

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Odontologia

Flávia Louise Greze

**O USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA NA RECONSTRUÇÃO DE
MAXILA ANTERIOR ATRÓFICA: um estudo de série de casos**

Belo Horizonte

2019

Flávia Louise Greze

**O USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA NA RECONSTRUÇÃO DE
MAXILA ANTERIOR ATRÓFICA: um estudo de série de casos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração: Implantodontia.

Linha de Pesquisa: Propriedades biomecânicas, físico-químicas e biocompatibilidade dos biomateriais e materiais odontológicos.

Orientador: Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta

Belo Horizonte

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Greze, Flávia Louise
G845u O uso da proteína morfogenética óssea na reconstrução de maxila anterior
atrófica : um estudo de série de casos / Flávia Louise Greze. Belo Horizonte,
2019.

53 f. : il.

Orientador: Martinho Campolina Rebello Horta
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

1. Transplante ósseo. 2. Seio do maxilar. 3. Implantes dentários. 4. Materiais biomédicos. 5. Proteínas Morfogenéticas Ósseas. I. Horta, Martinho Campolina Rebello. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 616.314-089

Flávia Louise Greze

**O USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA NA RECONSTRUÇÃO DE
MAXILA ANTERIOR ATRÓFICA: um estudo de série de casos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA:

- 1- Prof. Dr. Leandro Napier de Souza – UFMG
- 2- Prof. Dr. Maurício Greco Cosso – PUC Minas
- 3- Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta – PUC Minas

DATA DA APRESENTAÇÃO E DEFESA: 19 de agosto de 2019

A dissertação, nesta identificada, foi aprovada pela Banca Examinadora

Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta
Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Villamarim Soares
**Coordenador do Programa de Pós-graduação
em Odontologia**

AGRADECIMENTOS

À Deus por minha vida, família e amigos.

À Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais que me disponibilizou toda estrutura para adquirir os conhecimentos que transformam.

Aos meus pais, Cyril e Márcia, pelo amor, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos Fábio e Christiano, por estarem sempre ao meu lado.

Ao Vitor Freitas pelo amor e companheirismo nos momentos em que mais precisei.

Aos professores Elton Zenóbio, Fernando Mauad e Mauricio Cosso por me darem todo o suporte necessário para que este trabalho fosse concluído.

Ao Bruno Vidigal pelo empenho e suporte nas avaliações necessárias.

Ao meu orientador Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta, por proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional.

À Bolsa Assistencial oferecida pela PUC Minas durante todo o percurso do Mestrado.

Aos alunos do Programa de Mestrado da PUC Minas, pela amizade, apoio e colaboração ao longo destes anos.

Às funcionárias (Silvania e Angélica) do Programa de Pós-graduação em Odontologia da PUC Minas, por todo o apoio oferecido.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para eu obtivesse mais essa conquista.

Muito obrigada!

RESUMO

A Proteína Morfogenética Óssea (BMP) é uma alternativa aos enxertos ósseos autógenos por apresentar indução para a formação óssea, o que tem levado a resultados promissores na área da Odontologia quando associada aos biomateriais. O objetivo deste estudo é relatar uma série de casos de reconstrução óssea de maxila anterior atrófica apresentando defeitos do tipo II e III de Seibert, com enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio, avaliados por parâmetros clínicos e imaginológicos. Cinco pacientes do Departamento de Odontologia da PUC Minas apresentando defeitos do tipo II e III de Seibert foram submetidos a procedimento de reconstrução de maxila anterior atrófica utilizando a rhBMP-2 associada a Membrana de colágeno (Infuse Bone Graft, Medtronic) juntamente com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlich Bio-Oss® - Small/Large®) associado a Tela de Titânio (W-Lorenz®). A adição de uma matriz osteocondutora e da tela de titânio ao complexo rhBMP-2, foi utilizada para servir como arcabouço para dar conformação a área enxertada. A dosagem de rhBMP-2 foi de 1,5 mg/cc. No estudo foram avaliados parâmetros clínicos e imaginológicos (por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico) como espessura, altura e volume do rebordo ósseo da região anterior de maxila. Uma análise descritiva dos dados mostrou ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume, em todos os cinco pacientes um ano após a reconstrução. As únicas intercorrências trans e pós-cirúrgicas observadas foram edema e eritema pós operatório, que foi mais pronunciado durante as duas primeiras semanas, e ocorreu em todos os pacientes. Foi possível observar que a rhBMP-2 aparece como uma alternativa realista para o aumento da maxila anterior atrófica associada a defeitos desafiadores.

