, também foram relatadas complicações leves e graves na utilização do *rhBMP-2*, infecção após a cirurgia, sangramento pós cirúrgico, eritema, dor e edema que foi a complicação mais frequente (82%) versus 38% no grupo autógeno. Estudos a longo prazo são necessários para determinar o custo benefício dos enxertos para realizar o procedimento de levantamento de seio maxilar para pacientes que necessitem de reconstrução e implantes dentários.

Moslemi et al. (2018) tiveram como objetivo desta revisão sistemática, avaliar a alteração da crista óssea alveolar com utilização da proteína *rhBMP-2* colocados em alvéolos após a extração dentária. A revisão de literatura foi realizada até o mês de fevereiro de 2017.

Sendo as seguintes variáveis de interesse: mudanças na largura do osso alveolar e altura, qualidade óssea, segurança do paciente, eventos adversos e complicações pós-operatórias. Ao total, foram incluídos 7 artigos, devido a vasta heterogeneidade e alto risco de viés entre os estudos. Os autores mostraram que a utilização de *rhBMP-2* no alvéolo pós extração foi mais efetivo na redução da largura do alvéolo em comparação com a altura. O *rhBMP-2* / *ACS* 1,5 mg / ml absorvível foi superior quando comparado a utilização de *ACS* sozinho. A remodelação da largura / altura do alvéolo foi mais significativa nos alvéolos com 50% de deiscência óssea bucal. Os dados mostraram que *rhBMP-2* não melhorou a qualidade óssea. Três estudos avaliaram o seguimento pós-operatório e as complicações, mostrando inchaço do lábio superior e face, eritema, dor, desconforto, febre, deiscência de ferida, colite e um caso de infecção grave após a cirurgia. Anticorpos contra o *rhBMP-2* foram detectados na sorologia em um estudo e anticorpos ao colágeno bovino de tipo I também foram detectados em um estudo, porém os anticorpos contra colágeno bovino foram encontrados no grupo *ACS* sozinho ou em combinação com *rhBMP-2*. Em alguns pacientes, o anticorpo ainda foi detectado na avaliação de 4 meses. O período de acompanhamento foi de 3 meses a 3 anos. Concluíram que dentro dos limites desta revisão, 1,5 mg / mL de *rhBMP-2* pode ser benéfico para preservar a largura do osso alveolar após a extração, dado se a rentabilidade é justificável, já que o risco de uso dessa substância de sinalização de tecido é altamente potente, deve ser cuidadosamente ponderado contra os benefícios potenciais. Afirmam que estudos com menor risco de viés devem ser realizados para confirmar os achados acima. Contudo, o número de pacientes incluídos nos estudos foi suficiente para avaliar o risco de eventos adversos, porém, o período de acompanhamento foi muito curto para permitir o desenvolvimento de eventos adversos graves, por isso, o risco de eventos adversos após a aplicação de *rhMPB-2* para a preservação do rebordo alveolar não é claro.

de Queiroz Fernandes et al. (2018), realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de avaliar a aplicação clínica de *rhBMP-2* em reconstruções ósseas antes da instalação de implantes. A pesquisa foi realizada no *PUBMED* entre o ano de 1980 até maio de 2015, onze ensaios preencheram os rigorosos critérios de inclusão e dois foram eliminados pois eram análises dos artigos selecionados, ao total nove ensaios clínicos foram selecionados com um total de 527 pacientes dos quais 282 receberam *rhBMP-2/ ACS* e os outros 256 pacientes formaram os grupos de controle em que foram utilizados enxertos ósseos autógenos, alógenos ou xenogênos. Cinco desses estudos selecionados mostraram aplicações consideradas "*on label*" e quatro estudos utilizaram o *rhBMP-2* em aplicações "*off label*". A taxa de sucesso da regeneração óssea com *rhBMP-2* foi de 81,4% e o sucesso dos implantes instalados foi de 87,4%", no tempo de 4 meses a 5 anos e 10 meses de acompanhamento. A taxa de osseointegração dos implantes instalados no osso regenerado com *rhBMP-2* foi de (87,4%) e as próteses implantossuportadas submetidas à carga mastigatória foi de (83,65%), podendo ser consideradas comparáveis ao osso autógeno, com a vantagem de não requerer um segundo local cirúrgico para obtê-lo, e foram superiores aos enxertos xenôgenos e alógenos. A segurança utilizando *rhBMP-2/ ACS* foi avaliada somente nos artigos que disponibilizaram tais informações (Cochran et al., 2000; Fiorellini et al., 2005; Boyne et al., 2005), a cerca dos eventos adversos mais frequentes como: dor, edema, eritema, infecção, e desenvolvimento de anticorpos de colágeno bovino em alguns pacientes, verificando que a resposta foi transitória e os anticorpos não foram detectados após o segundo mês, todavia, em nenhum dos espécimes avaliados foi encontrado anticorpo contra *rhBMP-2*, avaliado a partir, de testes hematológicos e imunológicos. Um dos estudos avaliando enxerto autógeno versus *rhBMP-2* encontrou diferença estatisticamente a favor do *rhBMP-2* no período 3, 8 e 15 dias. Alguns estudos mostraram uma maior incidência de complicações com o uso fora do rótulo de *rhBMP-2* para aplicações ortopédicas e neurocirúrgicas, sendo elas, calcificação

ectópica, formação excessiva de osso e aumento da incidência de câncer em pacientes enxertados com *rhBMP-2*, no entanto, esses efeitos colaterais graves e complicações nunca foram relatados com o uso de *rhBMP-2* em odontologia e as taxas de sucesso e os efeitos adversos foram semelhantes com o uso "*on label*" e "*off label*". Os autores relatam ser necessários estudos de ensaios clínicos controlados e randomizados com amostras adequadas e critérios bem delimitados, por fim, concluem que o tratamento com *rhBMP-2* foi satisfatório na maioria dos casos e a instalação dos implantes dentários é viável no osso regenerado com *rhBMP-2*.

### **3. Proposição**

Comparar os aspectos imunológicos do *rhBMP-2 / ACS* com o enxerto ósseo autógeno, utilizados para aumento ósseo em espessura na região anterior da maxila, com base na avaliação quantitativa das proteínas *IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$*  na sorologia dos pacientes.

#### 4. Material e Métodos

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios da Declaração da Associação Médica Mundial de Helsinque (1964). O protocolo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil (CEP-FO / Car nº 32/2009).

A metodologia de trabalho foi descrita anteriormente em detalhes no artigo de (de Freitas et al. 2013) e realizada de maneira paralela com o presente estudo. Em resumo, os indivíduos sofreram avaliação clínica e radiográfica no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia Oral da Universidade de Odontologia de Araraquara, de janeiro a outubro de 2011, sendo utilizados os seguintes critérios de inclusão:

- 18 anos de idade ou mais;
- Boa saúde geral, sem história de doenças associadas ao osso ou uso de medicação que afetasse o metabolismo ósseo;
- Sem história de câncer;
- Sem gravidez ou aleitamento;
- Sem história de tabagismo;
- Nenhuma evidência clínica de periodontite ou infecções bucais;
- Largura do rebordo horizontal  $\leq 4$ mm na maxila anterior avaliada clinicamente e / ou usando tomografia computadorizada com feixe cone (CBCT).

Foi realizado um estudo randomizado, controlado, de grupo paralelo, aberto, com randomização simples. Os sujeitos foram randomizados em dois grupos. O grupo teste (*rhBMP-2*) recebeu *rhBMP-2* (1,5 mg / ml) em um transportador de ACS (*INFUSE® Bone Graft Small Kit, Medtronic, Memphis, TN, EUA*) para um total de 4,2 mg de *rhBMP-2* por local. O grupo controle (AT) recebeu osso autógeno particulado coletado da região

retromolar mandibular. Para o preparo da proteína recombinante a ser usada no procedimento cirúrgico, dois ACS foram carregados em imersão com 1,4 ml de *rhBMP-2* reconstituídos e deixados em repouso durante 15 min antes da utilização. Em seguida, o rebordo alveolar foi decorticalizado, o biomaterial foi inserido, acomodado e fixado uma malha de titânio de 0,2 mm de espessura para fornecer espaço e estabilização do enxerto para aumento ósseo. Para o enxerto ósseo autógeno, os ossos foram coletados da área retromolar mandibular, particulados e então enxertados. Seis meses após os enxertos, foram instalados os implantes dentários.

#### Amostragem e avaliação do sangue

A coleta de amostras e avaliações sanguíneas foram as mesmas anteriormente publicadas (Spin-Neto et al. 2013). Resumidamente, 5 ml de sangue venoso foi coletado de todos os pacientes 7 dias antes dos enxertos (linha de base) e nos dias 7, 15, 30, 90 e 180 após o enxerto, respectivamente. As amostras de sangue foram coletadas em tubos com vácuo contendo EDTA / K3, sempre pela manhã, após 12 h de jejum e com o paciente em uma posição sentada. Após a coleta, as amostras foram armazenadas a 4 ° C e transportadas para o laboratório dentro de no máximo 30 min. Para a separação do plasma, as amostras foram centrifugadas a 1800 g durante 10 min, sob refrigeração. Os plasmas foram inativados em banho de 56 ° C durante 30 min, e depois separados em alíquotas de 350 µL, identificados e congelados a - 80 ° C. Os níveis séricos de interleucina 10 (IL-10), IL-1β, interferon γ (IFN-γ) e fator de necrose α (TNF-α) foram determinados por ensaios imunoenzimáticos (ELISA) utilizando kits específicos, de acordo com recomendações do fabricante (BD OptEIA ELISA Sets, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, EUA). As amostras foram corridas em duplicata, já que os testes foram similares, e as absorbâncias foram lidas dentro de 30 min após o bloqueio das reações a 450 nm, com correção a 570 nm, em leitor

de *ELISA* (Multiskan MS, Labsystems, Helsinki, Finland).

#### Estimativa do tamanho amostra

A amostra foi a mesma do estudo (de Freitas et al. 2013) portanto um cálculo amostral específico não foi realizado.

#### Análise de dados

As análises duplicadas foram calculadas para representar a unidade de amostra. O marcador de dados em cada período de observação para os grupos rhBMP-2 e AT foi expresso como medições, médias e desvios padrão. O software comercialmente disponível (GraphPadPrism 5.0 para Windows, GraphPad SoftwareInc., EUA) foi utilizado para comparações entre grupos e para desenhar os gráficos. Para análises de teste de normalidade (D'Agostino & Pearson omnibus normalitytest). Para todos os parâmetros avaliados, os dados não são normalmente distribuídos. O Mann-Whitney teste foi utilizado para comparações pareadas, enquanto o teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunns pós-teste foi utilizado para comparações múltiplas (Dados longitudinais). É reconhecido que o uso de um teste para dados dependentes seria mais apropriado para avaliar os dados dos vários pontos de tempo. No entanto, em vários casos, pacientes individuais faltaram um dos exames de coleta de sangue. Assim, se fosse incluído apenas pacientes com conjuntos de dados completos, conforme requer um teste de dados dependentes, seria perdido 25% da informação disponível. O significado estatístico foi estabelecido em 5% ( $P < 0,05$ ).

## 5. Artigos Científicos

### 5.1 Artigo Científico 1

Artigo elaborado segundo as normas da revista *Clinical Implant Dentistry and Related Research*

### **Aspectos imunológicos na reconstrução da maxila atrófica anterior com rhBMP-2**

Ana Daisy Zacharias <sup>1</sup>, Rubens Moreno de Freitas <sup>2</sup>

<sup>1</sup>

Aluna do curso de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Implantodontia, na Faculdade ILAPEO (Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico), Curitiba, Paraná.

<sup>2</sup>

Doutor em Implantodontia (Faculdade UNESP), Professor do Mestrado em Odontologia com área de concentração em Implantodontia, na Faculdade ILAPEO, Curitiba, Paraná.

Autor correspondente:

Rubens Moreno de Freitas

Rua: Jacarezinho 656, Mercês

CEF: 80710-150

Curitiba - Paraná (Brasil).

E-mail: rubensmoreno@globo.com

## Introdução

O resultado estético é vital para obtermos sucesso com tratamento de implantes dentários, sendo necessário quantidade e qualidade óssea adequadas <sup>1</sup>. Várias técnicas cirúrgicas podem ser utilizadas para reconstruir o rebordo atrófico, isto é, técnicas isoladas ou associadas com enxerto ósseo autógeno, alógeno, biomateriais ósseos de origem xenógeno ou sintético <sup>2,3</sup>. Mais recentemente, proteínas morfogenéticas foram introduzidas com o objetivo de apoiar o potencial regenerativo natural de pacientes com necessidade de aumento ósseo <sup>4</sup>.

As proteínas morfogenéticas ósseas (*Bone Morphogenetic Protein* - BMP) são membros da superfamília do fator de crescimento transformador beta (TGF-  $\beta$ ) e citocinas essenciais envolvidas no desenvolvimento, homeostase e reparação do sistema músculo-esquelético, bem como, de outros tecidos <sup>5</sup>. São potentes agentes biológicos que podem induzir a formação óssea e eliminar a morbidade associada com enxerto ósseo autógeno <sup>6,7</sup>.

