

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Carla Christina Rodrigues Costa

BMP
(*Bone Morphogenetic Protein*):
uma abordagem terapêutica inovadora

Taubaté – SP

2008

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Carla Christina Rodrigues Costa

BMP
(*Bone Morphogenetic Protein*):
uma abordagem terapêutica inovadora

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação do Departamento de
Odontologia da Universidade de Taubaté.
Área de concentração: Endodontia
Orientador: Prof. Dr. José Luiz Lage-
Marques

Taubaté - SP

2008

CARLA CHRISTINA RODRIGUES COSTA
BMP (BONE MORPHOGENETIC PROTEIN):
uma abordagem terapêutica inovadora

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação do Departamento de Odontologia da
Universidade de Taubaté.
Área de concentração: Endodontia.
Orientador: Prof. Dr. José Luiz Lage-Marques.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Dedico este trabalho:

Aos meus pais,

Pyramo Pires da Costa Júnior e Maria Neide Rodrigues Costa,
que são os responsáveis diretos por todas as minhas vitórias.

Ao meu marido,

Luiz Ângello Pelinsari Camilo, que é o amor da minha vida e meu
melhor amigo. Deixou de lado vários sonhos para realizar o meu.

Às minhas irmãs,

Rossane Helena Rodrigues Costa e Anna Flávia Rodrigues Costa,
que, mesmo estando longe, torceram o tempo todo por mim.
Tenho muitas saudades.

Aos meus amigos sinceros,

que escutaram todas as minhas lamentações e estiveram ao meu lado,
oferecendo apoio moral.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

Ao **Professor José Luiz Lage-Marques**,
por sua orientação e ensinamentos nessa nova fase da minha vida.

À **Professora Sandra Habitante** (Sandrinha),
por ter sido amiga. Adorei conhecê-la!

À **Professora Denise Pontes**,
por suas intervenções e conselhos pertinentes.

Ao **Professor João Marcelo**,
por seu bom humor e carisma.

À **Professora Cristina Claro**,
por ter sido uma “mãezona” para mim.

À **Maralize**, minha companheira do desespero.
Agradeço por ter me ouvido e sofrido junto comigo.

Aos **meus pais**,
por terem me dado a formação necessária para
eu me tornar a pessoa que sou hoje.

Ao **meu marido**,
por estar ao meu lado agüentando o meu mau humor, a minha tristeza, a
minha ansiedade. Agradeço por ter traduzido os textos comigo e me
acompanhado em todas as fase deste projeto de vida.

Aos **colegas de curso**,
que, mesmo de longe, torceram por mim.

Aos **funcionários da secretaria**, em especial a Adriana, que sempre me ajudaram em todas as dúvidas que tive.

Aos **funcionários da biblioteca eletrônica**, sem eles esse trabalho não existiria.

Ao **Major Batista** (meu chefe), que sem a sua compreensão e ajuda, eu não teria feito o mestrado.

Ao **meu querido Exército**, por ter me dado condições de realizar esse sonho.

À **Ângela Araki**, que, lá de longe, me acompanhou nos momentos finais.

À **Karina**, pela amizade e suas correções gramaticais.

À **Deus**, por ter me dado força, perseverança, determinação, esperança, inspiração e calma para a realização deste trabalho.

RESUMO

A odontologia, atualmente, conta com uma nova abordagem terapêutica no campo da regeneração tecidual. Essa abordagem baseia-se no uso de moléculas bioativas, mais especificamente as BMPs (Bone Morphogenetic Proteins). A presente revisão propõe-se a apresentar alguns relatos, existentes na literatura, do uso das BMPs como medicamento, dando embasamento para realização de novos experimentos que possam sugerir abordagens terapêuticas inovadoras na área da regeneração tecidual. As BMPs são proteínas pleiotrópicas, que estão envolvidas no desenvolvimento de vários órgãos do corpo humano, e, também, estão presentes nas várias fases da morfogênese dentária, controlando e modulando as atividades celulares. As BMPs têm o potencial de serem usadas, tanto para a regeneração do complexo dentina-polpa quanto para a regeneração do periodonto (osso, cemento, ligamento, gengiva), podem ser empregadas em cirurgias craniofacial para correção de anomalias adquiridas ou herdadas, correção de seqüelas de trauma craniano, seqüelas de câncer, defeitos ósseos e reparo da cartilagem têmporo-mandibular. Deste trabalho pode-se concluir que a BMP: (1) tem importância na regeneração tecidual como elemento chave na engenharia de tecido; (2) oferece a vantagem de ser uma abordagem mais biológica, gerando um tecido idêntico ao perdido; (3) tem sido bem estudada em vários experimentos clínicos, com muito sucesso, inclusive em humanos; e (4) poderá estar disponível como uma alternativa de terapia a ser empregada no consultório odontológico.

Palavras-chave: Proteína Morfogenética Óssea. Dentinogênese secundária. Regeneração tecidual. Capeamento pulpar direto. Capeamento pulpar indireto. Engenharia tecidual.

ABSTRACT

BMP (Bone Morphogenetic Protein): an inovattor therapeutic approach

Nowadays, odontology counts on a new therapeutic approach in the field of tissue regeneration. This approach is based in the use of bioactive molecules, specifically the BMPs (Bone Morphogenetic Proteins). The present revision has in view to know the BMPs and its applications as medicines, offering support to the accomplishment of experiments that could suggest new proposes of treatment in the field of tissue regeneration. The BMPs are pleiotropic proteins that are involved in the development of many organs of the human body and they are also present in the several phases of dental morphogenesis, controlling and modulating the cellular activities. The BMPs have the potential to be used to the regeneration of the dentin-pulp complex as much as to the regeneration of the periodontium (bone, cementum, ligament and gingiva), and can be used in facial and cranial surgeries to the correction of acquired or inherited anomalies, correction of cranial trauma consequences, bone defects and repair of the temporal-mandible cartilage. From this review, we can conclude some topics about the BMP: (1) it has importance in the tissue regeneration as a key element in tissue engineering; (2) the BMP offers the advantage of being a more biologic approach, generating a new tissue that is identic to the lost one; (3) it has been studied in several clinic experiments, with great success, even including humans; (4) it probably will be available as an alternative of therapy, that may be used in odontologic rooms in the future.

Key-words: Bone Morphogenetic Protein. Secondary Dentinogenesis. Tissue regeneration. Tissue engineering. Direct Dental-pulp Capping. Indirect Dental-pulp Capping.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Os fatores de crescimento agem de modo endócrino, parácrino, justácrino e intrácrino	21
FIGURA 2 – Os três elementos-chaves para a engenharia tecidual dentária	63
FIGURA 3 – Formação do complexo dentino-pulpar com ótima orientação para aplicação clínica da terapia regenerativa	73
FIGURA 4 – Tratamento e estruturas craniofaciais	77
FIGURA 5 - Duas maneiras estratégicas para a terapia pulpar de regeneração dentinária	78

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACS – Esponja absorvível de colágeno
- bFGF – Fator de crescimento fibroblástico básico
- BMP – Proteína Morfogenética do Osso
- Ca(OH)₂ – Hidróxido de cálcio
- CDMP – Proteína morfogenética derivada da cartilagem
- DSP – Sialoproteína dentinária
- ECM – Matriz extracelular
- EGF – Fator de crescimento epidermal
- ePTFE – Politetrafluoetileno
- FGF – Fator de crescimento fibroblástico
- GBR – Regeneração óssea guiada
- GDF – Fator de crescimento e diferenciação
- GETE – Engenharia de tecido aumentado geneticamente
- GH – Hormônio do crescimento
- GTR – Regeneração tecidual guiada
- Hhs – Proteínas Hedgehog
- IGF-I – Fator de crescimento insulínico tipo I
- IGF-II – Fator de crescimento insulínico tipo II
- MTA – Mineral Trioxide Aggregate
- OP – Proteína osteogênica
- PDGF-BB – Fator de crescimento derivado de plaquetas – BB
- PDL – Ligamento periodontal
- PP – Fosforinas
- rhBMP – Proteína Morfogenética do osso recombinante humana

SDF – Fibroblastos dermais

TGF- β – Fator de crescimento transformador-beta

TNF – Fator de necrose tumoral

Wnts – Proteínas Wingles

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 DENTINOGENESE REPARATIVA	22
3.2 BMPs	31
3.2.1 BMPs na regeneração do complexo dentino-pulpar	35
3.2.2 BMPs na regeneração periodontal	42
3.3 OUTRAS APLICAÇÕES	53
3.3.1 Engenharia Tecidual	59
3.3.2 Células Tronco Progenitoras	64
3.4 OUTROS BIOMATERIAIS	65
3.5 RADIOISÓTOPOS E PERMEABILIDADE DENTINÁRIA	70
4 DISCUSSÃO	72
4.1 TRABALHOS FUTUROS	79
5 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

A odontologia tem uma atuação bem abrangente na região de cabeça-pescoço no que se refere ao tratamento de várias doenças que acometem essa região. Dentre essas doenças podem-se citar os vários tipos de cânceres, tumores de origem odontogênica, cistos de origem odontogênica, os vários tipos de doença periodontal, doenças de origem virótica, fúngica e protozoária, doenças ósseas, doenças da polpa e periápice e a doença cárie.

A doença cárie é a maior responsável pela ida do paciente ao consultório odontológico, pois a mesma leva à pulpíte. Pulpíte é um processo inflamatório do tecido pulpar causado por vários fatores etiológicos como: microbianos, físicos e químicos. No caso da doença cárie, o fator etiológico é o microbiano. As bactérias e seus metabólitos penetram nos túbulos dentinários, irritando a polpa. Essa irritação leva a uma resposta inflamatória com intuito de debelar o problema, eliminando o agente agressor e criando uma barreira protetora (dentina reparativa e/ou reacionária). O processo inflamatório consiste de eventos vasculares como: vasodilatação (com o aumento do fluxo sanguíneo) e permeabilidade vascular (edema). Porém, esses eventos, em um ambiente tão peculiar como o da polpa, levam a um aumento da pressão interna e, conseqüentemente, dor.

O paciente procura o profissional com a intenção de aliviar a sua dor e restaurar a função do dente. Entretanto, muitas vezes, o estágio da doença é avançado, impossibilitando a recuperação total do dente, podendo ocorrer a perda da vitalidade pulpar e, até mesmo, a perda do elemento dentário.

No processo da doença cárie, existe perda de estrutura dentária como resultado. Sabe-se que a literatura está repleta de informações, as quais afirmam que a polpa no estágio reversível da pulpíte, devidamente estimulada, apresenta condições de criar uma dentina reparadora. Fato importante está na forma como esta polpa é estimulada.

Goldberg et al. (2003) relataram que por décadas os pesquisadores vêm procurando métodos eficientes ou ferramentas farmacológicas para preservar, curar ou regenerar a polpa dental após acidentes ou patologia severa, com o intuito de manter o dente em função por maior tempo possível.

As pesquisas biomoleculares, sobre o desenvolvimento e reparação óssea, permitiram a descoberta da família de proteínas reguladoras da formação óssea e cartilaginosa (BMP- *Bone Morphogenetic Protein*), capaz de estimular a regeneração dentinária. A BMP pode iniciar a neoformação óssea quando implantada em sítio extra- ósseo. A resposta tecidual ao implante de BMP ocorre de modo similar ao desenvolvimento ósseo embriológico, possibilitando a formação e o desenvolvimento da reparação na osteogênese pós-natal. O fator BMP também pode induzir a formação de dentina, sempre que aplicada diretamente sobre a polpa dentária. As proteínas morfogenéticas são encontradas na matriz orgânica da dentina e no osso, podendo ser sintetizadas pela terapia de gene recombinante, usando vetor viral (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998).

As BMPs são fatores de crescimento multifuncionais, pertencentes à super família do TGF- β (Fator de Crescimento Transformador- beta) (JIN et al. , 2003).

Smith (2003) explica que fatores de crescimento são um grupo de moléculas importantes, responsáveis pela sinalização de uma variedade de processos

celulares após a injúria dental. Eles ocupam um papel central em vários aspectos da sinalização da regeneração tecidual, e eventos associados à injúria inicial no tecido e subsequente reação de defesa. Eles provêm uma base para o entendimento dos mecanismos da regeneração tecidual no complexo dentina-polpa e os efeitos no tratamento endodôntico, oferecendo, deste modo, oportunidades excitantes para uma nova modalidade de tratamento e abordagem da engenharia tecidual para restauração do tecido.

Os morfogenes são sinais extracelulares secretados que governam a morfogênese durante as interações epitélio-mesênquimais. Eles compreendem cinco famílias de proteínas evolucionariamente conservadas – BMPs (Bone Morphogenetic Protein), fatores de crescimento fibroblásticos (FGFs), proteínas hedgehog (Hhs), proteínas wingless e int-related (Wnts) e família de Fator de Necrose Tumoral (TNF). Essas famílias de proteínas exibem sinalização redundante e reiterativa, cada qual com expressões temporais e espaciais distintas durante a iniciação, formação de padrão, morfogênese e citodiferenciação. No complexo crânio-facial, elas governam a padronização e morfogênese dos dentes e estruturas periodontais associadas, incluindo: osso alveolar, cimento, ligamento periodontal (PDL) e gengiva. Apesar das cinco famílias distintas de morfogenes estarem envolvidas na morfogênese embrionária crânio-facial, as BMPs sozinhas parecem ser suficientes para regeneração dos tecidos dentais em adultos (NAKASHIMA; AKAMINE, 2005; NAKASHIMA; REDDI, 2003).

Atualmente, a partir de laboratórios que comercializam BMP recombinante humana experimentos têm sido realizados com a proposta avaliar a sua ação sobre a reconstrução de tecido dental perdido, visualizando a odontologia do futuro.

Essa nova visão odontológica foca a manutenção do elemento dentário com vitalidade por mais tempo, por meio da criação de uma barreira natural de dentina efetiva que é a melhor proteção para tecido pulpar vivo. Nesse novo contexto, surge o conceito de engenharia de tecido ou engenharia tecidual. Nakashima (2005) definiu engenharia tecidual como o campo da restauração funcional da estrutura e fisiologia dos tecidos, com o objetivo de reparar e regenerar tecidos prejudicados e danificados devido ao câncer, ao trauma e às outras doenças.

Cabe aclarar a necessidade de um estudo sobre o impacto dessa nova terapia na coletividade. Sabe-se que seria de grande interesse da população, a viabilidade e acessibilidade ao uso dessa terapia no consultório, visto os vários benefícios que a mesma oferece. Um exemplo de terapia inovadora, que era pouco acessível e, hoje, se popularizou de forma positiva, é a terapia de implante. Pois, no período do surgimento do implante poucas pessoas tinham acesso.

Neste novo contexto, a presente revisão propõe-se a conhecer a BMP e suas aplicações como medicamento, criando perspectivas para novas propostas de terapia no campo da regeneração tecidual.

2 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como objetivo apresentar relatos do uso da BMP na regeneração tecidual existentes na literatura, e, com isso, dar embasamento para a execução de novos experimentos que possam sugerir abordagens terapêuticas inovadoras nessa área.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A literatura mostra que a busca pela indução e formação de tecido mineralizado iniciou-se em 1965, com Urist em um trabalho clássico. Urist (1965) conseguiu a neoformação óssea, implantando fragmentos de osso desmineralizado em sítios ectópicos (tecido subcutâneo e intramuscular de coelho) no período de duas semanas. Embora não tenha sido possível determinar o componente ativo no extrato ósseo, descobriu-se que este era composto por uma ou mais moléculas de origem protéica e denominado por Urist de Proteína Morfogenética Óssea.

Morris (1974) estudou a implantação de osso autógeno fresco, cimento e dentina humana descalcificada em tecido subcutâneo de rato, o que resultou em uma organização de tecido do tipo periodontal. Ele especulou que as células da medula óssea poderiam ser as responsáveis por esse fenômeno.

Somerman et al. (1986) avaliaram extratos de proteína de tecidos mineralizados, como agentes para conseguir fixação celular de fibroblastos gengivais in vitro. Neste estudo, supôs-se que as proteínas derivadas de áreas circunvizinhas da lesão seriam as responsáveis por promover esse comportamento regenerativo das células.

Tziafas (1992) observou em um experimento com dentes de cães, que houve resposta das células ectomesênquimais da polpa dental canina à implantação de filtro Millipores, suplementado com fibronectina de plasma bovino, após períodos de observação de uma a quatro semanas. Segundo o autor, esses

dados fornecem evidências de que as células pulpares podem expressar seu fenótipo odontoblástico para uma superfície contendo fibronectina concentrada.

Gonçalves, Guimarães e Garcia (1998) identificaram uma família de proteínas morfogenéticas estruturalmente relacionadas, contendo seqüências de aminoácidos homólogos às proteínas do Fator de Crescimento Transformador-beta (TGF- β). As proteínas da superfamília do TGF- β incluem mais de 25 fatores moleculares, incluindo as BMPs, sendo representadas não só em humanos, como também em outros animais vertebrados e invertebrados. A conservação evolucionária das BMPs indica sua atuação crítica no desenvolvimento normal em animais.

Hu et al. (1998) hipotetizaram que a aplicação de fatores de crescimento como sinal morfogenético, na polpa irritada, pode limitar a resposta inflamatória, acelerar a regeneração tecidual e levar à deposição de dentina mineralizada de qualidade fisiológica. A vantagem dessa abordagem é diminuir o risco de necrose pulpar ou calcificação secundária demasiada, devido à irritação tecidual, induzida pelo hidróxido de cálcio. Os fatores de crescimento também podem produzir uma resposta mais consistente com menos casos de formação excessiva de dentina reparativa. Um grupo de cinco fatores de crescimento, TGF- β 1 (Fator de Crescimento de Transformação- beta1), EGF (Fator de Crescimento Epidermal), bFGF (Fator de Crescimento de Fibroblasto básico), IGF-II (Fator de Crescimento II tipo insulina), PDGF-BB (Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-BB), que funcionam normalmente durante o reparo da ferida e regeneração tecidual foram analisados por Hu et al. (1998) pelo potencial uso como medicação em capeamento pulpar direto. Concluíram que o TGF-beta1 induziu a uma ponte de dentina reparativa ideal em três semanas, sendo que esse resultado não foi

observado com as medicações de capeamento pulpar convencionais, como o Dycal, sugerindo que futuros regimes pulpares provavelmente serão baseados em estratégias fisiológicas. Embora este estudo não tenha demonstrado reparo melhorado com PDGF-BB, bFGF, EGF, ou IGF-2, estes fatores demonstraram potencial clínico quando usados em combinações.