Palavras-chave: rhBMP-2. Reconstrução de maxila anterior atrófica. Biomateriais.

ABSTRACT

Bone Morphogenetic Protein (BMP) is an alternative to autogenous bone grafts because of the induction of bone formation, which has led to promising in the area of Dentistry when associated with biomaterials. The aim of this study was to report a series of cases of atrophic anterior maxillary bone reconstruction with Seibert type II and III defects, with bovine xenogene graft associated to a tumor model, evaluated by clinical and imaging parameters. Five patients from the Department of Dentistry of PUC Minas of type II and III defects underwent a process of reconstruction of the anterior atrophic maxilla using a rhBMP-2 membrana de colágeno (Medtronic Infusion Bone Graft) together with bovine xenogen (Geistlich Bio-Oss® - Small / Large®) associated with Titanium Screen (W-Lorenz®). The addition of an osteoconductive and titanium matrix to the rhBMP-2 complex was used to serve as a framework for the conformation of a grafted area. A dosage of rhBMP-2 was 1.5 mg / cc. No thickness were imaginary parameters (conical beam tomography) with video size, thickness, and volume of bone reconstruction from the anterior region of maxilla. A descriptive dose of the data is not a vertical direction, nor a volume, in all five patients after a reconstruction. The only trans and postoperative complications observed were postoperative edema and erythema, which were more pronounced during the previous two weeks, and occurred in all patients. It was possible to observe rhBMP-2 / ACS as an alternative for the increase of the atrophic anterior maxilla associated with the defective ones.

Keywords: rhBMP-2. Reconstruction of anterior atrophic maxilla. Biomaterials.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 A maxila anterior atrófica	13
1.2 A proteína morfogenética óssea (BMP) na reconstrução óssea em implantodontia ..	13
<i>1.2.1 Origem da BMP</i>	<i>14</i>
<i>1.2.2 Obtenção da BMP.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.3 Mecanismo de ação das BMPs.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.4 Estudo em animais.....</i>	<i>17</i>
<i>1.2.5 Estudos em humanos.....</i>	<i>18</i>
<i>1.2.6 INFUSE®</i>	<i>19</i>
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo geral.....	21
2.2 Objetivos específicos.....	21
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	23
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	51

1 INTRODUÇÃO

1.1 A maxila anterior atrófica

A necessidade de correção de pequenos ou de grandes defeitos ósseos para instalação de implantes e posterior reabilitação tornou-se rotineira na prática da Implantodontia. As técnicas de enxerto ósseo e de reconstrução parcial ou total da maxila e da mandíbula são avaliadas, basicamente, de acordo com o grau de perda óssea, do planejamento cirúrgico-protético e das condições gerais do paciente (FAVERANI *et al.*, 2014).

A maxila anterior atrófica apresenta desafios consideráveis para a reconstrução cirúrgica. A largura e a altura inadequada do rebordo alveolar frequentemente dificultam a instalação dos implantes dentários (FREITAS *et al.*, 2013).

A maxila apresenta osso com menor densidade, e com a perda do osso alveolar pós extração sua cortical é reabsorvida em toda a sua extensão no sentido vestibulo-palatal, produzindo uma discrepância entre maxila e mandíbula. A reabsorção óssea é um processo progressivo, irreversível, crônico e cumulativo, a perda é de 25% no primeiro ano pós extração e a seguir 0,2 mm ao ano, com modificações quatro vezes maiores se comparada à mandíbula (MAZZONETTO, 2012).

