



Área de Medicina Dentária

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**Aplicação Clínica dos Factores de Crescimento
na Regeneração Óssea e Periodontal**

Orientador: Professor Doutor Sérgio Matos

Co-orientador: Doutor Jorge Ermida

Joana de Fátima Saraiva Amaral

2010

Aplicação Clínica dos Factores de Crescimento na Regeneração Óssea e Periodontal

Trabalho final do 5º ano, com vista à atribuição do Grau de Mestre, no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina Dentária apresentado à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Orientador: Professor Doutor Sérgio Matos

Co-orientador: Doutor Jorge Ermida

Aluno: Joana de Fátima Saraiva Amaral

Número: 20051529

Agradecimentos

A elaboração da presente tese de mestrado aqui apresentada é resultado das inúmeras vivências, aprendizagens e experiências dos últimos cinco anos. Ao longo do meu percurso académico, para além de todo o conhecimento científico adquirido, o qual me formou em medicina dentária, saliento todos os princípios e valores que me foram transmitidos e os quais me fizeram crescer, acreditando que a humildade, sinceridade e dedicação, não obstante à qualificação académica, definem um verdadeiro profissional de saúde.

Das minhas recordações não poderei deixar de referir todas as pessoas, que de uma forma particular marcaram os meus dias de estudante. Destaco os meus amigos pelo companheirismo, amizade e dedicação, tornando os momentos mais difíceis em instantes passageiros, ultrapassados com um sorriso. Em especial, quero fazer um apreço à minha amiga Ana Batista, pelo seu permanente e precioso incentivo presente nos bons e maus momentos. Ao meu amigo Miguel Marto, pela força e boa disposição que sempre me transmitiu, bem como pela sua permanente disponibilidade e sentido de entre ajuda. A todos os professores, que de uma forma exemplar transmitiram todos os seus conhecimentos com o intuito de formar o melhor possível os seus alunos, não descurando o lado pessoal e afectivo.

Gostaria de expressar uma profunda gratidão para com meus orientadores, pela sua disponibilidade, incentivo e motivação que foram cruciais para a realização deste trabalho.

Ao Senhor Professor Doutor Sérgio Matos o meu reconhecimento pela forma como soube transmitir a sua riqueza científica e técnica, bem como a confiança com que me honrou ao aceitar a orientação deste trabalho.

Ao Senhor Doutor Jorge Ermida o meu agradecimento pela sua dedicação incansável não só para a concretização deste trabalho, mas durante todo o 4º e 5º anos do curso, durante os quais me enobreceu com os seus ensinamentos e vastíssima experiência clínica. Não poderia deixar de referir todo o apoio, preocupação e incentivo e o mais importante de tudo, a amizade que se foi aprofundando durante todo este tempo.

Aos Senhores Doutores Orlando Martins, Fernando Marques e Nuno Sampaio a minha gratidão por toda a disponibilidade, apoio, incentivo e carinho dispensados durante o curso e em especial nesta fase final do meu percurso académico.

A todos os funcionários, em especial à Senhora D^a. Lurdes pelo apoio prestado na pesquisa bibliográfica.

Por último, mas sempre em primeiro, devo reconhecer o amor, o apoio e o incentivo que recebi de toda a minha família, destacando com profunda gratidão os meus pais, irmã e cunhado. Eles são o meu suporte e abrigo para todas as minhas conquistas e derrotas, dedicando a eles este trabalho e tudo o que ele simboliza.

Índice

Agradecimentos

Índice

I. Introdução	6
II. Material e Métodos	8
III. Resultados	9
1. Factores de Crescimento	9
1.1. PDGF (Factor de Crescimento Derivado das Plaquetas)	12
1.1.1. Descrição Biológica	12
1.1.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	13
1.1.3. Ensaio Clínicos na Regeneração Óssea	14
1.1.4. Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos	14
1.2. PTH (Hormona Paratiróide)	15
1.2.1. Descrição Biológica	15
1.2.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	16
1.3. FGF (Factor de Crescimento Fibroblástico)	16
1.3.1. Descrição Biológica	16
1.3.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	17
1.3.3. Ensaio Clínicos na Regeneração Óssea	18
1.4. TGF-β (Factor de Crescimento Transformador Beta)	18
1.4.1. Descrição Biológica	18
1.4.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	19
1.4.3. Ensaio Clínicos na Regeneração Óssea	20
1.5. IGF (Factor de Crescimento Insulino – Aparentado)	20
1.5.1. Descrição Biológica	20
1.5.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	21
1.5.3. Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos	21
1.6. PRP (Plasma Rico em Plaquetas)	22
1.6.1. Descrição Biológica	22
1.6.2. Modelos Pré Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	24
1.6.3. Ensaio Clínicos na Regeneração Óssea	25

1.6.4. Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos	25
1.7. BMP (Proteínas Morfogenéticas Ósseas)	28
1.7.1. Descrição Biológica	28
1.7.2. Modelos Pré-Clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal	30
1.7.3. Ensaio Clínicos na Regeneração Óssea	32
1.7.4. Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos	33
IV. Discussão	33
V. Conclusões	39
VI. Resumo	40
VII. Summary	41
VIII. Bibliografia	42
IX. Anexos	49

I. Introdução

O edentulismo completo já foi uma condição relativamente comum entre os adultos de meia idade. Actualmente é mais prevalente em idosos, afectando cerca de um 1/3 dos indivíduos com 65 ou mais anos de idade (Kaigler *et al.* 2008).

Os defeitos ósseos do complexo maxilo-facial podem resultar de processos infecciosos, traumatismos, malformações congénitas, anomalias de desenvolvimento (e.g. displasia ectodérmica, fenda do palato), neoplasias, doenças degenerativas (e.g. atrofia do maxilar) e doença periodontal. (Matos 1999; Kaigler *et al.* 2008).

De acordo com o *National Institute of Dental and Craniofacial Research*, 86% dos adultos com idade superior a 70 anos, apresentam periodontite, ainda que moderada, e mais de um 1/4 perderam peças dentárias, com repercussões na saúde e qualidade de vida (Taba Jr M *et al.* 2008).

A doença periodontal é uma das patologias mais prevalentes a nível mundial na área da Saúde Oral e pode ser definida como um conjunto de condições patológicas do periodonto marginal de causa infecciosa e natureza inflamatória (Tonetti 1993). Apresenta como característica patognomónica a destruição dos tecidos de suporte periodontais (Raja *et al.* 2009). Como consequência, tem a potencialidade de comprometer a dentição natural quer de um ponto de vista funcional quer estético, designadamente através da indução da perda de inserção e da criação de defeitos morfológicos dos tecidos moles e duros que afectam o prognóstico dentário (Raja *et al.* 2009). Pode, inclusivamente, determinar a perda de peças dentárias provocando as consequências inerentes do estado da desdentação, que induzem desequilíbrios no sistema estomatognático e alterações morfológicas do rebordo da crista óssea (Matos 2008).

A engenharia dos tecidos dentários, uma vez vista como uma área de interesse apenas experimental, revela-se actualmente um sucesso na aplicação clínica (Taba *et al.* 2008). Avanços na área da biologia celular e molecular têm sido determinantes no desenvolvimento de técnicas regenerativas, as quais constituem um desafio na espécie humana, contudo a sua potencialidade difere de acordo com o tipo de tecido, sendo mais reduzida nos músculos e estruturas nervosas e mais favorável nos tecidos conjuntivos, destacando-se o tecido ósseo com uma capacidade regenerativa intermédia (Matos 1999; Kaigler *et al.* 2008). Esta característica deriva das estreitas relações, tanto a nível estrutural como funcional, das suas células com as células dos tecidos conjuntivos, pois estas têm uma origem comum a partir de células mesenquimatosas primitivas, o que lhe permite uma dinâmica remodelativa perpétua, bem marcada pela constante justaposição de osteoblastos e reabsorção por osteoclastos (Matos 1999; Thesleff & Tummers 2003).

A capacidade regenerativa intrínseca demarca-se ao nível da matriz óssea, a qual é rica em factores de crescimento, os quais podem induzir a diferenciação de células estaminais em osteoblastos e consequente aposição óssea (Thesleff & Tummers 2003). A capacidade da matriz óssea estimular a formação de novo osso foi experimentalmente comprovada há várias décadas através de transplantes de matriz óssea desmineralizada em músculos (Thesleff & Tummers 2003).

Actualmente, o objectivo de eleição da periodontologia e da cirurgia oral é a regeneração dos defeitos ósseos e periodontais, ao invés da reparação (AAP 2005). A regeneração define-se como a reconstituição de um tecido perdido ou danificado, em contraste com o conceito de reparação, cujo processo de cicatrização não tem capacidade de restaurar na íntegra a arquitectura anatómica ou funcional de um tecido sujeito a uma agressão (Ripamonti e Reddi 1992; Tözüm & Demiralp 2003; AAP 2005; Kaigler *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009).

Histologicamente, a regeneração periodontal é definida como a reorganização dos tecidos de suporte dentário, que incluem osso alveolar, ligamento periodontal e cimento numa superfície radicular previamente exposta à doença (Graves *et al.* 1994; AAP 2005; Matos 2008). Pode-se também definir como a união do tecido conjuntivo ou epitelial com a superfície radicular, após perda de inserção, devolvendo aos tecidos o seu estado original (AAP 2005; Bashutski & Wang 2009; Raja *et al.* 2009).

Neste sentido, de acordo com o meio envolvente – tipo de células, pode ocorrer dois tipos de cura, regeneração ou reparação. Esta última é a mais fácil de ocorrer, derivado da maior cinética de proliferação e velocidade de migração das células epiteliais, a qual é cerca de 10 vezes superior às restantes células periodontais, levando à formação de um epitélio juncional longo (Matos 2008; Bashutski & Wang 2009).

Em 1976, Melcher sugeriu que o tipo de células que repovoa a superfície radicular após cirurgia periodontal determina a natureza da futura adesão (Raja *et al.* 2009). Surgiu assim a teoria da “compartimentalização”, que divide os tecidos conjuntivos do periodonto em quatro compartimentos: lâmina própria da gengiva (corium gengival), ligamento periodontal, cimento e osso alveolar (AAP 2005; Matos 2008; Bashutski & Wang 2009). Foram então desenvolvidos múltiplos estudos com o intuito de identificar e caracterizar as células com capacidade regenerativa, ao que se concluiu que em condições normais as células epiteliais migram rapidamente em direcção à porção mais apical da superfície radicular instrumentada, determinando o tipo de adesão – reparação. De forma a ultrapassar este obstáculo, múltiplos materiais, tais como membranas de barreira, materiais de enxertos, têm-se implantado nas possíveis terapêuticas regenerativas de forma a promover a proliferação de células com

capacidades regenerativas e a excluir os tipos de células indesejáveis, tais como as células epiteliais (Matos 2008; Bashutski & Wang 2009).

Apesar das grandes potencialidades dos factores de crescimento, os seus resultados ainda apresentam uma baixa evidência científica, estando o seu sucesso dependente de múltiplos factores envolventes (Bashutski & Wang 2009).

O presente trabalho visa estabelecer uma análise crítica do nível de evidência actual, da aplicação clínica dos factores de crescimento na regeneração óssea e periodontal.

Com este intuito, far-se-á uma revisão narrativa, descrevendo-se os diferentes factores de crescimento com evidência científica, salientando a sua aplicação e previsibilidade na regeneração óssea, bem como principais desafios a serem ultrapassados pela engenharia de tecidos; e uma revisão do tipo sistemática da aplicação clínica dos factores de crescimento nos defeitos periodontais infra-ósseos.

O derivado das proteínas da matriz do esmalte não foi incluído na presente revisão, dado que apesar de integrar o grupo dos mediadores biológicos promotores da regeneração periodontal, é um conjunto de proteínas da matriz extracelular e não deve ser confundido como um factor de crescimento, apesar de apresentar alguns mecanismos de acção em comum.

Neste contexto, serão desenvolvidos pela seguinte ordem expositiva os subseqüentes objectivos específicos: 1) justificar os princípios lógicos da utilização dos factores de crescimento; 2) descrever sumariamente os princípios biológicos dos factores de crescimento considerados relevantes; 3) apresentação de uma revisão narrativa da literatura a nível de ensaios pré-clínicos da eficácia dos factores de crescimento na regeneração óssea e periodontal e de ensaios clínicos na regeneração óssea; 4) sumarizar a evidência disponível da aplicação dos factores de crescimento no tratamento de lesões periodontais infra-ósseas a nível de ensaios clínicos aleatorizados; 5) analisar a evidência apurada e retirar as respectivas conclusões.

II. Material / Métodos

Para a elaboração do presente trabalho foi realizada uma pesquisa bibliográfica online nas bases de dados de artigos científicos Medline / Pubmed, EBSCO, e b-On. Efectuou-se também uma pesquisa manual em revistas científicas de referência, destacando-se: Journal of Clinical Periodontology, Journal of Prosthetic Dentistry e Journal of Periodontology.

Com o intuito de elaborar uma revisão narrativa relativa à aplicação clínica dos factores de crescimento na regeneração óssea, utilizaram-se na pesquisa as seguintes palavras chave: *growth factors, bone regeneration PRP, BMP, PDGF, wound healing, tissue engineering*. Foi seleccionado o conteúdo científico disponível em língua portuguesa e inglesa, publicado entre 1992 e 2009, incluindo estudos pré clínicos, estudos clínicos de série de casos, estudos de coorte e estudos aleatorizados controlados.

De forma a efectuar uma revisão do tipo sistemática acerca da previsibilidade clínica dos factores de crescimento na regeneração de defeitos periodontais infra-ósseos, seleccionaram-se como palavras chave: *PRP, IGF, PDGF, periodontal regeneration, intra-osseous defects, infra-osseous defects, periodontal disease, growth factors, randomized controlled trial, systematic review*. Os critérios de inclusão apenas englobaram os estudos com maior nível de evidência científica - revisões sistemáticas e estudos clínicos controlados aleatorizados publicados a partir de 2008.

III. Resultados

1. Factores de Crescimento

A aplicação terapêutica dos factores de crescimento visa a regeneração tecidual, através de processos biomiméticos ou similares aos que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal (Kaigler *et al.* 2008). A complexidade destes eventos sugere a necessidade da combinação de diferentes factores de crescimento, para a criação de um ambiente adequado à regeneração, tal como se verifica nos processos naturais de reparação (Graves *et al.* 1994; AAP 1996; Kaigler *et al.* 2008). A utilização de um único factor de crescimento recombinante também poderá induzir várias cascatas molecular, bioquímica e morfológica, conduzindo à regeneração tecidual (Kaigler *et al.* 2008).

Os factores de crescimento são mediadores biológicos naturais que regulam importantes eventos celulares envolvidos na reparação / regeneração dos tecidos, por ligação aos receptores celulares específicos de superfície (Graves *et al.* 1994; Demir *et al.* 2007; Kaigler *et al.* 2008; Giannobile & Somerman 2003). Depois de alcançarem as células alvo, os factores de crescimento induzem as vias de sinalização intracelulares, que resultam na activação de genes que mudam a actividade celular e o fenótipo. No entanto, o efeito de cada factor de crescimento é regulado através de um complexo sistema de feedback que envolve outros factores de crescimento, enzimas e proteínas vinculativas (El-Sharkawy *et al.* 2007; Kaigler *et al.* 2008).

Os diferentes materiais biomiméticos, capazes de promover a regeneração periodontal e óssea, tais como membranas bio-reabsorvíveis e não-reabsorvíveis, matrizes e enxertos, entre outros, criam um micro-ambiente adequado para a repopulação de células reparativas da solução de continuidade óssea e da superfície dentária, mas não aceleram os processos celulares necessários para a regeneração. As futuras técnicas regenerativas irão utilizar estímulos biológicos ou sinais que dirijam a actividade de síntese celular, e regulem a formação / remodelação dos tecidos desejados (Matos 2008).