Em 1965, as BMPs foram identificadas por Urist <sup>8</sup>, que relatou a capacidade de uma matriz óssea desmineralizada induzir a diferenciação de cartilagem e de osso em uma localização extra-esquelética em roedores. Desde então, várias BMPs nativas foram purificadas ou obtidas por clonagem em sistemas de expressão, como a BMP-2 ou rhBMP-2 (proteína morfogenética óssea recombinante humana - 2), viabilizando seu uso clínico <sup>9-11</sup>.

A rhBMP-2 (*INFUSE*; Medtronic, Memphis, Tennessee USA) utilizada juntamente com a membrana de colágeno bovino (*Absorbable Collagen Sponge* - ACS) como agente carreador foi aprovada em 2007 pela FDA (*Food and Drug Administration*) para aumento de seio maxilar e alvéolo pós extração, após importantes publicações científicas mostrarem que rhBMP-2 / ACS produz resultados comparáveis com enxerto ósseo autógeno <sup>12-16</sup>.

Contudo, fatores de crescimento, como as BMPs, estimulam a proliferação de alguns tipos de células, sendo o seu potencial de estimulação ou progressão de neoplasmas um motivo de

preocupação<sup>5,17</sup>.

Cada vez mais eventos adversos atribuídos à utilização “*off-label*” de *BMP / INFUSE* na cirurgia da coluna cervical anterior estão sendo relatados<sup>17-19</sup>. Em 2008, a FDA<sup>20</sup> emitiu uma advertência sobre o risco de eventos adversos decorrentes da utilização de *BMP / INFUSE* nessas cirurgias, entre os quais o câncer, observado principalmente em formulações de alta dose.

Esta adversidade é consistente com estudos *in vitro*, mostrando que muitos tipos de câncer têm receptores de membrana celular para *BMP* que podem ser estimulados para promover desenvolvimento de neoplasias e metástase. Pode-se argumentar que a utilização dessas moléculas em altas concentrações não fisiológicas poderia predispor e induzir a carcinogênese em humanos<sup>21</sup>. Contudo, não se tem conhecimento de dados pré-clínicos que demonstrem que as *BMPs* podem induzir câncer<sup>17,21-23</sup>.

Em vista dos relatos sobre efeitos adversos, como o risco aumentado de câncer e outras complicações, se restringirem a usuários que se submeteram a cirurgia de fusão de coluna vertebral com a utilização de *rhBMP-2*, sem que haja relatos de efeitos semelhantes quando de sua utilização na região craniofacial, os dados reportados não podem ser imediatamente transpostos para a prática odontológica.

Assim, esse trabalho tem por objetivo apresentar aspectos imunológicos de pacientes submetidos ao enxerto com *rhBMP-2 / ACS*, empregado para aumento ósseo horizontal na região anterior da maxila, com base na avaliação dos níveis séricos de marcadores inflamatórios, como as citocinas *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$* , *TNF- $\alpha$*  e *IL-10*, representativos de possíveis reações imunológicas desencadeadas pelo enxerto da proteína recombinante em comparação com o enxerto ósseo autógeno.

## Material e Métodos

A metodologia de trabalho foi descrita anteriormente em detalhes<sup>16</sup> e realizada de maneira paralela com o presente estudo, o protocolo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Paulista, Brasil (CEP-FO / Car nº 32/2009). Em resumo, os indivíduos sofreram avaliação clínica e radiográfica no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia Oral da Universidade de Odontologia de Araraquara, de janeiro a outubro de 2011, sendo utilizados os seguintes critérios de inclusão: 18 anos de idade ou mais, boa saúde geral, sem história de doenças associadas ao osso ou uso de medicação que afetasse o metabolismo ósseo, sem história de câncer, sem gravidez ou aleitamento, sem história de tabagismo, nenhuma evidência clínica de periodontite ou infecções bucais e com largura do rebordo horizontal  $\leq 4$ mm na maxila anterior avaliada clinicamente e / ou usando tomografia computadorizada com feixe cone (CBCT).

Foi realizado um estudo randomizado, controlado, de grupo paralelo, aberto, com randomização simples. Os sujeitos foram randomizados em dois grupos. O grupo teste (rhBMP-2) recebeu rhBMP-2 (1,5 mg / ml) em um transportador de ACS (*INFUSE Bound Graft Small Kit, Medtronic, Memphis, TN, EUA*) para um total de 4,2 mg de rhBMP-2 por local. O grupo controle (AT) recebeu osso autógeno particulado coletado da região retromolar mandibular. Para o preparo da proteína recombinante a ser usada no procedimento cirúrgico, dois ACS foram carregados em imersão com 1,4 ml de rhBMP-2 reconstituídos e deixados em repouso durante 15 min antes da utilização. Em seguida, o rebordo alveolar foi decorticalizado, o biomaterial foi inserido, acomodado e fixado uma malha de titânio de 0,2 mm de espessura para fornecer espaço e estabilização do enxerto para aumento ósseo. Para o enxerto ósseo autógeno, os ossos foram coletados da área retromolar mandibular, particulados e então enxertados. Seis meses após os enxertos, foram instalados os implantes dentários.

### Amostragem e avaliação do sangue

A coleta de amostras, avaliações sanguíneas e imunológicas foram as mesmas anteriormente publicadas<sup>24</sup>. Resumidamente, 5 ml de sangue venoso foi coletado de todos os pacientes 7 dias antes dos enxertos (linha de base) e nos dias 7, 15, 30, 90 e 180 após o enxerto, respectivamente. As amostras de sangue foram coletadas em tubos com vácuo contendo EDTA / K3, sempre pela manhã, após 12 h de jejum e com o paciente em uma posição sentada. Após a coleta, as amostras foram armazenadas a 4 ° C e transportadas para o laboratório dentro de no máximo 30 min. Para a separação do plasma, as amostras foram centrifugadas a 1800 g durante 10 min, sob refrigeração. Os plasmas foram inativados em banho de 56 ° C durante 30 min, e depois separados em alíquotas de 350 µL, identificados e congelados a - 80 ° C. Os níveis séricos de interleucina 10 (IL-10), IL-1β, interferon γ (IFN-γ) e fator de necrose α (TNF-α) foram determinados por ensaios imunoenzimáticos (*ELISA*) utilizando kits específicos, de acordo com recomendações do fabricante (BD OptEIA ELISA Sets, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, EUA). As amostras foram corridas em duplicata, já que os testes foram similares, e as absorbâncias foram lidas dentro de 30 min após o bloqueio das reações a 450 nm, com correção a 570 nm, em leitor de *ELISA* (Multiskan MS, Labsystems, Helsinki, Finland).

### Estimativa do tamanho amostra

A amostra foi a mesma do artigo já publicado<sup>16</sup>, portanto um cálculo amostral específico não foi realizado.

### Análise de dados

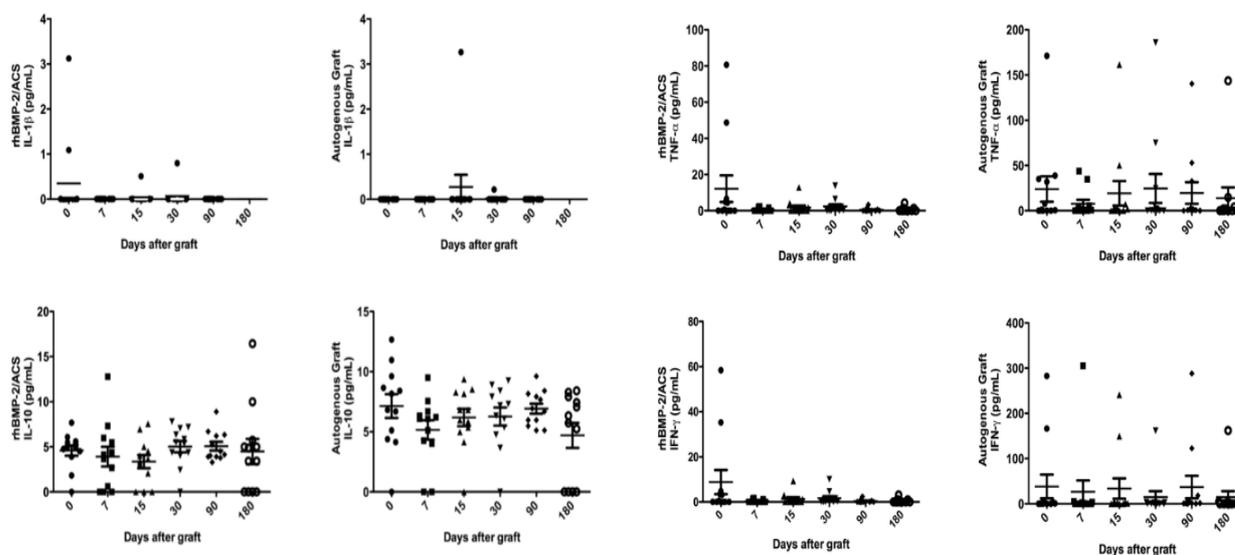
As análises duplicadas foram calculadas para representar a unidade de amostra. O marcador de dados em cada período de observação para os grupos rhBMP-2 e AT foi expresso como medições, médias e desvios padrão. O software comercialmente disponível

(GraphPadPrism 5.0 para Windows, GraphPad SoftwareInc., EUA) foi utilizado para comparações entre grupos e para desenhar os gráficos. Para análises de teste de normalidade (D'Agostino & Pearson omnibus normalitytest). Para todos os parâmetros avaliados, os dados não são normalmente distribuídos. O Mann-Whitney teste foi utilizado para comparações pareadas, enquanto o teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunns pós-teste foi utilizado para comparações múltiplas (Dados longitudinais). É reconhecido que o uso de um teste para dados dependentes seria mais apropriado para avaliar os dados dos vários pontos de tempo. No entanto, em vários casos, pacientes individuais faltaram um dos exames de coleta de sangue. Assim, se fosse incluído apenas pacientes com conjuntos de dados completos, conforme requer um teste de dados dependentes, seria perdido 25% da informação disponível. O significado estatístico foi estabelecido em 5% ( $P < 0,05$ ).

## **Resultados**

Conforme relatado anteriormente, um indivíduo do grupo do enxerto ósseo autógeno foi diagnosticado com diabetes tipo II com nível de glicose em jejum variando entre 128 e 184 mg / dl durante o período experimental. Os níveis de glicose para todos os outros indivíduos permaneceram consistentemente abaixo de 126 mg / dl ao longo do estudo.

Complicações inesperadas não foram observadas <sup>16</sup>.



**Figura 1:** *Interleucina 10, Interleucina 1β, Interferon-γ e Fator de Necrose Tumoral α.*

Todos os sujeitos incluídos neste estudo completaram o acompanhamento sorológico de 180 dias. Os plasmas coletados foram utilizados para a detecção de IL-10, IL-1β, IFN-γ e TNF-α, citocinas envolvidas em respostas inflamatórias a enxertos, através de reações de *ELISA*. Os resultados desses ensaios são apresentados na Figura 1. Apesar das variações individuais observadas, os níveis de *IL-10*, *IL-1β*, *IFN-γ* e *TNF-α* encontrados nos pacientes de ambos os grupos estavam dentro dos aceitos como normais na literatura. Na comparação entre grupos, e em todos os períodos avaliados, as maiores variações dos parâmetros analisados foram observadas dentro do grupo de indivíduos enxertados com osso autógeno, que apresentaram níveis de citocinas mais elevados do que os do grupo *rhBMP-2*. Entretanto, as diferenças observadas entre os grupos não foram estatisticamente significativas. Nas comparações intragrupo, também não foi possível observar diferenças significativas nos níveis séricos de qualquer das citocinas estudadas ao longo de todo o período de observação, desde antes dos procedimentos de enxerto (linha de base). Esses resultados mostram que ambos os tipos de enxerto não produziram alterações nos níveis séricos das citocinas analisadas para além dos níveis normalmente encontrados no plasma.

## Discussão

O objetivo deste trabalho foi comparar os efeitos inflamatórios sistêmicos do enxerto de *rhBMP-2 / ACS* em comparação com o de enxerto ósseo autógeno utilizados para aumento ósseo em espessura na região anterior da maxila, com base na avaliação quantitativa de *IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$*  séricas. Salvo melhor entendimento, este é o primeiro ensaio clínico randomizado avaliando estes marcadores imunológicos em cirurgias com *rhBMP-2 / ACS*. A maioria dessas citocinas está envolvida na ativação ou supressão do sistema imune, na indução de divisão celular, no combate a patógenos intracelulares e tumores<sup>25,26</sup>. Os aumentos nos níveis de *IL-1 $\beta$* , *IL-10*, e *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$*  têm sido ligados a malignidades invasivas, infecções virais e bacterianas, situações nas quais estimulam as respostas imunes efetoras<sup>25-29</sup>.