Bartold et al. (1998) relataram que muitos estudos, in vivo, demonstraram que o hormônio do crescimento (GH) é capaz de formar tecidos duros, como: osso, dentina, esmalte e cimento. Estudos in vitro mostraram que o GH tem a capacidade de estimular a proliferação de osteoblastos, incluindo os osteoblastos da medula marrom, e induzir marcadores da formação óssea como as BMPs. Diante disto, Bartold et al. (1998) aventaram a hipótese de que o GH e o fator de crescimento insulínico (IGF-1) são capazes de aumentar a expressão da BMP-4 (envolvida nos estágios iniciais da formação do dente) e da BMP-2 (envolvida nos estágios tardios da formação do dente, onde a BMP-2 media as interações epitélio-mesenquimal). Os resultados obtidos aumentaram a possibilidade das BMPs mediar as ações osteogênicas locais do GH e IGF-1, e reforçou a visão que o GH poderia agir através da mediação de outros fatores além do IGF-1.

Os fatores de crescimento são moléculas peptídicas, que transmitem sinais entre células, funcionando como estimuladores e/ou inibidores do crescimento, assim como moduladores de estágios de diferenciação entre outras funções. Desempenham um papel central no controle do comportamento e atividades celulares. São responsáveis por muitas sinalizações de eventos chaves na morfogênese e diferenciação do dente, e recapitulação desses processos após a injúria dental, permitindo a regeneração tecidual. Eles podem demonstrar um grau de especificidade no que se refere às células em que atuam apesar de alguns

serem mais versáteis e agirem em numerosos tipos de células. Os fatores de crescimento podem agir de modo endócrino, autócrino, parácrino, justácrino e intrácrino (Figura 1), salientando a complexidade do controle das atividades celulares no corpo. Eles agem por meio de suas interações com receptores específicos na superfície celular. A ligação desses receptores comanda uma cadeia de sinais intercelulares, e o resultado disso é a transdução do sinal no núcleo da célula. É por meio de seus efeitos na expressão genética no núcleo celular, mediados pela transcrição e outros eventos, que os fatores de crescimento influenciam o comportamento e a atividade celular. Este controle da transcrição da expressão genética pode ter efeitos à longa distância, ambos em termos de eventos intra e extracelular. Desta maneira, fatores de crescimento podem regular genes, controlando proliferação celular, diferenciação celular, ou os produtos secretados pelas células. Uma família chave de fatores de crescimento, que tem sido identificada na dentina, é membro da família TGF- β de fatores de crescimento. Membros desta família de fatores de crescimento têm sido implicados na sinalização da diferenciação de odontoblastos, durante o desenvolvimento do dente e, deste modo, podem ser moléculas importantes durante o reparo (COCHRAN; WOZNEY, 1999; SMITH, 2003).

Segundo Iohara et al. (2004), a BMP implantada em polpa dentária dissolve-se nos fluídos teciduais num período de duas semanas após a sua aplicação, estimulando a mitose de células migratórias mesênquimais e a diferenciação direta destas células em odontoblastos, ou em osteodentinoblastos. Estes achados indicaram o uso de BMPs como agentes capeadores bioativos induzindo a dentinogênese.

Edward e Manson (2006a) relataram que a abordagem atual para regeneração tecidual inclui: (i) o uso de armação passiva tridimensional para prover um ambiente local que conduz uma nova formação tecidual; (ii) estratégias indutivas em que fatores de crescimento adicionados são incorporados dentro da armação/matriz para modificar comportamento celular, e (iii) estratégias para formar uma construção viva de células autólogas diferenciadas no tipo desejado, ou células tronco que têm sido isoladas e cresceu in vitro para restaurar a função tecidual.

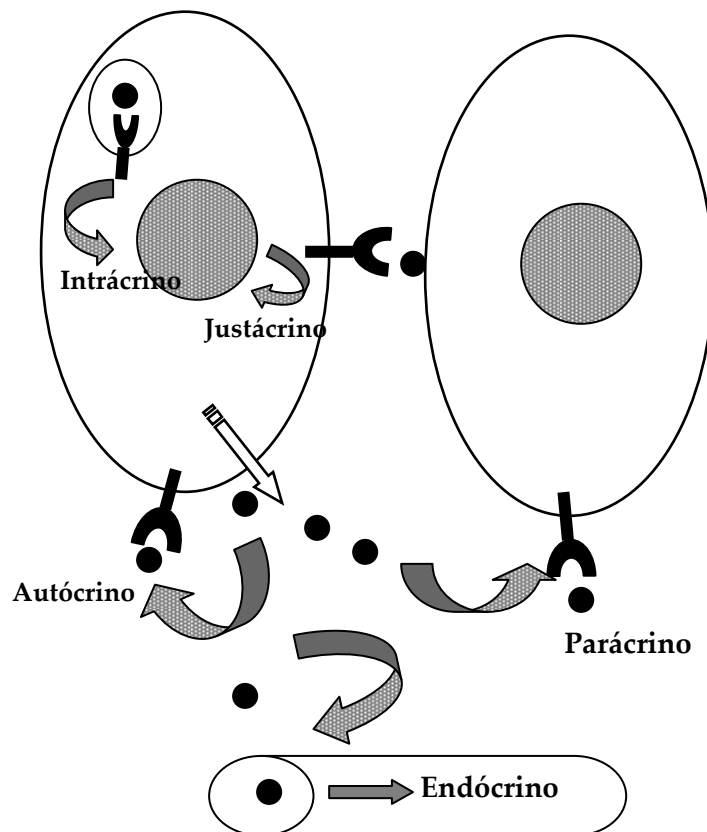


Figura 1 – Os fatores de crescimento (círculos pretos) são produzidos e liberados de células e então interagem (via receptores específicos) tanto com as células que os produzem (autócrinos, intracrinis) ou outras células (parácrino, justacrina, endócrino) resultando na sinalização de uma resposta por estas células. Fonte: Smith (2003)

A engenharia de tecido aumentado geneticamente (GETE) combina técnicas de engenharia de tecido com terapia de genes. Especificamente, a terapia baseada em gene envolve o fornecimento de um gene específico para o tecido alvo, com o objetivo de mudança de fenótipo ou perfil da proteína expressa da célula recipiente. Isto pode estimular o aumento genético celular e/ou células vizinhas não confinadas para diferenciar na célula e tipo tecidual desejado. Uma das principais vantagens dessa abordagem é que ela provê um fornecimento sustentado de níveis fisiológicos de fatores de crescimento. A premissa central que sustenta essa abordagem é a existência de uma população de células progenitoras, capazes de induzir a regeneração de diferentes tecidos com orientação do local sugerido no ambiente ferido.

3.1 DENTINOGENESE REPARATIVA

Tziafas (1994) comentou que os eventos que ocorrem na dentinogênese primária são iniciados pelas interações epitélio-mesenquimal, mediadas pela matriz extracelular da membrana basal. Contudo, a dentinogênese pode ocorrer na ausência de epitélio dental e membrana basal, como parte do processo reparativo, dentro do ambiente da polpa. A dentinogênese secundária requer o desenvolvimento de uma nova geração de odontoblastos. Somente as células da papila dental possuem a capacidade em diferenciar-se em odontoblastos. Porém, essa capacidade adquirida, durante os estágios embrionários iniciais, permanece nas células do parênquima da polpa madura. No processo reparativo da polpa, após irritação física, bacteriana ou química da dentina (que resulta em necrose dos

odontoblastos primários afetados), ou após a amputação e tratamento capeador da polpa exposta, mas não inflamada cronicamente, uma camada de células polarizadas alongadas, capazes de formar matriz tubular, pode ser formada. Foi bem documentado que uma polpa vital exposta pode reparar-se, sob contaminação bacteriana restrita, pela formação de uma ponte de tecido duro, subjacente aos locais amputados. A maioria das observações com relação à iniciação da dentinogênese secundária foi obtida pela realização de experimentos de capeamento com hidróxido de cálcio. O hidróxido de cálcio é um fator não específico para a iniciação da dentinogênese secundária, o tratamento da ferida pulpar com este agente é atribuído à lesão inicial do tecido ao trauma químico.

Tziafas (1995) relatou que as células pulpares maduras têm potencial específico de diferenciarem-se em células polarizadas capazes de elaborar dentina reparativa. Essas células do tipo odontoblasto diferem, segundo critério morfológico, das outras células matrizes/formativas, envolvidas em mecanismos defensivos não específicos da polpa dental. Segundo o autor, tais experimentos são focados no papel das moléculas da matriz extracelular e fatores de crescimento na aquisição do fenótipo de células do tipo odontoblasto e na iniciação da dentinogênese reparativa.

Haas et al. (2001) fizeram uma revisão das novas tendências para preservar o complexo dentino pulpar e citaram estudos que questionaram a capacidade do hidróxido de cálcio de estimular formação de dentina reacional. Nestes estudos foi observado que não houve diferença significativa na formação de dentina reacional com o uso de hidróxido de cálcio comparado a outros materiais como amálgama, resina composta, cimento de silicato e cimento à base

óxido de zinco e eugenol. Além disso, tem sido notada a presença de defeitos do tipo túnel, na ponte de dentina formada, subjacente ao hidróxido de cálcio.

Tziafas et al. (2001) afirmaram que a natureza e a especificidade dos mecanismos pelos quais a interface dentina/polpa amputada é terapêuticamente tratada, determinam as características das barreiras nesse local e tem o papel crítico no surgimento da terapia pulpar vital. A cura do complexo dentina polpa ocorre tanto por reparo natural, que resulta na formação defensiva de tecido duro, como pela regeneração terapêuticamente regulada de dentina, que visa a reconstituir a arquitetura normal do tecido na periferia da polpa. O progresso na pesquisa biomédica abre novas direções para o projeto de terapias pulpares biologicamente ativas.

Segundo About e Mitsiadis (2001), que muitos fatores de crescimento e moléculas extracelulares da matriz, expressos durante o desenvolvimento embrionário do dente, são re-expressos no tecido dental sob condições patológicas. Condições patológicas como lesões cariosas e injúrias dentais são letais aos odontoblastos, os quais são substituídos por outras células pulpares. Essas células são capazes de diferenciarem-se em células do tipo odontoblasto e produzir dentina reparadora. A dentina é um reservatório de fatores de crescimento como fator de crescimento de transformação beta (TGF- β), proteínas morfogenética do osso (BMPs), e fator de crescimento fibroblástico (FGFs). Em condições patológicas, envolvendo lesões dentinárias leves (ex:cárie), a atividade dos odontoblastos é estimulada para elaborar dentina reacionária. Esta estimulação pode ser resultado de muitas moléculas sinalizantes (ex: TGF- β 1, BMP-2), liberadas da dentina durante o processo de desmineralização. Condições patológicas envolvendo violento stress (ex:preparo cavitário profundo) levam à

desintegração odontoblástica. Neste caso, células do tipo odontoblasto recentemente formadas, possivelmente originárias de fibroblastos da polpa, elaboram uma dentina reparadora. A deposição de dentina reparadora pode aumentar in vivo após a aplicação local de medicamentos para capeamento pulpar que contém moléculas sinalizantes como BMPs.

Magloire et al. (2001) relataram que o tecido pulpar responde ao dano dentinário com deposição de matriz dentinária terciária (reacionária ou reparativa) abaixo do local da injúria. A dentina reacionária é secretada pelos odontoblastos sobreviventes em resposta ao estímulo externo, que leva ao aumento do metabolismo celular. As moléculas indutoras, que são responsáveis pela cura pulpar, podem ser liberadas da dentina danificada ou vindas do tecido pulpar subjacente à injúria.

Smith et al. (2001) relataram que a dentinogênese terciária reacionária e reparativa pode ser estimulada através da dentina. Explicaram que dentinogênese terciária reacionária representada pela produção local de dentina por um grupo de odontoblastos primários, sobreviventes à injúria, e dentinogênese terciária reparativa representa a produção de dentina por uma nova geração de células do tipo odontoblastos após a morte dos odontoblastos primários. Essa estimulação é tradicionalmente atribuída à difusão de substâncias irritantes originadas de injúrias ao dente e tratamento restaurador. Porém, a identificação de componentes bioativos, especialmente fatores de crescimento (incluindo TGF- β), armazenados dentro da matriz dentinária, permite uma nova explicação para a sinalização celular durante a dentinogênese terciária. A liberação desses componentes bioativos da matriz dentinária pode originar-se durante a cárie e outras injúrias ao tecido e, também, a restauração do dente. A distância da difusão, determinada pela

espessura da dentina remanescente e outros parâmetros restaurativos, podem influenciar o processo de sinalização após a liberação desses componentes. Cuidadoso exame da interação entre o tecido danificado e o material restaurador é requerido para o ótimo aproveitamento da rara capacidade regenerativa do complexo dentina-polpa, para uma abordagem biológica no tratamento clínico da doença dental, pois, qualquer estimulação através da dentina pela difusão de moléculas endógenas ou exógenas leva à sinalização celular e, conseqüentemente, à dentinogênese terciária.

Bjørndal (2001) buscou uma relação entre a presença e a ausência de dentinogênese terciária com a progressão da lesão cariosa. Tem sido relatado que, tanto o estágio inicial quanto o avançado da cárie não são necessariamente acompanhados pela formação de dentina terciária. Quando a lesão é de progressão lenta foi observada a formação de uma dentina atubular, também chamada de fibrodentina, com posterior deposição de matriz dentinária tubular sobre ela. Nas lesões de progressão muito rápida, nenhuma dentina terciária é depositada pelos odontoblastos primários. Em lesões de esmalte ativas, não cavitadas, a presença de dentina tubular/reacionária foi observada. Em lesões cavitadas, muito antigas e de progressão lenta, a dentina terciária tubular parece ser uma mistura, tanto de túbulos dentinários primários, quanto de novos túbulos dentinários secundários. O autor concluiu que durante a progressão de lesões rápidas, a ausência de dentina terciária é esperada, enquanto que em lesões cavitadas dentinárias mais antigas, uma variedade de dentina terciária é observada.

Goldberg et al. (2003) revisaram os mecanismos de reparo da polpa, e explicaram que após o desenvolvimento da lesão cariosa ou posteriormente ao seu

tratamento, os odontoblastos subjacentes sobreviventes são ativados e produzem uma matriz extracelular que se mineraliza em volta. A razão da mineralização pode ser completamente variável. Uma linha chamada cálcio-traumática, análoga com as linhas reversas no osso, separa a dentina fisiológica secundária da dentina reacionária. Em casos dos odontoblastos não sobreviverem às alterações, devido às bactérias e suas toxinas durante o processo carioso e/ou seu subsequente tratamento, outra forma de dentinogênese pode ser devido às células da camada de Höhl. Durante a última mitose dos pré-odontoblastos, as células filhas em contato com a membrana basal tornam-se odontoblastos (células polarizadas jovens pré-secretoras), enquanto as células filhas que estão localizadas a alguma distância da membrana basal, tornam-se células da camada de Höhl. Sendo assim, as últimas são células irmãs das primeiras, sendo compreensível que elas possam ser capazes de secretar uma estrutura muito similar à matriz “tipo dentina”. Tem sido postulado que as células de Höhl mantêm o potencial de diferenciar-se em odontoblastos, em caso desses últimos serem destruídos. Existem algumas falhas e perda de precisão na terminologia usada para descrever as células mesenquimais, que podem tornar-se neodontoblastos ou odontoblastos secundários ou, ainda, odontoblastos de reposição. Existem autores que são mais prudentes e preferem chamá-las de células do tipo odontoblastos. Essas células são definidas como sendo capazes de regenerar a polpa ou produzir dentina reparativa. É importante esclarecer algumas terminologias. A dentina reacionária é produzida por odontoblastos, como uma resposta aos estímulos, devido à lenta progressão cariosa ou a biomateriais restaurativos. A dentina reparativa é produzida por células pulpares, nunca por odontoblastos, após exposição pulpar, em consequência da rápida progressão cariosa ou preparo cavitário. Ela é uma

resposta tecidual fisio-patológica e difere da ortodentina porque sua formação não é sob o controle de odontoblastos.

Smith (2003) explicou que apesar da aparente quiescência da atividade odontoblástica, depois da dentinogênese primária e a formação do dente estar completa, a regeneração ou a cura da ferida pulpar, na forma de dentina terciária, pode ser resultado de uma injúria e embasa a formação da ponte de dentina no local da exposição pulpar. A formação da ponte de dentina aparece após a morte dos odontoblastos locais, e requer a diferenciação de uma nova geração de células do tipo odontoblasto, originadas das células tronco pulpare ou células progenitoras pulpare. Isto envolve uma seqüência de eventos celulares, incluindo recrutamento de células tronco, citodiferenciação e subsequente ativação ou autoregulação da atividade secretora das células, tendo sido chamada de dentinogênese reparativa. Na exposição pulpar cariiosa, a irritação bacteriana e a resposta inflamatória da polpa pode adversamente afetar a dentinogênese reparativa e a formação da ponte de dentina. A presença de irritação e inflamação pode comprometer a vitalidade da polpa e a oportunidade para o reparo e regeneração. Se a injúria for de pequena ou média intensidade, os odontoblastos são capazes de sobreviverem à injúria e são auto-regulados para secretar uma matriz de dentina terciária, na interface polpa-dentina, chamada dentina reacionária. Fato este que aumenta a barreira entre as células da polpa e a injúria. Os eventos celulares, ocorridos durante a dentinogênese reacionária, são bem menos complexos do que aqueles ocorridos durante a dentinogênese reparativa, já que as células secretoras da dentina estão diferenciadas e sua atividade secretora auto-regulada. As lascas de dentina que surgem do preparo cavitário têm sido reconhecidas por serem auto-indutivas para dentinogênese reparativa.

Experimentalmente, a matriz dentinária desmineralizada e os componentes da matriz isolados são capazes de induzir dentinogênese reparativa e formação de ponte de dentina, nos locais de exposição pulpar, bem como a formação de osso ectópico. Isto significa que a matriz dentinária contém componentes bioativos, não sendo tão inerte como presumido algumas vezes. A matriz dentinária contém um coquetel de moléculas bioativas (potentes sinalizadores celular), que pode ser liberado dentro do ambiente pulpar, durante uma injúria tecidual. Estes fatores de crescimento estão contidos nos compartimentos teciduais solúveis e insolúveis da matriz, e sua liberação ou exposição pode, então, variar sob diferentes condições teciduais. Eles podem ser liberados da matriz dentinária como resultado tanto de eventos que danificam os tecidos (ex: cárie) como de procedimentos clínicos restaurativos. É possível identificar um número quantitativamente pequeno de fatores de crescimento, que possuem potente efeito biológico, na matriz dentinária. Uma vez que os fatores de crescimento são incorporados na matriz dentinária, durante a dentinogênese primária, tornam-se “fossilizados” e mantêm sua atividade biológica através da proteção oferecida pela sua interação com os componentes da matriz extracelular dentinária.

Smith (2003) elucidou que a maioria dos materiais restauradores não exhibe propriedades de desmineralização da matriz dentinária. Porém, o hidróxido de cálcio, um dos mais comuns agentes capeadores da polpa, apesar de não ser ácido, possui alguns efeitos solubilizantes na matriz dentinária. Dentre os componentes da matriz dentinária, solubilizados pelo hidróxido de cálcio, está o fator de crescimento TGF- β 1, cuja liberação pode contribuir para a formação da ponte dentinária. Sendo assim, pode haver uma explicação biológica mais racional para a ação do hidróxido de cálcio, do que aquela visão mais tradicional do mesmo

“irritando” as células pulpares, estimulando a diferenciação de células do tipo odontoblasto para a formação de ponte de dentina.