Assim, o reparo tecidual é iniciado por factores de crescimento produzidos localmente que funcionam como sinais de alerta para a actividade celular promotora da regeneração. Estes estimulam as células alvo através de ligações de alta afinidade com os receptores das membranas plasmáticas, gerando mensagens secundárias dentro das células. Estas mensagens levam a uma cascata de eventos celulares bem regulados, os quais constituem os elementos essenciais dos processos de reparação / regeneração (Graves *et al.* 1994).

A estimulação das células pode ocorrer por três sistemas distintos – endócrino, parácrino e autócrino (Tözüm & Demiralp 2003). O mais conhecido é o sistema endócrino, no qual uma célula produz um mediador biológico (i.e. hormona) que se encontra a alguma distância da célula-alvo. A hormona atinge a célula-alvo através da circulação vascular. O segundo sistema é o parácrino, onde a célula que produz um factor de crescimento situa-se perto da célula-alvo. O último sistema é o autócrino, o qual resulta de uma auto-estimulação, sendo representado por uma única célula que produz e responde a um determinado mediador biológico. Neste sentido, o sistema endócrino actua sistematicamente, enquanto os sistemas autócrino e parácrino agem localmente, tendo uma função primordial na cicatrização de feridas, através da proliferação celular no local da lesão (Graves *et al.* 1994).

Os sistemas de transporte dos factores de crescimento são cruciais no sucesso da sua aplicação clínica, uma vez que têm um papel decisivo na regeneração dos tecidos. Estes transportadores devem reunir um conjunto de características de forma a permitir a sua aplicação, e funcionalidade, de modo a proporcionarem um micro-ambiente adequado ao maximizar do processo de cura (Raja *et al.* 2009). Neste sentido, revela-se de particular interesse a área de superfície, as propriedades de superfície para a interacção célula - substrato, a cinética de libertação adequada com o processo regenerativo em causa, a biocompatibilidade – reacções inflamatórias e imunológicas, e a biodegradação em sintonia com a diferenciação fenotípica dos tecidos a regenerar (AAP 2005; Matos 2008). Para além destes factores, os transportadores devem apresentar uma manipulação e aplicação clínica fácil, providenciar uma estabilidade para a ferida operatória e servir como mantenedores de espaço (Matos 2008).

Os sistemas de transporte dos factores de crescimento mais utilizados incluem os cerâmicos à base de fosfato de cálcio, enxertos ósseos, polímeros sintéticos (ex.: ácido poliláctico e poliglicólico), polímeros naturais (ex.: colagénico, fibrina, ácido hialurónico, glicosaminoglicanos), em muitas formas como esponjas, membranas, cimentos ou hidrogéis (Ripamonti & Reddi 1992; Matos 1999; Selvig *et al.* 2002; Wikesjö *et al.* 2003b).

Neste âmbito salientam-se a regeneração guiada de tecidos e a regeneração guiada óssea, as quais recorrem a membranas para otimizar os resultados clínicos, funcionando como barreiras selectivas aos diferentes tipos de células, impossibilitando a formação de tecido fibroso e conseqüente reparação. Para além do referido, estas asseguram a manutenção do espaço necessário à regeneração dos tecidos, funcionando como matrizes que possibilitam a organização tecidual e a promoção da angiogénese (Kaigler *et al.* 2008).

As membranas podem ser reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, destacando-se como desvantagem destas últimas a necessidade de dois procedimentos cirúrgicos, um para colocação e outro para remoção das mesmas após regeneração. Quanto à sua composição podem ser derivadas de compostos naturais (i.e. colagénico) ou de polímeros sintéticos (i.e. derivados do ácido poliláctico e poliglicólico). As primeiras são degradadas por um processo enzimático – biodegradação; enquanto as segundas são hidrolisadas nos metabólitos naturais do ácido láctico e glicólico – bio-reabsorção (Kaigler *et al.* 2008).

Os hidrogéis como transportadores dos factores de crescimento têm mostrado resultados muito promissores, dada a sua fácil aplicação clínica, derivada da sua apresentação como materiais injectáveis. Como exemplo, pode-se referir os hidrogéis de alginato os quais têm sido aplicados como matrizes em implantes, com resultados positivos em experiências de engenharia de tecidos ósseos (Kaigler *et al.* 2008).

Os polímeros biomiméticos têm sido desenvolvidos, com o intuito de conjugar os benefícios dos materiais naturais – carácter multifuncional, com as propriedades mecânicas dos polímeros sintéticos. Este conceito híbrido tem sido utilizado na ligação de polímeros com aminoácidos específicos, tal como o tripeptídeo RGD, os quais regulam a adesão celular (Kaigler *et al.* 2008).

Uma área de crescente interesse, e na qual muito se tem apostado, é a do desenvolvimento de materiais de forma memória, os quais apresentam diferentes formas consoante a temperatura. Estes materiais têm a capacidade de memorizar uma forma permanente, que pode ser substancialmente diferente de uma forma inicial temporária. Foram por isso designados como “inteligentes”, dada a sua capacidade de mudar as propriedades estruturais e funcionais em resposta a estímulos ambientais, o que os torna muito promissores como transportadores dos factores de crescimento (Kaigler *et al.* 2008).

A cinética de degradação dos factores de crescimento é um tema actualmente bastante controverso, permanecendo a dúvida no que concerne ao tipo de coordenação entre a cinética de libertação e a resposta de cicatrização (AAP 2005; Matos 2008). Permanece por esclarecer se uma libertação rápida, ou mais prolongada e homogénea ou antes pelo contrário pulsátil ou sequencial é mais benéfica (Matos 2008). Alguns estudos mostram uma maior formação óssea com uma libertação rápida de BMP-2, pelo contrário a formação de cimento está relacionada com uma libertação lenta, contudo estes resultados foram obtidos em estudos pré-clínicos, não se podendo por isso afirmar que iguais resultados estão presentes para a espécie humana (AAP 2005).

Existe uma multiplicidade de factores de crescimento, contudo a evidência científica apenas comprova a aplicabilidade clínica de alguns deles. Vários estudos foram desenvolvidos de forma a determinar os fins terapêuticos dos mesmos e as suas funções durante as diferentes fases de cicatrização (Kaigler *et al.* 2008).

1.1. PDGF (Factor de Crescimento derivado das Plaquetas)

1.1.1. Descrição Biológica

O PDGF é um factor de crescimento envolvido na cicatrização de feridas, estimulando o potencial regenerativo dos tecidos ósseo e periodontal (Giannobile & Somerman 2003; Bashutski & Wang 2009). Foi o primeiro a ser avaliado em estudos pré-clínicos periodontais e peri-implantares, denotando-se que exerce múltiplas respostas biológicas, incluindo a mitogénese e quimiotaxia de fibroblastos gengivais e do ligamento periodontal, cementoblastos, pré-osteoblastos e osteoblastos (Graves *et al.* 1994; AAP 1996; Giannobile & Somerman 2003; Kaigler *et al.* 2008; Jung *et al.* 2008; Raja *et al.* 2009). Os resultados são dose e tempo dependentes (Kaigler *et al.* 2008). Este factor de crescimento é armazenado nas plaquetas, sendo liberado aquando da desgranulação das mesmas durante a coagulação (Graves *et al.* 1994; Raja *et al.* 2009).

Os receptores do PDGF, destacando-se os receptores α e β , cuja actividade pode ser modulada por citocinas, estão presentes em diferentes células alvo, determinando desta forma respostas celulares específicas. A actividade destes receptores corrobora a proposição, que a presença de sinais inflamatórios inibe o reparo tecidual (Oringer 2002).

A família PDGF é composta por quatro factores de crescimento: o PDGF-A, o PDGF-B, e mais recentemente descoberto o PDGF-C e o PDGF-D (Graves *et al.* 1994; Tözüm & Demiralp 2003; Giannobile & Somerman 2003; Kaigler *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009). O PDGF é uma

molécula dimérica, que se pode apresentar sob a forma homodimérica (PDGF-AA e PDGF-BB) ou heterodimérica (PDGF-AB) dependendo dos genes que são codificados (Graves *et al.* 1994; Oringer 2002). Todos estes participam no processo de cicatrização da ferida, mas até agora, apenas as três isoformas de PDGF: PDGF-AA, PDGF-BB e PDGF-AB foram avaliadas em terapia periodontal (Oringer 2002; Giannobile & Somerman 2003; Kaigler *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009).

As isoformas -AA e -BB têm a capacidade de aumentar a proliferação de células ósseas, aumentando a produção de PDGF-AA em culturas de osteoblastos por um processo autócrino (Tözüm & Demiralp 2003).

O PDGF-BB tem reunido resultados muito promissores como agente regenerativo, sendo o mais eficaz na mitogénese celular ao nível do ligamento periodontal e biossíntese da matriz (Bashutski & Wang 2009).

O PDGF é considerado um factor de competência, visto que actua ao nível das células tornando-as competentes, isto é preparadas para a divisão celular, necessitando apenas de um factor de progressão, tal como o IGF, para induzir a mitose celular, aumentando a sua capacidade regenerativa (Oringer 2002). Este efeito sinérgico ocorre pelo menos durante um período transitório, dado que os eventos críticos envolvidos no processo reparativo ocorrem nos primeiros dias após a aplicação dos factores de crescimento (Graves *et al.* 1994; Giannobile & Somerman 2003; Oringer 2002).

Actualmente, já se encontra disponível no mercado a isoforma PDGF-BB em associação com o β -TCP (β -fosfato tricálcico), o qual funciona como transportador, sendo comercialmente conhecido por Gem-21 (Bashutski & Wang 2009).

1.1.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Numa revisão sistemática, Jung *et al.* (2008) avaliaram o efeito do PDGF na regeneração óssea. Dez estudos preencheram os critérios de inclusão, utilizando como modelos animais o rato, o coelho e o cão. Os defeitos ósseos abrangiam: defeitos da calvária, defeitos ao nível do ramo mandibular, defeitos peri-implantares, défice na osteo-integração de implantes de titânio, aumento vertical do rebordo alveolar mandibular e regeneração óssea em torno de implantes colocados imediatamente após a extracção (Jung *et al.* 2008).

Em 9 dos 10 estudos animais verificou-se uma formação de novo osso. Resultados estatisticamente significativos, tendo em conta o novo volume ósseo, só foram observados em 5 estudos (Lynch *et al.* 1991, Vikjaer *et al.* 1997, Lee *et al.* 2000, 2001, Meraw *et al.* 2000). Os

restantes 4 estudos não relataram diferenças significativas com ou sem aplicação local de rhPDGF, bem como na comparação dos resultados dos grupos teste e controlo (Marden *et al.* 1993, Stefani *et al.* 2000, Lioubavina-Hack *et al.* 2005 a,b) (Jung *et al.* 2008; Raja *et al.* 2009).

Dados sobre o BIC (contacto implante – osso) foram obtidos em 3 estudos animais (Lynch *et al.* 1991a, Meraw *et al.* 2000, Stefani *et al.* 2000). Em dois estudos (Lynch *et al.* 1991a, Meraw *et al.* 2000) verificaram-se diferenças estatisticamente significativas ao nível deste parâmetro, quando comparados os grupos teste e controlo, às 7 e às 12 semanas, respectivamente. O terceiro estudo (Stefani *et al.* 2000) mostrou resultados diferentes, revelando uma diferença estatisticamente significativa em três semanas, não se mantendo para além deste período (8 a 12 semanas) (Jung *et al.* 2008).

1.1.3. Ensaio Clínico na Regeneração Óssea

O sucesso do PDGF foi relatado através de um estudo de caso, no qual se procedeu a uma extracção dentária, após insucesso da terapia endodôntica, verificando-se uma reabsorção da tábua vestibular. Foi feito um enxerto ósseo alógeno e a aplicação local do PDGF. Os resultados histológicos após 7 meses revelaram um sucesso regenerativo, sugerindo que este factor de crescimento pode ter um potencial efeito na regeneração óssea (Bashutski & Wang 2009).

Resultados menos satisfatórios foram obtidos num estudo clínico, no qual foram aplicados factores de crescimento – PDGF em combinação com o IGF vs FGF, de forma a promoverem a regeneração dos tecidos perirradiculares após tratamento endodôntico e ressecção da raiz. Verificou-se que estes factores de crescimento aplicados isoladamente não promovem uma regeneração significativa do defeito apical (Bashutski & Wang 2009).

Num estudo piloto, Simon *et al.* (2007) demonstraram, numa amostra de 2 pacientes, que o rhPDGF-BB combinado com enxertos onlay de bovino desproteinizados, sem colocação de membrana de barreira, tem resultados significativos na regeneração de defeitos graves da crista mandibular (Jung *et al.* 2008). Em contra-partida, um outro estudo demonstrou que a combinação de rhPDGF-BB com um substituto ósseo (osso bovino desmineralizado particulado – DBBM) resultou em níveis inferiores de formação óssea, relativamente à aplicação isolada do DBBM (Jung *et al.* 2008).

1.1.4. Ensaio Clínico Controlado e Aleatorizado na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Numa descrição narrativa elaborada por Trombelli & Farina (2008) foram analisados os efeitos do PDGF ao nível da regeneração de defeitos periodontais infra-ósseos, citando-se um estudo

controlado randomizado (RCT) elaborado por Howell *et al.* (1997a) o qual avaliou o sucesso da aplicação combinada do rhPDGF-BB com o rhIGF-1 em duas doses distintas – 50 microgramas/ml ou 150 microgramas/ml de cada factor de crescimento. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas na formação de novo osso, apenas com a maior dose de factores de crescimento, obtendo-se neste grupo uma redução da profundidade de sondagem (PD) de 2.08mm e um preenchimento ósseo do defeito de 42.3%. Utilizou-se como transportador um gel de metilcelulose. Verificaram-se efeitos adversos em 5 dos 38 pacientes envolvidos no estudo, destacando-se elevação dos marcadores hepáticos - TGO e TGP, linfocitose e hematúria (AAP 1996; Trombelli & Farina 2008).

A aplicação do PDGF-BB em simultâneo com um material de substituição óssea foi avaliada, por Nevins *et al.* (2005) num estudo multicêntrico controlado aleatorizado, com uma amostra de 180 pacientes, aplicando-se duas doses distintas (0.3mg/ml ou 1mg/ml) com um transportador de β -fosfato tricálcico (β -TCP). Nos grupos controlos apenas foi colocado o transportador. Ao fim de 6 meses, tanto os grupos teste como controlo apresentavam uma melhoria clínica e radiográfica dos defeitos infra-ósseos, contudo os resultados foram mais significativos nos grupos teste. Verificou-se um crescimento ósseo linear de 2.6mm e uma percentagem de preenchimento do defeito ósseo de 57% nos grupos com menor dose de PDGF ao passo que nos grupos com dose superior obtiveram-se resultados de 1.5mm e 34% respectivamente. A taxa de ganho de CAL (nível de inserção clínica) foi mais efectiva nos grupos submetidos a menores doses, sendo as diferenças significativas ao fim de 3 meses (ganho de CAL de 3.8mm) (Nevins & Giannobile 2005; Trombelli & Farina 2008; Kaigler *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009).

1.2. PTH (Hormona Paratiróide)

1.2.1. Descrição Biológica

A hormona paratiróide é um factor de crescimento polipeptídico produzido por vários tipos de células, incluindo os queratinócitos, os linfócitos activados e os osteoblastos (AAP 1996). É uma hormona endógena, que estimula a reabsorção óssea, contudo é também um potente agente anabolizante ao nível do tecido ósseo esponjoso e cortical, se aplicado em doses baixas e intermitentes (AAP 1996; Jung *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009).