Nos últimos anos, o uso do *rhBMP-2* vem sendo amplamente estudado por representar um potencial regenerador ósseo alternativo ao enxerto ósseo autógeno<sup>30</sup>, até então considerado como “padrão ouro” em uso odontológico<sup>7,14,31</sup>. Como vantagens do *rhBMP-2* pode-se destacar, morbidade diminuída, pois não tem necessidade de um local doador secundário, diminuição dos riscos de lesão do nervo alveolar inferior e menor tempo cirúrgico<sup>6,15,17,32</sup>. Além disso,<sup>33</sup> as taxas de osseointegração em área regenerada com *rhBMP-2* alcançaram 87,4% de sucesso e a sobrevivência dos implantes submetidos à carga mastigatória apresentaram 83,65% de sucesso, níveis estes comparáveis ao osso autógeno<sup>32</sup>, sendo que alguns artigos demonstram a superioridade do *rhBMP-2* nesse aspecto com resultados comparáveis ao osso nativo<sup>6,13,15,16,32,34</sup>.

A preocupação com a segurança deve estar sempre presente no uso clínico de produtos biológicos, razão pela qual a maioria dos autores mostra excelente registro de segurança quando da utilização de *rhBMP-2* em coluna vertebral<sup>6,17,32,35,36</sup>. Porém, efeitos adversos relacionados ao uso de *rhBMP-2 / ACS* em cirurgias de coluna vertebral provocaram controvérsias<sup>37</sup>. Embora alguns

estudos tenham relatado reações adversas equivalentes aos alcançados com osso autógeno<sup>38</sup>, outros estudos encontraram maiores complicações, como, formação óssea ectópica, reabsorção óssea ou remodelação no local do enxerto, hematoma e inchaço do pescoço<sup>17,37</sup>. Outras potenciais preocupações em enxertos com *rhBMP-2* incluem a indução de uma resposta imunológica alterada, carcinogênese<sup>5,17,21,37,39,40</sup> e efeitos teratogênicos<sup>17</sup>, visto que a proteína recombinante pode influenciar na diferenciação de células em desenvolvimento, incluindo as células do sistema nervoso, e que os receptores de *BMP* estão presentes no embrião humano em desenvolvimento. Além disso, tem sido observado osteólise, radiculite e ejaculação retrógrada entre as reações adversas após o uso de *rhBMP-2* em fusão de coluna vertebral<sup>6,36,37,41</sup> e risco de disfagia ou disfonia em fusão de coluna cervical anterior<sup>35,37</sup>. Alguns estudos, no entanto, não associaram o uso de *rhBMP-2* a uma maior incidência de câncer quando comparado ao de osso autógeno<sup>6,17,21-23,32,35,36,38,41</sup>.

Algumas evidências indicam papel modulador importante do *BMP* no desenvolvimento de neoplasmas e metástases, tanto para promover quanto suprimir o processo oncogênico, a depender da dose, do tipo de célula ou tecido e do ambiente circundante<sup>5,17</sup>. Além dos fatores mencionados, mutações, variantes de SNP, micro-RNAs e regulação epigenética também devem ser levados em consideração para esclarecer o papel das *BMPs* no câncer<sup>5</sup>. Embora alguns estudos tenham encontrado associação com neoplasias, ainda não se tem demonstração de indução neoplásica específica por *rhBMP-2*, além de se constatar grande variabilidade nos dados reportados, incluindo documentação incompleta, e outros vieses inerentes ao grande número de testes financiados diretamente pelo fabricante do produto<sup>5,21</sup>. Os dados relativos ao uso de *rhBMP-2* em indicações craniofaciais são limitados. Contudo, efeitos colaterais graves e complicações nunca foram relatados nas cirurgias craniofaciais<sup>33</sup>. Portanto, contraindicações ao seu uso ainda não podem ser adotadas na prática em odontologia. Estudos intra-orais com *rhBMP-2* mostram excelente registro de segurança, sem eventos adversos consideráveis<sup>12-16,32-34,42,43,45</sup>.

No presente estudo, realizamos enxertos de 1,5mg/ml de rhBMP-2/ ACS, dose utilizada em estudos prévios sem eventos adversos significativos e que propiciou uma quantidade e qualidade satisfatória de aumento ósseo <sup>7,14,15,32</sup>. Doses assim reduzidas de *rhBMP-2*, comparadas com as empregadas em cirurgias ortopédicas, podem prevenir eventuais problemas de segurança nas cirurgias odontológicas <sup>21,37,39</sup>. Alguns autores também salientam a importância do carreador para o sucesso da regeneração óssea induzida por *rhBMP-2*. Carreadores que promovem a liberação lenta da proteína fornecem um ótimo efeito biológico em contraste com aqueles que permitem alta concentração local do produto, geralmente associada a eventos adversos <sup>7,44</sup>. Indo ao encontro da maioria dos trabalhos publicados <sup>7,12-16,32,34,44,45</sup>, neste estudo também foi utilizado o carreador *ACS* como meio de vincular o material.

Como descrito anteriormente <sup>16</sup>, as complicações clínicas mais comuns observadas nos pacientes deste estudo incluíram inflamação da face, edema local e / ou eritema, tendo sido mais frequentes e graves nos indivíduos que receberam *rhBMP-2 / ACS*. No entanto, a reação inflamatória local resultou em formação óssea e não em destruição, o que está de acordo com a literatura pertinente <sup>46</sup>, embora eventos adversos como perda sensorial, dor e comprometimento facial significativo tenham sido transitoriamente observados em alguns indivíduos <sup>7,12-14,16,33,34,45,47</sup> e deiscência <sup>14,16,48</sup>. Alguns eventos sistêmicos também foram reportados após o uso intra-oral de *rhBMP-2*, tais como febre e colite e um caso de infecção grave após a cirurgia <sup>48</sup>. As complicações pós-cirúrgicas observadas no presente estudo foram, no entanto, resolvidas dentro de 1 semana para indivíduos que receberam enxertos ósseos autógenos e em um intervalo de 2 semanas para indivíduos que receberam *rhBMP-2 / ACS*.

Como reportado anteriormente, durante o período de seis meses de acompanhamento, os pacientes deste estudo não experimentaram eventos adversos inesperados nem alterações clinicamente significativas na contagem de células e química do sangue. No presente trabalho, também não observamos alterações inflamatórias sistêmicas significativas em resposta ao

*rhBMP-2* comparado com enxerto ósseo autógeno. Nenhum dos 12 pacientes que receberam *rhBMP-2* mostrou qualquer alteração nos marcadores imunológicos avaliados, os quais permaneceram dentro de níveis normais. Esses achados corroboram dados de literatura mostrando ausência de uma resposta imune notável após o uso intra-oral de *rhBMP-2/ACS*<sup>15,24,33,34,47</sup>. Avaliações dos mesmos mediadores imunológicos<sup>24</sup> (*IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$*  e *TNF- $\alpha$* ) em cirurgias de enxertos orais alógenos e autógenos mostraram resultados semelhantes aos encontrados em enxertos autógenos realizados no presente estudo.

A utilização de osso homólogo em enxertos intra-orais também não parece comprometer significativamente o sistema imunológico do paciente transplantado, a despeito do desequilíbrio no complexo principal de histocompatibilidade (ou antígeno humano, HLA) entre doador e o hospedeiro<sup>50</sup>. Por outro lado, o uso de *ACS* como carreador de *rhBMP-2* pode, em tese, resultar em respostas imunes contra o colágeno bovino do tipo I. Alguns estudos, no entanto, mostram que o uso de *ACS* não resulta em alterações imunológicas graves ou inesperadas<sup>12-14,47,48</sup>, quando se avalia hemograma completo, bioquímica sanguínea e exames de urina, embora indivíduos que receberam *ACS*, tanto associado a *rhBMP-2* quanto a osso autógeno, tenham desenvolvido anticorpos contra o colágeno bovino. Por outro lado, a formação de anticorpos contra *rhBMP-2* parece ser um evento raro<sup>13-16,33,47</sup>, bem como não se observa variações nos números de granulócitos, células B, células estaminais, células T<sup>51</sup>. Apesar disso, alguns autores consideram que o desenvolvimento de anticorpos contra *rhBMP-2* colágeno bovino tipo I e colágeno anti-humano tipo I podem afetar potencialmente a segurança e a eficácia do *rhBMP-2*<sup>30</sup>.

A ausência de alteração nos níveis séricos de *TNF- $\alpha$*  está associada à manutenção do volume ou ganho ósseo encontrado neste estudo, em ambos os tratamentos, já que a citocina é um marcador de reabsorção óssea ativada através da indução de osteoclastogênese, atuando diretamente em células precursoras osteoclásticas ou da estimulação da expressão de *RANKL* (fator nuclear de ligação)<sup>27</sup>. O *TNF- $\alpha$*  também pode inibir diretamente a atividade osteoblástica

ao inibir a síntese de colágeno, e indiretamente ao regular a diferenciação pré-osteoblástica <sup>27</sup>.

Embora outros fatores também possam ser considerados, os marcadores aqui avaliados são altamente representativos de quaisquer possíveis reações imunológicas devido ao enxerto ósseo <sup>24</sup>. Neste contexto, o período de 180 dias de observação escolhido para esta análise estava destinado a avaliar possíveis reações imunológicas ao longo da fase de incorporação / remodelação dos enxertos ósseos até o posicionamento do implante. Um período de avaliação anterior a 7 dias não foi escolhido para evitar / minimizar a confusão dos procedimentos cirúrgicos.

Os pontos fortes metodológicos para este estudo incluem o uso de enxerto ósseo autógeno como grupo de comparação, pois não há preocupações imunológicas quanto ao seu uso <sup>52</sup> e a randomização de tratamentos. Já, as limitações incluem a natureza aberta do estudo, o pequeno tamanho da amostra e a abrangência das citocinas escolhidas, podendo haver outros marcadores inflamatórios importantes a se considerar no início da cicatrização.

## **Conclusão**

O enxerto de *rhBMP-2/ACS* utilizado em região anterior de maxila com a finalidade de se obter aumento ósseo horizontal apresenta resultados semelhantes ao enxerto ósseo autógeno e não promove alterações relevantes a nível sistêmico, considerando os marcadores utilizados em um período de 180 dias.

## Referências

1. Polido WD, Marine E. Enxertos ósseos do ramo mandibular com finalidade estética. In: Dinato JC, Polido W. *Implantes ósseointegrados cirurgia e prótese*. São Paulo: Artes Médicas, 2004:261-82.
2. Misch CM, Misch CE, Resnik RR, Ismail YH. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphysis grafts for dental implants: a preliminary procedural report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1992;7(3):360-6.
3. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24(suppl):237–59.
4. Wikesjö UM, Qahash M, Huang YH, Xiropaidis A, Polimeni G, Susin C. Bone morphogenetic proteins for periodontal and alveolar indications; biological observations – clinical implications. *Orthod Craniofac Res*. 2009; 12(3):263– 70.
5. Bami M, Mavrogenis AF, Angelini A, Milonaki M, Mitsiokapa E, Stamoulis D, Soucacos PN. Bone morphogenetic protein signaling in musculoskeletal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016;142(10):2061-72.
6. Burkus JK, Heim SE, Gornet MF, Zdeblick TA. Is INFUSE bone graft superior to autograft bone? An integrated analysis of clinical trials using the LT-CAGE lumbar tapered fusion device. *J Spinal Disord Tech*. 2003;16(2):113-22.
7. de Freitas RM, Susin C, Spin-Neto R, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of-concept randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40(10):968-75.
8. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965; 150(3698):893–9.
9. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*. 1988; 242(4885):1528–34.
10. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Nat Acad Sci*. 1990;87(6):2220-4.
11. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev*. 1992;32(2):160–7.
12. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1997;17(1):11–25.
13. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, Malmquist J, Lilly LC, Spagnoli D, et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol*. 2005;76(4):605–13.

14. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(12):1693-707.
15. Triplett RG, Nevins M, Marx RE, Spagnoli DB, Oates TW, Moy PK, et al. Pivotal, randomized, parallel evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2/absorbable collagen sponge and autogenous bone graft for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(9):1947-60
16. de Freitas RM, Susin C, Spin-Neto R, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of-concept randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40(10):968-75.
17. Benglis D, Wang MY, Levi AD. A comprehensive review of the safety profile of bone morphogenetic protein in spine surgery. *Neurosurgery*. 2008;62(5 Suppl 2):ONS423-31; discussion ONS431.
18. Wikesjö UM, Xiropaidis AV, Thomson RC, Cook AD, Selvig KA, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: space-providing ePTFE devices increase rhBMP-2/ACS-induced bone formation. *J Clin Periodontol*. 2003;30(8):715-25.
19. Carter TG, Brar PS, Tolas A, Beirne OR. Off-label use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) for reconstruction of mandibular bone defects in humans. *Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(7), 1417–25.
20. Food and drug administration. Recombinant human bone morphogenetic protein in cervical spine fusion. Silver Spring, MD: U.S. Food and Drug Administration; 2008. Disponível em: [www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm079019.htm](http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm079019.htm).
21. Pountos I, Panteli M, Georgouli T, Giannoudis PV. Neoplasia following use of BMPs: is there an increased risk? *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13(11):1525-34.
22. Thawani JP, Wang AC, Than KD, Lin CY, La Marca F, Park P. Bone morphogenetic proteins and cancer: review of the literature. *Neurosurgery*. 2010;66(2):233-46.
23. Smoljanovic T, Bicanic G, Bojanic I. Update of comprehensive review of the safety profile of bone morphogenetic protein in spine surgery. *Neurosurgery*. 2010;66(5):E1030; author reply E1030.
24. Spin-Neto R, Stavropoulos A, de Freitas RM, Pereira LA, Carlos IZ, Marcantonio E Jr. Immunological aspects of fresh-frozen allogeneic bone grafting for lateral ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(9):963-8.
25. Kicielińska J, Pajtasz-Piasecka E. The role of IL-10 in the modulation of the immune response in normal conditions and the tumor environment. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2014;68:879-92. Review. Polish.

26. Palomo J, Dietrich D, Martin P, Palmer G, Gabay C. The interleukin (IL)-1 cytokine family-Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015;76(1):25-37.
27. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev*. 2008;29(4):403-40.
28. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*. 2015;27;302:2-22.
29. Aqbi HF, Wallace M, Sappal S, Payne KK, Manjili MH. IFN- $\gamma$  orchestrates tumor elimination, tumor dormancy, tumor escape, and progression. *J Leukoc Biol*. 2018. doi: 10.1002/JLB.5MIR0917-351R.
30. Gomes-Ferreira PH, Okamoto R, Ferreira S, De Oliveira D, Momesso GA, Faverani LP. Scientific evidence on the use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in oral and maxillofacial surgery. *Oral Maxillofac Surg*. 2016;20(3):223-32. doi: 10.1007/s10006-016-0563-4. Epub 2016 May 29. *Oral Maxillofac Surg*. 2016 Sep;20(3):223-32.
31. Brånemark PI, Lindström J, Hallén O, Breine U, Jeppson PH, Ohman A. Reconstruction of the defective mandible. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1975;9(2):116-28.
32. McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE Bone Graft). *Int Orthop*. 2007;31(6):729-34.
33. de Queiroz Fernandes J, de Lima VN, Bonardi JP, Filho OM, Queiroz SBF. Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review. *J Maxillofac Oral Surg*. 2018;17(1):13-18.
34. Cochran DL, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. *J Periodontol*. 2000;71(8):1241-57.
35. Fu R, Selph S, McDonagh M, Peterson K, Tiwari A, Chou R, Helfand M. Effectiveness and harms of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine fusion: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;18;158(12):890-902.
36. Simmonds MC, Brown JV, Heirs MK, Higgins JP, Mannion RJ, Rodgers MA, et al. Safety and effectiveness of recombinant human bone morphogenetic protein-2 for spinal fusion: a meta-analysis of individual-participant data. *Ann Intern Med*. 2013;18;158(12):877-89. doi: 10.7326/0003-4819-158-12-201306180-00005.
37. Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. *Spine J*. 2011;11(6):471-91.

38. Kelly MP, Savage JW, Bentzen SM, Hsu WK, Ellison SA, Anderson PA. Cancer risk from bone morphogenetic protein exposure in spinal arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am.* 2014;3;96(17):1417-22.
39. Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. *Spine J.* 2011;11(6):471-91.
40. Low J, Ross JS, Ritchie JD, Gross CP, Lehman R, Lin H, Fu R, Stewart LA, Krumholz HM. Comparison of two independent systematic reviews of trials of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2): the Yale Open Data Access Medtronic Project. *Syst Rev.* 2017; 15;6(1):28.
41. Dimar JR, Glassman SD, Burkus JK, Pryor PW, Hardacker JW, Carreon LY. Clinical and radiographic analysis of an optimized rhBMP-2 formulation as an autograft replacement in posterolateral lumbar spine arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am.* 2009;91(6):1377-86.
42. Misch CM, Jensen OT, Pikos MA, Malmquist JP. Vertical bone augmentation using recombinant bone morphogenetic protein, mineralized bone allograft, and titanium mesh: a retrospective cone beam computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(1):202-7.
43. Lin GH, Lim G, Chan HL, Giannobile WV, Wang HL. Recombinant human bone morphogenetic protein 2 outcomes for maxillary sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(11):1349-59.
44. Kelly MP, Vaughn OL, Anderson PA. Systematic review and meta-analysis of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in localized alveolar ridge and maxillary sinus augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016;74(5):928-39.
45. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, et al: A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997;17:124.
46. de Freitas RM, Susin C, Tamashiro WM, Chaves de Souza JA, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, Marcantonio E Jr. Histological analysis and gene expression profile following augmentation of the anterior maxilla using rhBMP-2/ACS versus autogenous bone graft. *J Clin Periodontol.* 2016;43(12):1200-1207.
47. Kim YJ, Lee JY, Kim JE, Park JC, Shin SW, Cho KS. Ridge preservation using demineralized bone matrix gel with recombinant human bone morphogenetic protein-2 after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(7):1281-90.
48. Moslemi N, Khoshkam V, Rafiee S, Bahrami N, Aslroosta H. Outcomes of alveolar ridge preservation with recombinant human bone morphogenetic protein-2: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2018. doi: 10.1097/ID.0000000000000722. [Epub ahead of print].

49. Woo EJ. Adverse events reported after the use of recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70(4):765-7.
50. Graham SM, Leonidou A, Aslam-Pervez N, Hamza A, Panteliadis P, Heliotis M, Mantalaris A, Tsiridis E. Biological therapy of bone defects: the immunology of bone allo- transplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2010;10(6):885-901.
51. Wilke A, Traub F, Kienapfel H, Griss P. Cell differentiation under the influence of rh-BMP-2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;29;284(5):1093-7.
52. Williams A, Szabo RM. Bone transplantation. *Orthopedics.* 2004;27(5):488-95; quiz 496-7.

## 5.2 Artigo Científico 2

Artigo elaborado segundo as normas da revista *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants (JOMI)*

### **Análise de elementos finitos do estresse nos componentes protéticos e na prótese implantossuportada - Parte II**

Ana Daisy Zacharias <sup>1</sup>, Rubens Moreno de Freitas <sup>2</sup> Leandro Eduardo Klüppel <sup>3</sup> Fernando Anunziato ogg de Salles Santos <sup>4</sup>

1

Aluna do curso de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Implantodontia, na Faculdade ILAPEO (Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico), Curitiba, Paraná.

2

Doutor em Implantodontia (Faculdade UNESP), Professor do Mestrado da Faculdade ILAPEO, Curitiba, Paraná.

3

Professor do curso de Mestrado da Faculdade ILAPEO, Curitiba, Paraná.

4

Aluno do curso de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Implantodontia ILAPEO, Curitiba-PR, Brasil.

Autor correspondente:

Ana Daisy Zacharias

Rua: 14 de Dezembro, 96 - centro

84635-000 -Paulo Frontin – PR/Brasil

[anadaisy@yaho.com.br](mailto:anadaisy@yaho.com.br)

## Resumo

O presente trabalho tem por objetivo a avaliação da distribuição de tensão nos componentes, parafusos protéticos e barra protética em reabilitações totais de mandíbulas atroficas com diferentes configurações de implantes. Através da análise de elementos finitos (AEF), quatro grupos foram simulados com variação na distribuição, quantidade e inclinação de implantes instalados em mandíbula atrofica com seus respectivos componentes, barra protética e prótese. Utilizando dados pré-existentes da tomografia de uma mandíbula atrofica, na tentativa de reproduzir o comportamento ósseo, sendo incorporado as características isotrópicas para osso cortical e esponjoso e acrescentados os dados dos implantes titamax *Gran Morse* (GM) de 3,5x7mm (Neodent®, Curitiba, Brasil), mini-pilar cônico GM, mini-pilar cônico angulado GM de trinta graus (Neodent®, Curitiba, Brasil) e parafusos protéticos (Neodent®, Curitiba, Brasil), cada grupo foi testado para avaliação das distribuições de forças através da AEF. Quatro diferentes configurações de implantes intraforaminais foram testadas, com o número de implantes variando de três a quatro, e os implantes distais inseridos paralelamente aos outros implantes ou inclinados distalmente em 30 graus. Foi projetada uma barra protética sobre os componentes protéticos, com 20 mm de cantiléver posterior para as configurações de implantes paralelos, sendo reduzido nos grupos com os implantes distais inclinados proporcionalmente a inclinação dos mesmos, e simulado uma carga nas distais dos cantilêveres de 200N/cm em cada lado. Os estresses foram mensurados ao nível da plataforma do mini-pilar, nos parafusos protéticos e na barra protética e tiveram os seguintes resultados: a configuração com quatro implantes paralelos apresentou menor tensão nos mini-pilares, parafusos protéticos e barra protética em comparação com a configuração com três implantes paralelos. As distribuições de implantes com o implante distal inclinado resultou em uma redução favorável no mini-pilar, parafuso protético e barra protética, quando comparado com os implantes retos. E a configuração de 4 implantes com os distais inclinados demonstrou uma redução favorável na tensão das estruturas protéticas quando comparado com as demais configurações.

Palavras-chave: análise de elementos finitos, mandíbula, implantes dentários, pilar protético

## Introdução

A utilização de implantes osseointegrados foi primeiramente proposta por Branemark e colaboradores com o intuito de reabilitar mandíbulas edêntulas através de próteses fixadas aos implantes, e teve seus primeiros resultados clínicos publicados no início dos anos 80<sup>1</sup>. O tratamento consistia na instalação de cinco ou seis implantes na região interforame mentoniano, com período de três meses de espera para reparação óssea e confecção de próteses fixas<sup>2</sup>. Consequentemente, cantiléver de até 20mm de comprimento eram necessários para confeccionar próteses que reproduzissem os elementos dentais até a região dos molares<sup>3</sup>.

Visto, que à presença do canal mandibular e do nervo mental na região posterior da mandíbula impossibilitam a instalação de implantes posteriores, se faz necessário o cantiléver<sup>3</sup>. Alguns pesquisadores sugerem a utilização de 4 implantes intraforaminais, com implantes distais inclinados em 30 graus, na busca por melhor distribuição dos implantes, adequada estabilidade primária e redução do cantiléver<sup>4,5</sup>.

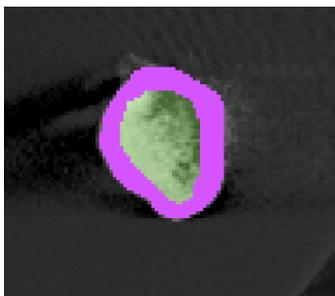
As distribuições de tensões geradas em próteses de arcos totais podem ser influenciadas pela quantidade, inclinação e distribuição dos implantes, a extensão do cantiléver, o material da infraestrutura da prótese, a forma de união dos implantes, assim como uma prótese com material restaurador com baixo módulo de elasticidade apresenta melhor distribuição de tensão entre os componentes, implantes e tecido ósseo<sup>2,6-8</sup>. Aliado a necessidade do conhecimento do tipo de antagonista, posição do implante em relação à prótese<sup>9</sup>, densidade óssea e interface osso-implante<sup>10</sup>. Uma prótese bem planejada e bem executada é essencial para evitar forças excessivas e desnecessárias, que podem causar estresse ao longo do tecido ósseo periimplantar resultando em reabsorção óssea e perda de implantes.

Apesar da heterogeneidade do tecido ósseo da maxila e mandíbula<sup>6</sup> e a dificuldade de avaliar os efeitos dos tecidos moles, que trazem dificuldades para determinação das distribuições de tensões, análises *in vitro* podem ser utilizadas<sup>11,12,13</sup>, entre elas estão os estudos em Análise de Elementos Finitos (AEF), que tem contribuído para avaliar a distribuição de forças no osso humano, nos implantes dentários e componentes protéticos<sup>2,14-19</sup>.

Este trabalho tem por objetivo, comparar diferentes configurações de implantes para reabilitações totais de mandíbulas atroficas em um modelo 3D, obtido a partir de dados tomográficos na tentativa de reproduzir o comportamento ósseo mandibular, sendo analisado a distribuição da tensão nos componentes, parafusos protéticos e na barra protética, sob funcionalidade simulada através do método de AEF.

## **Materiais e métodos**

Neste estudo foi utilizado a tecnologia computacional para análise de diferentes configurações de implantes para reabilitação de mandíbulas atroficas. Foram realizadas a partir de imagens tomográficas pré-existentes de uma mandíbula atrofica com cortes em tamanho real de 1:1, com 1 mm de espessura, em formato *Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM)*, assim exportadas para o *software Invesalius*, onde as partes corticais e medulares das imagens foram segmentadas (Figura 1) para obtenção dos dados das diferentes propriedades ósseas e geração de um modelo sólido tridimensional.