É fundamental conhecer o papel chave dos fatores de crescimento na diferenciação fisiológica do odontoblasto e a recapitulação deste evento durante o reparo. Considerável atenção tem sido dada aos fatores de crescimento, particularmente a família do TGF- β , que pode estar diretamente envolvida na sinalização da citodiferenciação dos odontoblastos e das células do tipo odontoblasto. Embora sejam necessárias evidências de que os fatores de crescimento são responsáveis pela sinalização da diferenciação odontoblástica in vivo, TGF- β 1, TGF- β 3, BMP-2 e IGF-1 parecem ser capazes de sinalizar diferenciação odontoblástica in vitro (GOLDBERG; SMITH, 2004).

Segundo Iohara et al. (2004), os odontoblastos danificados podem ser substituídos por uma nova população de odontoblastos, gerados a partir de células tronco da polpa. Seguindo a estimulação fisiológica ou injúria, desde cáries a procedimentos operatórios, células tronco da polpa podem ser mobilizadas para proliferarem e diferenciarem em odontoblastos pela liberação de morfógenos da matriz de dentina adjacente.

Lee et al. (2006) realizaram um estudo para elucidar os eventos que delineiam as repostas do complexo dentina-polpa à progressão cariiosa. Para tanto, os autores analisaram terceiros molares humanos, recém-extraídos, com cárie de esmalte e dentina, e sem cárie. As proteínas dentinárias analisadas foram colágeno do tipo 1, fosforinas (PP) e sialoproteína dentinária (DSP), todas possuem papéis importantes no processo de mineralização da dentina. Os resultados sugeriram que a lesão cariiosa estimula o complexo dentina-polpa a

ativar a síntese das proteínas colágeno tipo 1, PP e DSP. Esta resposta à cárie parecem prover uma base para a formação de dentina reparativa e/ou reacionária.

3.2 BMPs

As BMPs são produtos do metabolismo de osteoblastos, de odontoblastos e de várias células tumorais, as quais são armazenadas em forma concentrada no osso, dentina e em células neoplásicas do osteossarcoma. Os genes produtores de BMPs, identificados por técnicas de DNA recombinante, têm sido utilizados para sintetizar BMP recombinante (rBMP) em culturas de células de mamíferos, produzindo proteínas altamente ativas e potencialmente disponíveis, e ainda em maiores frações do que era anteriormente possível. A atuação das BMPs originadas de diversos animais foi comparada efetuando-se sua implantação em músculos de ratos. Independentemente da espécie animal de onde foi extraída, a BMP promoveu osteoindução. Gonçalves, Guimarães e Garcia (1998) comentaram que utilizando testes in vivo de formação óssea ectópica, uma família de nove BMPs já foi identificada. Nestes testes, uma amostra de proteína a ser testada, associada a um carreador inerte, é liofilizada e implantada no tecido subcutâneo de camundongos. Após um período determinado, as amostras são recolhidas e processadas, avaliando-se a atividade osteoindutora. A análise da identidade das BMPs permite sua divisão em várias subfamílias. O exame da seqüência de aminoácidos das BMPs demonstrou serem as BMP-2 e BMP-4 pertencentes ao subgrupo mais relacionado. Essas proteínas apresentam 86% de seqüência de aminoácidos idênticas entre si e, idênticos em 33-35% com TGF- β . O segundo

subgrupo, formado por BMP-5, BMP-6 (Vgr-1), BMP-7 (OP-1) e BMP-8 (OP-2), exibe cerca de 73-83% de aminoácidos similares entre si. A BMP-3, também chamada de osteogenina, sendo uma proteína diferente, forma sozinha o terceiro subgrupo, com 45% da seqüência de aminoácidos idêntica à BMP-2. A BMP-1 distingui-se das demais BMPs por não apresentar atividade morfogenética e não pertencer à família do TGF- β , sendo hoje considerada como pró-colageno C proteinase. Uma subfamília de proteínas similares à BMP, importantes na formação óssea, foi denominada de fator de crescimento e diferenciação 5 (GDF-5) ou proteína morfogenética derivada de cartilagem 1 (CDMP-1), GDF-6 ou CDMP-2, e GDF-7 ou BMP-12. Estas proteínas são homólogas entre si, e 46-57% idênticas da BMP-2 e até BMP-8. Embora a função exata e a inter-relação de cada BMP não estejam ainda completamente esclarecidas, evidências indicam sua atuação como parte de uma cascata complexa de fatores reguladores de diferenciação celular, aumentando a expressão de condroblastos e osteoblastos em sítios ósseos lesados. A possível conservação evolucionária estrutural e funcional dos genes de BMPs sugere funções críticas e regulatórias no processo de diferenciação durante o desenvolvimento (GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA, 1998).

Segundo Nakashima e Reddi (2003) o genoma humano inclui vinte BMPs. As BMPs são moléculas diméricas, criticamente dependentes da ligação simples intermolecular dissulfídica para a atividade biológica. A subunidade monomérica tem cerca de 120 aminoácidos, incluindo sete resíduos de cisteína conservada. A família das BMPs pode ser dividida em quatro famílias distintas: (1) BMP-2 e 4; (2) BMP-3 e BMP-3B, sendo essa última também conhecida como fator de crescimento/diferenciação 10 (GDF-10); (3) BMPs 5, 6, 7, 8; (4) GDFs 5, 6, 7,

também conhecidos como proteínas morfogenéticas derivadas da cartilagem um, dois e três. A BMP-1 não é um membro da família BMP, mas apenas uma proteinase do pró-colágeno C, envolvida no processamento proteolítico do pró-colágeno solúvel, levando a um alto ajuste das fibras colagenosas insolúveis na matriz extracelular. Uma única BMP recombinante pode ter efeitos pleiotrópicos em diferentes estágios da morfogênese óssea, dependendo de sua concentração: concentrações femtomolar promovem quimiostase; concentrações maiores promovem mitogênese e diferenciação. As BMPs desempenham papéis importantes no desenvolvimento do cérebro, olhos, coração, rins, pele, ossos e dentes. Suas ações incluem o estabelecimento do plano corporal, iniciação e manutenção durante a regeneração do osso, formação do tecido esquelético durante a embriogênese, crescimento e remodelação, e a indução e criação de novo osso. No esqueleto pós-natal, as BMPs estão intimamente associadas com a matriz colagenosa extracelular e são localizadas em células periosteas e em células mesênquimais do estroma do tutano no reparo da fratura.

Membros da família BMP são usados seqüencialmente e repetidamente em todo o desenvolvimento embrionário dental: iniciação, morfogênese, citodiferenciação e secreção de matriz. Seis BMPs diferentes (BMP-2 à BMP-7) são co-expressos temporariamente e aleatoriamente. BMP-2, BMP-4 e BMP-6 foram identificadas em cultura de células pulpares primárias dentárias humanas. Dez membros da família BMP (BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7, BMP-8, GDF-1, GDF-5, GDF-6, GDF-7, GDF-11 E GDNF) foram clonados do tecido pulpar de incisivos de rato. As interações epitélio/mesênquima são críticas na morfogênese do dente. BMP-4 do epitélio induz o mesênquima a ser odontogênico. Sinais de BMP-2, BMP-4 e BMP-7 são expressos no epitélio dental e nódulo do esmalte, que

influencia células epiteliais e mesênquimais, e são responsáveis pela manutenção do nódulo de esmalte e pela subsequente morfogênese do epitélio. Esses sinais também regulam a padronagem da coroa dentária por meio da influência na iniciação dos nódulos secundários, juntamente com sinais mesênquimais como BMP-4. As BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7 e GDF-11 são também expressas durante a diferenciação odontoblástica, e BMP-4 e BMP-5 durante a diferenciação ameloblástica. BMP-2 recombinante humana estimula a diferenciação de culturas de células (em monocamadas e tridimensional) pulpares adultas humanas e bovinas em odontoblastos. BMP-7 recombinante humana apresenta efeito similar em fragmentos dentários cultivados. BMP-2 recombinante humana, BMP-4 e GDF-11 embebidas em contas, estimulam diferenciação odontoblástica em culturas orgânicas e células papilares dentária de ratos. Algumas BMPs tais, como: BMP-2 recombinante humana, BMP-4 e BMP-7 têm sido vistas como indutoras de formação de dentina reparativa/regenerativa. A formação de dentina tubular induzida pela BMP é criticamente dependente da armação/arcação (NAKASHIMA, 2005.)

Calixto et al. (2007) realizaram um estudo, objetivando estimular o reparo ósseo, após extrações dentárias, utilizando uma mistura nacional de BMPs (Gen-Pro® Genius-Baumer, São Paulo, SP, Brasil) bovinas purificadas adsorvidas em hidroxiapatita micro granular absorvível. Os autores concluíram que a forma de entrega da BMP interfere nos resultados. Foram feitas extrações dentárias em ratos Wistar, e foi colocada, nos alvéolos vazios, uma mistura de BMPs purificadas, extraídas da cortical de osso bovino, adsorvidas em hidroxiapatita micro granular absorvível. Não houve diferença na indução de formação óssea entre o grupo experimental e o controle (não recebeu nenhum tipo de tratamento),

sugerindo que a mistura de BMPs, adsorvidas à hidroxiapatita micro granular absorvível, não garantiu a incorporação da BMP a um sistema carreador de absorção, lenta o suficiente, que propiciasse a sua liberação num ritmo compatível com o da neoformação óssea, portanto, adequado à osteoindução.

De acordo com Liu et al. (2007) a eficácia da BMP-2 depende do seu modo de aplicação. Estes autores hipotetizaram que a BMP-2 é capaz de uma alta eficácia osteogênica, se fornecida fisiologicamente, como, por exemplo, quando incorporada a um carreador de fosfato-cálcio, que mimetiza a matriz óssea mineralizada, em vez de administrada por via simples em forma farmacológica. Então, compararam a eficácia osteoindutiva do implante coberto com uma camada de fosfato-cálcio e o implante sem cobertura. No grupo do implante com cobertura, a BMP-2 foi incorporada à cobertura ou foi adsorvida passivamente (imersão) ou diretamente (evaporação). No grupo sem cobertura, a BMP-2 foi adsorvida sobre a superfície nua do implante. Quando a BMP-2 foi adsorvida diretamente sobre a superfície nua do implante, ela não foi osteoindutiva. Quando adsorvida sobre a cobertura de fosfato-cálcio foi osteoindutiva, mas não altamente eficaz. Quando a BMP-2 foi incorporada à cobertura de fosfato-cálcio, mostrou-se potente ósseo indutor.

3.2.1 BMPs na regeneração do complexo dentino-pulpar

Nakashima (1994) aventou a hipótese de utilizar BMP como indutora de formação de dentina em polpas amputadas de cães. As células pulpares têm o potencial de diferenciarem-se em odontoblastos. A matriz dentinária

desmineralizada é osteogênica e contém atividade BMP. As BMPs têm sido implicadas na diferenciação odontogênica embrionária e, por esta razão, podem apresentar um papel na diferenciação das células pulpares adultas no processo de cura da polpa. Este estudo utilizou rhBMP-2 (presente na papila dental e nos odontoblastos do botão dentário em desenvolvimento) e rhBMP-4 (presente no epitélio dental e no mesênquima da papila dental) como agente capeador em polpas amputadas, usando como carreador a matriz dentinária inativa. Após dois meses, as polpas amputadas foram preenchidas com dentina tubular na parte inferior e osteodentina na parte superior. A quantidade de dentina foi marcadamente inferior, quando a matriz dentinária sozinha foi implantada. O autor concluiu que tal resultado indica que a BMP-2 e 4 podem induzir a diferenciação das células pulpares adultas em odontoblastos, sugerindo o uso das BMPs na dentística como agentes bioativos em capeamento pulpar para a formação de dentina.

Goldberg et al. (2001) constataram que há alguns anos tem sido documentado a indução da dentinogênese pelas BMPs. Essas BMPs, utilizadas como agente de capeamento, estimulam a formação de osteodentina e dentina tubular. BMP-7 ou OP-1 é um membro da super família dos TGF- β , expressos nas células da polpa dental. Deste modo, BMPs e receptores de BMPs estão presentes na polpa dental. Concluíram que a implantação de BMP dentro da polpa dental pode contribuir para a estimulação da função normal, que pode estar diminuída em dentes adultos. Os resultados de suas pesquisas indicaram que os efeitos do OP-1, aparentemente, não são dose-dependente na concentração usada, o que sugere que baixa dose é suficiente para iniciar uma possível cascata de respostas.

Sugeriram que a adição de OP-1 estimula o recrutamento de células precursoras, que proliferam e produzem em volta uma matriz extracelular do tipo óssea.

Goldberg et al. (2003) relataram que proteínas dentinárias, em diferentes níveis de purificação e concentração, têm sido usadas para estimular odontoblastos, in vivo, a secretar uma matriz complexa que se torna dentina reacionária mineralizada. Extratos de proteínas implantados na polpa ou em tecidos conectivos aumentam a proliferação e diferenciação de células osteoprogenitoras. A implantação de fragmentos de dentina e pré-dentina na polpa estimula a resposta dentinogênica. Comentaram que o uso de moléculas bioativas como agente capeador direto, ou a implantação das mesmas diretamente na polpa pode induzir a formação de dentina reparativa. Essas moléculas podem ser uma nova ferramenta terapêutica em um futuro próximo na dentística.

Nakashima e Reddi (2003), em uma revisão de literatura, explicam que o complexo dentino pulpar protege os dentes da doença cárie e do trauma por meio da manutenção da hidratação da matriz extracelular. O objetivo da endodontia e da dentística conservadora é restaurar ou regenerar o complexo dentino pulpar para manter a vitalidade e função (e estética) dos dentes. Dado o papel da BMP-4 nas interações indutivas epitélio-mesenquimais, durante o desenvolvimento do dente, e os efeitos conhecidos da matriz dentinária desmineralizada no reparo de polpa amputada, as BMPs podem ter um papel terapêutico na endodontia. A terapia ideal para reparar a polpa deveria ser antiinflamatória e antibacteriana, estimular a proliferação de células tronco pulpares e induzir a sua diferenciação em odontoblastos para aumentar o potencial de cura e a rápida formação de dentina. Usando um modelo in vivo, demonstraram que BMP-2 e BMP-4 recombinantes humanas podem induzir nova dentina. A BMP recombinante depositada em uma

armação de matriz dentinária desmineralizada induz dentina tubular clássica (como em dentes - Ortodentina) na polpa amputada, enquanto a BMP depositada, usando matriz de colágeno reconstituída tipo 1, induz osteodentina. A dentina reparativa é também induzida em tecido pulpar saudável, recém-cortado em primatas não humanos, usando BMP-7 recombinante humana com uma matriz de colágeno insolúvel tipo 1. O tamanho e a forma dos materiais indutivos controla o tamanho e a forma da dentina reparativa. A dentina reparativa aparece inicialmente com inclusões celulares e de tecidos moles, uma porção da qual (compreendendo apenas cerca de 20% da dentina reparativa), subseqüentemente, transforma-se em uma forma mais tubular de matriz com células do tipo odontoblasto, fixadas à massa da matriz atubular. Sendo assim, a armação de matriz extracelular é um componente crítico e um pré-requisito para diferenciação odontoblástica e a formação de dentina tubular. A dentina reparativa projetada de forma ótima pode consistir em uma combinação de osteodentina e dentina tubular. Contudo, a dentina tubular é crítica para o funcionamento do dente, incluindo resistência a cáries.

Tziafas (2004) realizaram um estudo, focando o potencial papel terapêutico das moléculas biologicamente ativas como modalidade de tratamento em terapia pulpar vital. É dito que a terapia pulpar vital visa a tratar o dano pulpar reversível e manter a vitalidade pulpar e sua função. Isso inclui duas abordagens terapêuticas: capeamento pulpar indireto em casos de cavidades dentinárias profundas e capeamento pulpar direto/pulpotomia em casos de exposição pulpar. O autor relatou que o uso de BMPs tais como: BMP-2, BMP-4 e BMP-7 (proteína osteogênica 1), induziram à formação de osteodentina em grande quantidade seguida de dentina reparativa tubular.

A engenharia de tecido com a tríade de células tronco da polpa, morfogens e armação pode fornecer um método alternativo útil para capeamento pulpar e tratamento endodôntico. Proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) estão implicadas no crescimento do dente, e a expressão de BMP-2 é aumentada durante o término da diferenciação dos odontoblastos. BMP-2 também induz a uma grande quantidade de dentina reparadora em polpa amputada in vivo. A BMP-2 pode regular a diferenciação das células pulpares dentro da linhagem odontoblástica e estimular formação de dentina reparativa (IOHARA et al.; 2004).

Begtson et al. (2004) utilizaram rhBMP-2 como medicamento em pulpotomia de dentes decíduos humanos com o objetivo de estimular a formação de tecido dentinário. Os autores utilizaram dez molares decíduos com indicação de pulpotomia, confirmada após avaliação clínica e radiográfica. Em cinco dentes foi utilizada a rhBMP-2 com arcabouço de ácido polilático/poliglicólico e, nos outros cinco foi utilizada rhBMP-2 com arcabouço de colágeno. Os autores verificaram após dez meses do capeamento pulpar direto realizado com rhBMP-2 sobre os cotos pulpares dos dentes decíduos, consideraram (na época da observação) que houve sucesso clínico e radiográfico, pois apenas um dos dentes pulpotomizados apresentou leve sintomatologia dolorosa no primeiro dia, mas, logo houve remissão do sintoma. Os tecidos moles não apresentavam qualquer alteração e no exame radiográfico de controle, também, não foi observado qualquer alteração nos tecidos de suporte. Os autores observaram em alguns dentes a formação de uma tênue camada de tecido duro dentro da câmara. Entretanto, tal fato só poderá ser confirmado com estudos histológicos que serão realizados após a esfoliação desses dentes decíduos. Neste estudo pode-se concluir, após de dez meses da

realização da pulpotomia, que não foi observado sintomatologia ou qualquer sinal clínico/radiográfico de patologia.

Saito et al. (2004) avaliaram a capacidade da BMP-2 em acelerar a diferenciação das células pulpares humanas em odontoblastos. Para tanto, avaliaram a expressão do código seqüencial mRNA da sialoproteína dentinária (DSPP) como um marcador de odontoblastos nas células pulpares humanas estimuladas – rhBMP-2 – usando uma reação em cadeia polimerase quantitativa. Seus achados mostraram que rhBMP-2 promoveu a diferenciação das células pulpares humanas em odontoblastos, mas não afetou a proliferação celular, sugerindo que rhBMP-2 pode ter utilidade terapêutica na terapia de polpa viva.

Iohara et al. (2004) apresentaram resultados semelhantes, onde a BMP-2 estimulou a diferenciação das células pulpares suínas, cultivadas em armação tridimensional, em células da linhagem dos odontoblastos, sugerindo que a terapia celular, utilizando células pulpares progenitoras/tronco, tem o potencial de melhorar o capeamento pulpar convencional feito com hidróxido de cálcio, o qual é capaz de induzir somente uma pequena quantidade de dentina reparadora, de qualidade inferior, no local da ferida pulpar.