Actualmente é usada na terapêutica sistémica da osteoporose. Estudos clínicos mostram que este tratamento promove um aumento da densidade óssea. Até à data são poucos os estudos que avaliam o efeito da hormona paratiróide na regeneração óssea e periodontal (Jung *et al.* 2008).

1.2.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Estudos preliminares em animais mostram que a PTH pode assumir um papel promissor na regeneração óssea (Bashutski & Wang 2009). Miller *et al.* (1997) administraram PTH intermitente em mandíbulas de ratas ovariectomizadas, verificando-se uma formação óssea ao nível da aplicação do factor de crescimento. Do mesmo modo, outro grupo verificou que a PTH tem um efeito protector na perda óssea associada à periodontite (Bashutski & Wang 2009).

Jung *et al.* (2007) desenvolveram um ácido - arginina-glicina-aspártico (RGD) modificado por uma matriz de polietileno / glicol (PEG) contendo peptídeos covalentes à hormona paratiróide, de forma a promover a regeneração óssea em torno de implantes dentários. Em grupos de coelhos, estes autores obtiveram resultados semelhantes, quando comparados com a aplicação de enxertos ósseos autólogos (Bashutski & Wang 2009).

Numa revisão sistemática Jung *et al.* (2008) avaliaram o efeito da PTH na regeneração óssea. De acordo com os critérios de inclusão foram seleccionados quatro estudos animais controlados. Dois deles recorreram como modelo animal a ratos (Skripitz *et al.* 2000, Andreassen & Cacciafesta 2004), um estudo utilizou coelhos (Jung *et al.* 2007a) e o outro estudo cães (Jung *et al.* 2007b). Os tipos de defeitos envolvidos eram peri-implantares de tamanho crítico (Jung *et al.* 2008).

Os estudos analisados apresentaram resultados bastante diferentes, o que impossibilitou a sua comparação. Avaliando-os independentemente, concluiu-se que existem diferenças estatisticamente significativas quando comparados os resultados regenerativos do grupo teste e controlo, independentemente do modelo animal (Jung *et al.* 2008).

1.3. FGF (Factor de Crescimento Fibroblástico)

1.3.1. Descrição Biológica

Os FGF constituem uma família de factores de crescimento com 7 membros diferentes. Os mais bem descritos são o FGF ácido e o FGF básico. Eles são codificados por diferentes genes e são regulados de forma independente, armazenando-se na matriz extracelular do osso (Graves *et al.* 1994; Wozney 1995).

Estes factores de crescimento medeiam respostas celulares através da ligação e activação de receptores específicos da superfície celular, estimulando a proliferação de uma grande variedade de células, entre as quais osteoblastos, fibroblastos, células epidérmicas e condroblastos. O FGF

estimula assim a actividade mitogénica e quimiotática das células do ligamento periodontal (Graves *et al.* 1994; Wozney 1995; Kitamura 2008).

A família dos FGF, ao contrário do PDGF, tem fortes propriedades angiogénicas, tornando-se estes factores importantes mediadores na formação de tecido de granulação (Graves *et al.* 1994; Kitamura 2008).

O factor de crescimento básico de fibroblastos (bFGF) ou factor de crescimento fibroblástico-2 (FGF-2) possui potentes propriedades angiogénicas, fibroblasto - estimulatórias, mitogénicas e quimiotáticas. Este factor de crescimento é sintetizado por células inflamatórias e armazenado na matriz extracelular, ligando-se aos proteoglicanos heparino-sulfatos (Graves *et al.* 1994; AAP 1996; Giannobile & Somerman 2003; Kaigler *et al.* 2008).

Estudos recentes, no campo da medicina regenerativa descrevem o uso de citocinas como “moléculas sinalizadoras”, promotoras da estimulação e proliferação adequada de células e diferenciação de tecidos. Entre estas citocinas, o FGF-2 está a despertar a atenção dos pesquisadores, devido às suas capacidades indutoras da proliferação de células tronco mesenquimatosas, mantendo o potencial proliferativo de múltiplas linhagens celulares (Kitamura *et al.* 2008).

1.3.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Vários estudos pré-clínicos em cães beagle e primatas não humanos (*Macaca Fascicularis*), nos quais se aplicou o factor de crescimento com diferentes transportadores e em diferentes doses, revelaram uma melhoria na regeneração periodontal em comparação com grupos controlo (Kaigler *et al.* 2008; Kitamura *et al.* 2008). Verificou-se que o FGF-2 estimula significativamente a neogénese de osso alveolar, ligamento periodontal e cemento, sem provocar efeitos adversos, tais como o crescimento do epitélio gengival, reabsorção radicular ou anquilose (Kitamura *et al.* 2008). Concluiu-se também que os efeitos do FGF-2 são dose dependente (Kaigler *et al.* 2008; Kitamura *et al.* 2008).

Este factor de crescimento tem um importante papel na cicatrização de feridas cutâneas. Vastos estudos apontam para efeitos significativos na regeneração de defeitos infra-ósseos e defeitos de furca classe III (Kaigler *et al.* 2008).

1.3.3. Ensaio Clínico Controlado e Aleatorizado na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Com o intuito de avaliar o efeito do FGF-2 na regeneração de defeitos infra-ósseos periodontais, citamos um estudo controlado aleatorizado duplamente cego, desenvolvido por Kitamura *et al.* (2008) (Kitamura *et al.* 2008).

Neste estudo foram incluídos 80 pacientes, com periodontite, os quais apresentavam defeitos verticais com um número variável de paredes ósseas remanescentes, maiores ou iguais a 3mm de profundidade. Os pacientes foram divididos em quatro grupos de 20 (grupos P, L, M, e H), com quantidades diferentes do factor de crescimento, de modo a avaliar o efeito dose - resposta do FGF-2. O grupo P funcionou como grupo controlo, no qual se avaliou o efeito placebo, uma vez que apenas foi aplicado o transportador do factor de crescimento – hidroxipropilcelulose (HPC) a 3%. No grupo L aplicou-se a combinação HPC e FGF-2 (0.03%). No grupo M administrou-se igualmente a combinação veículo mais factor de crescimento, mas o FGF-2 a uma percentagem de 0.1%. Por último o grupo H apresentava a maior percentagem de FGF-2 (0.3%) em combinação com o transportador (Kitamura *et al.* 2008).

Antes e durante 36 semanas após a administração do veículo de transporte e/ou factor de crescimento, os pacientes foram submetidos a uma avaliação radiográfica e clínica dos tecidos periodontais (Kitamura *et al.* 2008).

Os resultados deste estudo evidenciaram uma diferença significativa na taxa de aposição vertical de osso alveolar entre o grupo P (23.92%) e o grupo H (58.62%). O aumento linear em altura do osso alveolar, com um *follow up* de 36 semanas, foi de 0.95mm no grupo P e 1.85mm no grupo H. Quanto ao nível de inserção clínico (CAL), nível de recessão gengival (REC), quantidade de gengiva queratinizada (KG), grau de mobilidade (MO), e prevalência de hemorragia à sondagem (BOP) verificou-se uma melhoria em todos os parâmetros, contudo as diferenças não foram estatisticamente significativas. Especificando verificou-se um aumento de CAL de cerca de 2mm nos 4 grupos, não havendo diferenças significativas entre os mesmos (Kitamura *et al.* 2008).

1.4. TGF- β (Factor de Crescimento Transformador Beta)

1.4.1. Descrição Biológica

O TGF- β é uma grande família de hormonas biologicamente activas. Foram identificados cinco genes que codificam diferentes formas do polipéptido TGF – TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF-

$\beta 4$ e TGF- $\beta 5$. O principal local de armazenamento do TGF- β é o tecido ósseo (Graves *et al.* 1994).

Este factor de crescimento intervém em diferentes fases da cicatrização de feridas, promovendo a quimiotaxia e a estimulação da formação de células osteoblásticas a partir da matriz extracelular (Graves *et al.* 1994; Kaigler *et al.* 2008). Quando injectado ao nível do periósteo, pode induzir a formação de tecido ósseo através de uma ossificação endocondral (Graves *et al.* 1994; AAP 1996).

Uma vez secretado, o TGF- β liga-se aos receptores transmembranares heterodiméricos activando um grupo de proteínas intracelulares. Inicia-se uma via de sinalização intracelular, que por sua vez activa um conjunto de genes (Tözüm & Demiralp 2003). Este factor de crescimento pode controlar a expressão genética de forma positiva ou negativa, o que condiciona a sua aplicação terapêutica (Kaigler *et al.* 2008).

O TGF- $\beta 1$ é a isoforma mais abundante desta família, encontrando-se principalmente ao nível das plaquetas e tecido ósseo (Kaigler *et al.* 2008). Esta isoforma quando associada a outros factores de crescimento, nomeadamente o PDGF, aumenta a sua capacidade proliferativa, aumentando a expressão dos receptores PDGF- β , e reduzindo o número de subunidades PDGF- α (AAP 1996). Além disso o TGF- $\beta 1$ inibe a proliferação de células epiteliais (AAP 1996).

Os efeitos do TGF- $\beta 1$ dependem da fonte de células ósseas, dose e local de aplicação. De acordo com estas condições, o TGF- $\beta 1$ estimula o colagénio tipo I, promove a biossíntese de fibronectina e osteonectina, promove a deposição de matriz óssea e a quimiotaxia. Para além disso, este factor de crescimento diminui a síntese de metaloproteinases e do activador do plasminogénio, provocando um aumento da síntese do inibidor tecidual das metaloproteinases (TIMP) e do inibidor do activador de plasminogénio (PAI), resultando numa diminuição da destruição da matriz de tecido conjuntivo (AAP 1996).

O TGF- $\beta 1$ parece inibir a formação de osteoclastos, no entanto através de um mecanismo da prostaglandina mediada, pode também induzir a reabsorção óssea (AAP 1996).

1.4.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Vários estudos pré-clínicos têm mostrado resultados inconsistentes quanto às capacidades regenerativas deste factor de crescimento.

Dois estudos animais em defeitos supra-ósseos em cães mostraram uma ligeira formação óssea e nenhuma melhoria na regeneração de cimento quando aplicado rhTGF- $\beta 1$ com ou sem

regeneração guiada de tecidos. Pelo contrário, em outro estudo com suínos, verificou-se um aumento da formação óssea em torno de implantes (Kaigler *et al.* 2008).

Neste sentido, os diferentes resultados obtidos, associados a um número reduzido de experiências sugerem a necessidade de desenvolver mais estudos de forma a confirmar a existência ou não de benefícios associados à sua aplicação na regeneração óssea e periodontal (Kaigler *et al.* 2008; Taba *et al.* 2008).

1.4.3. Ensaio Clínico na Regeneração Óssea

Um estudo clínico de série de caso, elaborado por Ruskin *et al.* (2000), revelou um aumento da regeneração óssea, em defeitos ósseos ao nível dos caninos, após 2 meses da aplicação de rhTGF- β 1 em conjunto com uma membrana não reabsorvível (Tözüm & Demiralp 2003).

1.5. IGF (Factor de Crescimento Insulino-Aparentado)

1.5.1. Descrição Biológica

O factor de crescimento insulino-aparentado constituiu uma família de proteínas de cadeia única, com 49% de homologia com a pró-insulina (Oringer 2002; Raja *et al.* 2009). Este factor de crescimento é produzido por diferentes tecidos, destacando-se o fígado, células osteogénicas, plaquetas e células inflamatórias que circulam no sistema vascular, podendo estimular as células por via endócrina, mas também parácrina ou autócrina (Graves *et al.* 1994; Kaigler *et al.* 2008).

O osso é um dos principais locais de armazenamento deste factor de crescimento, o qual é activado aquando da reabsorção da matriz das metaloproteases e pelo meio ácido que se desenvolve durante o processo inflamatório. Como consequência há uma indução da quimio-atracção, migração, proliferação e diferenciação de células mesenquimatosas em osteoblastos ou condroblastos. Todas estas funções são movidas por um complexo mecanismo de interacção entre os factores de crescimento e outras citocinas, que são influenciadas por vários factores reguladores (Kaigler *et al.* 2008).

Da família dos IGF destacam-se duas formas, o IGF-1 e o IGF-2, as quais são semelhantes na estrutura e função, contudo são reguladas independentemente (Graves *et al.* 1994; Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003; Raja *et al.* 2009). A função destes factores de crescimento é comandada por proteínas de ligação, as quais podem induzir ou inibir a sua actividade (Graves *et al.* 1994; Oringer 2002).

O IGF-1 tem uma multiplicidade de efeitos ao nível da actividade do ligamento periodontal e metabolismo ósseo, destacando-se:

- Quimiotaxia para fibroblastos do ligamento periodontal, osteoblastos e células progenitoras dos osteoclastos;
- Efeito mitogénico para osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal;
- Estimulação da síntese de matriz extracelular (Graves *et al.* 1994; Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003).

O IGF-1 aplicado isoladamente, não tem resultados muito efectivos no reforço da cicatrização óssea, pelo que têm sido efectuados estudos com o objectivo de avaliar as capacidades regenerativas e/ou reparativas do IGF-1 associado a outros factores de crescimento, nomeadamente o PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas) (Page 1993; Graves *et al.* 1994). Os seus efeitos quando administrados concomitantemente, têm sido extensivamente investigados in-vitro e em modelos pré-clínicos e clínicos, denotando-se um aumento significativo da taxa e qualidade de cicatrização (Graves *et al.* 1994; Oringer 2002).

1.5.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Nos modelos pré-clínicos, salienta-se os trabalhos desenvolvidos por Lynch *et al.* (1989,1991), nos quais se procedeu à aplicação tópica de PDGF e IGF-1 em cães beagle com periodontite induzida, verificando-se a formação substancial de novo osso, cemento e ligamento periodontal, num período de duas semanas (Oringer 2002; Raja *et al.* 2009).

Neste sentido, pode-se afirmar, tendo por base estes e outros estudos, que o IGF-1 quando combinado com o PDGF estimula a regeneração periodontal em modelos animais com periodontite (Graves *et al.* 1994).

1.5.3. Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Howell *et al.* (1997a) relataram o primeiro ensaio clínico humano, no qual foi avaliada a eficácia e segurança da aplicação do PDGF recombinante humano / IGF-1 recombinante humano (rhPDGF / rhIGF-1) em 38 pacientes com periodontite moderada a grave (Oringer 2002). Duas doses de rhPDGF-BB / rhIGF-1 de diferentes concentrações foram testadas (50 µg/ml ou 150 µg/ml) (Oringer 2002; Trombelli & Farina 2008).

Verificou-se um elevado preenchimento ósseo, nos locais onde foi aplicada a terapia mais concentrada de factores de crescimento, registando-se um crescimento vertical ósseo de 2.08mm

e um preenchimento de 43,2% dos defeitos ósseos, comparados com os 0.75mm e 18.5% respectivamente, para os grupos controlo (Oringer 2002; Trombelli & Farina 2008).

A combinação do IGF-1 com o PDGF mostra resultados bem positivos na aplicação clínica, denotando-se uma estimulação da reparação óssea alveolar e da regeneração periodontal em pacientes com doença periodontal grave, referindo-se uma taxa de 132% na síntese de colagéneo, ao invés dos 68% obtidos aquando da aplicação isolada do PDGF ou dos resultados insignificantes derivados da utilização isolada do IGF-1 (Page 1993; Taba *et al.* 2008).

1.6. PRP (Plasma Rico em Plaquetas)

1.6.1. Descrição Biológica

O plasma rico em plaquetas é uma suspensão concentrada de plaquetas autólogas, que secreta factores de crescimento bioactivos (Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003; Bashutski & Wang 2009). Está descrito que o número de plaquetas no PRP é 338% maior do que no sangue periférico (Oringer 2002).