**Figura 1:** Corte tomográfico com osso cortical e medular segmentado.

Em seguida, o arquivo gerado com os dados do modelo foi exportado em formato *Standard Triangle Language (STL)* para o *software Solidworks* onde foram posicionados os implantes, componentes e prótese sobre a mandíbula a partir dos dados fornecidos pelo fabricante (Neodent, Curitiba, Brasil). Este arquivo, foi então exportado para o *software Ansys Workbench 10 (Swanson Analysis Systems Inc. Houston/PA, EUA)* onde foi realizado através da AEF as simulações de carga e verificado a distribuição de forças biomecânicas em todo o conjunto, e mais especificamente nas regiões a serem avaliadas neste estudo.

Ainda para a confecção dos modelos virtuais foram necessários valores das propriedades mecânicas de todos os materiais envolvidos, para a simulação das forças aplicadas e a análise da distribuição das tensões geradas nas estruturas<sup>20,21</sup> (Tabela1).

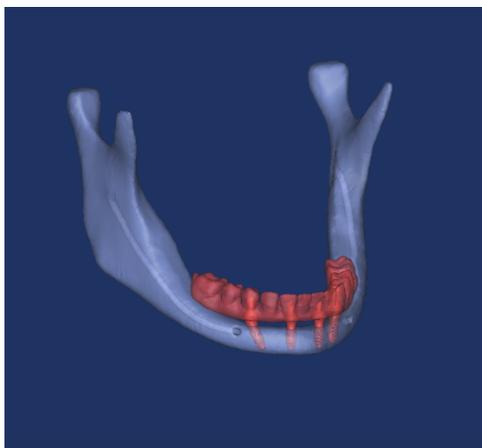
Estrutura	E (GPa)	$\nu$
Osso cortical	13.7	0.3
Osso medular	1.37	0.3
Implante	103.4	0.35
Mini-pilar	103.4	0.35
Parafuso protético	103.4	0.35
Barra protética (CoCr)	185	0.35
Resina acrílica	8.3	0.28
Dentes artificiais	8.3	0.28

**Tabela 1** – Propriedades mecânicas dos materiais. E= módulo de elasticidade.  $\nu$ = coeficiente de Poisson.

Todos os materiais utilizados, foram considerados como isotrópicos, homogêneos e linearmente elásticos, utilizando a metodologia relatada anteriormente<sup>22</sup>.

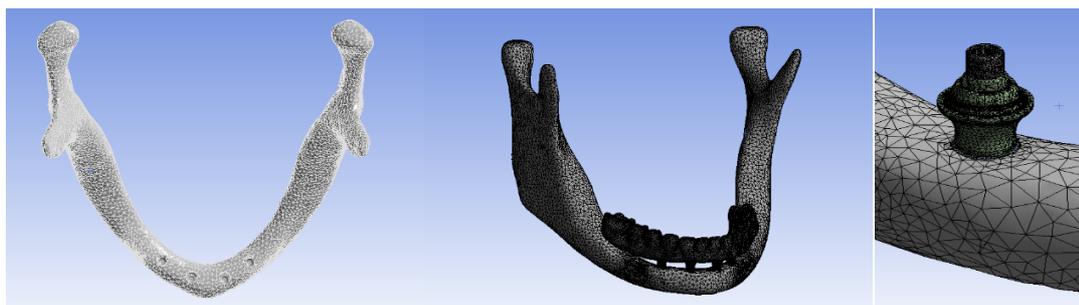
Para simulação clínica estudada a AEF foi conduzida em quatro diferentes configurações de implantes instalados na região interforame mentoniana, sendo estes, modelos clínicos a serem utilizados em reabilitações totais de mandíbula em que a prótese total fixa está planejada com seus respectivos componentes protéticos (Figura 2). Os grupos foram divididos conforme a quantidade, distribuição e inclinação realizada nos implantes distais. No (grupo 1) foram instalados 3 implantes Titamax GM (*Gran Morse*) de 3,5x7mm (Neodent®, Curitiba, Brasil) paralelos entre si, com mini-pilar cônico GM de 2,5mm (Neodent®, Curitiba, Brasil). No (grupo 2) 3 implantes Titamax GM de 3,5x7mm foram instalados, com os implantes distais inclinados em trinta graus, e o mini-pilar cônico GM angulado de trinta graus com transmucoso de 2,5mm (Neodent®, Curitiba, Brasil). No (grupo 3) 4 implantes Titamax GM de 3,5x7mm com os implantes distais inclinados em trinta graus, mini-pilar cônico GM angulado de trinta graus com transmucoso de 2,5mm (Neodent®, Curitiba, Brasil). No (grupo 4) foram instalados

4 implantes Titamax GM de 3,5x7mm (Neodent®, Curitiba, Brasil) paralelos entre si, com mini-pilar cônico GM de 2,5mm (Neodent®, Curitiba, Brasil).



**Figura 2** - Modelo virtual tridimensional representando a mandíbula edêntula com uma configuração de implantes e estruturas protéticas.

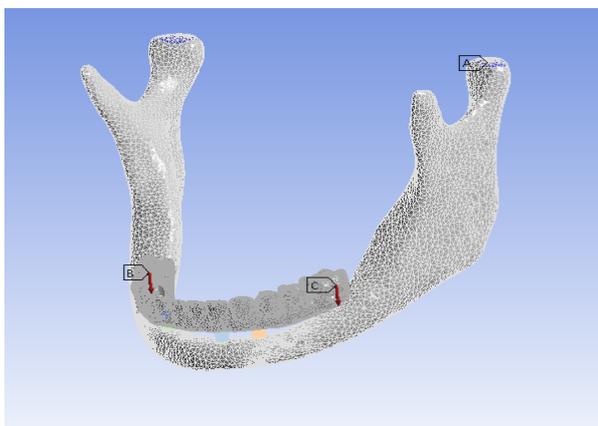
A infraestrutura da prótese de *CoCr* foi modelada sobre os componentes protéticos seguindo a disposição dos implantes e acompanhando a anatomia da crista da mandíbula (Figuras 3, 4 e 5).



**Figura 3** - Modelo tridimensional após a geração da malha, representando uma mandíbula edêntula com implantes intraforaminais. **Figura 4** - Uma estrutura geométrica conectada com todos os implantes simulando os cantilévers. **Figura 5** - Modelo com vista aproximada ilustrando a malha gerada ao redor do mini-pilar e cortical óssea.

O cantiléver foi simulado sobre a barra protética com 20mm em ambos os lados para configurações de implantes paralelos e foi reduzido a 16,41mm nas reabilitações com implantes inclinados, sendo o mesmo cantiléver com 3 ou 4 implantes. As próteses foram simuladas em acrílico sobre a infraestrutura da barra e os implantes foram assumidos como completamente osseointegrados, colados à interface óssea e a infraestrutura protética assentada e passiva. A mandíbula foi considerada como uma estrutura fixa sem liberdade de movimento<sup>14</sup> e o modelo incorporou 1.354.232 elementos e 2.244.408 nós.

As forças aplicadas foram na tentativa de simular a mastigação de um ser humano adulto, sendo aplicado 200 N/cm nas distais da barra protética, com uma direção definida<sup>2</sup> (Figura 6) e a superfície oclusal dos dentes auxiliando como um anteparo<sup>23</sup>.



**Figura 6** - Modelo tridimensional mostrando as forças aplicadas na distal da barra protética.

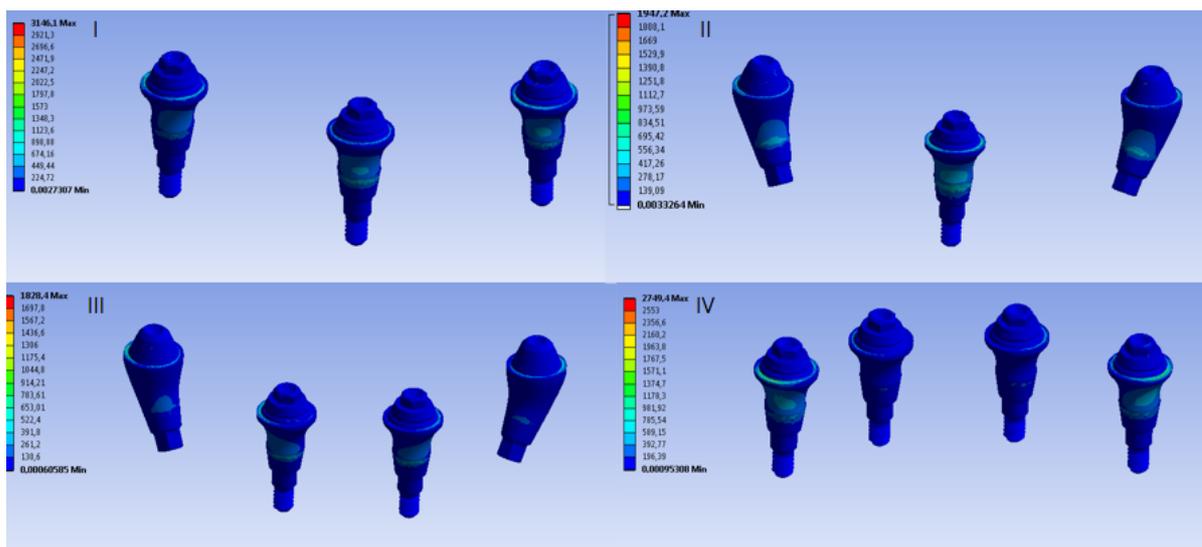
Foi realizado através da AEF as simulações de carga e a distribuição de forças biomecânicas em todo o conjunto, especificamente nas regiões de osso, implante, mini-pilar, parafuso e prótese adjacente.

A importação dos modelos em 3D, e carregamento no *Ansys Workbench* teve uma duração de cerca de 1 minuto e o processamento da simulação levou aproximadamente 45

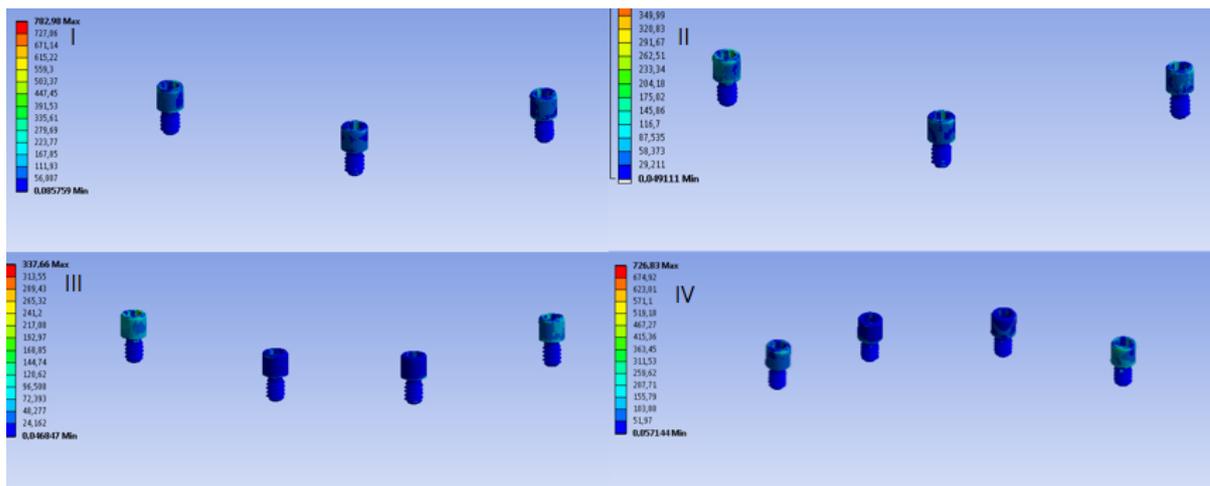
minutos. Como resultado, as malhas foram geradas e os elementos com as propriedades mecânicas desejadas.