Goldberg et al. (2006) disseram que, por muitos anos, cirurgiões dentistas têm usado um limitado número de agentes capeadores para manter a polpa vital. Desses agentes capeadores o que tem se mostrado mais eficiente, até o momento, é o hidróxido de cálcio. Lições do desenvolvimento biológico vêm fornecendo um melhor entendimento dos genes envolvidos no processo reparador normal e patológico. Esse entendimento do processo reparador proporcionou adicionar ao arsenal medicamentoso, fatores de transcrição, fatores de

crescimento e uma série de moléculas da matriz extracelular (ECM), pavimentando a estrada para controle da regeneração e reparo tecidual. Estas moléculas bioativas constituem uma grande família que fornece ferramentas que irão modificar a prática diária, principalmente, na dentística. As propriedades biológicas das BMPs ou dos fatores de crescimento transformador β (TGF- β) e seus papéis no reparo dentinário, levaram a estudos (NAKASHIMA, 1990; SIX; LASFARGUES; GOLDBERG, 2002) para determinar os efeitos dessas moléculas no reparo dentinário onde foi concluído que BMPs ou TGF- β podem induzir a formação de dentina reparativa.

Segundo Nör (2006) o uso de BMPs para induzir a regeneração dentinária envolve BMP-7, BMP-2 e BMP-4. A aplicação dessas proteínas recombinantes foi realizada, usando matrizes baseadas em colágenos, o que resultou na indução de dentina reparativa nos pontos de exposição pulpar no período de dois a quatro meses. O mecanismo geral, que delinea essa resposta, se dá pela substituição dos agentes estimulantes colocados em contato com a polpa dental, por dentina reparativa. Estudos realizados em dentes saudáveis, não cariados, mostraram que a dentina reparativa induzida pela BMP-7 não está limitada à área da polpa exposta, mas estende-se lateralmente no assoalho do preparo cavitário. Esse resultado sugere o uso deste material para o fortalecimento da estrutura coronal de dentes portadores de cárie extensa. Porém, segundo os autores, para se tornar uma realidade clínica, a estratégia baseada na aplicação de proteínas recombinantes, diretamente no ponto de exposição pulpar, deveria ter efeito também em dentes cariados. A primeira tentativa de induzir dentina reparadora em dentes com pulpite reversível foi mal sucedida. A aplicação de BMP-7 em polpas dentais inflamadas não resultou na indução de dentina reparadora. Concluiu que a

quantidade de BMP ativa não deve ter sido suficiente para induzir a dentina reparadora em polpas dentárias inflamadas. Também é possível que a falta de resposta indutiva da BMP recombinante, observada, fosse devido a sua meia vida relativamente curta e aos níveis mais rápidos de degradação da proteína no ambiente de polpa inflamada. A terapia genética com BMPs foi proposta numa tentativa de superar as limitações observadas com o uso de proteína recombinante. De fato, a transferência genética ex vivo de BMP-7 com um vetor adenoviral mostrou-se ser um método mais efetivo para induzir dentina reparativa em dentes que foram inflamados experimentalmente. A capacidade de induzir dentina não é limitada à BMP-2, 4 e 7. O fator de crescimento e de diferenciação 11 (GDF-11) é capaz de induzir dentina reparativa, quando entregue às células pulpares por meio de uma estratégia de transferência genética. A sialoproteína do osso (BSP) estimula a diferenciação de células pulpares em células que secretam uma matriz extracelular, que é eventualmente mineralizada em dentina reparadora no local da polpa exposta. Foram observadas características morfológicas diferentes da dentina reparadora, que foi induzida pela BSP e por duas formas de amelogenina, quando comparada à induzida pela BMP-7. Isso sugeriu a intrigante possibilidade de que o clínico pode, um dia, ser capaz de selecionar o tipo ideal de indutor biológico de dentina reparadora de acordo com a necessidade do paciente.

3.2.2 BMPs na regeneração periodontal

Sigurdsson et al. (1995) realizaram um estudo, onde avaliaram a regeneração do e cemento após cirurgia periodontal reconstrutiva, utilizando BMP-

2 em cães. A BMP-2 tem mostrado ser capaz de induzir formação óssea ectópica, precedida por cartilagem. Aumentando a concentração da BMP-2, aumenta-se a razão da formação de osso. Quando altas doses são aplicadas, a formação da cartilagem e de osso ocorre ao mesmo tempo. Sendo assim, pode ser que a BMP-2 forme osso, tanto via endocondral quanto via intramembranosa. Este estudo fornece evidências para o uso da BMP-2 em cirurgias periodontais reconstrutivas, uma vez que houve extensa regeneração do osso e do cemento após a implantação da BMP-2 nos sítios periodontais.

Sigurdsson et al. (1997) avaliaram a osteointegração e a regeneração óssea induzida pela rhBMP-2 em defeitos ósseos supra-alveolar peri-implantes. Os resultados deste estudo mostraram que osteointegração e a regeneração óssea induzidas por rhBMP-2 constituem uma promessa como futura terapia para colocação de implante imediato (implante em uma etapa).

Ripamonti e Reddi (1997) realizaram um experimento, onde foram usados pellets embebidos em BMP-3, BMP-2 e BMP-7 (OP-1), implantados em defeitos de furca, criados experimentalmente, de primeiros e segundos molares inferiores de Babuínos. Neste experimento, foi observada a indução de cementogênese e a formação do ligamento periodontal com inserção das fibras de Sharpey no novo cemento formado.

King et al. (1997) realizaram um estudo, no qual foi investigado os efeitos da BMP-2 recombinante humana nos estágios iniciais da cura da ferida periodontal no pós-operatório em um modelo de rato. Foram criadas janelas ósseas na mandíbula (região de molar) de ratos Wistar. O grupo experimental recebeu rhBMP-2 em colágeno gel e o grupo controle recebeu somente o colágeno gel. A dose de

rhBMP-2 aumentou a formação de osso intramembranoso e cemento, mas não aumentou a anquilose e reabsorção durante os estágios iniciais da cicatrização (dez dias de pós-operatório). A rhBMP-2 mostrou aumento seletivo na formação de cemento coronalmente, além disso, mostrou induzir formação óssea a alguma distância do defeito criado, sugerindo a importância do desenvolvimento de um sistema de fornecimento apropriado. O aumento na formação de novo osso e novo cemento durante as fases iniciais da cicatrização, sem promover anquilose e obliteração do espaço do ligamento periodontal, mesmo após a completa cicatrização do defeito ósseo ter ocorrido, foi sugestivo que este poderoso agente ósseo indutor pode ser usado nos procedimentos de regeneração periodontal.

Cochran et al. (1999) realizaram um estudo onde foi utilizado rhBMP-2 para estimular formação óssea ao redor de implantes intra-ósseos. O sucesso do implante intra-ósseo requer que o implante esteja estável no osso alveolar. Em certos casos, o implante pode ser estabilizado em osso nativo, mas algumas regiões desse implante podem não estar cobertas pelo tecido ósseo. Isso ocorre durante a colocação do implante em locais onde houve extração ou em áreas onde reabsorção óssea ocorreu e a largura da crista óssea não é suficiente para envolver completamente o implante. Nestes casos, o procedimento usualmente empregado na clínica é induzir a formação óssea. Esses procedimentos tipicamente incluem o enxerto ósseo e/ou terapia de membrana. Recentes avanços têm conduzido ao isolamento, clonagem e produção da proteína humana recombinante que estimula a formação óssea. Uma dessas proteínas morfogenéticas ósseas, a rhBMP-2, tem sido extensivamente estudada em modelos animais e correntemente sido empregada em teste clínicos humanos. Observaram que a utilização da rhBMP-2 estimulou significativamente a formação

óssea nos defeitos ósseos ao redor do implante. Os resultados obtidos demonstraram que a rhBMP-2 pode ser usada para estimular o crescimento ósseo, tanto ao redor do implante quanto sobre a superfície de implantes dentários intra-ósseos colocados em locais com extensos defeitos ósseos peri-implante.

Cochran e Wozney (1999) fizeram uma revisão de literatura dos mediadores biológicos (fatores de crescimento e de diferenciação) na regeneração periodontal. O sucesso da reconstrução periodontal compreende à regeneração de múltiplos tecidos, incluindo cemento, ligamento periodontal, osso e gengiva. A produção ou regeneração de algum tipo de tecido é um processo biológico complexo por si mesmo, requerendo interações entre as células, fatores de crescimento agindo localmente, fatores de crescimento e hormônios agindo sistemicamente, e componentes da matriz extracelular na qual essas entidades interagem. De fato, a identidade de um tecido em particular é definida pela natureza bioquímica da matriz extracelular que ele contém, e também pelo fenótipo das células dentro das quais se posiciona, em uma relação espacial particular umas com as outras e entre os tipos de tecidos vizinhos. Várias abordagens biológicas foram empregadas para a promoção da regeneração periodontal, que podem ser divididas no uso de fatores de crescimento e de diferenciação, aplicação de proteínas da matriz extracelular e fixação de fatores, e, ainda, uso de mediadores do metabolismo ósseo.

Sykaras et al. (2001) realizaram um experimento em que foi utilizado rhBMP-2 para induzir regeneração e osteointegração em defeitos ósseos criados ao redor de implantes dentais em cães. Os resultados sugerem que, em defeitos ósseos adjacentes ao implante dental, rhBMP-2 pode induzir a regeneração óssea em aposição ao implante dental.

Segundo King (2001) recentes estudos em animais têm mostrado que as BMPs possuem considerável potencial na regeneração periodontal devido a sua habilidade em promover tanto a formação de novo osso como de novo cimento. Evidências sugeriram que algumas das BMPs, notavelmente a BMP-2 e BMP-7, promoveram, não apenas a osteogênese; mas também a cementogênese. A capacidade da BMP em estimular cementogênese é sugerida pela similaridade entre cementoblastos e osteoblastos, pela evidência de uma célula progenitora comum para estes tipos celulares, e pela observação de que a expressão genética da BMP-2 ocorre bem antes da iniciação da cementogênese durante o desenvolvimento do dente. O efeito primário das BMPs nas células pluripotenciais é a capacidade de trazer essas células para um caminho osteoblástico. O processo de cura que é iniciado pela BMP-2 baseia-se no movimento de uma cascata de eventos celulares, resultando na diferenciação de células progenitoras em fenótipos envolvidos na regeneração periodontal. Assim, células responsivas à BMP-2, presumivelmente, oriundas do ambiente da medula óssea e do tecido mole adjacente ao defeito periodontal, infiltram-se na área e diferenciam-se nos fenótipos osteoblásticos e cementoblásticos para formar novo osso e cimento respectivamente.

King e Cochran (2002) fizeram uma revisão, mostrando a capacidade das BMPs, em especial as BMP-2 e BMP-7, em formar cimento, tanto acelular quanto celular, no processo de cura do ferimento periodontal. As observações sugeriram que o cimento reparativo é derivado dos osteoblastos, e que esses osteoblastos e seus precursores possam ser alvos da BMP-2. Experimentos in vivo, usando tratamento com BMP-2 em defeitos periodontais mostraram o desenvolvimento da formação do tecido celular mineralizado, dando suporte à hipótese de que: (1) as

células responsáveis pela formação do cemento celular são derivadas de células osteoprogenitoras; (2) essas células parecem ser alvos para as BMPs; (3) o cemento celular pode representar a formação de um cemento reparativo que é similar ao osso. Estudos em roedores indicam que a formação de cemento acelular é modulada pelo substrato da superfície radicular. A formação de cemento acelular possui uma tendência de desenvolver-se na dentina, enquanto o cemento celular tende a desenvolver-se no cemento celular existente mais que na dentina. Aumentando-se as doses de BMPs, aumenta-se a quantidade de formação de cemento, que é na maior parte celular em sua natureza, indiferentemente do local de formação, seja dentina ou cemento celular existente. Assim, em altas doses parece que as BMPs podem inicialmente ter como alvo células envolvidas na formação de cemento celular. A formação celular pode ser encorajada pela capacidade das BMPs em acelerar a deposição da matriz por células derivadas das células osteoprogenitoras. A subsequente maturação da matriz resulta em sua incorporação aos cementócitos formadores de matriz. Seguindo a cura completa do ferimento, contudo, a nova formação de cemento na dentina torna-se, na maior parte, acelular; sugerindo que nenhuma matriz de cemento celular, desenvolvida durante os estágios iniciais da cura, sobrevive à remodelação, e são substituídas por cemento acelular. Apesar das BMPs poderem induzir, tanto a ossificação intramembranosa quanto a endocondral, evidências sugerem que a BMP-2 estimula somente a ossificação intramembranosa normal em defeitos periodontais, criados cirurgicamente em animais, independente da dose. Os efeitos da BMP-2 na mandíbula e no crânio também mostraram que a cura seguiu o padrão de desenvolvimento da formação do osso com os processos de remodelagem. Aumentando-se a dose de BMP-2 em defeitos mandibulares, em macacos, aumenta-se a largura e altura da

mandíbula com o desenvolvimento de novo osso cortical e com integração funcional do novo osso com a mandíbula existente. Não se sabe o porquê da cura dos ferimentos periodontais desviar-se do intermediário endocondral qualquer que seja a dose utilizada. O desenvolvimento de ossificação intramembranosa ou endocondral pode ser determinado localmente, em parte, por fatores espaciais geneticamente determinados, que forneçam informação estrutural e deposição, e por forças de pressão e tensão, tais como: carga durante a função oclusal, bem como por ações de fatores de crescimento endógenos e moléculas matriciais da dose, que, também, foram observadas na regeneração periodontal. O aumento da dose de rhBMP-7 mostrou um aumento na quantidade de regeneração de defeitos de furca experimentalmente induzidos em cães Beagle. Apesar de todos os grupos desenvolverem uma melhor formação óssea comparados aos controles, a formação óssea e a estrutura trabecular aumentaram juntamente com o aumento da dose, somente a dose mais alta aumentou significativamente a formação de nova fixação. Em contraste, em outro estudo, várias doses de rhBMP-2, em um modelo canino de periodontite induzida experimentalmente, resultaram apenas em pequenas e insignificantes quantidades de novo osso e formação de cimento, comparado aos controles, independente da concentração de rhBMP-2. É difícil constatar grandes diferenças no resultado regenerativo entre esses dois estudos, dado que as ações das BMP-2 e BMP-7 são similares e ambos usaram transportadores de colágeno. A comparação das concentrações entre esses dois estudos é difícil, pois a verdadeira concentração de rhBMP-7 em seu transportador de colágeno não está claramente estabelecida. Contudo, os dados sugeriram que a concentração de BMP era maior no estudo em que foi utilizado a BMP-7. Sendo assim, assumindo-se que as duas BMPs BMP-2 e 7) tenham ações similares e que a dose foi importante para os diferentes efeitos da regeneração,

parece que uma dose mínima foi necessária para aumentar a regeneração além dos níveis de controle.

Wikeshjō et al. (2003) realizaram um experimento com o objetivo de avaliar a influência da rhBMP-2 na regeneração óssea alveolar e fixação periodontal em conjunto com membrana de politetrafluoetileno (ePTFE). Os resultados mostraram que a rhBMP-2 aumentou significativamente a regeneração óssea alveolar, em conjunto com a membrana de ePTFE na regeneração tecidual guiada (GTR).

Nakashima e Reddi (2003) afirmaram que o objetivo da regeneração periodontal é a restauração da ancoragem funcional dos dentes pelos seguintes passos seqüenciais: restauração do PDL, incluindo orientação e inserção ótimas das fibras Sharpey nas superfícies radiculares expostas e osso; formação de novo cemento por cementoblastos na superfície da raiz; restauração do osso alveolar à junção cimento-esmalte. Abordagens recentes incluíram curetagem, debridamento do retalho e enxerto ósseo. Todavia, os resultados têm sido variáveis e imprevisíveis devido ao pequeno número de células progenitoras e a presença de microorganismos no ambiente periodontal. Além disso, o periodonto é rico em metaloproteinases matriciais e pode ser prejudicial aos sinais indutivos, incluindo morfogens e fatores de crescimento, células tronco responsivas e armadilhas. A migração do epitélio gengival para a superfície radicular é inibitória para a regeneração periodontal. A técnica de regeneração tecidual guiada, na qual uma barreira de membrana é inserida entre a borda periodontal e a superfície radicular, tem sido chave na prevenção da migração epitelial. No entanto, como em qualquer procedimento cirúrgico, em alguns pacientes os resultados não são ótimos. Eles podem ser melhorados pela combinação de enxertos ósseos indutivos com uma barreira de membrana. Assim, aperfeiçoamentos futuros na regeneração

periodontal podem ser alcançados por meio do uso de BMPs pura ou em combinação com barreiras de membrana para prevenir a migração epitelial gengival. De fato, o potencial morfogenético das BMPs as faz candidatas ideais para uso na regeneração periodontal. A otimização da resposta das células tronco à indução da BMP requer o uso de um sistema de fornecimento que seja condutivo para migração e fixação das células tronco viáveis sobre a armação. BMP-3 e BMP-7 têm sido imunolocalizadas para desenvolver PDL, cemento e osso alveolar. A BMP-2 foi localizada apenas no osso alveolar durante a morfogênese da raiz. Sugere-se que a BMP-3 tem um papel importante na linhagem dos cementoblastos devido a sua localização, também, nas células do canal radicular. Usando um modelo de Babuíno, BMP-7 recombinante e colágeno tipo 1 de Babuíno foram usados como armações biomiméticas para regenerar defeitos cirurgicamente criados em molares. Neste estudo, as pesquisas reportaram a formação de osso alveolar e a criação de cemento e fibras Sharpey, inseridas em uma orientação ótima na superfície radicular. Resultados similares têm sido reportados, usando BMP-2 humano recombinante e partículas sintéticas bioabsorvíveis com sangue autólogo para fixar as partículas (possivelmente pertencentes à fibronectina) com uma armação gelatinosa co-polímera de ácido polilático e ácido poliglicólico. Mais recentemente, periodontite (induzida por *Pseudomonas gengivalis*) em molares de Babuínos tem se mostrado tratáveis por meio do fornecimento de BMP-7 recombinante via colágeno tipo 1 insolúvel, que restaura o osso alveolar, cemento e PDL. Estudos estão em progresso para aperfeiçoar a dose de BMP-7, evitando a fixação sólida (anquilose) de dentes pela fusão do cemento e osso alveolar. A cura de um dano periodontal é complicada por diversos fatores que limitam a entrega previsível de agentes à superfície radicular. O uso de morfogens em engenharia

tecidual elimina a morbidade local do doador e a osteoindução variável típica do tratamento, usando matriz óssea desmineralizada comercial.