Os factores de crescimento estão presentes em elevadas concentrações no PRP, intervindo nas diferentes fases de cicatrização e regeneração dos tecidos, promovendo a quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular e angiogénese (Tözüm & Demiralp 2003; Okuda *et al.* 2005; Demir *et al.* 2007; Raja *et al.* 2009). Estes são depositados na matriz extracelular, sendo libertados aquando de uma lesão, por degradação da matriz (Tözüm & Demiralp 2003; El-Sharkawy *et al.* 2007). Neste sentido, uma série de interacções célula - a - célula é iniciada, e devido ao rompimento da vascularização há formação de fibrina e agregação plaquetária. Nesta fase vários factores de crescimento são libertados, salientando-se o PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas), o TGF- α (factor de crescimento transformador alfa), o TGF- β (factor de crescimento transformador beta), o IGF-1 (factor de crescimento aparentado da insulina 1), o VEGF (factor de crescimento endotelial vascular), o EGF (factor de crescimento epitelial), bFGF (factor de crescimento fibroblástico básico) e três proteínas sanguíneas com importantes funções adesivas – a fibrina, a fibronectina e a vitronectina (Tözüm & Demiralp 2003; Demir *et al.* 2007; El-Sharkawy *et al.* 2007; Harnack & Boedeker 2009).

As plaquetas aderem ao local da lesão, libertando grânulos que contêm serotonina, tromboxane e adenosina, iniciando-se o processo de coagulação, com formação de fibrina (Tözüm & Demiralp 2003). Após a formação desta rede insolúvel, as plaquetas libertam diversos factores de crescimento, destacando-se o PDGF, o IGF e o TGF- β dadas as suas funções preponderantes na

reparação / regeneração tecidual (Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003; El-Sharkawy *et al.* 2007). O PDGF é o responsável pela activação da colagenase durante o período de cicatrização, reforçando o processo de cura. Por outro lado o TGF- β activa os fibroblastos conduzindo à formação e deposição de colagéneo ao nível da ferida (Tözüm & Demiralp 2003; Harnack & Boedeker 2009).

A utilização do PRP requer uma óptima homeostasia local, a qual pode ser conseguida recorrendo ao PPP (plasma pobre em plaquetas). Os autores referem que a hemostase é obtida após 3min da aplicação do gel de plaquetas (PRP) e da cola de fibrina (PPP), minimizando desta forma a utilização do electrocautério e consequentes danos dos nervos adjacentes (Tözüm & Demiralp 2003).

O PRP ao apresentar concentrações elevadas de factores de crescimento, assegura o sucesso terapêutico, com uma taxa custo – benefício favorável, tornando-o uma opção real e consistente do plano de tratamento (Tözüm & Demiralp 2003). Para além da sua fácil aplicação clínica, permite uma óptima hemostase no pós-operatório, uma rápida cicatrização dos tecidos moles, intervém na estabilidade inicial do tecido enxertado, devido às suas propriedades adesivas, promove uma rápida vascularização do tecido de cicatrização, libertando diversos factores de crescimento que em conjunto com materiais de substituição óssea induzem a regeneração óssea e periodontal (Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003). Para além de todas estas vantagens, é importante referir que por ser um material autólogo, não desencadeia reacções imunológicas, nem existe o perigo de transmissão de doenças (Tözüm & Demiralp 2003). Desta forma a sua aplicabilidade clínica tem-se estendido a vários campos cirúrgicos, destacando-se a cirurgia da cabeça e pescoço, otorrinolaringologia, cirurgia cardiovascular, cirurgia maxilo-facial e oral envolvendo a periodontologia (Tözüm & Demiralp 2003; Demir *et al.* 2007). Em medicina dentária o PRP pode ser utilizado em vários procedimentos clínicos, tais como elevação do seio maxilar, aumento do rebordo alveolar, reconstruções mandibulares, correcção de fendas palatinas, tratamento de defeitos periodontais e regeneração alveolar (Demir *et al.* 2007).

O PRP pode ser preparado num laboratório, ou no período pré-operatório, imediatamente antes da cirurgia (Tözüm & Demiralp 2003). O uso de concentrado de plaquetas obtido em bancos de sangue, por métodos descontínuos de plasmaférese está limitado, devido aos riscos de saúde inerentes, alto stress cardiovascular para o receptor e custos elevados (Tözüm & Demiralp 2003).

Estão disponíveis diversas técnicas que permitem a obtenção de pequenas quantidades de PRP autólogo, minutos antes da cirurgia, para uso na área da medicina dentária, provocando um menor stress aos pacientes, sobretudo os mais idosos (Tözüm & Demiralp 2003).

Podem nomear-se dois sistemas comerciais disponíveis para os consultórios dentários: o “Platelet Concentrate Collection System” (PCCS) e o “Curasan PRP kit”. Num estudo elaborado por Weibrich *et al.* (2002), compararam-se os dois sistemas disponíveis. As colheitas de sangue foram feitas em doadores saudáveis. Após análise das duas amostras de PRP, verificou-se uma maior concentração plaquetária no PRP elaborado pelo sistema PCCS, bem como dos factores de crescimento TGF- β 1 e IGF-1, pelo contrário o PDGF encontrava-se em menor concentração quando comparado com o PRP obtido pelo sistema Curasan. Os autores concluíram assim que o PCCS produz amostras de PRP com uma maior contagem de plaquetas e um teor total de factores de crescimento mais elevado (Tözüm & Demiralp 2003).

Publicações recentes indicam que uma colheita de 8 a 10ml de sangue é suficiente para o preparo do PRP necessário à terapia regenerativa periodontal (Tözüm & Demiralp 2003).

1.6.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

Num estudo *in vivo*, levado a cabo por Kim *et al.* (2002), foram colocados implantes dentários de titânio na crista ilíaca de cães, sendo induzido posteriormente, por métodos cirúrgicos, defeitos circunferenciais, os quais foram preenchidos com dentina e gesso de paris com e sem PRP. Verificou-se por análise histomorfométrica uma maior percentagem de contacto ósseo, nos casos onde o PRP foi utilizado. Concluiu-se desta forma, que defeitos ósseos em torno de implantes podem ser tratados com sucesso com dentina - gesso de Paris, podendo-se maximizar a sua integração através da aplicação de PRP (Tözüm & Demiralp 2003).

Outro estudo dos mesmos autores avaliou a eficácia de pó de osso desmineralizado, aplicado isoladamente ou em conjunto com o PRP no reforço da osteo-integração de implantes dentários num modelo de cão. Por análise histomorfométrica, 6 e 12 semanas após a cirurgia, verificou-se uma maior percentagem de contacto ósseo nos implantes em que se recorreu à terapia combinada. Os autores concluíram, que defeitos ósseos em torno de implantes de titânio podem ser tratados com sucesso com pó de osso desmineralizado, contudo o PRP pode aumentar a formação óssea (Tözüm & Demiralp 2003).

Kovacs *et al.* (2005) desenvolveram ensaios animais com cães beagles, com o intuito de avaliar o efeito do PRP autólogo em combinação com o β - fosfato tricálcio (β -TCP) na remodelação óssea. Os resultados densitométricos, obtidos após 6 meses, evidenciaram uma formação óssea significativamente mais eficaz aquando da aplicação do PRP (Harnack & Boedeker 2009).

1.6.3. Ensaios Clínicos na Regeneração Óssea

Os primeiros resultados clínicos na área da medicina dentária foram relatados por Marx *et al.* (1998), que utilizaram em 88 pacientes, PRP para melhorar a incorporação de enxertos de osso esponjoso medular, de forma a reparar defeitos de continuidade mandibular maiores ou iguais a 5cm, decorrentes da exérese de um tumor benigno ou maligno. Os resultados radiográficos e histológicos após 6 meses da cirurgia, sugeriram que a adição de PRP aos enxertos ósseos acelerou a cicatrização, com formação de novo osso, quando comparado com o grupo controlo, no qual apenas foi colocado o enxerto ósseo (Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003).

No ano seguinte, Anitua efectuou um estudo com 20 pacientes saudáveis, os quais apresentavam um dente com indicação para extracção, dado não ser possível efectuar o tratamento por doença periodontal grave ou fracturas verticais. Após extracção, estava contemplada como forma de reabilitação a colocação de um implante. Em 10 dos pacientes foi colocado na ferida cirúrgica uma mistura de osso autólogo e PRP, enquanto no grupo controlo apenas o osso autólogo foi utilizado para a reparação da ferida. Nos pacientes reabilitados com PRP verificou-se uma melhor epiteliação e uma formação óssea mais compacta com trabéculas mais bem organizadas, promovendo desta forma uma melhor reparação tecidual e regeneração óssea, contribuindo posteriormente para uma melhor osteo-integração do implante (Tözüm & Demiralp 2003).

Em 2000, Kassolis *et al.* verificaram a aplicabilidade da combinação de PRP com partículas de osso liofilizado, em cirurgias de elevação do seio e/ou aumento do rebordo, de forma a permitir a colocação de implantes. Os resultados histológicos após 12 meses da intervenção cirúrgica, revelaram várias áreas com tecido osteóide e uma elevada formação óssea em torno das partículas de osso liofilizado, sem evidências de infiltração de células inflamatórias, o que permitiu aos autores considerarem esta combinação uma promissora possibilidade terapêutica (Tözüm & Demiralp 2003).

1.6.4. Ensaios Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Com o intuito de avaliar o efeito do PRP na regeneração de defeitos infra-ósseos periodontais, citamos um estudo prospectivo controlado aleatorizado duplamente cego, desenvolvido por Harnack *et al.* (2009). Neste estudo foram incluídos 22 pacientes, de idades superiores a 30 anos, com periodontite crónica, os quais apresentavam pelo menos um defeito periodontal infra-ósseo de 2 paredes em quadrantes contra-laterais cuja profundidade de sondagem (PD) era superior a 5mm. Os defeitos periodontais encontravam-se limitados desde a face distal do canino a mesial do primeiro molar (Harnack & Boedeker 2009).

Após a fase higiénica, raspagem e alisamento radicular, os defeitos com hemorragia à sondagem (BOP) e PD superior a 5mm, foram submetidos a cirurgia regenerativa. Aplicou-se uma técnica boca dividida, em que num dos quadrantes apenas era colocado o transportador β fosfato tricálcio (β -TCP) e no outro a combinação do transportador com o factor de crescimento (Harnack & Boedeker 2009).

Passados 6 meses, obtiveram-se melhorias tanto na aplicação isolada do β -TCP como na combinação deste transportador com o PRP. Nos quadrantes que funcionaram como controlos (aplicação isolada do β -TCP) verificou-se uma variação média de 0.4mm na PD e 0.1mm de CAL (nível de inserção clínica); ao passo que nos quadrantes teste (combinação do β -TCP e PRP) houve uma variação média de 0.8mm no PD e 0.3mm de CAL. Contudo os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas (Harnack & Boedeker 2009).

Numa revisão narrativa de Trombelli & Farina (2008), são descritos estudos clínicos controlados aleatorizados, que evidenciam a aplicabilidade clínica deste factor de crescimento. Os estudos mencionados descrevem a combinação do PRP com diferentes tipos de enxertos ósseos associados ou não a regeneração guiada de tecidos (Trombelli & Farina 2008).

Hanna *et al.* (2004) desenvolveram um RCT, incluindo 13 pacientes e 26 defeitos, com o intuito de avaliarem a combinação do PRP com um xeno-enxerto de origem bovina, recorrendo à técnica de boca dividida. Comparando os resultados obtidos no quadrante teste com o controlo, o qual apresentava apenas o xeno-enxerto, obteve-se um ganho de CAL de 3.15mm e uma redução da PD de 3.54mm no quadrante teste (Hanna *et al.* 2004; Trombelli & Farina 2008).

Em 2005, Okuda *et al.* avaliaram o efeito do PRP em associação com a hidroxiapatite. O estudo controlado aleatorizado envolveu 70 pacientes e 70 defeitos paralelos. Os resultados evidenciaram um ganho de CAL de 3.4mm, uma redução da PD de 4.7mm e um preenchimento ósseo de 70.3% no grupo teste, verificando-se nos três parâmetros clínicos diferenças estatisticamente significativas relativamente ao grupo controlo (Okuda *et al.* 2005; Trombelli & Farina 2008).

Ouyang & Qiao (2006) voltam a testar o efeito da combinação do PRP com xeno-enxertos de origem bovina em 17 defeitos numa técnica de boca dividida. Obtiveram-se diferenças estatisticamente significativas ao nível do CAL, com um ganho de 4.52mm, da PD, com uma diminuição de 4.78mm e do preenchimento ósseo do defeito de 73.4%, quando comparados os resultados do grupo teste com os do grupo controlo (Trombelli & Farina 2008; Matos 2008).

Um outro estudo controlado aleatorizado de Dori *et al.* (2008a), avaliou a eficácia clínica do PRP em associação com o derivado das proteínas da matriz do esmalte e osso mineral natural em 26

defeitos paralelos. Os resultados evidenciaram que a presença do PRP não conduziu a diferenças significativas no sucesso regenerativo periodontal relativamente ao grupo onde o referido factor de crescimento estava ausente. Obteve-se no grupo teste uma diminuição da PD de 5.8mm e um ganho de CAL de 4.8mm (Döri *et al.* 2008a; Trombelli & Farina 2008).

Com o propósito de avaliar a previsibilidade dos resultados clínicos do PRP em associação com xeno-enxertos e RGT destacam-se 5 RCT.

Em 2002, Lekovic *et al.* num estudo envolvendo 42 defeitos, numa técnica boca dividida, associaram à combinação xeno-enxerto bovino e PRP uma membrana de colagéneo. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo com membrana e o grupo sem membrana. No grupo com RGT obteve-se uma diminuição da PD de 4.19mm em vestibular e de 4.21mm em lingual e um ganho de CAL de 4.12mm e 4.16mm respectivamente (Lekovic *et al.* 2002; Trombelli & Farina 2008).

Camargo *et al.* no mesmo ano desenvolveram um estudo controlado aleatorizado, com uma amostra de 36 defeitos, no qual avaliaram o efeito do PRP e do xeno-enxerto em combinação com uma membrana de ácido polilático. As diferenças dos resultados foram estatisticamente significativas, denotando-se piores resultados onde apenas foi aplicada a membrana. Nos defeitos que funcionaram como teste, observou-se uma diminuição da PD de 4.98mm em vestibular e de 4.93mm em lingual, e um ganho de CAL em vestibular de 4.37mm e em lingual de 4.28mm (Camargo *et al.* 2002; Matos 2008; Trombelli & Farina 2008).

O mesmo autor e seus colaboradores, em 2005 desenvolveram um RCT, com 56 defeitos em boca dividida, no qual comparam a associação do PRP, xeno-enxerto de origem bovina e membrana de colagéneo com o desbridamento cirúrgico. As diferenças foram estatisticamente significativas, verificando-se que com a aplicação do PRP houve uma diminuição da PD de 5.06mm e 4.9mm em vestibular e lingual respectivamente, bem como um ganho de CAL de 4.52mm e 4.27mm (Camargo *et al.* 2005; Matos 2008; Trombelli & Farina 2008).

Em 2006, Christgau *et al.* avaliaram em 50 defeitos, utilizando como desenho do estudo boca dividida, o efeito do PRP em associação com o β -TCP e uma membrana reabsorvível. Os resultados entre os dois grupos não foram estatisticamente significativos, obtendo-se para o grupo teste uma diminuição da PD de 6.3mm e um ganho de CAL de 5.0mm (Matos 2008; Trombelli & Farina 2008).