## Resultados

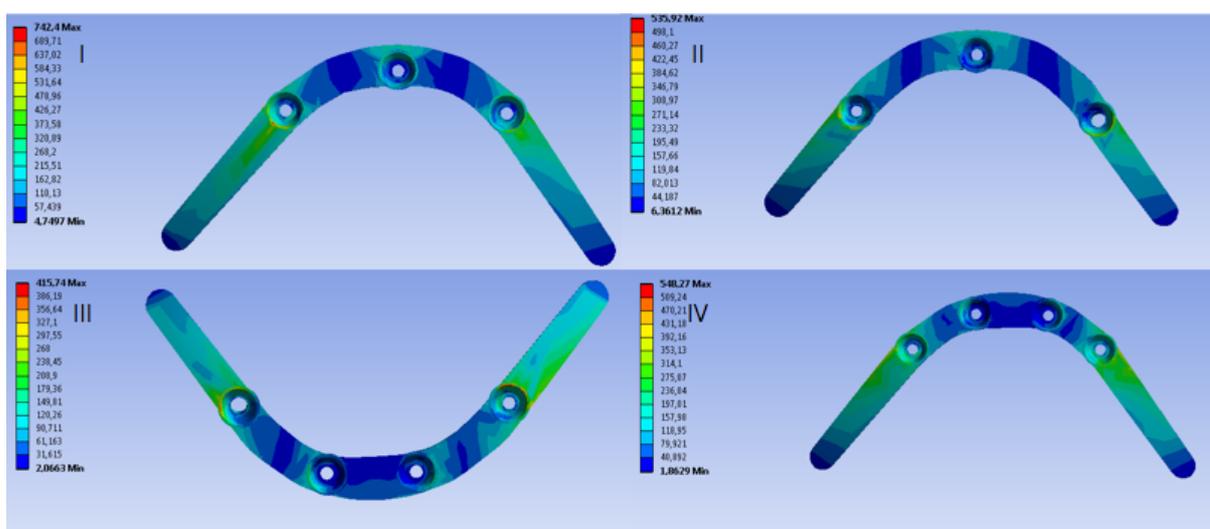
Os resultados foram obtidos através dos ensaios numéricos e pela AEF e avaliados através dos valores de tensão de Von Mises em todos os grupos. As distribuições de forças nas diferentes configurações realizadas a nível da plataforma do mini-pilar, nos parafusos protéticos e na barra protética foram numericamente numeradas e convertidas em resultados visuais com códigos de cores e estão apresentadas abaixo (Figuras 7, 8 e 9).



**Figura 7** - Estresse dos mini-pilares em 4 diferentes configurações. I: 3 implantes retos; II: 3 implantes com os distais inclinados; III: 4 implantes com os distais inclinados; IV: 4 implantes retos.



**Figura 8** - Estresse dos parafusos protéticos em 4 diferentes configurações. I: 3 implantes retos; II: 3 implantes com os distais inclinados; III: 4 implantes com os distais inclinados; IV: 4 implantes retos.



**Figura 9** - Estresse das barras protéticas em 4 diferentes configurações. I: 3 implantes retos; II: 3 implantes com os distais inclinados; III: 4 implantes com os distais inclinados; IV: 4 implantes retos.

Nas simulações de estresse, a cor azul demonstra menor estresse e a cor vermelha está relacionada a valores de estresse mais elevados. Nenhum dos resultados foi observado tração, pois não foram identificados resultados negativos no gráfico, sendo todos positivos, portanto todos sofreram compressão. Mas as cores entre as simulações não podem ser comparadas porque cada uma teve intervalo de valores diferentes.

Em todas as configurações testadas as tensões máximas tenderam a localizar-se na porção disto-lingual dos mini-pilares, parafusos e na barra mais próximo ao cantiléver. E o pico máximo de tensão foi localizado no mini-pilar esquerdo e parafuso direito do grupo com três implantes. Os estresses máximos nos parafusos, mini-pilar e barra são relatados abaixo (Tabela 2).

	<b>Parafuso (Mpa)</b>	<b>Mini-pilar (Mpa)</b>	<b>Barra (Mpa)</b>
3 Implantes retos	782,98	3146,1	742,4
3 Implantes - distais angulados	408,31	1947,2	535,92
4 Implantes retos	726,83	2749,4	548,27
4 implantes - distais angulados	337,66	1828,4	415,74

**Tabela 2** - Máximo de estresse (Mpa) no parafuso protético, mini-pilar e barra protética nas diferentes configurações de implantes.

Em configurações de mini-pilares retos e implantes paralelos, os valores máximos de tensão nos mini-pilares, parafusos e barra protética aumentaram à medida que o número de implantes diminuiu de 4 para 3, na ordem de 726,83 à 782,98 Mpa em parafusos protéticos, 2749,40 à 3146,10 Mpa nos mini-pilares e 548,27 à 742,40 Mpa na barra protética.

O implante angulado em 30 graus associado ao mini-pilar angulado de 30 graus, em configuração de 3 ou 4 implantes, diminuiu respectivamente a tensão, quando comparado com implantes em configurações de 3 ou 4 implantes retos. Os cantilévers diminuíram em comprimento para 16,41 mm (17,95 % de redução de comprimento) quando comparado aos implantes distais retos.

As tensões nos mini-pilares e parafusos centrais quando com 3 implantes ou mini-pilares e parafusos centrais direito ou esquerdo em configurações com 4 implantes atingiram os menores valores, sendo 26,98 Mpa no parafuso central na configuração com três implantes retos, 379,74 Mpa no parafuso central na configuração com três implantes com as distais

inclinadas, 196,01 Mpa no parafuso central direito na configuração com quatro implantes paralelos e 118,77 Mpa no parafuso central direito na configuração com quatro implantes com os distais inclinados.

Quanto as distribuições de forças nos mini-pilares dos mesmos grupos, estas apresentaram maiores variações. O grupo com três implantes paralelos apresentou sua maior concentração de tensão no mini-pilar direito, com 2401,1 Mpa e uma tensão mínima de 1776,1 Mpa para o mini-pilar central. E o grupo com quatro implantes paralelos apresentou concentração máxima de 2749,4 Mpa no mini-pilar direito e a tensão mínima foi de 1032,9 Mpa para o mini-pilar central esquerdo. Já o grupo com três e quatro implantes com os distais inclinados apresentaram tensões mais baixas e mais similares, quando comparado os implantes distais com os centrais. Visto que, a maior concentração no grupo de 3 implantes com os distais inclinados foi de 1947,2 Mpa no mini-pilar angulado esquerdo e 1130,5 Mpa no mini-pilar reto central. E no grupo com 4 implantes com os distais inclinados apresentaram o valor de tensão máxima de 1828,4 Mpa no mini-pilar angulado direito e tensão mínima de 1108,9 Mpa no mini-pilar reto central direito.

## **Discussão**

Este trabalho teve por objetivo, avaliar a distribuição da tensão nos componentes (mini-pilares retos e angulados), parafusos protéticos e barra protética, no sistema osso/implante/pilar em 4 configurações de implantes GM intraforaminais, com o número de implantes variando de três a quatro, e os implantes distais inseridos paralelamente aos outros implantes ou inclinados distalmente em 30 graus, sob funcionalidade simulada através do método de AEF.

Os desfechos clínicos a longo prazo em relação ao número de implantes para uma prótese fixa confirmaram que o uso de quatro implantes na mandíbula desdentada mostrou sucesso dos implantes e próteses semelhantes com abordagens de tratamento com mais

implantes<sup>2,4,5</sup>. Avaliando a tensão dos componentes protéticos, observou-se que o aumento de três para quatro implantes gerou uma redução nas tensões de parafusos protéticos, mini-pilares e barra protética, indo ao encontro de alguns autores<sup>2,5,24,25,26</sup>, mostrando que a tensão pode ser alterada pelo número de implantes, como também, pela posição destes.

Estruturas anatômicas da mandíbula posterior frequentemente limitam a instalação de implantes distais ao forame mental e levam a comprimentos excessivos de cantilévers<sup>3</sup>. De acordo com as sugestões elaboradas pela literatura, os autores relatam ser aceitável 10 a 20 mm de extensão de cantiléver<sup>24,27,28</sup>, mostrando que a resistência estrutural dos pilares parece ser adequada para suportar o aumento do estresse resultante do cantiléver mais longo<sup>7</sup>. Porém, neste estudo, as configurações com implantes distais inclinados resultaram em menor tensão as estruturas protéticas quando comparado com implantes retos, sendo, um cantiléver de 20 mm em implantes retos, o qual foi reduzido para 16,41 mm (17,95 % de redução) nos implantes inclinados. O que está de acordo com os autores<sup>2,5,24,28-32</sup>, que salientam, que quanto maior a distância entre o implante distal e a porção mais distal da barra, maior o braço de alavanca e conseqüentemente a tensão gerada em torno dos implantes e estruturas protéticas no lado do carregamento. E a distribuição na configuração com 4 implantes, com o implante distal inclinado em 30 graus levou uma redução favorável do estresse nas estruturas protéticas, corroborando com outros estudos em AEF<sup>2,26,32</sup>, que mostraram melhor distribuição de tensão quando compararam implantes distais inclinados 17 graus e 30 graus com implantes retos em configuração de 4 implantes<sup>2,26,32</sup>, como também comparado com 6 implantes retos<sup>26</sup>. Por outro lado, ainda é controverso a questão da redução do comprimento do cantiléver pela inclinação de implantes distais<sup>33,34</sup>, pois a inclinação de implantes pode causar maior concentração de tensão, ao lado que a carga oclusal não é paralela ao longo eixo do implante<sup>34</sup>, levando a maiores concentrações no osso circunjacente, entretanto, este estudo<sup>33</sup> teve somente a concentração de cargas oclusais, o que pode não ter simulado fielmente a mastigação, onde

encontramos cargas axiais, horizontais e oblíquas sendo transferidas à prótese implantossuportada. Nesta modalidade de implantes distais inclinados, as inclinações dos implantes posteriores são corrigidos com mini-pilares angulados. Nesse método, o efeito desfavorável dos implantes inclinados pode ser eliminado, e os componentes protéticos, como o parafuso protético, mini-pilares e a estrutura, podem ser submetidos a cargas oclusais mais verticais.

Neste estudo os implantes instalados foram de 3.5X7 em uma mandíbula atrófica, já, outros autores <sup>2</sup> utilizaram implantes de 4.1X12. Mesmo observando resultados similares, a rigidez do implante poderia ter influenciado na tensão <sup>28</sup>, mostrando que a tensão em implantes e pilares diminuem aproximadamente 14% quando o comprimento do implante aumenta de 10 a 13 mm e assim estabiliza-se a este nível na mudança de 13 a 15 mm <sup>28</sup>. Entretanto, de acordo com estudos em AEF <sup>35</sup>, as propriedades ósseas e a condição da interface têm maior influência no estado do estresse do que a variabilidade do implante.

As maiores tensões na plataforma do mini-pilar, parafuso protético e barra protética localizaram-se na porção disto-lingual em todas as configurações, demonstrando serem esses os componentes mais carregados devido ao braço de alavanca produzido pela extensão distal da barra protética. Estes achados confirmam dados já bem definidos na literatura <sup>2,36</sup>, entretanto, são resultados opostos aos encontrados recentemente <sup>32</sup>, onde os pilares centrais concentraram maiores tensões.

O modelo 3D foi definido como fixo, o estudo reproduziu a mesma carga aplicada em estudo anterior <sup>2</sup>, que realizou uma carga de 200 N/cm. No presente estudo as forças foram aplicadas nas distais da barra protética e com uma direção definida, enquanto no trabalho anterior, as forças foram aplicadas em único lado <sup>2</sup>. Outros trabalhos utilizaram uma carga vertical de 100N para simular a força oclusal, e alguns tentaram reproduzir de maneira simplificada as forças complexas exercidas durante a função de mastigação <sup>32,37-39</sup>. Neste

estudo, não foi reproduzido inserções de ligamentos ou estruturas articulares temporomandibulares e mobilidade, assim como, no artigo publicado anteriormente <sup>2</sup>.

Avaliando as forças na cortical óssea e nos implantes <sup>40</sup>, tiveram como resultado uma maior tensão na porção disto-cervical dos implantes distais angulados, como também, na cortical do rebordo ósseo durante a função. Como resultado dessa concentração de tensão, ocorre uma maior reabsorção óssea nessa região, o que sugere uma probabilidade maior de falhas por acúmulo de forças na região <sup>41</sup>. Contudo, neste estudo, avaliando as estruturas protéticas não foi identificado maior tensão nas configurações com implantes distais inclinados, visto que ocorre uma distribuição da tensão em toda estrutura. Foi utilizado *CoCr* para estrutura da prótese, já que é um material com um módulo de elasticidade baixo, o que leva a uma distribuição mais uniforme do estresse nos componentes da prótese e do osso <sup>7,9,15,27,28,35,42</sup>.

Além disso, a passividade perfeita entre os componentes foi assumida para evitar a aparência de tensões internas que poderiam confundir a análise. Tais tensões podem aumentar substancialmente o risco de falha. Um ajuste perfeito entre os componentes combinados com a rigidez da estrutura é essencial para a longevidade da prótese <sup>24,43</sup>.