Segundo Jin et al. (2003) a BMP-7 estimula de forma significativa a regeneração do osso alveolar em torno do dente, implantes orais endoósseos e em procedimentos de aumento de assoalho sinusial maxilar. Porém, para iniciar a utilização em humanos, ela tem falhado em igualar os resultados em estudos pré-clínicos. A razão para isto é a limitação de fornecimento desses fatores de crescimento no local da ferida periodontal, pois possui curta atividade biológica in vivo. Esse fenômeno é devido à degradação proteolítica, à rápida difusão e à solubilidade do veículo no ambiente hostil da ferida. Um sistema de fornecimento por DNA pode ser uma alternativa estratégica para a aplicação de fatores de crescimento na engenharia tecidual. Esses autores realizaram um estudo, em que foi aplicado, no local da ferida periodontal, gene de BMP-7, com o intuito de provar que essa abordagem pode reparar as estruturas periodontais de suporte perdidas. Para tanto, foram utilizados fibroblastos dermais geneticamente iguais (SDFs) transduzidos ex vivo (transferência de material ou características genéticas de uma célula bacteriana para outra célula), utilizando bacteriófagos ou plasmídeos com código genético adenovírus (Ad) de BMP-7 (Ad-BMP-7), ou um antagonista bioativo da BMP, Noggin (Ad-Noggin). Essas células transduzidas foram semeadas em carreadores gelatinosos e transplantadas para um grande defeito ósseo alveolar em um modelo de reparo de ferida de rato. Essa abordagem, usando transferência de gene ex vivo de SDFs, provê forte resposta na estimulação de osteogênese, quando comparado à tentativa prévia de usar transferência de gene direta. De fato, vários estudos têm demonstrado efeitos mais potentes na osteogênese estimulada, usando técnica ex vivo. Neste estudo, os pesquisadores

concluíram que: 1) a transferência de gene ex vivo de AD-BMP-7 para SDFs liberou proteína BMP-7, que por sua vez estimulou a cura da ferida periodontal incluindo osso, PDL, cemento; 2) a transferência de gene ex vivo de Ad-noggin (antagonista BMP) tendeu a diminuir o reparo periodontal; 3) o uso de transferência de gene BMP-7 oferece uma abordagem alternativa para o fornecimento de fatores de crescimento para a engenharia tecidual periodontal. Para os autores estudos adicionais são necessários para determinar a possibilidade da terapia de genes BMP em outros modelos animais mais relevantes, possuindo uma superfície dentária, patologicamente exposta e o processo de cura mais semelhante à situação humana. Apesar deste modelo não representar um defeito de tamanho crítico para regeneração periodontal, ele serve como um razoável modelo reproduzível afim de examinar o processo de cura da ferida.

Wikesjö et al. (2004) realizaram um estudo, objetivando avaliar o potencial da rhBMP-2/ACS (esponja absorvível de colágeno), para aumentar a GBR (regeneração óssea guiada) usando uma membrana porosa de politetrafluoretileno (ePTFE), afim de cobrir a rhBMP-2/ACS. Estudos anteriores mostraram um limitado potencial para o aumento ósseo após regeneração óssea guiada (GBR) em defeitos alveolares horizontais. Implantação cirúrgica de rhBMP-2 em um carreador de colágeno absorvível esponjoso (ACS) aumentou significativamente a regeneração óssea nestes defeitos, porém quantidades suficientes de osso para o implante dentário não foram obtidas rotineiramente. Este experimento mostrou significativo aumento na formação óssea nos defeitos que receberam rhBMP-2/ACS.

Ripamonti et al. (2006) realizaram uma revisão focada nos conhecimentos sobre regeneração periodontal pelo pleiotropismo (capacidade de um gene induzir mais de um fenótipo) das proteínas osteogênicas da superfamília do TGF- β . As proteínas óssea morfogenética e osteogênica (BMPs/OPs) são membros pleiotrópicos da superfamília TGF-beta que induzem nova formação óssea endocondral e agem como sinais solúveis da morfogênese tecidual, esculpindo a arquitetura das estruturas mineralizadas multicelulares, incluindo o tecido periodontal. A presença de múltiplas formas de BMPs/OPs tem uma significância terapêutica, e a escolha de uma proteína adequada é um desafio formidável para a prática da periodontia. O uso de BMPs/OPs bovinas, altamente purificadas, em defeitos de furca, realizados em primatas *Papio ursinus* (Babuínos), mostrou regeneração do osso alveolar, cemento e ligamento periodontal com inserção das fibras de Sharpey no novo cemento formado. Uma nova abordagem na regeneração periodontal seria induzir osso heterotópico para ser transplantado como enxerto autógeno, estabilizado dentro do defeito periodontal. A indução do osso desenvolve um mosaico estrutural, em que as proteínas osteogênicas da superfamília do TGF- β , sinergicamente e sincronicamente, iniciam e mantêm a indução e morfogênese tecidual, com papéis específicos nos diferentes momentos da cascata morfogenética.

3.3 OUTRAS APLICAÇÕES

Boyne (2001) realizou um estudo com objetivo de obter informações sobre a possibilidade do uso de indutores ósseos para regenerar grandes defeitos de

continuidade maxilofacial, críticos em tamanho, sem o uso de enxertos ósseos. Para tanto, o autor realizou: (a) defeitos de ressecção mandibular em animais *Macaca fascicularis* de meia idade, simulando defeitos de hemimandibulectomia após perda óssea traumática ou oncológica, onde rhBMP-2 em um transportador de colágeno foi colocada nos defeitos; (b) defeitos de ressecção mandibular em animais *Macaca fascicularis* com mais de vinte anos de idade e enxerto de rhBMP-2 nos defeitos; (c) fissuras bilaterais simuladas em animais *Macaca mulata* de um a dois anos de idade (comparável a uma criança de cinco anos), onde em uma das fissuras foi colocado rhBMP-2 com transportador esponjoso, na outra fissura foi colocado enxerto autógeno proveniente da crista helíaca. Os resultados desses três estudos foram muito encorajadores. No grupo (a), completa regeneração óssea do defeito foi observada cinco a seis meses após a operação. Resultados microscópicos mostraram aumento da densidade, volume ósseo e espessura do padrão ósseo trabecular. O córtex ósseo, no defeito restaurado, também aumentou em espessura comparado com as áreas não cirúrgicas. No grupo (b), houve regeneração completa da mandíbula como no grupo dos animais mais jovens; sendo assim, a idade não parece ser um fator no processo reparativo. O número de células tronco, supostamente reduzido com o aumento da idade, não pareceu afetar o resultado global da regeneração óssea induzida pela BMP. No grupo (c), ao fim de três meses, o lado da fissura que recebeu rhBMP-2 mostrou completa restauração óssea da fissura simulada. O lado que recebeu o enxerto autógeno exibiu reparo ósseo, mas a regeneração do defeito ósseo foi incompleta no estágio inicial de cura (três meses após a operação). Essa investigação indicou o uso de rhBMP-2 em reparo ósseo, sem o uso de materiais de enxerto ósseo, oferecendo um novo método de reconstrução óssea em defeitos ósseos faciais clínicos.

Segundo Nakashima e Reddi (2003), a extraordinária capacidade das BMPs em induzir osso tem levado a uma etapa de sua aplicação em cirurgias crânio-faciais para correção de anomalias crânio-facial adquirida ou herdada, para correção de seqüelas do trauma craniano e para tratamento de grandes defeitos ósseos após a excisão de neoplasmas. No entanto, existem poucos estudos nos quais as BMPs são usadas para facilitar a regeneração crânio-facial. A administração de uma só BMP recombinante, como BMP-2, 4 ou 7, pode iniciar toda a cascata da osteogênese. As BMPs iniciaram a regeneração induzida em defeitos ósseos experimentalmente realizados em crânios de roedores e primatas na dose de 100µg/g de matriz. Os pesquisadores afirmaram que os implantes metálicos também podem beneficiar-se do uso da BMP. Para um implante ser colocado corretamente, ele deve ser ancorado no osso alveolar. Em alguns casos, um implante pode ser estabilizado em osso nativo, mas pode ocorrer de alguma região do mesmo não estar coberta por tecido ósseo. Quando isso ocorre, pode-se fazer uma cirurgia oral para colocar enxerto ósseo. Outra opção é utilizar as BMPs como estimulante do crescimento ósseo ao redor do implante metálico e, assim, obter uma ótima integração do implante dental no osso mandibular.

Rutherford et al. (2003) comentaram que os métodos que utilizam material aloplástico, aloenxerto ou autoenxerto, em cirurgias crânio-faciais e orais de defeitos crânio-faciais, apresentam significantes limitações. Sendo assim, eles desenvolveram novos métodos para reparo esquelético, que destina-se a acabar tais limitações. Um deles é uma abordagem de transferência genética para osteogênese na qual fibroblastos autólogos, obtidos de uma biópsia de pele, podem ser cultivados, infectados ex vivo com um adenovírus contendo BMP-7, combinado a um transportador, implantado como um autoenxerto, formando osso.

Essas células transduzidas, não osteogênicas (fibroblastos dérmicos), secretam BMP biologicamente ativa e convertem-se em osteoblastos in vivo. Conseqüentemente, o novo osso é produzido, tanto pelas células enxertadas alteradas geneticamente quanto pelas células hospedeiras normais, estimuladas pela BMP secretada. O osso produzido é composto de elementos corticais, trabeculares e medulares que preenchem completamente o enxerto. Essa estratégia de regeneração óssea não requer que as células do enxerto sejam originadas do osso. Ao invés disso, fibroblastos dérmicos ou gengivais podem ser removidos com facilidade e serem utilizados no reparo de defeitos ósseos. Segundo os autores, essa abordagem promete realizar o reparo esquelético complexo e localizado, enquanto elimina a perda dos enxertos ósseos e reduz os efeitos colaterais, tais como: infecções e rejeições teciduais associadas com os aloenxertos. Além disso, problemas associados com materiais aloplásticos – tais como: falha na completa integração ou degradação material – são eliminados.

Ham et al. (2005) propuseram um estudo em *Macaca fascicularis* com o objetivo de examinar e caracterizar a expressão da BMP-2 nos tecidos perirradiculares de dentes imaturos (ápices abertos) com polpa necrosada, após o tratamento com hidróxido de cálcio e MTA. Concluíram que a expressão de BMP-2 foi similar, tanto para o grupo onde foi usado hidróxido de cálcio quanto para o grupo que usou o MTA. Nos dois grupos houve formação de tecido duro, sendo que o grupo que usou MTA teve maior formação. Este estudo mostrou que o uso de BMP-2 pode ser de grande ajuda nos casos de apicificação. Entretanto, para os autores, estudos adicionais são necessários.

Jovanovic et al. (2007) realizaram um experimento, onde avaliaram a formação óssea em extensos defeitos da crista alveolar, cirurgicamente criados

em cães jovens, utilizando rhBMP-2 em uma esponja de colágeno absorvível (ACS) com ou sem provisão para regeneração óssea guiada (GBR). Os grupos experimentais foram: 1) rhBMP-2/ACS; 2) rhBMP-2/ACS com GBR (rhBMP-2/GBR); 3) GBR; 4) grupo controle. A evolução radiográfica mostrou substancial preenchimento ósseo nos locais que receberam rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/GBR, e GBR. Em particular, locais que receberam rhBMP-2/GBR, apresentaram com radioluscência tipo seroma. O controle exibiu moderado preenchimento ósseo. Os locais que receberam rhBMP-2/ACS ou rhBMP-2/GBR exibiram preenchimento ósseo na média de 101%. Preenchimento ósseo na média de 92% e 60% para o GBR e controle, respectivamente. Densidade óssea alcançou de 50% a 57% nos locais que receberam rhBMP-2/ACS, GBR e grupo controle. A densidade óssea nos locais que receberam rhBMP-2/GBR foi na média de 34%, aumentando a formação do seroma de 13 a 97% dos locais. A rhBMP-2/ACS mostrou ser uma efetiva alternativa para GBR na reconstrução dos defeitos da crista alveolar. A combinação rhBMP-2/ACS com GBR mostrou ser limitada devido ao potencial em falhar na cicatrização ou seromas persistentes.

Agata et al. (2007) hipotetizaram que as células derivadas do periósteo poderiam ser usadas na engenharia óssea, em vez das células da medula óssea. Porém, as diferenças no potencial osteogênico entre estes dois tipos celulares não está claro. Neste estudo, foi comparado o potencial osteogênico destas células e investigaram a condição osteoindutiva ótima para as células derivadas do periósteo. Os dois tipos celulares (células derivadas do periósteo e células da medula óssea) foram induzidos, via bFGF (fator de crescimento fibroblástico básico) e BMP-2 a diferenciarem-se em osteoblastos. As células do periósteo proliferaram mais rápido do que as células da medula óssea, e marcadores

osteogênicos indicaram que as células da medula óssea foram mais osteogênicas do que as células do periósteo. No entanto, um pré-tratamento com bFGF fez as células do periósteo mais sensíveis à BMP-2 e mais osteogênicas. Transplantes de células do periósteo, tratadas com BMP-2 após pré-tratamento com bFGF, formou maior quantidade de novo osso do que as células da medula óssea. A análise deste resultado sugeriu que o tratamento combinado com bFGF e BMP-2 pode tornar o periósteo uma fonte usual para a regeneração óssea.

Herford e Boyne (2008) verificaram o efeito da rhBMP-2 em um transportador de colágeno, sem o uso concomitante de enxerto ósseo na regeneração de defeitos de continuidade, criticamente extensos na mandíbula. A rhBMP-2 foi utilizada em quatro pacientes com defeitos mandibulares. Os casos envolveram lesões de corpo e ângulo de mandíbula em duas categorias: (1) defeitos resultantes de doenças neoplásicas e (2) defeitos secundários à osteomielite. Os pacientes foram acompanhados por um período de seis a 18 meses. Todos os casos obtiveram restauração óssea bem sucedida da área edêntula. A formação óssea, na área cirúrgica, pôde ser palpável ao fim de três meses e identificada radiograficamente ao fim de cinco a seis meses. Os resultados deste estudo indicaram que o uso da rhBMP-2 em defeitos mandibulares extensos, sem o enxerto ósseo, produz ótima regeneração da área, estabelecendo a base para o retorno da função protodôntica. Esse estudo apóia o uso de citocinas, em especial a rhBMP-2, na regeneração óssea ou no reparo de ossos faciais como um tratamento alternativo às técnicas convencionais (utilização de osso autógeno), que apresentam limitações como morbidade pós-operatória, dificuldades ambulatoriais e dor.

3.3.1 Engenharia Tecidual

Segundo Goldberg et al. (2003), por anos, as principais tecnologias utilizadas na dentística eram regidas pelas propriedades físicas dos materiais restauradores. Atualmente, com a evolução da bioengenharia, os materiais restauradores têm sido desenvolvidos com ênfase nas propriedades biológicas dos tecidos dentais. A reconstrução ou cura de um tecido por bioengenharia envolve quatro componentes. Os quatro não necessariamente devem ser oferecidos pela bioengenharia. Um ou mais componentes podem ser oferecidos pelo próprio hospedeiro. São eles: 1) Células não diferenciadas – ou células tronco, que são recrutadas para o local de reparo e subseqüentemente diferenciam-se em células específicas para a produção de determinado tecido; 2) Matriz extra-celular (ECM) tridimensional – específica para o tecido que está sendo reparado. Para o caso de osso, cartilagem, cimento ou dentina, a ECM específica, que é formada, possui propriedades de mineralização intrínsecas. Cada componente da matriz dentinária, ou associação dos componentes, ou fragmento de uma molécula degradada tem o potencial para induzir, tanto recrutamento celular, quanto produção de matriz ou mineralização iniciadora. As moléculas ECM dentinárias podem prover um arcabouço estrutural tridimensional, mas expressam também propriedades biológicas específicas tais como atração de células não diferenciadas, dando início a sua diferenciação e contribuindo para a citodiferenciação final. A ECM é composta de 90% de proteínas colagenosas (colágeno do tipo I), e 10% de proteínas não colagenosas divididas em fosforiladas (DPP, DSP, DSPP, BSP) e não fosforiladas (osteocalcina e osteonectina), proteoglicanos (Decorin, Biglycan, Lumican, Fibromodulin), moléculas originadas do soro sangüíneo (albumina,

glicoproteína HS), fatores de crescimento e fatores de diferenciação (membros da família do TGF- β , ILGF 1 e 2, FGF-2), [A+4] e [A-4], fosfatases ácidas e alcalinas, metaloproteases, MMP1,2,3,9, MT1-MMP, e fosfolípidos (não proteína) ; 3) Moléculas sinalizantes – citocinas, fatores de crescimento ou hormônios que determinam para as células tronco o repertório específico da expressão genética do tecido; 4) Transportador – as células, moléculas sinalizantes e moléculas ECM devem se combinar com um transportador que regule a sua liberação. A estrutura física ou organização molecular do transportador é um fator importante. Funciona como um arcabouço para nova formação tecidual e pode contribuir para a orientação celular e facilitar a regeneração ou processos reparativos.

Pesquisadores conceituaram engenharia tecidual como uma disciplina emergente, que aplica os princípios do desenvolvimento biológico e da morfogênese ao uso dos sinais indutores, replicando as células tronco e a matriz extracelular para desenhar e construir partes sobressalentes, que restauram a função do corpo humano. Entre os vários órgãos do corpo, o osso tem considerável poder para regeneração, sendo um modelo protótipo para engenharia de tecido. A implantação de matriz óssea, desmineralizada em locais subcutâneos, resulta em indução óssea local. Este modelo imita a seqüência da morfogênese e tem permitido o isolamento de morfogens ósseos, como BMPs de matriz óssea adulta desmineralizada. As BMPs iniciam, promovem e mantêm a condrogênese e osteogênese, mas também estão envolvidas na morfogênese de outros órgãos além do osso (IOHARA et al., 2004; REDDI, 1998).

Segundo Nakashima e Reddi (2003) a promessa da engenharia tecidual oral são as aplicações de morfogenes recombinantes e células tronco/progenitoras regenerativas em armações apropriadas. Assim, as terapias genéticas irão permitir

novos tratamentos dentais para cárie, cirurgia endodôntica, periodontal e oral-maxilofacial, aumento da crista alveolar e reparo da cartilagem na articulação têmporo-mandibular.

De acordo com Jin et al. (2003) a engenharia tecidual oferece grande promessa para reparar, restaurar e manter o periodonto. Vários procedimentos reconstrutores, como osso autógeno, osso alógeno e/ou membranas têm sido usados para reconstruir a perda do suporte dental. Mas, em geral, essas terapias têm o prognóstico e extensão de resposta curativa limitados. Neste contexto, muitos estudos têm demonstrado a expressão de BMPs no desenvolvimento dentário e no reparo periodontal.

Um estudo realizado por Ogura et al. (2004) mostrou que a expressão de BMP-4, que é um marcador para a diferenciação osteogênica, estava aumentada durante a diferenciação das células tronco mesenquimal humana em osteoblastos. Existem inúmeros relatos, indicando o potencial uso das células tronco mesenquimais, humanas, transplantadas da medula óssea para uma variedade de situações de desordens esqueléticas. O desenvolvimento da diferenciação das células tronco mesenquimais da medula óssea em linhagens específicas, combinadas com armações biomiméticas provê a possibilidade da engenharia tecidual em construir osso e cartilagem.