Döri *et al.* (2007a) analisaram em 30 defeitos paralelos a eficácia regenerativa do PRP em associação com um xeno-enxerto de origem bovina e uma membrana de colagéneo. Os resultados entre os grupos controlo e teste não apresentaram diferenças estatisticamente

significativas, obtendo-se para o grupo teste uma redução da PD de 5.5mm e um ganho de CAL de 4.5mm (Trombelli & Farina 2008).

O mesmo autor e seus colaboradores desenvolveram em 2008, um RCT com 28 sujeitos, os quais foram divididos em dois grupos – grupo teste e controlo, de forma a avaliarem o efeito do PRP em associação com uma membrana não reabsorvível de politetrafluoretileno e β -TCP em defeitos periodontais infra-ósseos de 1, 2 ou 3 paredes. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, obtendo-se para o grupo teste uma redução da PD de 5.8mm e um ganho de CAL de 4.1mm passado um ano da cirurgia (Döri *et al.* 2008b).

Por último destaca-se um estudo controlado e aleatorizado desenvolvido por Piemontese *et al.* (2008), no qual foi testado o efeito do PRP em associação com um alo-enxerto desmineralizado congelado (DFDBA) em 60 defeitos infra-ósseos de 2 e 3 paredes. A amostra foi dividida em dois grupos (teste e controlo) de 30 defeitos cada. Denotou-se uma diferença estatisticamente significativa no ganho de CAL e na redução da PD passados 12 meses. Obteve-se no grupo teste, um ganho de CAL de 3.6mm, uma redução da PD de 4.6mm e um preenchimento ósseo do defeito de 3.3mm (Piemontese *et al.* 2008).

1.7. BMP (Proteínas Morfogenéticas Ósseas)

1.7.1. Descrição Biológica

As proteínas morfogenéticas ósseas são um grupo de citocinas, que desempenham um importante papel na formação e crescimento de tecido ósseo, cartilaginoso e cemento (Graves *et al.* 1994; Bessa *et al.* 2008). São membros de uma super-família de moléculas de diferenciação, que incluem o TGF β , e têm um papel na activação / inibição de inúmeros factores de crescimento (Ripamonti *et al.* 1997; Reddi 2001; Trombelli & Farina 2008).

As BMP regulam as funções fisiológicas durante a vida adulta, promovendo a regeneração óssea e periodontal, e o desenvolvimento embrionário (Oringer 2002; Giannobile & Somerman 2003; Ripamonti *et al.* 2005; Kaigler *et al.* 2008; Hogan 1996). Estas moléculas estimulam principalmente a diferenciação de células tronco mesenquimatosas em osteoblastos maduros e / ou condroblastos (King & Cochran 2002; Oringer 2002; Trombelli & Farina 2008). Salientam-se as suas propriedades quimiotáticas e mitogénicas, as quais têm sido demonstradas pela selecção de linhagens de células osteoblásticas (Oringer 2002; Trombelli & Farina 2008). Como característica particular pode-se referir a capacidade indutora da osteogénese endocondral em locais ectópicos, tais como o músculo ou a pele (Ripamonti & Reddi 1992; Graves *et al.* 1994; Wozney 1995; King & Cochran 2002; Oringer 2002; Giannobile & Somerman 2003; Thesleff & Tummers 2003;

Ripamonti *et al.* 2005; AAP 2005; Ripamonti & Renton 2006). Estas moléculas apresentam também efeitos pleiotrópicos, estando envolvidas na morfogénese dentária durante as fases tardias de desenvolvimento, principalmente na indução da cementogénese, do ligamento periodontal e na diferenciação do osso alveolar (Ripamonti & Renton 2006; Ripamonti *et al.* 2005).

Nas últimas décadas estes factores de crescimento têm sido amplamente estudados, formando com o TGF- β e as activinas uma tríade de famílias composta por 30 ou mais formas homodiméricas ou heterodiméricas, com importantes funções na morfogénese e organogénese em vertebrados e invertebrados (Ripamonti & Reddi 1992; King & Cochran 2002; Thesleff & Tummers 2003; Ripamonti *et al.* 2005; Bessa *et al.* 2008; Jung *et al.* 2008; Kaigler *et al.* 2008). Estas proteínas aparecem em inúmeras isoformas, mantendo igual estrutura aminoacídica com seis a nove resíduos de cisteína que formam dissulfeto intra e intermoleculares, mas com diferentes sequências de aminoácidos, assegurando contudo a igualdade dos terminais carboxilo. São estas alterações estruturais que definem as funções específicas de cada isoforma (Ripamonti *et al.* 2005).

A relação entre as isoformas das BMP e a sua função genética é indicativa da relevância biológica da redundância funcional durante a embriogénese dos mamíferos. Redundância genética traduz um estado em que um número de diferentes genes representa um efeito mínimo ou ausente sobre o fenótipo biológico. Esta característica não é exclusiva das BMP, mas sim uma característica natural encontrada em outros sistemas biológicos (Ripamonti *et al.* 2005).

Apenas um subconjunto, do qual se destacam as BMP -2, -4, -7 e -9 apresentam um potencial osteoindutor (Graves *et al.* 1994; Jung *et al.* 2008; Kaigler *et al.* 2008).

As BMP foram subsequentemente clonadas, sequenciadas e manufacturadas com formas recombinantes humanas (rh) (Matos 2008). BMP-7 cDNA humana (proteína osteogénica-1 – OP-1) foi clonada em 1990. RhOP-1 foi mais tarde desenvolvida, demonstrando boas capacidades osteogénicas quando comparada com a proteína osteogénica bovina natural (Jung *et al.* 2008).

As BMP são vulgarmente designadas por “*sticky proteins*”, porque no seu ambiente natural unem-se ao cálcio e ao colagénio das matrizes extracelulares, funcionando estas últimas como autênticos sistemas de libertação prolongada de múltiplos factores de crescimento (Matos 2008).

O veículo de transporte mais utilizado para as BMP tem sido o colagénio, uma vez que este constitui um componente natural do osso e apresenta uma reabsorção semelhante à dos componentes das matrizes extracelulares, sendo por isso considerado como referência para as comparações experimentais (Matos 2008).

A cinética de libertação em sistemas biodegradáveis assume uma importância crucial na influência do tipo de tecidos formados. Modelos animais, evidenciam que a formação óssea e de cemento ocorre em tempos diferentes. Está documentado que uma rápida degradação dos veículos transportadores e, conseqüentemente, uma rápida libertação de BMP-2 induz uma formação óssea incrementada, enquanto que a formação de cemento é significativamente aumentada com transportadores de degradação e libertação lenta de BMP. Se estas observações, bem como a manipulação das múltiplas combinações dos sistemas de transporte / factores de crescimento, são aplicáveis aos humanos, num ambiente infeccioso e inflamatório muito particular, é ainda uma incógnita (Matos 2008).

Os baixos níveis de BMP presentes na matriz óssea podem explicar os resultados clínicos e histológicos inconsistentes, visto que para colher microgramas de BMP são necessários quilogramas de osso. Neste sentido a promoção da regeneração óssea e periodontal só é conseguida com a aplicação de quantidades muito superiores às endógenas (Oringer 2002). Por último a proliferação óssea descontrolada, sem mecanismos reguladores constitui um verdadeiro entrave ao sucesso clínico (King & Cochran 2002; Jung *et al.* 2008). Não obstante às referidas limitações, as BMP-2 apresentam vantagens compensatórias no campo da regeneração de defeitos endo - perio, pelo que já se encontram disponíveis no mercado (INFUSE bone graft – Medtronic, Minneapolis, MN) (Bashutski & Wang 2009).

1.7.2. Modelos Pré-clínicos na Regeneração Óssea e Periodontal

As BMP têm demonstrado potentes efeitos na estimulação da regeneração periodontal em vários modelos animais, através da formação previsível de novo osso e cemento em defeitos críticos infra-ósseos, defeitos de furca ou defeitos críticos periodontais supra-alveolares (Ripamonti *et al.* 1994, Wikesjö *et al.* 1999; Giannobile & Somerman 2003; AAP 2005).

Contudo, a aplicação destes factores de crescimento tem alguns riscos inerentes. Neste sentido, foi evidenciado que as BMP-2 estão associadas a níveis elevados de anquilose (AAP 2005; Bashutski & Wang 2009). Num estudo pré-clínico, verificou-se uma incidência de anquilose em 15 dos 17 cães envolvidos no experimento. Estas áreas focalizadas de anquilose, não foram tão evidentes após aplicação de BMP-7 (AAP 2005). Todavia, outros estudos sugerem que a anquilose poderá não ocorrer como uma aberração na cicatrização de defeitos clínicos mais limitados, como é o caso dos defeitos periodontais infra-ósseos (Matos 2008).

Estudos pré-clínicos evidenciam que as BMP têm capacidade de estimular a formação óssea em diferentes estruturas, incluindo o osso maxilar (Thesleff & Tummers 2003). Especificando, estudos animais demonstraram que a aplicação de BMP-2 e BMP-7 promovem a regeneração óssea peri-implantar (Giannobile & Somerman 2003; Taba *et al.* 2008).

Um estudo comparativo mostrou que as rhBMP-2 em associação com esponjas de colagénio promovem uma maior regeneração óssea do que as rhBMP-12. Quanto à formação de cemento, não se verificaram diferenças entre os dois tipos (Taba *et al.* 2008).

Vários estudos mostraram que as diferentes BMP apresentam especificidades na sua estrutura / actividade e nas relações temporais e espaciais que estabelecem entre si. A título exemplificativo, sabe-se que a morfogénese dos tecidos periodontais é qualitativamente distinta com a combinação rhBMP-7 (também designada por rhOP-1) e rhBMP-2, do que com a aplicação isolada destes factores. Enquanto, a utilização simples de rhOP-1 induz uma intensa cementogénese, a rhBMP-2 isolada apresenta uma formação de cemento limitada mas, em contrapartida, estimula a aceleração da regeneração do osso alveolar. Por sua vez, a aplicação combinada de ambos os factores de crescimento apresenta efeitos de sinergia na promoção da regeneração periodontal (Ripamonti *et al.* 2001; Ripamonti *et al.* 2005).

Um estudo in vivo, e o primeiro usando como modelo animal primatas – *Ursinus Papio*, avaliou a actividade das BMP e da rhOP-1, tendo-se verificado uma resposta tecidual morfogenética diferente quando a rhOP-1 e a BMP-2 são aplicadas isolada ou simultaneamente. Concluiu-se que a BMP-2 promove melhores resultados na osteogénese, enquanto a rhOP-1 tem maiores efeitos na cementogénese. Estes resultados foram corroborados tanto em cães de raça beagle como em primatas não humanos (Ripamonti *et al.* 2005).

Além destes factores, têm sido também utilizados a rhBMP-6 e a rhBMP-12. A primeira foi testada com sucesso num modelo de fenestração periodontal em ratos, induzindo significativamente a formação de novo cemento em comparação com o defeito controlo sem preenchimento (Huang *et al.* 2005). A rhBMP-12 foi comparada com a aplicação de rhBMP-2 em defeitos periodontais supra-alveolares no cão (Wikesjö *et al.* 2004). Foi observada uma maior regeneração óssea com a rhBMP-2, mas também anquilose, enquanto a rhBMP-12, apesar de promover uma regeneração similar de cemento, exibiu um ligamento periodontal com uma orientação funcional e uma inserção das fibras no novo cemento e osso alveolar, o que representou uma característica raramente observada nos defeitos tratados com a rhBMP-2 (Wikesjö *et al.* 2004). Contrariamente ao exposto, um estudo de reimplantação dentária não evidenciou um restabelecimento de um novo sistema de inserção periodontal após aplicação da rhBMP-12 (Sorenson *et al.* 2004).

Numa revisão sistemática, Jung *et al.* (2008) avaliaram o efeito das BMP-7 na regeneração óssea. De acordo com os critérios de inclusão, foram seleccionados 8 estudos. Utilizaram-se como modelos animais, o rato, o coelho, o babuíno e o chimpanzé. O tipo de defeitos abrangeu alvéolos pós - extracção, defeitos da calvária e procedimentos de elevação do seio maxilar com ou sem colocação imediata do implante (Jung *et al.* 2008).

Devido à grande heterogeneidade dos estudos, tornou-se inviável a sua comparação. Contudo, em pelo menos 6 estudos foi verificado um efeito positivo num dos pontos sob avaliação e comparados os resultados com um ou mais grupos controlo. Os 2 estudos restantes não apresentaram qualquer factor positivo na aplicação das BMP-7 (Jung *et al.* 2008).

1.7.3. Ensaios Clínicos na Regeneração Óssea

Diversos ensaios clínicos humanos têm sido publicados, avaliando os efeitos das BMP-2 na regeneração óssea, os quais têm demonstrado resultados positivos quando comparados com os respectivos grupos controlo (Jung *et al.* 2008).

Numa revisão sistemática, Jung *et al.* (2008) avaliaram o efeito das BMP-2 na regeneração óssea em técnicas de aumento do rebordo alveolar. Foram seleccionados 6 estudos, 4 estudos clínicos controlados randomizados (RCT) e 2 estudos prospectivos de coorte (Jung *et al.* 2008).

Estiveram envolvidos 183 pacientes, com uma média de idades de 52 anos. As BMP-2 foram aplicadas localmente, em doses de 0.5 a 1.75 mg/ml ou 0.12 a 3.4 mg/paciente respectivamente. Dois sistemas diferentes de transporte foram utilizados nos RCT. Em 5 estudos utilizou-se uma esponja de colagénio reabsorvível, enquanto no outro estudo os factores de crescimento foram aplicados através de uma matriz de osso bovino desmineralizado (DBBM). A média de *follow up* nos seis modelos clínicos foi 4.3 (4-6) meses (Jung *et al.* 2008).

A regeneração óssea com BMP-2 foi aplicada numa técnica de elevação do seio maxilar (Boyne *et al.* 1997, 2005), preservação do rebordo alveolar após extracção (Howell *et al.* 1997; Bianchi *et al.* 2004; Fiorellini *et al.* 2005), aumento localizado de defeitos do rebordo alveolar (Howell *et al.* 1997) e aumento lateral do rebordo alveolar com colocação simultânea de implante (Jung *et al.* 2003) (Jung *et al.* 2008).

Como resultado da aplicação das BMP-2, verificou-se no estudo em que se procedeu à elevação do seio maxilar um aumento da altura óssea de 6.8 a 10.2 mm. Na preservação do rebordo alveolar após extracção, observou-se um aumento vertical ósseo de 2.1 a 2.4mm (Jung *et al.* 2008).

Nos 4 RCT estava incluído pelo menos um grupo controlo, no qual não havia aplicação de factores de crescimento. Num dos 4 estudos referidos anteriormente, verificou-se um aumento vertical ósseo médio de 11.3mm nos grupos controlo e de 9.5mm nos grupos teste. Dois estudos relataram como resultado da aplicação local dos factores de crescimento uma diminuição do tamanho do defeito ou uma alteração na altura do osso. Denotou-se um efeito dose – dependente, isto é quanto maior a dose aplicada maior a regeneração óssea (Jung *et al.* 2008).

Quanto à formação de novo osso, três estudos apresentaram os resultados de acordo com a percentagem do defeito original, o volume e a densidade do osso recém formado. Um estudo relatou um resultado positivo, mas não estatisticamente significativo, quanto à quantidade de osso recém-formado nos grupos teste ($37 \pm 11.2\%$) em comparação com o grupo controlo ($30 \pm 8.9\%$). Contudo, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa no tipo de osso formado e contacto osso – enxerto entre os grupos teste e controlo. Assim nos grupos onde foram aplicadas BMP-2 observou-se a formação de osso tipo lamelar ($76 \pm 14.4\%$ vs $56 \pm 18.3\%$) e um contacto osso – enxerto de $57 \pm 16.2\%$ relativamente aos $30 \pm 22.6\%$ verificado no grupo controlo (Jung *et al.* 2008).