A validade dos resultados da AEF dependem da semelhança do modelo de EF com a estrutura real e também está relacionado às propriedades dos materiais da estrutura <sup>9</sup>. Para reproduzir geometrias mais precisas, neste estudo foi utilizado a TC simulando o comportamento isotrópico do osso cortical e trabecular em modelos de EF, incluindo propriedades mecânicas dos implantes e estruturas protéticas, sendo o primeiro estudo de EF que avaliou implantes e componentes GM. Contudo, as limitações do trabalho incluem as simplificações introduzidas no modelo AEF realizado, sendo elas: a utilização de uma região anatômica não uniforme, podendo comportar-se como um modelo ortotrópico, a direção e quantidade de força, as quais foram simuladas, a mandíbula que foi considerada como uma estrutura fixa sem liberdade de movimento, a osseointegração assumida como 100% para

facilitar o cálculo, mas o que não é representativo no contato osso-implante *in vivo*. A estrutura protética foi representada com mini-pilares e parafusos protéticos conectados rigidamente aos implantes e componentes para assumir o perfeito ajuste passivo, no entanto, uma superfície ligada foi preferida a uma interface de fricção, uma vez que esta última simularia situações de pré-carga inicial. Em vista das simplificações e premissas realizadas no momento da confecção do modelo, os resultados desta AEF devem ser indicados em termos qualitativos e não quantitativos.

## **Conclusão**

A configuração de 4 implantes com os distais inclinados demonstrou desencadear menor tensão nas estruturas protéticas quando comparado com as demais configurações.

## **Referências**

1. Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983;50(3):399-410.
2. Fazi G, Tellini S, Vangi D, Branchi R. Three-dimensional finite element analysis of different implant configurations for a mandibular fixed prosthesis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26(4):752-9.
3. Bellini CM, Romeo D, Galbusera F, Taschieri S, Raimondi MT, Zampelis A, et al. Comparison of tilted versus nontilted implant-supported prosthetic designs for the restoration of the edentulous mandible: a biomechanical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24(3):511-7.
4. Brånemark PI, Svensson B, van Steenberghe D. Ten-year survival rates of fixed prostheses on four or six implants ad modum Brånemark in full edentulism. *Clin Oral Implants Res*. 1995;6(4):227-31.
5. Maló P, Rangert B, Nobre M. “All-on-Four” immediate-function concept with Brånemark system implants for completely edentulous mandibles: A retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2003;5(suppl 1):2-9.

6. Marcián P, Borák L, Valášek J, Kaiser J, Florian Z, Wolff J. Finite element analysis of dental implant loading on atrophic and non-atrophic cancellous and cortical mandibular bone - a feasibility study. *J Biomech.* 2014;47(16):3830–6.
7. Skalak R. Aspects of biomechanical considerations. In: Branemark P-I, Zarb GA, Albreksson T, eds. *Tissue- integrated prostheses – Osseointegration in clinical dentistry.* Chicago, IL: Quintessence. 1985:117–128.
8. Iplikçioğlu H, Akça K. Comparative evaluation of the effect of diameter, length and number of implants supporting three-unit fixed partial prostheses on stress distribution in the bone. *J Dent.* 2002;30(1):41–6.
9. Geng JP, Tan KB, Liu GR. Application of finite element analysis in implant dentistry: A review of the literature. *J Prosthet Dent.* 2001;85(6):585-98.
10. Sahin S, Çehreli MC, Yalçın E. The influence of functional forces on the biomechanics of implant-supported prostheses – a review. *J Dent.* 2002; 30:271–282.
11. Stegaroiu R, Kusakari H, Nishiyama S, et al: Influence of prosthesis material on stress distribution in bone and implant: a 3-dimensional finite element analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13(6):781–790.
12. Cehreli M, Duyck J, De Cooman M, et al: Implant design and interface force transfer. A photoelastic and strain-gauge analysis. *Clin Oral Impl Res.* 2004;15:249-257.
13. Iplikçioğlu H, Akça K, Çehreli MC, et al: Comparison of non-linear finite element stress analysis with in vitro strain gauge measurements on a morse taper implant. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(2):258-265.
14. Geng JP, Tan KB, Liu GR. Application of finite element analysis in implant dentistry: a review of the literature. *J Prosthet Dent.* 2001;85(6):585–98.
15. Achour T, Merdji A, Bachir Bouiadjra B, Serier B, Djebbar N. Stress distribution in dental implant with elastomeric stress barrier. *Mater Des.* 2011;32(1):282–90.
16. Wirth AJ, Müller R, Harry van Lenthe G. The discrete nature of trabecular bone microarchitecture affects implant stability. *J Biomech.* 2012;45(6):1060–7.
17. Li P, Long J, Tang W, Li J, Liang R, Tian DW. Stress distribution on the mandibular condyle and the distraction area in distraction osteogenesis by finite element analysis. *J Craniofac Surg.* 2013;24(3):1031–7.
18. Osman RB, Elkhadem a H, Ma S, Swain M V. Finite element analysis of a novel implant distribution to support maxillary overdentures. *Int J Oral Maxillofac Implant.* 2013;28(1):e1–10.
19. Ozan O, Ramoglu S. Effect of implant height differences on different attachment types and peri-implant bone in mandibular two-implant overdentures: 3D finite

- element study. *J Oral Implantol*. 2015;41(3):e50-9.
20. Lustosa JM, Murakami RH. Influência de parâmetros dimensionais no campo de tensões entre mandíbula/implante[monografia]. Curitiba:Universidade Tecnológica Federal do Paraná;2006.
  21. Archangelo CM, Rocha EP, Pereira JA, Martin Junior M, Anchieta RB, Freitas Júnior AC. Periodontal ligament influence on the stress distribution in a removable partial denture supported by implant: a finite element analysis. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(3):362-8.
  22. Liao SH, Tong RF, Dong JX. Anisotropic finite element modeling for patient-specific mandible. *Comput Methods Programs Biomed*. 2007;88:197–209.
  23. Anucul B, Waite PD, Lemons JE. In vitro strength analysis of sagittal split osteotomy fixation: non-compression monocortical plates versus bicortical position screws. *J Oral Maxillofac Surg*. 1992;50:1295-1299.
  24. Watanabe F, Hata Y, Komatsu S, Ramos TC, Fukuda H. Finite element analysis of the influence of implant inclination, loading position, and load direction on stress distribution. *Odontology*. 2003;91(1):31–6.
  25. Kokat AM, Comert A, Tekdemir I, Akkocaoglu M, Akca K, Cehreli MC. Human ex vivo bone tissue strains around immediately-loaded implants supporting mandibular fixed prostheses. *Implant Dent* 2009;18:162–171.
  26. Zheng X, Li X, Tang Z, Gong L, Wang D. Effect of the number and inclination of implant on stress distribution for mandibular full-arch fixed prosthesis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2014;49(6):339-42.
  27. Sertgöz A. Finite element analysis study of the effect of superstructure material on stress distribution in an implant-supported fixed prosthesis. *Int J Prosthodont*. 1997;10(1):19-27.
  28. Rubo JH1, Capello Souza EA. Finite-element analysis of stress on dental implant prosthesis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2010;12(2):105-13.
  29. Kunavisarut C, Lang LA, Stoner BR, Felton DA. Finite element analysis on dental implant-supported prostheses without passive fit. *J Prosthodont*. 2002;11:30–40.38.
  30. Maló P, Rangert B, Nobre M. All-on-4 immediate-function concept with Brånemark System implants for completely edentulous maxillae: A 1-year retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005;7(suppl 1):S88–S94.
  31. Gümrükçü Z, Korkmaz YT. Influence of implant number, length, and tilting degree on stress distribution in atrophic maxilla: a finite element study. *Biol Eng Comput*. 2017. doi: 10.1007/s11517-017-1737-4.
  32. Ozan O, Kurtulmus-Yilmaz S. Biomechanical comparison of different implant inclinations and cantilever lengths in all-on-4 treatment concept by three-

- dimensional finite element analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018;33(1):64-71.
33. Naini RB, Nokar S, Borghei H, Alikhasi M. Tilted or parallel implant placement in the completely edentulous mandible? A three-dimensional finite element analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26(4):776-81.
  34. Misch CE. *Dental Implant Prosthetics*, ed 2. St. Louis: Elsevier Mosby. 2015:263, 604, 885.
  35. Brunski JB. Biomechanical factors affecting the bone-dental implant interface. *Clin Mater*. 1992; 10:153–201.
  36. Rangert B, Jemt T, Jorneus L. Forces and moments on Brånemark implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1989;4:241–247.
  37. Bonnet AS, Postaire M, Lipinski P. Biomechanical study of mandible bone supporting a four-implant retained bridge: Finite element analysis of the influence of bone anisotropy and foodstuff position. *Med Eng Phys*. 2009;31(7):806-15.
  38. Rohrle O, Pullan AJ. Three-dimensional finite element modelling of muscle forces during mastication. *J Biomech*. 2007;40: 3363–3372.
  39. Stringhini DJ, Sommerfeld R, Uetanabaro LC, Leonardi DP, Araújo MR, Rebellato NL, Costa DJ, Scariot R. Resistance and stress finite element analysis of different types of fixation for mandibular orthognathic surgery. *Braz Dent J*. 2016;27(3):284-91.
  40. Lofaj F, Kučera J, Németh D, Kvetková L. Finite element analysis of stress distributions in mono and bicortical dental implants. *Mater Sci Eng C*. 2015;50:85–96.
  41. Meijer HJA, Kuiper JH, Starmans FJM, Bosman F. Stress distribution around dental implants: influence of super- structure, length of implants, and height of mandible. *J Pros- thet Dent*. 1992; 68:96–102.
  42. Menini M, Pesce P, Bevilacqua M, Pera F, Tealdo T, Barberis F, Pera P. Effect of framework in an implant-supported full-arch fixed prosthesis: 3D finite element analysis. *Int J Prosthodont*. 2015;28(6):627-30.
  43. Canay S, Hersek N, Akpınar I, Asik Z. Comparison of stress distribution around vertical and angled implants with finite element analysis. *Quintessence Int*. 1996;27:591–598.

## 6- Referências

1. Herford AS, Boyne PJ. Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66(4):616-24.
2. Polido WD, Marine E. Enxertos ósseos do ramo mandibular com finalidade estética. In: Dinato JC, Polido W. *Implantes ósseointegrados cirurgia e prótese.* São Paulo: Artes Médicas, 2004:261-82.
3. Misch CM, Misch CE, Resnik RR, Ismail YH. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibularsymphysis grafts for dental implants: a preliminary procedural report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1992;7(3):360-6.
4. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(suppl):237–59.
5. Brånemark PI, Lindström J, Hallén O, Breine U, Jeppson PH, Ohman A. Reconstruction of the defective mandible. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1975;9(2):116-28.
6. de Freitas RM, Spin-Neto R, Marcantonio Jr. E, Pereira LA, Wikesjö UM, Susin C. Alveolar ridge and maxillary sinus augmentation using rhBMP-2: a systematic review. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015;17 Suppl 1:e192-201.
7. Williams A, Szabo RM. Bone transplantation. *Orthopedics.* 2004;27(5):488-95; quiz 496-7.
8. Wikesjö UM, Qahash M, Huang YH, Xiropaidis A, Polimeni G, Susin C. Bone morphogenetic proteins for periodontal and alveolar indications; biological observations – clinical implications. *Orthod Craniofac Res.* 2009; 12(3):263– 70.
9. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science.* 1965;3698–9.
10. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science.* 1988; 242(4885):1528–34.
11. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Nat Acad Sci.* 1990;87(6):2220-4.
12. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev.* 1992;32(2):160–7.
13. Cao X, Chen D. The BMP signaling and in vivo bone formation. *Gene.* 2005;29;357(1):1-8.
14. Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cell Signal.* 2011;23(4):609-20.

15. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev.* 2008;29(4):403-40.
16. Pountos I, Panteli M, Georgouli T, Giannoudis PV. Neoplasia following use of BMPs: is there an increased risk? *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(11):1525-34.
17. Bami M, Mavrogenis AF, Angelini A, Milonaki M, Mitsiokapa E, Stamoulis D, et al. Bone morphogenetic protein signaling in musculoskeletal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2016;142(10):2061-72.
18. Hogan BL. Bone morphogenetic proteins in development. *Curr Opin Genet Dev.* 1996;6(4):432-8.
19. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997;17(1):11-25.
20. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, Malmquist J, Lilly LC, Spagnoli D, et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol.* 2005;76(4):605-13.
21. Triplett RG, Nevins M, Marx RE, Spagnoli DB, Oates TW, Moy PK, et al. Pivotal, randomized, parallel evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2/absorbable collagen sponge and autogenous bone graft for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(9):1947-60
22. Cochran DL1, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. *J Periodontol.* 2000;71(8):1241-57.
23. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(12):1693-707.
24. de Freitas RM, Susin C, Spin-Neto R, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of-concept randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2013;40(10):968-75.
25. Burkus JK, Heim SE, Gornet MF, Zdeblick TA. Is INFUSE bone graft superior to autograft bone? An integrated analysis of clinical trials using the LT-CAGE lumbar tapered fusion device. *J Spinal Disord Tech.* 2003;16(2):113-22.
26. Benglis D, Wang MY, Levi AD. A comprehensive review of the safety profile of bone morphogenetic protein in spine surgery. *Neurosurgery.* 2008;62(5 Suppl 2):ONS423-31; discussion ONS431.
27. Jung RE, Glauser R, Schärer P, Hämmerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(5):556-68.