Segundo Nakashima (2005) a tríade para a engenharia de tecido é baseada em três componentes básicos: resposta celular, armação de matriz extracelular, e sinais morfogenéticos indutores como as BMPs (Figura 2). Essa tríade é essencial para a regeneração dentinária, por exemplo. Quando o tecido pulpar é agredido e exposto, odontoblastos danificados degeneram e são substituídos por células

mesenquimais não diferenciadas, que migram da região profunda do tecido pulpar para o local da injúria. As células tronco pulpares humanas possuem capacidade de auto-renovação e diferenciação em odontoblastos, formando dentina tubular quando transplantadas in vivo. A matriz extracelular dentinária provê uma armação/arcação para adesão, proliferação e diferenciação de odontoblastos. A armação biomimética da matriz extracelular deveria permitir efetivo transporte de nutrientes, oxigênio e dejetos metabólicos. A matriz do tecido regenerado irá repor a armação, enquanto essa retém a apresentação morfológica da arquitetura e da organização do tecido final. A armação deve ser biocompatível, não tóxica e ter apresentação física e propriedades mecânicas. Ela funciona como transportador para fatores de crescimento/ diferenciação, tais como BMPs, para apoiar atividades morfogenéticas. Algumas estratégias para a formação de dentina reparativa e regenerativa envolvem a integração de armações pré-fabricadas, elaboradas para a dentinogênese. As armações são feitas de polímeros naturais ou sintéticos. Os polímeros naturais, como colágeno e fibronectina, possuem vantagens como citocompatibilidade e bioatividade, e os polímeros sintéticos não permitem controle preciso sobre as propriedades físico-químicas, tais como: grau de degradação, porosidade, microestrutura e propriedades mecânicas.

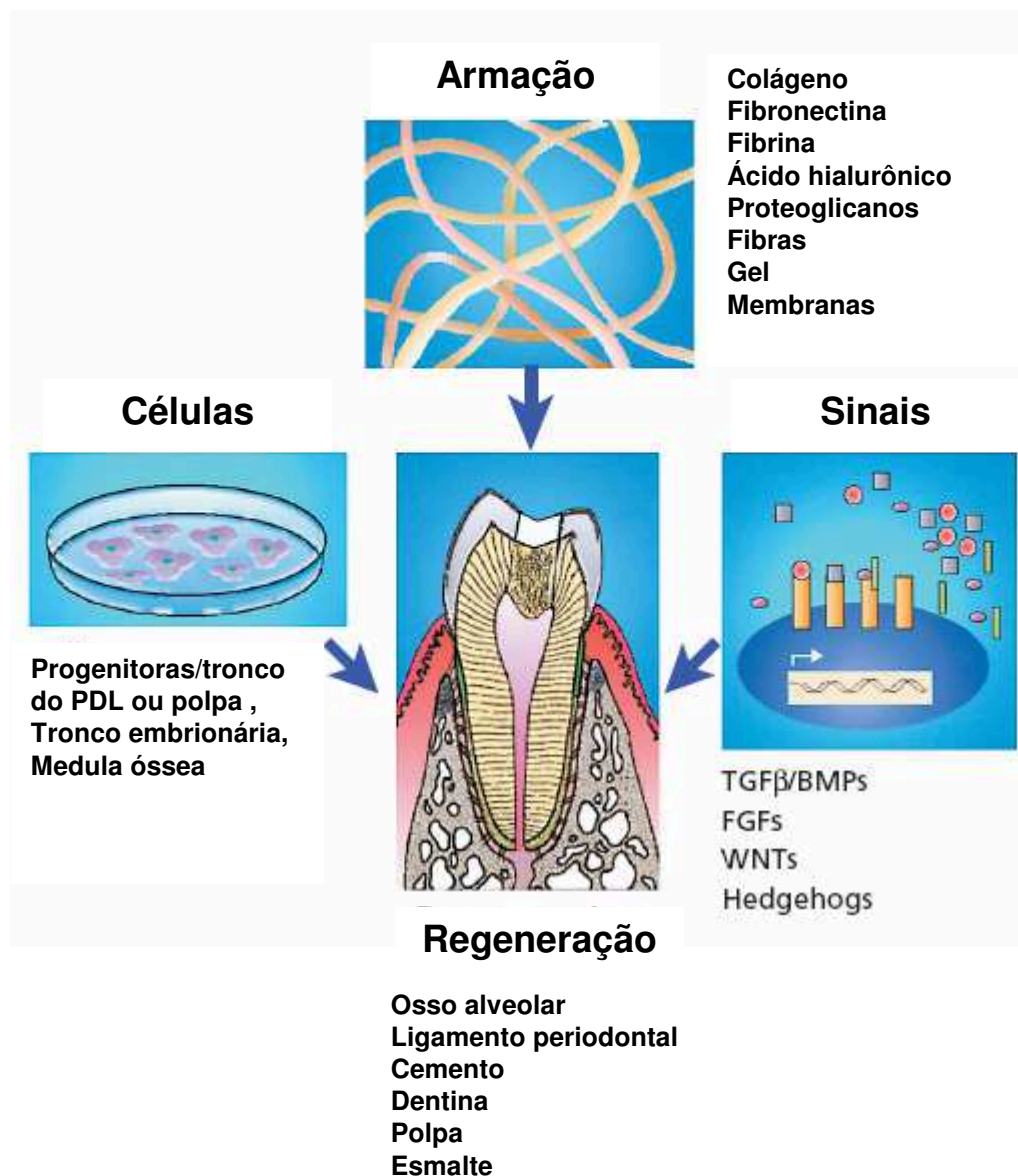


Figura 2 – Os três elementos chave para a engenharia tecidual dentária são: os sinais para a morfogênese, células progenitoras/tronco e armação para matriz extracelular
 Fonte: Nakashima, (2005); Nakashima e Reddi, (2003)

Nör (2006) descreveu os fundamentos da engenharia tecidual e a bem sucedida engenharia de cartilagem, onde uma orelha humana foi formada no dorso de um rato, trazendo mais atenção e visibilidade para este campo emergente. A engenharia tecidual é uma ciência multidisciplinar baseada nos princípios fundamentais, que envolvem a identificação de células apropriadas, o desenvolvimento de armações adequadas e um entendimento dos sinais morfogenéticos requisitados para induzir as células a regenerar o tecido perdido.

Os médicos têm ampliado o uso da engenharia tecidual para tratar uma variedade de condições. A reposição de pele em pacientes com queimaduras severas e a construção de novo osso para pacientes com perda óssea severa, são exemplos de estratégias baseadas em engenharia de tecido que tem sido usada em humanos. Nos últimos anos, pesquisas dentais começaram a explorar o potencial da engenharia de tecido para reparar estruturas dentais perdidas e, talvez, substituir um dente por completo.

Edwards e Manson (2006b) relataram que em uma abordagem da engenharia de tecido, a cavidade oral tem vantagens, como fácil acesso e fácil observação, em relação a outros locais do corpo. Um potencial uso na terapia de engenharia de tecido no complexo oral e maxilofacial inclui o fornecimento de fatores de crescimento para regeneração periodontal, capeamento pulpar/regeneração dentinária, tratamento de neoplasmas malignos da cabeça e pescoço, regeneração para enxerto ósseo em defeitos ósseos extensos na reconstrução dental e crânio-facial e no reparo da cartilagem articular.

3.3.2 Células tronco/progenitoras

Diversos estudos indicaram que as células tronco/progenitoras estão presentes tanto na polpa dental quanto no PDL. No organismo adulto, a maioria dos tecidos contém uma pequena população de células tronco, com capacidade natural de replicar-se e gerar progenitoras confiáveis, com potencial para formar todas as linhagens de células daquele tecido danificado (NAKASHIMA, 2005; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005; NAKASHIMA; REDDI, 2003).

3.4 OUTROS BIOMATERIAIS

Wiebkin et al. (1996a) avaliaram as características de difusão da calcitonina (um hormônio polipeptídico que inibe a atividade osteoclástica suprimindo a reabsorção radicular inflamatória externa) marcada com $[I^{125}]$, através do canal radicular em um modelo de dente humano extraído; e, ainda, o papel do cimento no processo de difusão da calcitonina. Os dentes com cimento radicular levaram de quatro a cinco horas para detectar calcitonina na superfície externa, após esse período houve uma liberação rápida de calcitonina durante as primeiras dez horas (com pico em seis horas); de forma mais lenta, a calcitonina teve liberação prolongada através do cimento intacto pelos próximos nove dias. Quando o cimento foi removido para expor a dentina, duas horas após a inserção da calcitonina- $[I^{125}]$ no interior do canal, foi detectada a presença da mesma na superfície externa, e a quantidade da calcitonina liberada, durante os nove dias seguintes, foi maior. O fornecimento de calcitonina pelo mecanismo de difusão intra-canal sugeriu que a perda do cimento melhora a disponibilidade terapêutica da mesma, e a manutenção do cimento oferece um fornecimento prolongado de calcitonina para a superfície radicular externa. As duas situações podem ser úteis para a prevenção de reabsorção inflamatória radicular externa. Disseram que a calcitonina é uma boa opção de tratamento, pela passagem através do canal radicular, da superfície radicular externa.

Levin et al. (2001) disseram que o alendronato é a terceira geração do bisfosfonato, com demonstrada atividade inibitória de osteoclastos, que pode lentamente diminuir o processo de reabsorção óssea, após severa injúria

traumática. O alendronato tem sido usado, rotineiramente, para inibir patologias de reabsorção do tecido duro, mediada por osteoclastos em doenças como osteoporose, doença de Paget e doenças malignas osteolíticas do osso. Esses autores verificaram (em um modelo de cães) que em uma situação de avulsão dental, se o elemento dental avulsionado for banhado com uma solução de alendronato em HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution), tem-se uma melhor cicatrização e menor chance de reabsorção radicular.

Altundal e Günever (2004) disseram que a manutenção do osso alveolar em altura e largura após a perda dentária, é essencial para a restauração, com implantes dentários endoósseos ou com abordagens protodônticas, dos dentes perdidos. O bifosfonato, alendronato, é bem conhecido por sua potente inibição da reabsorção óssea mediada por osteoclastos. Sendo assim, os autores decidiram estudar o efeito inibitório do alendronato na reabsorção óssea alveolar após extração dentária em ratos Wistar-albino. Os resultados mostraram pronunciada supressão da reabsorção óssea com o uso do alendronato.

Altundal e Gursoy (2005) realizaram um experimento com ratos Wistar-albino com o objetivo de avaliar a influência do alendronato na formação óssea, depois do enxerto autógeno ósseo livre nos mesmos. Os autores concluíram que o alendronato pode ser considerado uma opção terapêutica, para melhorar os processos de osteogênese nas diferentes situações de remodelação óssea.

Bello-Silva et al. (2005) cita que a avulsão e a luxação são injúrias capazes de danificar a superfície radicular e a camada de cimento, levando a uma resposta inflamatória, onde a raiz é reabsorvida. Sendo assim, realizaram um experimento, no qual avaliaram a capacidade da calcitonina e do alendronato em atravessar os

túbulos dentinários e chegar à superfície externa radicular. Calcitonina e alendronato são drogas utilizadas para inibir patologias, que reabsorvem tecidos duros, mediadas por osteoclastos. A calcitonina é um hormônio polipeptídico com capacidade de diminuir ou inibir a atividade osteoclástica. Seus efeitos incluem a redução da inflamação pulpar e a prevenção da reabsorção inflamatória radicular externa. O alendronato é a terceira geração dos bifosfanatos. O uso experimental do alendronato na odontologia mostrou uma influencia na reabsorção de osso e dentina, por ação direta na área afetada, inibindo a ação dos osteoclastos e moderando o processo de reabsorção.

Silveira et al. (2007) realizaram um experimento em cães para avaliar a resposta dos tecidos perirradiculares ao tratamento endodôntico de canais infectados em uma ou duas sessões, usando dois medicamentos diferentes entre as sessões. Os medicamentos utilizados foram: hidróxido de cálcio, associado ao paramonoclorofenol canforado, e óleo ozonizado. O ozônio é um gás (uma variação alotrópica do oxigênio) descoberto por Schonbein, em 1840, com reconhecido efeito antimicrobiano. Devido a sua alta instabilidade, o gás de ozônio pode ser incorporado aos fluidos, como os óleos vegetais (ex: azeite de oliva). O ozônio possui forte atividade microbiana, efeitos debridantes, podendo estimular a angiogênese. Ele tem sido usado, por muitos anos como desinfetante na França e vem sendo sugerido como uma boa alternativa ao cloro no tratamento da água doméstica. Em concentrações relativamente baixas, o ozônio mata células de *Escherichia coli*, células e esporos do *Bacillus cereus* e *Bacillus megaterium*. Neste estudo, os autores observaram que, quando o canal era tratado em sessão única a taxa de sucesso era de 46%; quando era usada medicação entre as

sessões, houve 74% de sucesso para o hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado e 77% de sucesso para o óleo ozonizado.

Guven et al. (2007) avaliaram o efeito do MTA na produção de TGF- β 1 e BMP-2, em cultura celular de fibroblasto gengival humano. Os resultados obtidos sugeriram que o MTA é capaz de estimular os fibroblastos gengivais humanos a produzir BMP-2 e TGF- β 1. O MTA é um biomaterial endodôntico, usado originalmente para o propósito do selamento do terço apical. Com o passar do tempo, estas aplicações clínicas têm expandido para terapia pulpar vital, incluindo a pulpotomia, a apexificação, e os reparos cirúrgicos e não cirúrgicos de perfuração. Em adição a sua boa habilidade seladora e biocompatibilidade, o MTA consistentemente permite o supercrescimento do cimento, e pode facilitar a regeneração do ligamento periodontal e a formação de osso. O MTA oferece um substrato, biologicamente ativo para o osso e para as células, pela estimulação da produção de interleucinas. O potencial do MTA em induzir a produção de ambos TGF- β 1 e BMP-2 merece investigação, com especial consideração para as células envolvidas na cura e/ou regeneração dos tecidos perirradiculares.

Favieri et al. (2008) relata um caso clínico em que biomateriais como MTA (Mineral Trioxide Aggregate), osso humano liofilizado e sulfato de cálcio foram utilizados com o objetivo de induzir, remodelar e reparar o osso alveolar depois da cirurgia periapical. O MTA tem excelente selamento apical e estimula a aderência osteoblástica; o sulfato de sódio tem ação hemostática e é uma barreira física, prevenindo a contaminação do campo operatório com o sangue. O enxerto ósseo alógeno vem sendo usado na terapia periodontal durante as últimas três décadas, tendo bons resultados na regeneração do suporte periodontal. Os autores

concluíram que a ação conjunta desses materiais teve importante papel na regeneração óssea periapical.

Lage-Marques e Antoniazzi (2008) indicam o uso da calcitonina no tratamento medicamentoso dos canais radiculares de dentes traumatizados, devido à sua reconhecida capacidade em diminuir a atividade osteoclástica e à indução da atividade osteoblástica. A principal ação da calcitonina é regular o metabolismo do cálcio, orientando o organismo na prevenção da reabsorção ou da excessiva neoformação. Nas ocasiões de esforço, a calcitonina protege os reservatórios naturais de cálcio no organismo – osso e dentes - interferindo diretamente na inibição dos osteoclastos. Alguns estudos têm sido realizados em Odontologia com o propósito de verificar a ação da calcitonina nos tecidos dentários, baseados na semelhança existente entre as células dentárias e ósseas. Avaliando-se métodos de armazenamento de dentes de cães submetidos a avulsão dental, os espécimes submergidos em calcitonina, apresentaram 13,6% de área reabsorvida, diferenciando-se dos espécimes mantidos em leite, 14,6%, em soro fisiológico, 21,5% ou mantidos secos, 60,4%. Partindo desses dados, foi possível criar uma casuística em humanos, observando-se um bom nível de controle da reabsorção radicular externa. Os autores explicam que a calcitonina deve ser usada imediatamente após a instrumentação, com o auxílio de cânulas de aspiração de pequeno calibre, com cones de papel absorvente os canais deverão ser completamente secos antes do preenchimento com calcitonina. Essa medicação líquida, pelo tempo mínimo de dez minutos, permeia o sistema endodôntico até próximo ao cimento radicular.

3.5 RADIOISÓTOPOS E PERMEABILIDADE DENTINÁRIA

Wiebkin et al. (1996 ab) utilizaram Iodo¹²⁵ [¹²⁵I], afim de estudar a permeabilidade dentinária à calcitonina, quando esta era colocada no interior do conduto radicular. Os autores marcaram a calcitonina com o isótopo radioativo de Iodo e avaliaram a presença dessa substância na superfície radicular externa. Uma vez detectado o radioisótopo na solução em que o dente estava imerso, significava que a dentina mostrou-se permeável ao medicamento. Sendo assim, a calcitonina poderia ser usada como medicação intra-canal para prevenir reabsorção inflamatória radicular externa.

West e Roane (2000) escreveram que a permeabilidade dentinária tem sido bem caracterizada. Os túbulos dentinários são os principais canais para a difusão de fluido através da dentina. Uma vez que o deslocamento do fluido é proporcional ao diâmetro e ao número de túbulos, a permeabilidade da dentina aumenta, à medida que o túbulo converge para a polpa. O total de superfície tubular, próxima à junção amelodentinária é, aproximadamente, 1% da área de superfície total da dentina, ao passo que, próximo à câmara pulpar, o total da superfície tubular pode ser quase 45%. Conseqüentemente, a dentina, situada abaixo de um preparo profundo de uma cavidade, é muito mais permeável do que a dentina que está abaixo de uma cavidade rasa. Além disso, a permeabilidade da dentina radicular é muito menor do que a da dentina coronária. Isso é devido a uma diminuição na densidade dos túbulos dentinários de aproximadamente 42.000 túbulos por milímetro quadrado na dentina cervical a oito mil túbulos por milímetros quadrados

na dentina radicular. Sendo assim, o deslocamento do fluido para o exterior da dentina radicular é em torno de 2% daquele que ocorreria na dentina coronária.

Bello-Silva et al. (2005) realizaram um experimento, utilizando radioisótopo com o objetivo de avaliar a permeabilidade da dentina radicular à calcitonina e ao alendronato de sódio que são medicamentos utilizados no tratamento da reabsorção inflamatória radicular externa. Neste estudo, utilizou-se o isótopo Iodo 131 [I^{131}], ligado à calcitonina, e o Tecnécio 99m [Tc^{99m}], ligado ao alendronato. Por meio dessa marcação é possível identificar qual medicamento é capaz de atravessar a dentina, e atuar na face externa da raiz.

Araki (2007) realizou um experimento com o radioisótopo Tecnécio-99m puro ou ligado ao polietilenoglicol 400, para avaliar as variações da permeabilidade dentinária sob diferentes substâncias irrigadoras. O polietilenoglicol 400 foi escolhido, pois o mesmo é utilizado como veículo e protetor tecidual de medicações intracanaís da endodontia, como: o NDP (Paramonoclorofenol, fosfato de dexameazona, rinosoro e PEG 400), o PRP (Paramonoclorofenol, rinosoro e PEG 400) e associado ao Hidróxido de cálcio P. A.