1.7.4. Ensaios Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Segundo uma revisão narrativa de Trombelli & Farina (2008) até à data de publicação apenas um estudo clínico estava disponível, e o qual descrevia o efeito da combinação das BMP com dois tipos de material de substituição óssea, não havendo nenhum modelo clínico que nos permita avaliar o efeito deste factor de crescimento, aplicado isoladamente, na regeneração periodontal de defeitos infra-ósseos (Trombelli & Farina 2008).

Bowers *et al.* (1991) desenvolveram um estudo histomorfométrico com humanos, o qual associava as BMP-3 ou osteogenina a dois biomateriais – colagéneo bovino purificado ou alo-enxerto desmineralizado liofilizado (DFDBA). Os grupos controlo apenas continham o material de enxerto (Trombelli & Farina 2008). A análise histológica, com 6 meses de *follow up*, revelou que a combinação da osteogenina com o DFDBA promoveu uma significativa regeneração periodontal. (Trombelli & Farina 2008).

IV. Discussão

A engenharia de tecidos, enquanto uma área multidisciplinar, ocupa na medicina geral e em particular na medicina dentária um papel fundamental no assegurar da morfologia, integridade e função dos tecidos ósseos e periodontais (Ripamonti *et al.* 1997).

A perda dentária constitui uma realidade persistente, podendo apresentar múltiplas causas, das quais destacamos as mais prevalentes, tais como a cárie, os traumatismos ou a doença periodontal. O edentulismo, que actualmente afecta sobretudo a população mais idosa (idade superior a 65 anos), promove alterações morfológicas da crista óssea, derivadas da reabsorção

óssea na ausência de estímulos provenientes da própria peça dentária e do ligamento periodontal (Kaigler *et al.* 2008).

A doença periodontal, é uma das doenças mais prevalentes a nível mundial e a qual apresenta como característica patognomónica a perda do suporte periodontal, com destruição do osso alveolar. O diagnóstico precoce e correcto é fundamental no tratamento desta patologia, o qual passa por um rigoroso controlo microbiológico e higiénico, bem como pela regeneração dos defeitos infra-ósseos (AAP 2005; Matos 2008; Raja *et al.* 2009).

Para uma verdadeira regeneração periodontal é necessário um processo activo de osteogénese e cementogénese, bem como a formação e integração de fibras do ligamento periodontal funcionalmente orientadas no osso e cimento recém-formado (Ripamonti *et al.* 1997; AAP 2005; Ripamonti *et al.* 2005; Raja *et al.* 2009).

No processo regenerativo competem três entidades fundamentais: o sinal osteoindutor, que desencadeia a formação óssea, o substrato que recebe o respectivo sinal e a estrutura que assegura o espaço para a aposição do novo tecido ósseo (Ripamonti *et al.* 1997).

É neste âmbito que os factores de crescimento se destacam na engenharia de tecidos, constituindo o “sinal” desencadeador do processo de cura, maximizando o potencial regenerativo, através de mecanismos biomiméticos (Taba *et al.* 2008; Kaigler *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009). Estes mediadores biológicos regulam eventos celulares cruciais, destacando-se as suas propriedades quimiotáticas, angiogénicas, de diferenciação, síntese de DNA e de matriz extracelular (AAP 1996; Giannobile & Somerman 2003).

A previsibilidade da sua aplicação clínica ainda envolve algumas interrogações, tendo ao longo dos últimos anos sido objecto de estudo de múltiplos modelos pré-clínicos e clínicos.

No presente trabalho optou-se por elaborar uma avaliação da literatura a dois níveis distintos sobre a problemática dos defeitos ósseos alveolares. Primeiro, pretendeu-se efectuar uma revisão narrativa da aplicação dos factores de crescimento na regeneração de defeitos morfológicos da crista alveolar, com o intuito de analisar de uma forma genérica a evolução nos últimos anos da sua evidência a nível pré-clínico e clínico. Optou-se por um tipo de revisão narrativa que por inerência é mais abrangente e, eventualmente, mais apropriada a uma análise global da multiplicidade da tipologia destes defeitos. Foram seleccionados estudos em modelos animais, série de casos clínicos, estudos de coorte, estudos controlados e aleatorizados.

Segundo, pretendeu-se realizar uma avaliação do impacto clínico dos factores de crescimento a nível de uma entidade patológica muito específica – os defeitos periodontais infra-ósseos. Devido

às suas características muito próprias que a individualizam como uma patologia singular e também derivado do número crescente de evidência clínica disponível, optou-se por efectuar uma revisão do tipo sistemática da aplicação dos factores de crescimento na regeneração periodontal. Nesta avaliação, apenas se incluíram estudos clínicos controlados e aleatorizados que correspondem ao nível máximo da pirâmide da evidência na metodologia experimental.

De acordo com a pesquisa desenvolvida, pode-se afirmar que o factor de crescimento com menor evidência científica é a PTH. O estudo da sua aplicabilidade clínica ainda se encontra limitado a modelos pré-clínicos.

Para a avaliação da eficácia do PDGF na regeneração óssea, foram seleccionados três estudos de caso e um estudo piloto. Três estudos procuraram avaliar a eficácia deste factor de crescimento em associação com materiais de substituição óssea, enquanto um estudo avaliou o efeito isolado do PDGF. Os resultados foram muito dispares, contudo a aplicação isolada do factor de crescimento não demonstrou resultados estatisticamente significativos, mostrando a terapia combinada resultados mais promissores. A heterogeneidade dos modelos clínicos e seus resultados não nos possibilitou concluir acerca da eficácia clínica deste factor de crescimento na regeneração óssea (Jung *et al.* 2008; Bashutski & Wang 2009).

Na família dos factores de crescimento transformador beta destaca-se o TGF- β 1. Um estudo clínico de série de casos de Ruskin *et al.* (2000) mostrou resultados positivos na regeneração óssea aquando da combinação deste factor de crescimento com a regeneração guiada de tecidos (Tözüm & Demiralp 2003). Contudo são necessários mais estudos, e com maior nível de evidência científica de forma a possibilitarem conclusões coerentes nesta área.

Para a avaliação da eficácia clínica do PRP na regeneração óssea foram seleccionados 3 estudos clínicos – Marx *et al.* (1998), Anitua (1999) e Kassolis *et al.* (2000). Em todos foi testada a eficácia do PRP em associação com materiais de substituição óssea, contudo o tipo de defeitos a regenerar era muito diferente, bem como o número da amostra. Os resultados dos três estudos foram coerentes, ao mostrarem uma maior formação óssea nos grupos onde o factor de crescimento foi aplicado (Oringer 2002; Tözüm & Demiralp 2003).

Neste sentido, as vantagens do PRP e a sua fácil aplicação clínica em combinação com materiais de enxerto ósseo tornam este concentrado de plaquetas uma hipótese terapêutica promissora no campo da regeneração óssea, contudo mais estudos controlados aleatorizados com medidas de resultados validados são necessários para confirmar a eficácia deste procedimento (Oringer 2002).

No campo da regeneração óssea, existem muitos estudos publicados relativos às BMP, destacando-se as BMP-2. De entre os disponíveis, seleccionámos 6 estudos, 4 RCT e 2 estudos prospectivos de coorte, com uma amostra total de 183 pacientes. Foram aplicadas duas doses diferentes de BMP, com dois sistemas de transporte em técnicas de elevação do seio maxilar, preservação do rebordo alveolar após extracção, aumento vertical do rebordo alveolar e aumento horizontal do rebordo alveolar com colocação simultânea de implante (Jung *et al.* 2008).

Os resultados obtidos diferiram muito entre os 6 estudos, tanto ao nível dos RCT comparando os grupos teste com os grupos controlo, como ao nível dos estudos prospectivos de coorte (Jung *et al.* 2008).

Verificou-se um efeito dose – dependente, uma vez que só para a dose mais elevada de factores de crescimento é que os resultados clínicos foram estatisticamente significativos (Jung *et al.* 2008).

Nas técnicas de aumento horizontal e vertical do rebordo alveolar concluiu-se que a presença das BMP não induz um aumento significativo da regeneração óssea. Apenas num estudo controlado aleatorizado, no qual se avaliou o aumento horizontal do rebordo alveolar, se reportou um efeito positivo na comparação grupo controlo / grupo teste (Jung *et al.* 2008).

Devido à heterogeneidade dos estudos – várias indicações clínicas e estudos com um nível de evidência científica muito diferente (RCT e estudos de coorte) não foi possível efectuar uma meta –análise (Jung *et al.* 2008).

Para avaliar a eficácia dos factores de crescimento na regeneração de defeitos periodontais infra-ósseos, foram seleccionados ensaios clínicos controlados aleatorizados, de forma a efectuar uma revisão do tipo sistemática do estado da arte. Reuniu-se um total de 15 RCT referentes ao PDGF, FGF-2 e PRP.

Para o estudo da eficácia clínica do PDGF foram apurados dois RCT de Howell *et al.* (1997a) e Nevins *et al.* (2005). No primeiro aplicou-se a técnica de boca dividida, defeitos bilaterais, enquanto que no segundo estudo os defeitos eram paralelos, com a formação de 3 grupos. A dimensão da amostra era significativamente diferente, 38 pacientes no primeiro estudo e 180 no segundo. Em ambos os RCT testaram-se duas doses diferentes de PDGF, obtendo-se resultados dose – dependentes (Nevins & Giannobile 2005; Trombelli & Farina 2008).

Tanto a associação do PDGF com o IGF (Howell *et al.* 1997a) como do PDGF com o β -TCP (Nevins *et al.* 2005) mostraram resultados estatisticamente significativos ao nível da redução da PD, ganho de CAL e preenchimento ósseo dos defeitos em relação aos grupos controlos. Contudo

conclui-se que em associação com materiais de substituição óssea, menores doses do factor de crescimento são mais efectivas e é no período imediatamente posterior à cirurgia (primeiros 3 meses) que se observam os melhores resultados clínicos (Trombelli & Farina 2008).

O RCT de Nevins *et al.* (2005) apresenta uma elevada evidência científica uma vez que é o maior estudo prospectivo, aleatório, triplamente cego e controlado por placebo, avaliando uma suposta terapia periodontal regenerativa empregando localmente um factor de crescimento, com resultados seguros e positivos no preenchimento ósseo dos defeitos periodontais (Nevins & Giannobile 2005; Bashutski & Wang 2009).

Para a avaliação do efeito do FGF-2 na regeneração periodontal foi seleccionado um estudo clínico controlado aleatorizado, duplamente cego, elaborado por Kitamura *et al.* (2008). Estudos pré-clínicos anteriores, já tinham inferido acerca do intervalo de concentração eficaz nos processos regenerativos. Tais doses foram aplicadas em defeitos paralelos, verificando-se uma relação de dependência dose - efeito. Observaram-se diferenças estatisticamente significativas na taxa de crescimento ósseo, entre o grupo controlo e o grupo com maior concentração do factor de crescimento. Nos restantes parâmetros clínicos avaliados (CAL, PPD, KG, BOP), os resultados foram positivos (Kitamura *et al.* 2008).

Tais resultados levam-nos a afirmar que o FGF-2 oferece evidências muito promissoras ao nível da regeneração periodontal, sem que efeitos adversos, tais como anquilose e crescimento ósseo incontrolável sejam assinalados. Este facto constitui uma vantagem em relação a outros factores de crescimento, dos quais destacamos as BMP, onde estes efeitos colaterais são uma possível realidade. Contudo, não obstante aos resultados positivos, temos de salientar o pequeno tamanho da amostra, que constitui uma limitação na extrapolação dos resultados, pelo que mais estudos são necessários, até que a evidência científica suporte a comercialização do IGF-2 (Kitamura *et al.* 2008).

Com o intuito de avaliar a previsibilidade clínica do PRP na regeneração periodontal foram seleccionados 12 RCT, os quais associaram o factor de crescimento a materiais de substituição óssea com ou sem RGT. Sete ensaios clínicos controlados aleatorizados usaram como desenho de estudo a técnica de boca dividida, enquanto os restantes 5, testaram defeitos paralelos, com formação de diferentes grupos. A dimensão da amostra em todos os estudos é muito reduzida, variando entre 17 e 70 defeitos periodontais infra-ósseos.

Analisando os resultados dos ensaios clínicos controlados e aleatorizados, pode-se afirmar que a associação do PRP com materiais de substituição óssea conduz a uma melhoria estatisticamente significativa dos parâmetros clínicos associados aos defeitos. Contudo 2 estudos (Harnack *et al.* 2009; Döri *et al.* 2008a) apresentaram resultados controversos, demonstrando que o factor de

crescimento não alterou de forma significativa o sucesso regenerativo dos defeitos periodontais, frustrando a obtenção de conclusões definitivas (Döri *et al.* 2008a; Trombelli & Farina 2008; Harnack *et al.* 2009).

As técnicas combinadas de xeno-enxertos com RGT e PRP apresentam efeitos regenerativos muito díspares. A presença do factor de crescimento na RGT e enxerto, não conduz a diferenças estatisticamente significativas - Döri *et al.* (2007a). Podendo-se inferir que a aplicação do PRP comparativamente à aplicação da RGT + xeno-enxerto não reúne vantagens para o sucesso clínico (Trombelli & Farina 2008).

Por outro lado a presença ou não das membranas, de modo a manter o espaço passível de regenerar também não interfere de forma significativa com a regeneração periodontal - Lekovic *et al.* (2002). Assim como a aplicação do PRP em simultâneo com uma membrana e o β -TCP – Döri *et al.* (2008b). Contudo comparando a aplicação isolada da membrana, com a associação desta com um xeno-enxerto e o factor de crescimento, as diferenças são estatisticamente significativas, verificando-se uma redução da PD, um ganho de CAL e um preenchimento ósseo do defeito muito superior no grupo onde foi aplicado o PRP - Camargo *et al.* (2002) (Lekovic *et al.* 2002; Trombelli & Farina 2008).

Comparando a eficácia do desbridamento cirúrgico com técnicas regenerativas envolvendo o PRP, os resultados não são duvidosos. As técnicas regenerativas associadas ao PRP promovem resultados mais positivos, denotando-se diferenças estatisticamente significativas entre as referidas técnicas - Camargo *et al.* (2005) (Trombelli & Farina 2008).

A combinação do PRP com o DFDBA apresenta resultados muito promissores na regeneração periodontal, obtendo-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos teste e controlo ao nível da redução da PD e de ganho de CAL. Contudo referente ao preenchimento ósseo dos defeitos os resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas, o que confirma que o referido factor de crescimento não apresenta um impacto significativo nos tecidos duros (Piemontese *et al.* 2008).

Apesar dos avanços na engenharia de tecidos e de todos os estudos desenvolvidos até à data, a heterogeneidade dos seus resultados, derivada de um reduzido número de ensaios clínicos com desenhos experimentais comparáveis, e de um agrupamento indiscriminado de transportadores e materiais de enxerto com diferentes características físico-químicas e, conseqüentemente, com diferentes potencialidades biológicas, não nos permitem a obtenção de conclusões definitivas sobre o uso específico dos diferentes factores de crescimento.

V. Conclusões

Os factores de crescimento são agentes bioactivos com resultados promissores na regeneração óssea e periodontal.

A PTH é na actualidade o factor de crescimento com menor evidência científica, uma vez que os estudos disponíveis encontram-se no campo de modelos pré-clínicos.

O PDGF, o PRP e o TGF- β 1 em associação com materiais de substituição óssea e/ou RGT apresentam resultados favoráveis na regeneração óssea.