28. Carter TG, Brar PS, Tolas A, Beirne OR. Off-label use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) for reconstruction of mandibular bone defects in humans. *Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(7), 1417–25.
29. Food and drug administration. Recombinant human bone morphogenetic protein in cervical spine fusion. Silver Spring, MD: U.S. Food and Drug Administration; 2008. Disponível em: [www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm079019.htm](http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm079019.htm).
30. McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE Bone Graft). *Int Orthop*. 2007;31(6):729-34.
31. Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. *Spine J*. 2011;11(6):471-91.
32. Dimar JR 2nd, Glassman SD, Burkus JK, Pryor PW, Hardacker JW, Carreon LY. Clinical and radiographic analysis of an optimized rhBMP-2 formulation as an autograft replacement in posterolateral lumbar spine arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am*. 2009;91(6):1377-86.
33. Thawani JP, Wang AC, Than KD, Lin CY, La Marca F, Park P. Bone morphogenetic proteins and cancer: review of the literature. *Neurosurgery*. 2010;66(2):233-46.
34. Smoljanovic T, Bicanic G, Bojanic I. Update of comprehensive review of the safety profile of bone morphogenetic protein in spine surgery. *Neurosurgery*. 2010;66(5):E1030; author reply E1030.
35. Simmonds MC, Brown JV, Heirs MK, Higgins JP, Mannion RJ, Rodgers MA, et al. Safety and effectiveness of recombinant human bone morphogenetic protein-2 for spinal fusion: a meta-analysis of individual-participant data. *Ann Intern Med*. 2013;118(12):877-89.
36. Fu R, Selph S, McDonagh M, Peterson K, Tiwari A, Chou R, Helfand M. Effectiveness and harms of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine fusion: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;118(12):890-902.
37. Kelly MP, Savage JW, Bentzen SM, Hsu WK, Ellison SA, Anderson PA. Cancer risk from bone morphogenetic protein exposure in spinal arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;3;96(17):1417-22.
38. Woo EJ. Adverse events reported after the use of recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70(4):765-7.
39. United States Senate Finance Committee. Staff report on Medtronic's influence on INFUSE clinical studies. *Int J Occup Environ Health*. 2013;19(2):67-76.
40. Kim YJ, Lee JY, Kim JE, Park JC, Shin SW, Cho KS. Ridge preservation using demineralized bone matrix gel with recombinant human bone morphogenetic protein-2

- after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(7):1281-90.
41. de Freitas RM, Susin C, Tamashiro WM, Chaves de Souza JA, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, Marcantonio E Jr. Histological analysis and gene expression profile following augmentation of the anterior maxilla using rhBMP-2/ACS versus autogenous bone graft. *J Clin Periodontol.* 2016;43(12):1200-1207.
  42. Kelly MP, Vaughn OL, Anderson PA. Systematic review and meta-analysis of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in localized alveolar ridge and maxillary sinus augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016;74(5):928-39.
  43. Gomes-Ferreira PH, Okamoto R, Ferreira S, De Oliveira D, Momesso GA, Faverani LP. Scientific evidence on the use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in oral and maxillofacial surgery. *Oral Maxillofac Surg.* 2016;20(3):223-32. doi: 10.1007/s10006-016-0563-4. Epub 2016 May 29. *Oral Maxillofac Surg.* 2016 Sep;20(3):223-32.
  44. Lin GH, Lim G, Chan HL, Giannobile WV, Wang HL. Recombinant human bone morphogenetic protein 2 outcomes for maxillary sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(11):1349-59.
  45. Moslemi N, Khoshkam V, Rafiee S, Bahrami N, Aslroosta H. Outcomes of alveolar ridge preservation with recombinant human bone morphogenetic protein-2: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2018. doi: 10.1097/ID.0000000000000722. [Epub ahead of print].
  46. de Queiroz Fernandes J, de Lima VN, Bonardi JP, Filho OM, Queiroz SBF. Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review. *J Maxillofac Oral Surg.* 2018;17(1):13-18.
  47. Spin-Neto R, Stavropoulos A, de Freitas RM, Pereira LA, Carlos IZ, Marcantonio E Jr. Immunological aspects of fresh-frozen allogeneic bone grafting for lateral ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(9):963-8.

## 7- Apêndice

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo CEP nº 32.10  
 Aprovado em reunião c  
 06.10.2010  
 2010  
 Secretária do CEP-FO/CF

**“Comparação entre enxerto ósseo autólogo e rhBMP-2 ( INFUSE Bone Graft) na reconstrução de máxila atrófica anterior”**

Nome do pesquisador responsável: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 RG: \_\_\_\_\_ Prontuário Geral: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_  
 Responsável legal pelo paciente: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_  
 Prova documental comprobatória da responsabilidade (Nos casos de autorização fornecida por responsável)

Eu estou ciente de que as pessoas que perdem os dentes apresentam, depois de um certo tempo, uma diminuição da quantidade de osso para a instalação de implantes ossointegráveis, os quais possibilitam a confecção de uma prótese onde antes isto não era possível. O tratamento da falta de osso pode ser feito por meio de enxerto de osso retirado do próprio paciente de áreas de dentro da boca (osso autólogo) ou por meio de um material, uma proteína, capaz de formar osso (rhBMP-2). Muitos estudos mostram que estes materiais são substâncias que se transformam em osso humano e não causam inflamação ou alergia, podendo ser usados com segurança em qualquer pessoa.

Assim sendo, fui informado sobre o objetivo desta pesquisa, que é avaliar, por meio de exames clínicos, imagens tomográficas (radiografia), análises laboratoriais e análise através de células do sangue (imunológico) os resultados da cirurgia de enxerto ósseo autólogo e de rhBMP-2 na região superior anterior (maxila anterior) e que a indicação do tratamento proposto nesta pesquisa será dado pelos pesquisadores e não conforme minha vontade.

Sei que para participar da pesquisa terei que comparecer, sempre que solicitado (a), no local indicado pelos pesquisadores, para controles cirúrgicos e novas avaliações, e estou ciente que serei submetido (a) a no mínimo 3 cirurgias. A primeira (1ª) cirurgia será a colocação do osso na região superior anterior, a segunda (2ª) será a colocação dos implantes na mesma região, e a terceira (3ª) será a colocação do cicatrizador nos implantes (capa protetora do implante que prepara a gengiva para receber os dentes – prótese). Sei que o tratamento será realizado em um tempo mínimo de 18 meses. Ficou claro também que o tratamento proposto pelos pesquisadores se restringe somente ao ganho de osso, colocação dos implantes e dos cicatrizadores, e não inclui a confecção da prótese. Fui informado dos valores previstos para a colocação das próteses, como também que estes valores poderão ser diferentes de acordo com os materiais que serão utilizados, tipo de prótese que será instalada e os valores dos profissionais (protéticos) no momento da colocação.

Para tanto, fui informado que o exame clínico será feito no momento da primeira (1ª) cirurgia e 6 meses depois, na segunda (2ª) cirurgia. Como parte do exame clínico, será feita a medição do osso da região com o uso de um espessímetro, instrumento de simples uso e que não causa desconforto. Para a medida exata do osso, será realizada uma moldagem da região para confeccionar um guia de posicionamento para este espessímetro. A moldagem será realizada com alginato (material usado pelos dentistas na maioria dos procedimentos clínicos), e um guia será confeccionado, este guia não será para uso diário e/ou contínuo. Sei que o procedimento de moldagem pode causar desconforto devido a moldeira, escoamento do material e eventual sensação de ânsia de vômito passageira, mas sei que todos os cuidados serão considerados visando meu bem estar. Fui informado que todo instrumental utilizado nas moldagens estarão esterilizados.

Estou ciente de que necessitarei comparecer em um instituto radiológico indicado pelos pesquisadores, sendo esse não vinculado a Faculdade de Odontologia – UNESP e portanto localizado fora desta instituição, para realizar três (3) tomografias: 1- uma antes da cirurgia para verificar o osso presente e planejar o enxerto. 2- uma logo após a realização do enxerto, para verificar a quantidade de osso imediatamente após a cirurgia e 3 – uma 6 meses depois da cirurgia de enxerto ósseo, para avaliar o ganho ósseo final e planejar o posicionamento dos implantes. Fui informado (a) que durante os procedimentos de tomada radiográfica, necessitarei de utilizar uma vestimenta confeccionada por chumbo (avental plumbífero) para proteção, minimização da radiação, procedimento utilizado rotineiramente nos consultórios odontológicos na hora de tirar Raio-X.

Fui informado que deverei comparecer 5 vezes em um Laboratório de Análises Clínicas escolhido pelos pesquisadores para coleta de sangue, sendo: 7 dias antes da cirurgia e 15, 30, 90 e 180 dias após a cirurgia. Ficou claro que o sangue coletado será analisado pelos pesquisadores com o objetivo único de detectar possíveis

alterações dos materiais estudados, e portanto fornecer uma maior segurança no meu tratamento. Portanto, autorizo os pesquisadores a realizarem um Hemograma Completo e um teste para verificar a presença de anticorpos (células prejudiciais ao organismo) ao material avaliado (rhBMP-2).

No momento da segunda cirurgia, será colhida, por meio de biópsia, uma pequena quantidade de osso, na região de preparação para colocação do implante sem prejuízo algum para o tratamento reabilitador. Esse procedimento de biópsia, não acarreta nenhuma agressão física, não aumenta o desconforto pós-operatório, não altera o planejamento cirúrgico dos implantes ou maior perda de osso na região, pois será realizado na região que já seria removido o osso para posicionamento do implante. Portanto, autorizo os pesquisadores a realizarem as análises laboratoriais necessárias ou seja, o estudo científico das biópsias (osso coletado).

Também fui informado sobre a possibilidade de ocorrer transtornos durante ou após a cirurgia. Essa possibilidade é pequena, mas pode haver, em casos raros, falta de integração do enxerto, reações inflamatórias e/ou infecciosas pelo material de enxerto, ao anestésico local ou à medicação prescrita após a cirurgia. A medicação será prescrita pelos pesquisadores conforme indicação de uso para cada paciente, e normalmente é um analgésico (para dor), um anti-inflamatório (para inchaço – inflamação) e um antibiótico (para combater a infecção - bactérias).

O pesquisador responsável pela pesquisa bem como os demais profissionais responsáveis pelo tratamento em questão (citados abaixo como demais pesquisadores) se comprometem a dar resposta a qualquer pergunta e esclarecimento a qualquer dúvida relacionada. Sei que posso deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo, sem prejuízo do atendimento, cuidados e tratamento pela equipe da especialidade da FOAr-UNESP. O sigilo e o caráter confidencial das informações serão mantidos, zelando pela minha privacidade e garantindo que minha identificação não será exposta nas conclusões ou publicações.

Nome do pesquisador Responsável: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

Nome do responsável pela equipe cirúrgica: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

Nome dos demais pesquisadores: Rubens Moreno de Freitas, Prof. Dr. Luis Antônio Violin D. Pereira e Profa. Dra. Rosemary Adriana C. Marcantonio

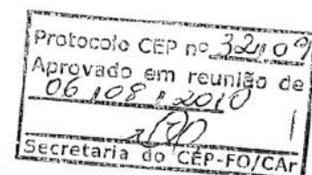
Telefone para contato: 3301-6369/8165-8309

Telefone do Comitê de Ética: 3301-6434/3301-6432

Assinatura do profissional responsável

Assinatura do paciente

Araraquara, \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_



## **8- Anexos**

### 8.1 Endereço Eletrônico das Normas da Revistas

**Artigo 1:** [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1708-8208](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1708-8208)

**Artigo 2:** <http://www.quintpub.com/journals/omi/#.WqO2uRjOrwc>

## 8.2 - Certificado Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
 FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA




Comitê de Ética em Pesquisa

## Certificado

**Certificamos** que o projeto de pesquisa intitulado "**COMPARAÇÃO ENTRE ENXERTO ÓSSEO AUTÓLOGO E rhBMP-2 (INFUSE Bone Graft) NA RECONSTRUÇÃO DE MAXILA ATROFICA ANTERIOR**", sob o protocolo nº **32/09**, de responsabilidade do Pesquisador (a) **ELCIO MARCANTONIO JUNIOR**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa—FOAr, com validade de 3 (três) anos, quando será avaliado o relatório final da pesquisa.

**Certify** that the research project titled "**A COMPARISON OF rhBMP-2 (INFUSE Bone Graft) AND AUTOLOGOUS BONE GRAFT FOR RECONSTRUCTION OF ANTERIOR ATROPHIC MAXILLA**", protocol number **36/09**, under Dr. **ELCIO MARCANTONIO JUNIOR**, responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAr-UNESP. Approval is granted for 03 (three) years when the final review of this study will occur.

Araraquara, 28 de agosto de 2009.

*Maria Rita Brancini de Oliveira*  
 Profª D<sup>re</sup> Maria Rita Brancini de Oliveira  
 Vice-Coordenadora