4 DISCUSSÃO

Baseado na literatura científica, pode-se dizer que atualmente existe mais uma ferramenta no arsenal medicamentoso, usado para melhorar o prognóstico das doenças que acometem o indivíduo. Essa nova ferramenta são as moléculas bioativas, como os fatores de crescimento (SMITH, 2003). Nesta revisão foi dada ênfase à superfamília do TGF-beta, especificamente às BMPs.

As BMPs são proteínas pleiotrópicas, responsáveis pela morfogênese de alguns órgãos do corpo humano, que transmitem sinais entre as células estimulando e/ou inibindo o crescimento, assim como, modulando os estágios de diferenciação celular entre outras funções (JIN et al., 2003; NAKASHIMA; REDDI, 2003; RIPAMONTI et al., 2006; SMITH, 2003). A capacidade das BMPs em mudar o fenótipo celular é um grande trunfo para a medicina e odontologia regenerativa.

Graças a essas moléculas bioativas o quê antes parecia ficção científica hoje tornou-se realidade, visto que já é possível cultivar odontoblastos ex vivo (a partir de células tronco ou fibroblastos), que produzem uma matriz dentinária, a qual é transplantada para uma polpa exposta, reconstituindo o dente (Figura 3) (NAKASHIMA, 2005; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005).

Além de estarem envolvidas no desenvolvimento de vários órgãos, as BMPs, também, estão presentes nas várias fases da morfogênese dentária, controlando e modulando as atividades celulares (IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA, 1994, 2005; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005; NAKASHIMA; REDDI, 2003; REDDI, 1998; SMITH, 2003).

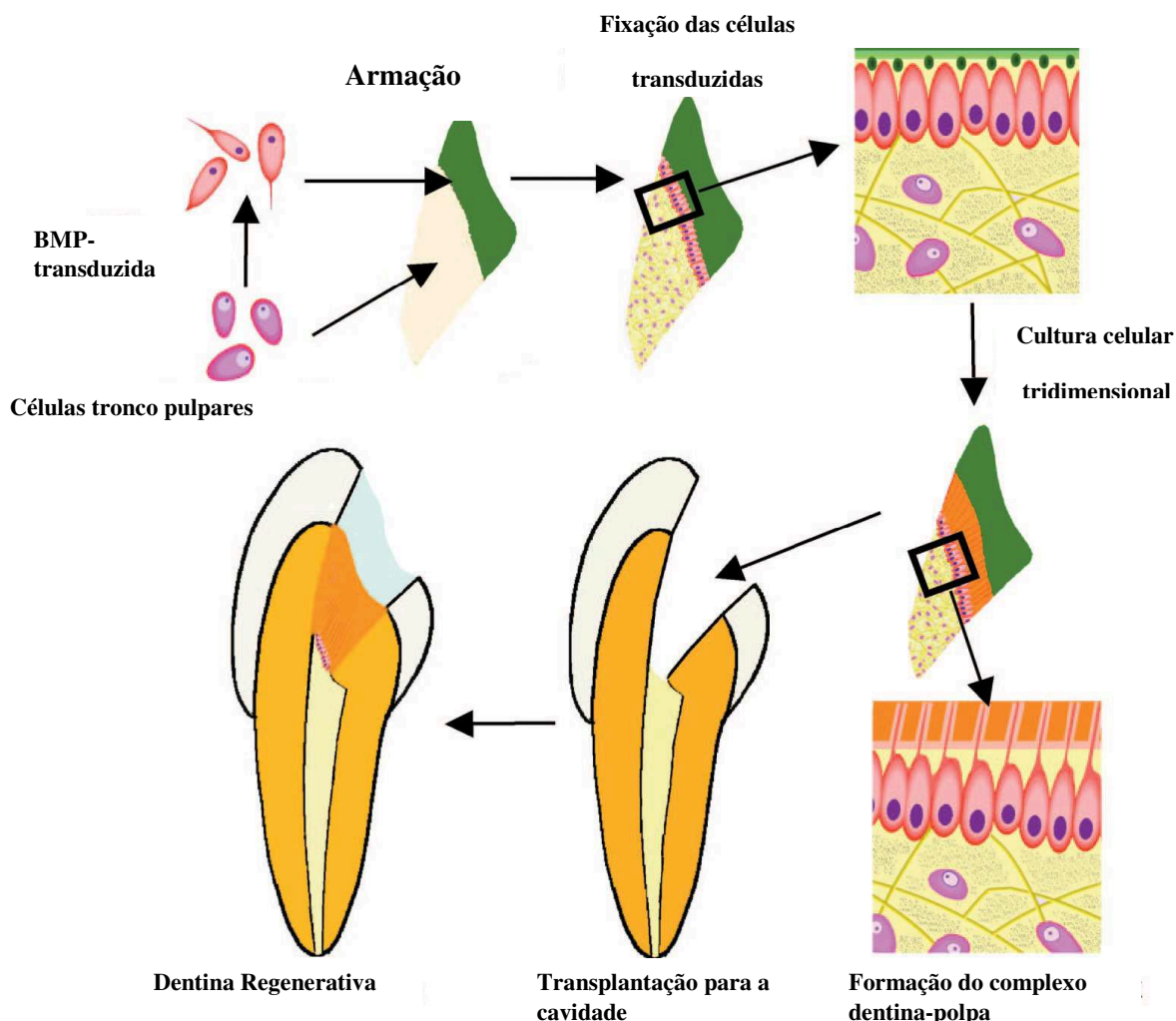


Figura 3 – Formação do complexo dentino-pulpar com ótima orientação para aplicação clínica da terapia regenerativa. As células tronco pulpares são transduzidas com o gene BMP e fixadas em uma armação definida para diferenciarem-se em odontoblastos. O complexo dentino-pulpar tubular pode ser transplantado na polpa exposta ou amputada na cavidade. Fonte: Nakashima; Akamine (2005)

Desta forma, possuem a capacidade de recapitular o processo de morfogênese e diferenciação do dente durante o reparo após a injúria dental, permitindo a regeneração tecidual (GOLDBERG; SMITH, 2004; SMITH, 2003). As BMPs possuem potencial para serem utilizadas tanto na regeneração do complexo dentina-polpa quanto na regeneração do periodonto (osso, cimento, ligamento e gengiva) (BEGTSON et al., 2004; GOLDBERG et al., 2001, 2003, 2006; GUVEN et al., 2007; HU et al., 1998; IOHARA et al., 2004; JIN et al., 2003; KING et al.,

1997; KING et al., 2001; KING; COCHRAN, 2002; NAKASHIMA, 1994; NAKASHIMA; REDDI, 2003; NÖR, 2006; SIGURDSSON et al., 1995,1997; RIPAMONTI; REDDI, 1997; RIPAMONTI et al., 2006; SAITO et al., 2004). A regeneração do complexo dentino-pulpar pode ocorrer pois, a capacidade de diferenciação, em odontoblastos, que as células da papila dental possuíam na dentinogênese, permanece nas células do parênquima da polpa madura (TZIAFAS, 1992, 1994, 1995).

A dentina é um reservatório natural de moléculas bioativas, que foram incorporadas à matriz dentinária durante a dentinogênese primária e tornaram-se fossilizadas. Quando sob condições patológicas (ex:cárie) ou de grande stress (ex: preparo cavitário), que levam à destruição dos odontoblastos, essas moléculas são liberadas e agem nas células pulpares (tronco, mesenquimais indiferenciadas, fibroblastos e células da camada de Höhl), capazes de diferenciarem-se em células do tipo odontoblastos, elaborando uma dentina terciária (reacionária ou reparativa). A dentina reacionária é produzida por odontoblastos como uma resposta aos estímulos crônicos. Enquanto que a dentina reparativa é produzida por células pulpares, nunca por odontoblastos, após exposição pulpar. Esta estimulação de dentinogênese terciária, pelas moléculas bioativas liberadas, pode ocorrer através da dentina (ABOUT; MITSIADIS, 2001; GOLDBERG et al., 2003; IOHARA et al., 2004; MAGLOIRE et al., 2001; SMITH, 2003; SMITH et al., 2001).

Durante muitos anos, o hidróxido de cálcio foi o medicamento de escolha para a regeneração do complexo dentino-pulpar. Apesar de não ser ácido, ele possui alguns efeitos solubilizantes, liberando as moléculas bioativas da matriz dentinária. Porém, a dentina formada é do tipo osteodentina. Atualmente, têm-se

indicado uma opção mais biológica para a recuperação do complexo dentino-pulpar, que oferece uma dentina fisiológica de melhor qualidade (ortodentina). A terapia baseada nos fatores de crescimento oferece o maior controle dos efeitos biológicos dessas moléculas e a maior objetividade de ação, e diminui o risco de necrose pulpar ou da calcificação secundária excessiva devido à irritação tecidual induzida pelos materiais convencionais (GOLDBERG et al., 2006; HAAS et al., 2001; HU et al., 1998; IOHARA et al., 2004; SMITH, 2003; TZIAFAS, 1994). Nesta nova visão, as BMPs têm sido utilizadas, em estudos experimentais, como medicamento para capeamento direto e indireto, nos casos onde é necessária a formação de uma dentina reparadora e/ou reacionária (ABOUT; MITSIADIS, 2001; BEGTSON et al., 2004; GOLDBERG et al., 2001, 2003, 2006; HU et al., 1998; IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA, 1994; NAKASHIMA; REDDI 2003; NÖR, 2006; SAITO et al., 2004; TZIAFAS, 2004). A BMP, implantada na polpa, estimula a diferenciação das células mesenquimais, que migraram do parênquima da polpa, em odontoblastos ou em osteodentinoblastos. Essa diferenciação é atribuída à ação da BMP na expressão genética no núcleo da célula. O efeito na expressão genética da célula ocorre pela ligação da BMP aos receptores da superfície celular, que resulta na transdução do sinal no núcleo da célula (COCHRAN; WOZNEY, 1999; SMITH, 2003; IOHARA et al., 2004).

As BMPs, envolvidas na regeneração dentinária, são: as BMPs 2, 4 e 7 (BEGTSON et al., 2004; GOLDBERG et al., 2001, 2003 ; IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA; REDDI, 2003; NÖR, 2006; SAITO et al., 2004; TZIAFAS, 2004). A BMP-2 está presente na papila dental e nos odontoblastos do botão dentário em desenvolvimento. Ela atua, promovendo as interações do epitélio/mesênquima e tem a expressão aumentada no estágio tardio da formação do dente e durante o

término da diferenciação dos odontoblastos. A BMP-4 está presente nos estágios iniciais da formação do dente, no epitélio dental e no mesênquima da papila dental; ela induz o mesênquima a ser odontogênico (BARTOLD et al., 1998; IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA, 1994, 2005; NAKASHIMA; REDDI, 2003). Além dessas BMPs, o fator de crescimento e de diferenciação 11 (GDF-11) e sialoproteína do osso (BSP) são capazes de produzir dentina reparativa (NÖR, 2006).

Além da regeneração dentinária, as moléculas bioativas podem ser empregadas em cirurgias crânio-faciais para correção de anomalias adquiridas ou herdadas, correção de seqüelas de trauma craniano, seqüelas após câncer, defeitos ósseos periodontais, osteointegração de implantes dentais, reparo da cartilagem na articulação têmporo-mandibular, lesões perirradiculares e apexificação (Figura 4) (BOYNE, 2001; HAM et al., 2005; HERFORD; BOYNE, 2008; JOVANOVIC et al., 2007; NAKASHIMA; REDDI 2003; RUTHERFORD et al., 2003; SYKARAS et al., 2001; WIKESJÖ et al., 2003, 2004;).

Na periodontia, abordagens biológicas têm sido empregadas, experimentalmente, para a promoção da regeneração periodontal que inclui: cemento, ligamento periodontal, osso e gengiva. A abordagem convencional, para a regeneração periodontal, inclui: curetagem, debridamento do retalho e enxerto ósseo. Os resultados são variáveis e imprevisíveis, isto, devido ao ambiente periodontal. Esta situação pode ser melhorada com a utilização de BMPs em combinação com barreiras de membrana (NAKASHIMA; REDDI, 2003). Inúmeros trabalhos têm mostrado regeneração óssea e cementogênese, osteointegração de implantes e formação do ligamento periodontal com inserção de fibras de Sharpey, quando da utilização da rhBMP-2. Foi observado que a rhBMP-2 forma osso, tanto

por via endocondral e intramembranosa; a formação de novo cemento ocorre sem anquilose e obliteração do espaço do ligamento periodontal. Tanto a BMP-2 quanto a BMP-7 promovem osteogênese e cementogênese. Tem sido sugerido que a BMP-3 tem um papel importante na linhagem dos cementoblastos (COCHRAN; WOZNEY, 2000; JIN et al., 2003; KING et al., 1997; KING, 2001; KING; COCHRAN, 2002; NAKASHIMA; REDDI, 2003; RIPAMONTI; REDDI, 1997; SIGURDSSON et al., 1995, 1997).

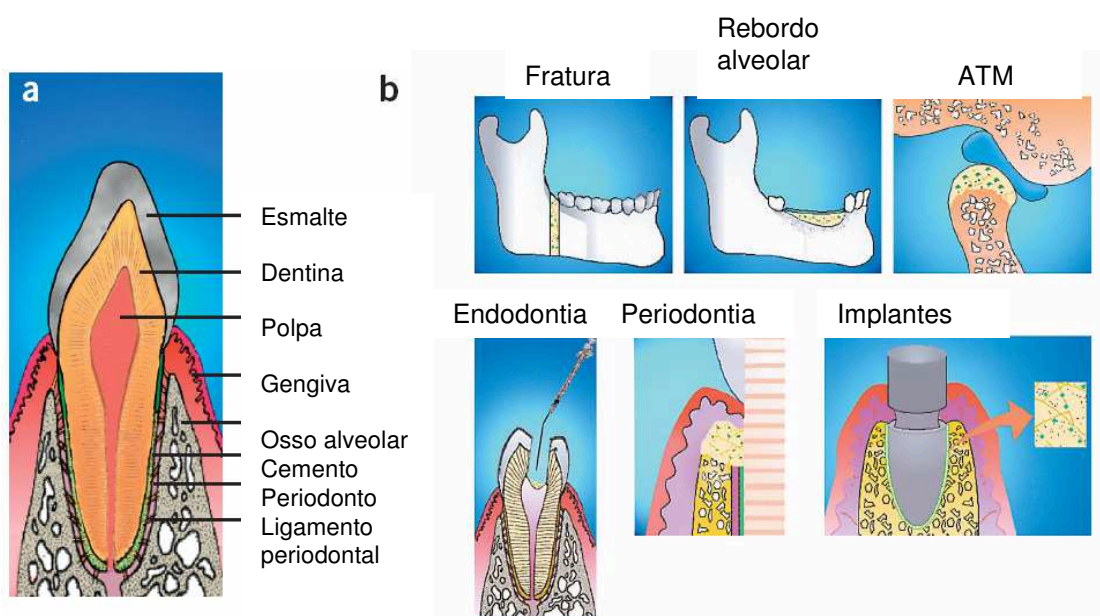


Figura 4 – Tratamentos e estruturas crânios-faciais. (a) estruturas do dente humano. O dente é cercado pelo periodonto e é ancorado no osso alveolar da mandíbula e da maxila. A polpa tem células tronco/progenitoras para o reparo e para a regeneração da dentina pelos odontoblastos formadores de dentina em resposta à BMP. (b) BMPs têm sido demonstradas, em estudos pré-clínicos, por ter um potencial para a engenharia tecidual e para a regeneração do osso alveolar, para o aumento do rebordo alveolar, para o reparo da cartilagem da junção têmporo mandibular, para os implantes orais, para os tratamentos endodônticos e para a regeneração do tecido periodontal Fonte: Nakashima e Reddi (2003)

A BMP pode ser obtida a partir de extratos de osso e dentina, ou por meio da terapia de gene recombinante, onde o gene responsável pela BMP é implantado no DNA de uma célula que produzirá a proteína ativa de forma fisiológica (EDWARD; MANSON, 2006 ab; GONÇALVES; GUIMARÃES; GARCIA,

1998; NAKASHIMA, 2005). A terapia de gene de BMP (Figura 5), além de ser usada na regeneração dentinária, tem sido sugerida para o fornecimento local de BMP na ferida periodontal e nas cirurgias crânio-faciais, diminuindo a perda dos enxertos ósseos e reduzindo os efeitos colaterais dos aloenxertos (JIN et al., 2003; RUTHERFORD et al., 2003). Surge, então, o conceito de engenharia tecidual, que se baseia na utilização de morfogenes recombinantes; células tronco/progenitoras, que estão presentes na polpa dental, no PDL e na maioria dos tecidos do corpo, e matriz extracelular, para desenhar e construir partes ausentes, que restauram a função do corpo humano (EDWARDS; MANSON, 2006b; GOLDBERG et al., 2003; IOHARA et al., 2004; JIN et al., 2003; NAKASHIMA, 2005; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005; NAKASHIMA; REDDI, 2003; NÖR, 2006; OGURA et al., 2004; REDDI, 1998).