A BMP-2 apresenta efeitos positivos na regeneração óssea nas técnicas de elevação do seio maxilar e aumento horizontal e vertical do rebordo alveolar.

O FGF-2, o PDGF e o PRP apresentam resultados positivos ao nível da PD e CAL na regeneração de defeitos periodontais infra-ósseos. A combinação PDGF e β -TCP tem demonstrado óptimos resultados clínicos, associados a altos níveis de segurança e ausência de efeitos colaterais.

Num futuro próximo, mais estudos nas áreas básicas, pré-clínicas e clínicas são necessários, para clarificar a eficácia dos factores de crescimento na regeneração óssea e periodontal e, desta forma, reforçar o desenvolvimento de novas e previsíveis abordagens baseadas na engenharia de tecidos.

VI. Resumo

Introdução: Actualmente, várias são as terapêuticas com evidência científica disponíveis para a regeneração óssea e periodontal, tais como enxertos ósseos, regeneração guiada de tecidos com uso de membranas e proteínas derivadas da matriz do esmalte, as quais criam um microambiente adequado para a repovoação de células regenerativas da solução de continuidade óssea e da superfície dentária, contudo não aceleram os fenómenos celulares indispensáveis à regeneração. Os factores de crescimento são uma classe de hormonas polipeptídicas que estimulam a proliferação, quimiotaxia e diferenciação celular, bem como a produção de proteínas da matriz extracelular. É neste âmbito, que se revela crucial efectuar uma revisão literária sobre o estado da arte da aplicação clínica dos factores de crescimento.

Objectivos: O tema proposto para a presente Tese de Mestrado visa estabelecer uma análise crítica da eficácia clínica dos Factores de Crescimento na Regeneração Óssea e Periodontal.

Material e Métodos: Utilização de duas metodologias: revisão narrativa e revisão do tipo sistemática baseadas na evidência científica, através de uma pesquisa em bases de dados de artigos científicos (Medline / Pubmed, EBSCO, e b-On) e revistas científicas de referência (Journal of Clinical Periodontology, Journal of Prosthetic Dentistry e Journal of Periodontology), utilizando critérios de selecção e inclusão de artigos de acordo com uma hierarquia de evidência e objectivos pré-definidos.

Resultados: Para a revisão narrativa da aplicação clínica dos factores de crescimento na regeneração óssea foram seleccionados 7 estudos clínicos de série de casos, 1 estudo clínico piloto, 2 estudos prospectivos de coorte e 4 estudos clínicos controlados aleatorizados. Na revisão do tipo sistemática relativa à aplicação clínica dos factores de crescimento na regeneração de defeitos periodontais infra-ósseos, foram apurados 15 estudos clínicos controlados aleatorizados.

Conclusões: A PTH é o factor de crescimento com menor evidência científica na actualidade. O PDGF, o PRP, o TGF- β 1 e as BMP, destacando-se a BMP-2, em associação com materiais de substituição óssea e/ou RGT apresentam resultados favoráveis na regeneração óssea. No que concerne à regeneração periodontal de defeitos infra-ósseos, o FGF-2, o PDGF e o PRP apresentam resultados positivos ao nível da PD e CAL. A combinação PDGF e β -TCP tem demonstrado óptimos resultados clínicos, associados a altos níveis de segurança e ausência de efeitos colaterais.

VII. Summary

Introduction: Currently, there are several therapies with available scientific evidence for bone and periodontal regeneration, such as bone grafts, guided regeneration using membranes and enamel matrix derivative, which creates adequate micro-environment for proliferation of regenerative cells on bone defects and dental surface, however they don't accelerate cellular processes indispensable for regeneration. Growth factors are a class of polypeptide hormones that stimulates proliferation (mitogenesis), cellular chemotaxis, and cellular differentiation, as well as production of extracellular matrix proteins. In this matter, it is crucial to perform a literary review about the state of the art of clinical application of growth factors.

Objectives: The proposed subject for present thesis pretends to establish a critical analysis of clinical efficacy of growth factors in bone and periodontal regeneration.

Material and Methods: Two methodologies were used: narrative and systematic reviews based in scientific evidence, through a research in databases of scientific papers (Medline / Pubmed, EBSCO, and b-On) and reference scientific magazines (Journal of Clinical Periodontology, Journal of Prosthetic Dentistry and Journal of Periodontology), using selection and inclusion criteria of articles according to a hierarchy of evidence and pre-definite objectives.

Results: For the narrative review of clinical application of growth factors in bone regeneration the following studies were selected - 7 clinical case series, 1 pilot clinical study, 2 cohort prospective studies and 4 randomized controlled clinical studies. The systematic review for clinical application of growth factors in regeneration of infrabony periodontal defects, found 15 randomized controlled clinical studies.

Conclusions: PTH is a growth factor without scientific evidence at present time. PDGF, PRP, TGF- β 1 and BMP, excelling BMP-2, in association with bone substitute materials and/or RGT present favorable results in bone regeneration. Concerning periodontal regeneration of infrabony defects, FGF-2, PDGF and PRP present positive results for PD and CAL. PDGF and β -TCP combination has shown good clinical results, associated with high-levels of security and absence of side effects.

VIII. Bibliografia

American Academy of Periodontology (AAP). Academy Report. Periodontal Regeneration (Position Paper). *J Periodontol* 2005; 76: 1601 – 1622.

American Academy of Periodontology (AAP). The Potential Role of Growth and Differentiation Factors in Periodontal Regeneration (Position Paper). *J Periodontol* 1996; 67: 545 – 553.

Andreassen TT e Cacciafesta V. Intermittent parathyroid hormone treatment enhances guided bone regeneration in rat calvarial bone defects. *Journal of Craniofacial Surgery* 2004; 15: 424 – 427.

Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implant* 1999; 14(4):529–35.

Bashutski JD, Wang HL. Periodontal and Endodontic Regeneration. *J. Endod* 2009; 35: 321 – 328.

Bessa PC, Casal M, Reis RL. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from laboratory to clinic, part II (BMP delivery). *J Tissue Eng Regen Med* 2008; 2: 81 – 96.

Bianchi J, Fiorellini JP *et al.* Measuring the efficacy of rhBMP-2 to regenerate bone: a radiographic study using a commercially available software program. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 2004; 24: 579–587.

Boyne PJ, Lilly LC *et al.* De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2005; 63: 1693–1707.

Boyne PJ, Marx R E *et al.* A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 1997; 17: 11–25.

Camargo PM, Lekovic V *et al.* Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res* 2002; 37: 300 – 306.

Camargo PM, Lekovic V *et al.* A reentry study on the use of bovine porous bone mineral, guided tissue regeneration, and platelet-rich plasma in the regenerative treatment of intrabony defects in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005; 25 (1): 49 – 59.

Christgau M, Moder D *et al.* Influence of autologous platelet concentrate on healing in intra-bony defects following guided tissue regeneration therapy: a randomized prospective clinical split-mouth study. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 908 – 921.

Demir B, Sengün D, Berberoğlu A. Clinical Evaluation of platelet – rich plasma and bioactive glass in the treatment of intra – bony defects. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 709 – 715.

Döri F, Huszár T *et al.* Effect of Platelet – Rich Plasma on the Healing of Intrabony Defects Treated with a natural bone mineral and a collagen membrane. *J Clin Periodontol* 2007a; 34: 254 – 261.

Döri F, Huszár T *et al.* Effect of Platelet – Rich Plasma on the Healing of Intrabony Defects Treated with Beta Tricalcium Phosphate and Expanded Polytetrafluoroethylene Membranes. *J Periodontol* 2008b; 79: 660 – 669.

Döri F, Nikolidakis D *et al.* Effect of Platelet – Rich Plasma on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative and a natural bone mineral. *J Clin Periodontol* 2008a; 35: 44 – 50.

El-Sharkawy H, Kantarci A *et al.* Platelet – Rich Plasma: Growth Factors and Pro- and Anti – Inflammatory Properties. *J Periodontol* 2007; 78: 661 – 669.

Fiorellini JP, Howell TH *et al.* Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *Journal of Periodontology* 2005; 76: 605–613.

Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and Amelogenin – Like Factors in Periodontal Wound Healing. A Systematic Review. *Ann Periodontol* 2003; 8 (1): 193 – 204.

Graves DT, Kang YM, Kose KN. Growth Factors in Periodontal Regeneration. *Compend Contin Educ Dent* 1994; 18: 672 – 677.

Hanna R, Trejo PM, Weltman RL. Treatment of Intrabony Defects with Bovine – Derived Xenograft Alone and in Combination with Platelet – Rich Plasma: a Randomized Clinical Trial. *J Periodontol* 2004; 75: 1668 – 1677.

Harnack L, Boedeker RH *et al.* Use of platelet – rich plasma in periodontal surgery – a prospective randomized double blind clinical trial. *Clin Oral Invest* 2009; 13: 179 – 187.

Hogan B. Bone morphogenetic proteins in development. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 432 – 438.

Howell TH, Fiorellini JJ *et al.* A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 1997; 17: 124–139.

Howell TH, Fiorellini JP *et al.* A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1997a; 68: 1186 – 1193.

Huang K-K, Shen C *et al.* Effects of bone morphogenetic protein-6 on periodontal wound healing in a fenestration defect of rats. *J Periodontal Res* 2005; 40: 1 – 10.

Jung RE, Cochran DL *et al.* The effect of matrix bound parathyroid hormone on bone regeneration. *Clinical Oral Implants Research* 2007a; 18: 319 – 325.

Jung RE, Glauser R *et al.* Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clinical Oral Implants Research* 2003; 14: 556–568.

Jung RE, Hammerle CH *et al.* Bone regeneration using a synthetic matrix containing a parathyroid hormone peptide combined with a grafting material. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 2007b; 22: 258–266.

Jung RE, Thoma DS, Hammerle CHF. Assessment of the potential of growth factors for localized alveolar ridge augmentation: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (Suppl. 8): 255–281.

Kaigler D, Cirelli JA, Giannobile WV. Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv* 2008; 3 (5): 647 – 662.

Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol* 2000; 71(10):1654–61.

Kim SG, Chung CH *et al.* Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17(1):86–94.

King GN, Cochran DL. Factors that Modulate the Effects of Bone Morphogenetic Protein – Induced Periodontal Regeneration: a Critical Review. *J Periodontol* 2002; 73: 925 – 936.

Kitamura M, Nakashima K *et al.* Periodontal Tissue Regeneration Using Fibroblast Growth Factor – 2: Randomized Controlled Phase II Clinical Trial. *PLoS ONE* 2008; 3 (7): e2611.

Kovacs K, Velich N *et al.* Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodeling of beta-tricalcium phosphate in beagle dogs. *J Craniofac Surg* 2005; 16: 150 – 154.

Lee SJ, Park YJ *et al.* Molded porous poly (L-lactide) membranes for guided bone regeneration with enhanced effects by controlled growth factor release. *J Biomedical Materials Research* 2001; 55: 295 – 303.

Lee YM, Park YJ *et al.* The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol* 2000; 71: 418 – 424.

Lekovic V, Camargo PM *et al.* Comparison of Platelet – Rich Plasma, Bovine Porous Bone Mineral, and Guided Tissue Regeneration Versus Platelet – Rich Plasma and Bovine Porous Bone Mineral in the Treatment of Intrabony Defects: a Reentry Study. *J Periodontol* 2002; 73: 198 – 205.

Lioubavina-Hack N, Carmagnola D *et al.* Effect of Bio-Oss with or without platelet-derived growth factor on bone formation by “guided tissue regeneration”: a pilot study in rats. *J Clin Periodontol* 2005a; 32: 1254 – 1260.

Lynch S E, Buser D *et al.* Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *Journal of Periodontology* 1991a; 62: 710–716.

Lynch SE, Castilla GR *et al.* The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *Journal of Periodontology* 1991b; 62: 458–467.

Lynch SE, Williams RC *et al.* A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989; 16 (8): 545 – 548.

Marx RE, Carlson ER *et al.* Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85(6):638–46.

Matos S. Aplicação de matrizes enriquecidas com moduladores biológicos na regeneração de tecidos periodontais e tecidos ósseos. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra 2008.

Matos S. Sistemas de Libertação de Moléculas Bioactivas na Regeneração Óssea. Estudo Experimental. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra 1999.

Marden LJ, Fan RS *et al.* Platelet derived growth factor inhibits bone regeneration induced by osteogenin, a bone morphogenetic protein, in rat craniotomy defects. *Journal of Clinical Investigation* 1993; 92: 2897 – 2905.

Meraw SJ, Reeve CM *et al.* Treatment of periimplant defects with combination growth factor cement. *J Periodontol* 2000; 71: 8 – 13.

Miller SC, Hunziker J *et al.* Intermittent parathyroid hormone administration stimulates bone formation in the mandibles of aged ovariectomized rats. *J Dent Res* 1997;76:1471–6.

Nevins M, Giannobile WV *et al.* Platelet – Derived Growth Factor Stimulates Bone Fill and Rate of Attachment Level Gain: Results of a Large Multicenter Randomized Controlled Trial. *J Periodontol* 2005; 76: 2205 – 2215.

Okuda K, Tai H *et al.* Platelet – Rich Plasma Combined with a Porous Hydroxyapatite Graft for the Treatment of Intrabony Periodontal Defects in Humans: A Comparative Controlled Clinical Study. *J Periodontol* 2005; 76: 890 – 898.

Oringer RJ. Biological Mediators for Periodontal and Bone Regeneration. *Compendium* 2002; 23 (6): 501- 516.

Ouyang XY, Qiao J. Effect of platelet-rich plasma in the treatment of periodontal intrabony defects in humans. *Chinese Medical Journal (England)* 2006; 119: 1511 – 1521.

Page RC. Periodontal Therapy: Prospects for the Future. *J Periodontol* 1993; 64: 744 – 753.

Piemontese M, Aspriello SD *et al.* Treatment of Periodontal Intrabony Defects with Demineralized Freeze – Dried Bone Allograft in Combination with Platelet – Rich Plasma: A Comparative Clinical Trial. *J Periodontol* 2008; 79: 802 – 810.

Raja S, Byakod G, Pudakalkatti P. Growth factors in periodontal regeneration. *Int J Dent Hygiene* 2009; 7:82–89.

Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. *J Bone Joint Surg* 2001; 83A (suppl. 1): S1 – 1 – S1 – 6.

Ripamonti U, Crooks J *et al.* Periodontal tissue regeneration by combined applications of recombinant human osteogenic protein-1 and bone morphogenetic protein-2. A pilot study in Chacma baboons (*Papio ursinus*). *Eur J Oral Sci* 2001; 109: 241 – 248.

Ripamonti U, Heliots M *et al.* Bone morphogenetic protein induce periodontal regeneration in the baboon (*Papio ursinus*). *J Periodontal Res* 1994; 29: 439 – 445.

Ripamonti U, Herbst NN, Ramoshebi LN. Bone morphogenetic proteins in craniofacial and periodontal tissue engineering: Experimental studies in the non-human primate *Papio ursinus*. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2005; 16: 357 – 368.

Ripamonti U, Reddi AH. Growth and Morphogenetic Factors in Bone Induction: Role of Osteogenin and Related Bone Morphogenetic Proteins in Craniofacial and Periodontal Bone Repair. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 1992; 3 (1/2): 1 – 14.

Ripamonti U, Reddi AH. Tissue Engineering, Morphogenesis, and Regeneration of the Periodontal Tissues by Bone Morphogenetic Proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 1997; 8 (2): 154 – 163.

Ripamonti U, Renton L. Bone morphogenetic proteins and the induction of periodontal tissue regeneration. *Periodontology* 2000; 2006; 41: 73–87.

Ruskin JD, Hardwick R, *et al.* Alveolar ridge repair in a canine model using rh TGF-beta 1 with barrier membranes. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11(2):107–15.

Selvig KA, Sorensen RG *et al.* Bone repair following recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulated periodontal regeneration. *J Periodontol* 2002; 73: 1020 – 1029.

Simion M, Rocchietta *et al.* Three-dimensional ridge augmentation with xenograft and recombinant human platelet derived growth factor-BB in humans: report of two cases. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*; 27:109–115.

Skripitz R, Andreassen TT, Aspenberg P. Strong effect of PTH (1-34) on regenerating bone: a time sequence study in rats. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 2000; 71: 619 – 624.

Sorenson RG, Polimeni G *et al.* Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-12 (rhBMP-12) on regeneration of periodontal attachment following tooth implantation in dogs. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 654 – 661.

Stefani CM, Machado MA *et al.* Platelet-derived growth factor/insulinlike growth factor-1 combination and bone regeneration around implants placed into extraction sockets: a histometric study in dogs. *Implant Dentistry* 2000; 9: 126–131.

Taba Jr M, Jin Q *et al.* Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofac Res* 2008; 8 (4): 292 – 302.

Thesleff I, Tummers M. Stem Cells and Tissue Engineering: Prospects for Regenerating Tissues in Dental Practice. *Medical Principles and Practice* 2003; 12 (suppl1): 43 – 50.

Tonetti MS. Etiology and pathogenesis. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology 1993*; eds. Lang NP, Karring T; Quintessence Publishing: 54 – 89.

Tözüm TF, Demiralp B. Platelet – Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. *J Canadian Dental Association* 2003; 69 (10): 664.

Trombelli L, Farina R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (suppl. 8): 117 – 135.

Vikjaer D, Blom S *et al.* Effect of plateletderived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *European Journal Oral Sciences* 1997; 105: 59–66.

Wikesjö UME, Guglielmoni P *et al.* Periodontal repair in dogs: effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. *J Clin Periodontol* 1999; 6: 392 – 400.

Wikesjö UME, Lim WH *et al.* Periodontal repair in dogs: evaluation of a bioresorbable space-providing macro-porous membrane with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Periodontal* 2003b; 74: 635 – 647.

Wikesjö UME, Sorensen RG *et al.* Periodontal repair in dogs: effect of recombinant human bone morphogenetic protein – 12 (rhBMP-12) on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. A pilot study. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 662 – 670.

Wozney JM. The Potential Role of Bone Morphogenetic Proteins in Periodontal Reconstruction. *J Periodontol* 1995; 66: 506 – 510.

VI. Anexos

Ensaio Clínicos Controlados e Aleatorizados na Regeneração de Defeitos Periodontais Infra-ósseos

Referências	Tipo de Estudo	Participantes	Período Avaliação (meses)	Análise de Tecidos Duros	Número de Defeitos	Morfologia do Defeito
PDGF						
rhPDGF + rhIGF-1						
Howell et al. (1997a)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados	38	9	- Análise Radiográfica - Reentrada Cirúrgica		
rhPDGF-BB + β-TCP						
Nevins et al. (2005)	RCT, multicêntrico, triplamente cego, defeitos paralelos, 3 grupos	180	3 - 6	- Análise Clínica - Análise Radiográfica	180	1p – 56 2p – 84 3p – 24 Circunf - 16
FGF-2						
rhFGF-2 + HPC						
Kitamura et al. (2008)	RCT, duplamente cego, defeitos paralelos, 4 grupos	80	9	- Análise Clínica - Análise Radiográfica		Gp. P- 1P-5%, 2P-50%, 3P-40%, 1/2P-5% Gp. L- 2P-47,4%, 3P-47,4%, 2/3P-5,3% Gp. M- 1P-5%, 2P-70%, 3P-25% Gp. H- 1P-10%, 2P-50%, 3P-30%, 4P-5%, 2/3P-5%
PRP						
PRP + β-TCP						
Harnack et al. (2009)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados, duplamente cego	22	6	- Análise Clínica - Análise Radiográfica - Reentrada Cirúrgica		2p

Tabela 1

Referências	Intervenções	Profundidade do Defeito (mm)	PPD inicial (mm)	Redução do PPD (mm)	Ganho de CAL (mm)	PD (mm)	PD (%)
PDGF							
rhPDGF + rhIGF-1							
Howell et al. (1997a)	1) 50µg/ml de cada Fc + gel metilcelulose 2) 150µg/ml + gel metilcelulose 3) gel metilcelulose			1) NS 2) 2,08 SSD 3) 0.75			1) NS 2) 42.3 SSD 3) 18.5
rhPDGF-BB + β-TCP							
Nevins et al. (2005)	1) 0.3mg/ml rhPDGF-BB + β-TCP 2) 1.0mg/ml rhPDGF-BB + β-TCP 3) β-TCP		1) 8.6±0.2 2) 8.2±0.2 3) 8.3±0.2	1) 2.6±0.2 SSD 2) 1.5±0.2 SSD 3) 0.9±0.1	1) (3m- SSD) 3.8±0.2 (6m- NS) 3.8±0.2 2) - 3) (3m- SSD) 3.3±0.2 (6m- NS) 3.5±0.2		6m 1) 57 2) 34 3) 18
FGF-2							
rhFGF-2 + HPC							
Kitamura et al. (2008)	1) Gp.P- HPC 2) Gp.L- HPC + 0.03% rhFGF-2 3) Gp.M- HPC + 0.1% rhFGF-2 4) Gp. H- HPC + 0.3% rhFGF-2	1) 4.7 ± 1.5 2) 4.8 ± 2.4 3) 4.6 ± 1.7 4) 5.7 ± 2.6	1) 5.7 ± 1.2 2) 5.4 ± 1.6 3) 5.1 ± 2.0 4) 5.8 ± 1.7	1) 0.95 ± 1.26 SSD 2) 0.54 ± 1.26 3) 1.06 ± 1.16 4) 1.85 ± 1.75 SSD	1) 2.63 ± 1.54 2) 2.00 ± 2.08 3) 2.02 ± 2.08 4) 2.18 ± 1.33		
PRP							
PRP + β-TCP							
Harnack et al. (2009)	1) β-TCP 2) PRP+ β-TCP 1 vs 2	1) 5.8 12.3 (11 a 13.5)* 2) 6.7 13 (10.5 a		1) 0.4 (-1.8 a 3)* 2) 0.8 (-1.4 a 1.9)*	1) 0.1 (-2.5 a 1.9)* 2) 0.3 (-2 a 3)*	1) 1.3 2) 1.1 NS	

		14)*		NS	NS		
--	--	------	--	----	----	--	--

Tabela 1

Referências	Tipo de Estudo	Participantes	Período Avaliação (meses)	Análise de Tecidos Duros	Número de Defeitos	Morfologia do Defeito
PRP						
PRP + Xeno-enxertos						
Hanna <i>et al.</i> (2004)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados, examinador único, duplamente cego	13	6		26	2p 3p
Okuda <i>et al.</i> (2005)	RCT, defeitos paralelos, 2 grupos, examinador único	70	12	- Análise Clínica - Análise Radiográfica	70	1p- 12 2p- 10 3p- 48
Ouyang & Qiao (2006)	RCT, boca dividida, aleatorização em bloco, examinador único calibrado	10	12	- Análise Clínica	17	2p-7 3p-10
Döri <i>et al.</i> (2008a)	RCT, defeitos paralelos, 2 grupos, examinador único	26	12		26	1/2p- 15 2p- 11
PRP + Xeno-enxertos + RGT						
Lekovic <i>et al.</i> (2002)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados, examinador único calibrado, duplamente cego	21	6	Reentrada Cirúrgica	42	2p – 30 3p – 12
Camargo <i>et al.</i> (2002)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados, examinador único, duplamente cego	18	6	Reentrada Cirúrgica	36	2p-24 3p-12
Camargo <i>et al.</i> (2005)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados, examinador único, calibrado e com ocultação	28	6	Reentrada Cirúrgica	56	2p- 35 3p- 21

Tabela 2

Referências	Intervenções	Profund. do Defeito (mm)	PPD inicial (mm)	Redução do PPD (mm)	Ganho de CAL (mm)	PD (mm)	PD (%)
PRP							
PRP + Xeno-enxertos							
Hanna <i>et al.</i> (2004)	1) BDX+PRP 2) BDX 1vs2	1) 6.53±2.2 2) 6.07±2.3 NS	1) 7.30±1.37 2) 7.00±1.08 NS	1)3.54±1.20 2)2.53±0.96 SSD	1)3.15±0.99 2)2.31±1.18 SSD		
Okuda <i>et al.</i> (2005)	1) HA+soluç salina 2) PRP+HA 1vs2	1) 4.4±1.6 2) 4.9±1.8 NS	1) 7.9±1.8 2) 7.7±1.5 NS	1) 3.7±2.0 2) 4.7±1.6 SSD	1) 2.0±1.2 2) 3.4±1.7 SSD		1) 45.5±29.4 2) 70.3±23.4 SSD
Ouyang & Qiao (2006)	1) BDX+PRP 2) BDX 1vs2	1)10.94±1.96 2)11.56±1.45 NS	1)8.22±1.31 2)7.78±1.16 NS	1)4.78±0.95 2)3.48±0.41 SSD	1)4.52±1.14 2)2.85±0.80 SSD	1)4.56±1.04 2)2.88±0.79 SSD	1)73.4±14.8 2)47.3±11.5 SSD
Döri <i>et al.</i> (2008a)	1)EMD+NBM 2)EMD+NBM +PRP 1vs2	1) 5.2±1.2 2) 5.1±1.1 NS	1) 8.8±2.0 2) 8.8±1.9 NS	1) 5.9±1.3 2) 5.8±1.8 NS	1) 5.0±0.9 2) 4.8±1.3 NS		
PRP+Xeno-enxertos + RGT							
Lekovic <i>et al.</i> (2002)	1) BDX+PRP 2)BDX+PRP + Memb colagénico 1vs2		1) V-7.96±1.41 L-7.90±1.38 2) V-7.81±1.32 L-7.92±1.40 NS	1) V-3.98±1.02 L-3.94±0.94 2) V-4.19±0.88 L-4.21±0.92 NS	1) V-3.78±0.72 L-3.84±0.76 2) V-4.12±0.78 L-4.16±0.83 NS	1) V-4.82±1.34 L-4.74±1.30 2) V-4.96±1.28 L-4.78±1.32 NS	
Camargo <i>et al.</i> (2002)	1) BDX+PRP+ Memb PLA 2) Memb PLA 1vs2		1) V-7.87±1.38 L-7.76±1.42 2) V-7.78±1.46 L-7.67±1.28 NS	1) V-4.98±0.96 L-4.93±0.92 2) V-3.62±0.81 L-3.54±0.88 SSD	1) V-4.37±1.31 L-4.28±1.33 2) V-2.62±1.23 L-2.44±1.21 SSD	1) V-4.78±1.26 L-4.66±1.32 2) V-2.31±0.76 L-2.26±0.81 SSD	
Camargo <i>et al.</i> (2005)	1) BDX+PRP+ memb colagénico 2) OFD 1vs2		1) V-8.12±1.48 L-8.02±1.51 2) V-7.96±1.54 L-7.99±1.61 NS	1) V-5.06±1.51 L-4.90±1.49 2) V-2.99±1.42 L-2.78±0.82 SSD	1) V-4.52±1.24 L-4.27±1.31 2) V-1.47±1.95 L-1.39±0.92 SSD	1) V-5.12±1.34 L-5.04±1.31 2) V-1.66±0.96 L-1.62±1.31 SSD	

Tabela 2

Referências	Tipo de Estudo	Participantes	Período Avaliação (meses)	Análise de Tecidos Duros	Número de Defeitos	Morfologia do Defeito
PRP						
PRP + Xenó-enxertos + RGT						
Christgau et al. (2006)	RCT, boca dividida, defeitos emparelhados	25	12	- Análise Clínica - Análise Radiográfica	50	2p- 7 3p- 22 1/3p- 3 2/3p- 14 1/2/3p- 4
Döri et al. (2007a)	RCT, defeitos paralelos, aleatorização em bloco, examinador único calibrado e com ocultação	30	12		30	1/2p- 19 2p- 7 3p-4
PRP + RGT + β-TCP						
Döri et al. (2008b)	RCT, defeitos paralelos, 2 grupos, examinador único	28	12	- Análise Clínica - Análise Radiográfica	28	1 ou 2p- 6 2p- 17 3p- 5
PRP + Alo-enxertos						
Piemontese et al. (2008)	RCT, defeitos paralelos, 2 grupos, duplamente cego, examinador único.	60	12	- Análise Clínica - Análise Radiográfica	60	2p - 18 3p - 42

Tabela 3

Referências	Intervenções	Profund. do Defeito (mm)	PPD inicial (mm)	Redução do PPD (mm)	Ganho de CAL (mm)	PD (mm)	PD (%)
PRP							
PRP + Xeno-enxertos + RGT							
Christgau et al. (2006)	1) β-TCP+ memb reabs 2) PRP+ β-TCP +memb reabs 1vs2	1) 7.8 \pm 2.1 2) 7.2 \pm 1.9 NS	1) 9.9 \pm 1.3 2) 9.9 \pm 1.4 NS	1) 6.0 \pm 1.1 2) 6.3 \pm 1.2 NS	1) 5.2 \pm 1.6 2) 5.0 \pm 1.5 NS		1) 70.6 \pm 21.8 2) 70.1 \pm 15.8 NS
Döri et al. (2007a)	1) BDX+PRP+ memb colagénico 2) BDX+ memb colagénico 1vs2	1) 5.2 \pm 2.1 2) 5.3 \pm 2.2 NS	1) 8.9 \pm 2.3 2) 8.9 \pm 2.5 NS	1) 5.5 \pm 1.3 2) 5.5 \pm 1.7 NS	1) 4.5 \pm 1.1 2) 4.6 \pm 1.1 NS		
PRP + RGT + β-TCP							
Döri et al. (2008b)	1) β-TCP+ ePTFE+PRP 2) β-TCP+ ePTFE 1 vs 2	1) 5.3 \pm 1.2 2) 5.6 \pm 1.3 NS	1) 9.1 \pm 0.6 2) 9.0 \pm 0.8 NS	1) 5.8 \pm 0.6 2) 5.4 \pm 0.7 NS	1) 4.1 \pm 0.7 2) 3.9 \pm 0.9 NS		
PRP + Aloenxertos							
Piemontese et al.(2008)	1) DFDBA + soluç salina 2) DFDBA + PRP 1vs2	1) 5.1 \pm 1.5 2) 5.3 \pm 1.1 NS	1) 8.0 \pm 1.5 2) 8.4 \pm 1.9 NS	1) 3.5 \pm 1.9 2) 4.6 \pm 1.3 SSD	1) 2.4 \pm 2.2 2) 3.6 \pm 1.8 SSD	1) 2.6 \pm 1.8 2) 3.3 \pm 1.5 NS	

Tabela 3

Abreviações: FC= factor de crescimento; RCT= ensaio clínico randomizado; CAL= nível de inserção clínica; PPD= profundidade de sondagem; PD= preenchimento do defeito; p=parede; OFD= desbridamento cirúrgico; EMD= derivado das proteínas da matriz do esmalte; BDX= xeno-enxerto derivado bovino; NBM= osso mineral natural; NS= não significativo; SSD= diferença estatisticamente significativa; RGT= regeneração guiada de tecidos; β -TCP = β fosfato tricálcio; HA= hidroxiapatite; PLA= ácido polilático ; HPC= hidroxipropilencelulose; V= vestibular; L= lingual; DFDBA= alo-enxerto desmineralizado congelado; ePTFE= membrana não reabsorvível de politetrafluoretileno. * Dados correspondentes ao valor da mediana.