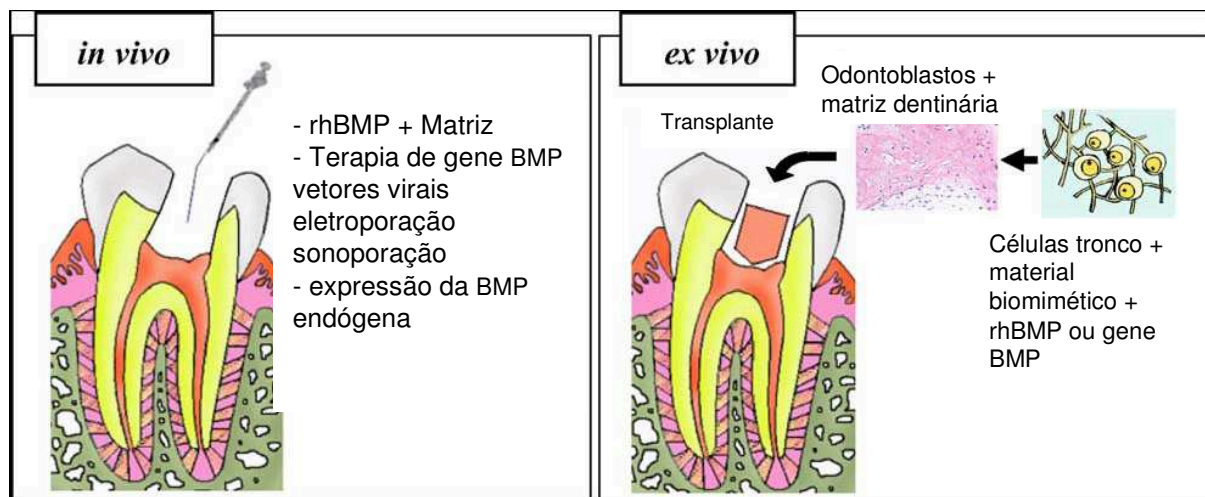


Figura 5 – Duas maneiras estratégicas para terapia pulpar de regeneração dentinária. No método in vivo, o potencial natural de cura da polpa é aumentado pela aplicação local direta de proteína BMP ou genes de BMP dentro da polpa exposta. No método ex vivo, células tronco/progenitoras são isoladas, primeiramente, tratadas com proteína BMP ou genes BMP, para diferenciarem-se em odontoblastos na superfície de uma armação e serem transplantadas para a polpa exposta. Fonte: Nakashima (2005)

A endodontia utiliza, rotineiramente, alguns biomateriais que foram testados experimentalmente e tiveram sua liberação, após resultados positivos, para o uso

clínico. A calcitonina, o alendronato de sódio, o MTA, e o ozônio são exemplos de biomateriais aplicados na endodontia com grande sucesso. São medicamentos indicados para inibir a reabsorção óssea, induzir a produção de osso e inibir a atividade microbiana. Para a aplicação clínica destes medicamentos, vários experimentos foram realizados, avaliando a permeabilidade da dentina a eles. O MTA além das indicações convencionais, selamento do terço apical, tem sido sugerida a sua utilização em pulpotomia, na apexificação e nos reparos cirúrgicos e não cirúrgicos de perfuração. Foi observado que, quando o MTA foi utilizado na apexificação, houve expressão da BMP-2 e do TGF- β 1 nos tecidos periapicais. Os estudos, para avaliar a permeabilidade dentinária ao medicamento, utilizam-se da ligação de radioisótopos às moléculas do medicamento. Uma vez detectada a presença do radioisótopo na superfície externa da dentina, significa que a dentina foi permeável ao medicamento. Portanto, poderá ser sugerido o uso como medicação intracanal, por exemplo. (ALTUNDAL; GURSOY, 2005; BELLO-SILVA et al., 2005; FAVIERI et al., 2008; GUVEN et al., 2007; HAM et al., 2005; LAGEMARQUES; ANTONIAZZI, 2008; LEVIN et al., 2001; SILVEIRA et al., 2007; WIEBKIN et al., 1996 ab).

4.1 TRABALHOS FUTUROS

Por sua habilidade biológica em induzir a regeneração tecidual, a BMP tem sido indicada nas áreas da dentística, periodontia, cirurgia e endodontia. Na endodontia, existem vários estudos sobre o uso da BMP como medicamento na indução da dentinogênese, a partir de células viáveis, na terapia de polpa viva

(BEGTSON et al., 2004; GOLDBERG et al., 2001, 2003, 2006; IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA, 1994; NAKASHIMA; REDDI, 2003; NÖR, 2006; SAITO et al., 2004; TZIAFAS, 2004). Na periodontia, também, indica-se o uso da BMP, já que nos tecidos perirradiculares existem células que respondem a esse estímulo (COCHRAN et al., 1999; COCHRAN; WOZNEY, 1999; GUVEN et al., 2007; JIN et al., 2003; KING, 2001; KING et al., 1997; KING; COCHRAN, 2002; NAKASHIMA; REDDI, 2003; RIPAMONTI et al., 2006; RIPAMONTI; REDDI, 1997; SIGURDSSON et al., 1995, 1997).

Baseado na literatura, julga-se importante analisar a hipótese da utilização da BMP, como medicamento intracanal, para induzir a regeneração dos tecidos perirradiculares, quando estes apresentarem-se lesionados. Sendo assim, a BMP poderia ser indicada para as situações clínicas de lesão de endopério, avulsão dental, apexificação, reabsorção externa, defeitos ósseos perirradiculares e periapicais. Esta linha de raciocínio tem o canal radicular como um reservatório capaz de armazenar a BMP que, por difusão, atravessaria os túbulos dentinários agindo na superfície externa da raiz, ligamento e osso alveolar, com o caráter de medicação com ação prolongada. Para tanto, a dentina radicular teria que ser permeável à BMP. Deve-se ressaltar que está em andamento um experimento inicial, *in vitro*, utilizando BMP marcada com radioisótopo, com o objetivo de estudar uma concentração ideal em que essa ligação ocorre e, assim, analisar a permeabilidade da dentina à molécula de BMP marcada.

Essa avaliação da permeabilidade dentinária, usando radioisótopos já foi realizada em experimentos com outros fármacos, os quais tem indicação de uso como medicação intra canal na terapia endodôntica (ARAKI, 2007; BELLO-SILVA et al., 2005; WIEBKIN et al., 1996 ab).

Este estudo comprova a importância da continuidade de experimentos que abordem o emprego da BMP na odontologia, visto que são inúmeras as alternativas e possíveis vantagens do seu emprego. Trata-se de uma linha de investigação inovadora e promissora, em profuso desenvolvimento nos centros de pesquisas desenvolvidos. Futuros experimentos apontarão para a real possibilidade do emprego dessas substâncias no tratamento das patologias relacionadas à endodontia e tecidos periodontais. Assim, pela literatura discutida e experimento iniciado, espera-se obter o embasamento necessário para a utilização clínica da BMP como medicação intracanal.

5 CONCLUSÃO

Deste trabalho pode-se concluir que, a BMP:

- 1- Tem papel importante na regeneração tecidual, sendo um dos elementos chave na engenharia de tecido;
- 2- Oferece a vantagem de ser uma abordagem mais biológica, pois gera um tecido idêntico ao perdido;
- 3- Tem sido bem estudada em vários experimentos clínicos, inclusive em humanos;
- 4- Poderá estar disponível, futuramente, como uma alternativa de terapia a ser utilizada no consultório odontológico.

REFERÊNCIAS

ABOUT, I.; MITSIADIS, T.A. Molecular aspects of tooth pathogenesis and repair: in vivo and in vitro models. **Adv Dent Res**, Marseille, v.15, p.59-62, Aug. 2001.

AGATA, H. et al. Effective bone engineering with periosteum-derived cells. **J Dent Res**, Kanagawa, v.86, n.1, p.79-83, 2007.

ALTUNDAL, H.; GÜNEVER, O. The effect of alendronate on resorption of the alveolar bone following tooth extraction. **Int J. Oral Maxillofac Surg**, Istanbul, v.33, n.3, p.286-293, Apr. 2004.

ALTUNDAL, H.; GURSOY, B. The influence of alendronate on bone formation after autogenous free bone grafting in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Istanbul, v.99, n.3, p.285-291, Mar. 2005.

ARAKI, A. T. **O emprego de radioisótopo na avaliação da permeabilidade dentinária intracanal tendo como variáveis as soluções irrigadoras e a irradiação com diferentes lasers**. 122f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BARTOLD et al. Growth hormone and insulin-like growth factor 1 induce BMP 2 e 4: a mediator role in bone and tooth formation? **Endocrinology**, Queensland, v.139, p.3855-3862, 1998.

BELLO-SILVA, M. S. et al. Er:YAG laser on the dentinal diffusion of calcitonin and sodium alendronate labeled with iodine 131 and technetium 99. IN: INTERNATIONAL CONGRESS OF THE GERMAN SOCIETY OF LASER DENTISTRY, 14., 2005; Alemanha. **Proceedings...** 16., 2005, Alemanha: DGL, 2005. p.14.

BENGTSON, A. L. et al. Engenharia de tecido em odontologia – Pulpotomia com proteína morfogenética do osso (rhBMP-2) em dente decíduo humano. **RGO**, Santos, v.52, n.5, p.321-325. nov./dez., 2004.

BJØRNDAL, L. Presence or absence of tertiary dentinogenesis in relation to caries progression. **Adv Dent Res**, Copenhagen, v.15, p.80-83, Aug., 2001.

BOYNE, P. J. Application of BMPs in the treatment of clinical oral and maxillofacial osseous defects. **J Bone Joint Surg**, California, v.83-A, 2001. Suplemento 1. Parte 2.

CALIXTO, R. F. E. et al. Alveolar wound healing after implantation with a pool of commercially available bovine bone morphogenetic proteins (BMPs) – A histometric study in rats. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v.18, n.1, p. 29-33, 2007.

COCHRAN, D. L. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. **J Periodontol**, Texas, v.70, n.2, p.139-150, 1999.

COCHRAN, D. L.; WOZNEY, J. M. Biological mediators for periodontal regeneration. **Periodontology 2000**, Texas, v.19, p.40-58, 1999.

EDWARDS, P. C.; MANSON, J. M. Gene-enhanced tissue engineering for dental hard tissue regeneration: overview and practical considerations. **Head & Face Medicine**, Omaha, v.2, n.12, p.1-10, 15 May 2006.

EDWARDS, P. C.; MANSON, J. M. Gene-enhanced tissue engineering for dental hard tissue regeneration: dentin-pulp and periodontal regeneration. **Head & Face Medicine**, Omaha, v.2, n.16, p.1-9, 25 May 2006.

FAVIERI, A. et al. Use of biomaterials in periradicular surgery: a case report. **JOE**, Rio de Janeiro, v.34, n.4, p.490-4, Apr. 2008.

GOLDBERG, M. et al. Application of Bioactive molecules in pulp-capping situations. **Adv Dent Res**, Montrouge, v.15, p.91-95, Aug. 2001.

GOLDBERG, M. et al. Bioactive molecules and future of pulp therapy. **American Journal of Dentistry**, Montrouge, v.16, n.1, p.66-76, Fev. 2003.

GOLDBERG, M. et al. The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry. **Dent Clin N Am**, Montrouge, v.50, p.277-298. 2006.

GOLDBERG, M.; SMITH, A. J. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biologic basis for repair and tissue engineering. **Crit Rev Oral Biol Med**, Montrouge, v.15, n.1, p.13-27, 2004.

GONÇALVES, E. A. L.; GUIMARÃES, S. A. C.; GARCIA, R. B. Proteínas morfogenéticas ósseas: terapêutica molecular no processo de reparo tecidual. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.12, n.3, p.299-304, jul./set. 1998.

GUVEN, G. et al. Effects of Mineral Trioxide Aggregate Cements on Transforming Growth Factor β 1 and Bone Morphogenetic Protein Production by Human Fibroblasts In Vitro. **JOE**, São Paulo, v.33, n.4, p.447-450, Apr. 2007.

HAAS, A. N. et al. Novas tendências na preservação do complexo dentino pulpar: materiais indutores de tecido calcificado. **Rev ABO Nac.**, Rio Grande do Sul, v.9, n.3, p.145-50, jun./jul. 2001.

HAM, A. K. et al. Preliminary evaluation of BMP-2 expression and histological characteristics during apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate. **JOE**, São Paulo, v.31, n.4, p.275-279, Apr. 2005.

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

HU, C. C. et al. Reparative dentin formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. **J Endod**, v.24, n.11, p.744-751, 1998.

IOHARA, K. et al. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. **J Dent Res**, Japão, v.83, n.8, p.590-595, Aug. 2004.

JIN, Q-M. et al. Gene therapy of Bone Morphogenetic Protein for periodontal tissue engineering. **J Periodontol**, Michigan, v.74, n.2, p.202-213, Feb. 2003.

JOVANOVIC et al. Bone reconstruction following implantation of rhBMP-2 and guided bone regeneration in canine alveolar ridge defects. **Clin Oral Impl Res**, Los Angeles, v.18, p.224-230, 2007.

KING, G. N. The importance of drug delivery to optimize the effects of bone morphogenetic proteins during periodontal regeneration. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Texas, v.2, n.2, p.131-142, 2001.

KING, G. N.; COCHRAN, D. L. Factors that modulate the effects of bone morphogenetic protein induced periodontal regeneration: A critical review. **J. Periodontol**, Texas, v.73, n.8, Aug. 2002.

KING, G. N. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 promotes wound healing in rat periodontal fenestration defects. **J Dent Res**, Massachusetts, v.76, n.8, p.1460-1470, Aug. 1997.

LAGE-MARQUES, J. L.; ANTONIAZZI, J. H. **Versão eletrônica da técnica endodôntica da Faculdade de Odontologia da USP**. São Paulo, 2008. 1 CD-Rom.

LEE, Y.L. et al. Dentin-pulp complex responses to carious lesions. **Caries Res**, Taiwan, v.40, p.256-264, 2006.

LEVIN, L. et al. Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth. **Dent Traumatol**, Munksgaard, v.17, n.3, p.120-126, June 2001.

LIU, Y. et al. Delivery mode and efficacy of BMP-2 in association with implants. **J Dent Res**, Amsterdam, v.86, n.1, p.84-89, 2007.

MAGLOIRE, H. et al. Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury. **Adv Dent Res**, France, v.15, p.46-50, Aug. 2001.

MORRIS, M. The implantation of human dentin and cementum and freshly devitalized autogenous bone into the subcutaneous tissues of the rat. **J. Periodontol.**, New York, v.46, p.284-287, 1974.

NAKASHIMA, M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. **Cytokine Growth Factor Rev**, Japão, v.16, n.3, p. 369-76, June 2005.

NAKASHIMA, M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP) -2 and -4. **J Dent Res**, Fukuoka, v.73, n.9, p.1515-1522, Sep. 1994.

NAKASHIMA, M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. **Arch Oral Biol**, v.35, p.493-497, 1990.

NAKASHIMA, M.; AKAMINE, A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. **J Endod**, Japão, v.31, n.10, p. 711-8, Oct. 2005.

NAKASHIMA, M.; REDDI, H. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. **Nature Biotechnology**, Japão, v.21, n.9, p.1025-1032, Sept. 2003.

NÖR, J. E. Tooth regeneration in operative dentistry **Operative Dentistry**, Michigan, v.31, n.6, p.633-642, 2006.

OGURA, N. et al. Differentiation of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow and enhancement of cell attachment by fibronectin. **Journal of Oral Science**, Japão, v.46, n.4, p.207-213, 2004.

REDDI, H. A. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. **Nature Biotechnolgy**, Califórnia, v.16, p.247-252, Mar. 1998.

RIPAMONTI, U. et al. Pleiotropism of bone morphogenetic proteins: from bone induction to cementogenesis and periodontal ligament regeneration. **Journal of the International Academy of Periodontology**, África do Sul, v.8, n.1, p.23-32, 2006.

RIPAMONTI, U., REDDI, A. H. Tissue engineering, morphogenesis, and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. **Crit Rev Oral Biol Med**, África do Sul, v.8, n.2, p.154-163, 1997.

RUTHERFORD, R. B. et al Bone Formation by BMP-7 transduced human gingival keratinocytes **J Dent Res**, Michigan, v.82, n.4, p.293-297, 2003.

SAITO, T. et al. Acceleration Effect of Human Recombinant Bone Morphogenetic Protein-2 on Differentiation of Human Pulp Cells into Odontoblasts. **Journal of Endodontics**, USA, v.30, n.4, p.205-208, Apr. 2004.

SIGURDSSON, T. J. et al. Bone Morphogenetic protein-2 for peri-implant bone regeneration and osseointegration. **Clin Oral Impl Res**, Califórnia, v.8, p.367-374, 1997.

SIGURDSSON, T. J. et al. Periodontal repair in dogs: recombinant human BMP-2 significantly enhances periodontal regeneration. **J Periodontol**, Califórnia, v.66, n.2, p.131-138, 1995.

SILVEIRA, A. M. V. et al. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. **Braz Dent J**, Alfenas, v.18, n.4, 299-304, 2007.

SIX, N.; LASFARGUES, J-J.; GOLDBERG, M. Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-7 (Osteogenic Protein-1) induces differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp. **Arch Oral Biol** , v.47, p.177-187, 2002.

SMITH, A. J. Vitality of the Dentin-Pulp Complex in health and disease: Growth Factors as key mediators. **Journal of Dental Education**, Birmingham, v.67, n.6, p.678-689, June 2003.

SMITH, A. J. et al. Trans-dentinal stimulation of tertiary dentinogenesis. **Adv Dent Res**, Birmingham, v.15, p.51-54, Aug. 2001.

SOMERMAN, M. J. et al. In vitro evaluation of extracts of mineralized tissues for their application in attachment of fibrous tissue, **J Periodontol**, Baltimore, v.58, p.349-351, 1986.

SYKARAS, N. et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone regeneration and osseointegration of dental implants. **Clin Oral Impl Res**, Texas, v.12, p.339-349, 2001.

TZIAFAS, D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. **Int J Dev Biol**, Grécia, v. 39, p.281-290, 1995.

TZIAFAS, D. Dentinogenic activity of allogenic plasma fibronectin on dog dental pulp **Dent Res**, Grécia, v.71, n.5, p.1189-1195, May 1992.

TZIAFAS, D. Mechanisms controlling secondary initiation of dentinogenesis: a review. **Int Endod J**, Grécia, v.27, p.61-74, 1994.

TZIAFAS, D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration. **Caries Res**, Grécia, v.38, p.314-320, May/June 2004.

TZIAFAS, D. et al Dentin regeneration in vital pulp therapy: desing principles. **Adv Dent Res**, Grécia, v.15, p.96-100 Aug. 2001.

URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, Chicago, v.15, p.893-899, 1965.

WEST, J. D.; ROANE, J. B. Limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. In: COHEN, S.; BURNS, R. C. **Caminhos da polpa**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap.8, p.191-242.

WIEBKIN, O. W. et al. Therapeutic delivery of calcitonina to inhibit external inflammatory root resorption. I. Diffusion kinetics of calcitonin through the dental root. **Endod Dent Traumatol**, Austrália, v.12, n.6, p.265-271, Dez. 1996.

WIEBKIN, O. W. et al. Therapeutic delivery of calcitonin to inhibit external inflammatory root resorption. II. Influence of calcitonina binding to root mineral. **Endod Dent Traumatol**, Austrália, v.12, n.6, p.272-276, Dez. 1996.

WIKESJÖ, U. M. E. et al. Periodontal repair in dogs: rhBMP-2 significantly enhances bone formation under provisions for guided tissue regeneration. **J Clin Periodontol**, Philadelphia, v.30, p.705-714, 2003.

WIKESJÖ, U. M. E. et al. rhBMP-2 significantly enhances guided bone regeneration. **Clin Oral Impl Res**, Philadelphia, v.15, p.194-204, 2004.

Autorizo cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização específica do autor.
Carla Christina Rodrigues Costa
Taubaté, Julho de 2008.

**Ficha catalográfica elaborada pelo
SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas / UNITAU**

C837b Costa, Carla Christina Rodrigues
BMP (Bone Morphogenetic Protein): uma abordagem terapêutica
inovadora / Carla Christina Rodrigues Costa. – 2008.
91f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Taubaté, Programa de Pós-
graduação em Odontologia, 2009.

Orientação: Prof. Dr. José Luiz Lage-Marques, Departamento de
Odontologia.

1. Proteína morfogenética óssea. 2. Dentinogênese secundária.
3. Regeneração tecidual. 4. Capeamento pulpar direto. 5. Capeamento
pulpar indireto. 6. Engenharia tecidual. I. Título.