Os defeitos ósseos alveolares podem ser classificados com relação ao componente horizontal e vertical, sendo definidos como: Classe I Defeito em espessura (vestíbulo - lingual), com altura normal (ápico - coronal); Classe II Defeito em altura (ápico - coronal), com espessura normal (vestíbulo - lingual) e Classe III Defeito combinado (perda em espessura e em altura) (SEIBERT, 1983).

A instalação de implantes em áreas com perda óssea vertical (classe II ou III de Seibert) pode estar associada a uma relação coroa-implante desfavorável (distância intermaxilar aumentada), resultado estético insatisfatório e dificuldades de higienização, prejudicando o prognóstico do tratamento (ROCCHIETTA; FONTANA; SIMION, 2008).

1.2 A proteína morfogenética óssea (BMP) na reconstrução óssea em implantodontia

Em casos de deficiência óssea local, uma variedade de técnicas e materiais tem sido utilizada para a reconstrução de defeitos ósseos na região maxilofacial. Tradicionalmente, enxertos ósseos autólogos, alogênicos e xenogênicos têm sido utilizados para esse fim (FERNANDES *et al.*, 2018).

O osso autógeno tem a capacidade de induzir a formação óssea por osteogênese, osteoindução e osteocondução. As vantagens de sua utilização estão na qualidade do osso formado, antigenicidade, custo reduzido e previsibilidade (MISCH *et al.*, 2015).

A desvantagem em utilizar o osso autógeno, e não menos importante, se deve ao fato da necessidade de uma área doadora, o que leva a dor, perda de função temporária, limitação à quantidade de material doador disponível, e ainda a necessidade da criação de uma área cirúrgica adicional, o que leva a maior morbidade (MISCH *et al.*, 2015).

As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), descritas pela primeira vez por Urist em 1965, são membros da superfamília do fator de crescimento transformador beta (TGF- β), e têm sido associados à mediação de vias de sinalização, que leva à proliferação e diferenciação de células envolvidas na indução da formação óssea (URIST, 1965, KIM *et al.*, 2018).

A Proteína morfogenética óssea (BMP) é de ocorrência natural e presente na matriz colágena do tecido ósseo. Ela demonstra ser osteoindutora e estimula a conversão de células mesenquimais indiferenciadas em fenótipos osteoblásticos, resultando em formação óssea clinicamente relevante (PELAEZ *et al.*, 2014).

As BMPs são moléculas diméricas (16-30 kd), com duas cadeias ligadas entre si, por uma ponte dissulfídica. Até o momento, cerca de 20 proteínas pertencentes à família BMP foram identificadas. À exceção da BMP-1, BMP-2 até BMP-9 fazem parte da superfamília TGF-b, dividindo um alto grau de homologia dentro dos domínios carboxi-terminais ricos em cisteína (GIORDANO; GIORDANO; KNACKFUSS, 2000).

O desenvolvimento da rhBMP (Proteína Morfogenética Óssea Recombinate Humana), sua disponibilidade comercial e aplicabilidade terapêutica são motivos de vários estudos em modelos animais e humanos. Os avanços em relação a compreensão da formação óssea utilizando a proteína tem levado a um aumento da sua utilização nos procedimentos de reconstrução (SHIMONO *et al.*, 2010).

1.2.1 Origem da BMP

Urist (1965), ao realizar estudos sobre a regeneração óssea observou que o osso desvitalizado e seus extratos induziam a formação óssea quando implantados em tecido intramuscular ou subcutâneo. Após essa observação, ele nomeou o responsável pela diferenciação de BMP.

Após vários estudos para purificação da proteína e clonagem da mesma, pode ser observado que a atividade osteoindutora era originada de uma família de proteínas morfogenéticas (BOYNE *et al.*, 2006).

1.2.2 Obtenção da BMP

As BMPs são proteínas de baixo peso molecular, com mais de vinte tipos descritos na literatura. Dentre as existentes as que possuem capacidade de produzir formação óssea por osteoindução são a BMP-2, BMP-4, BMP-6 e BMP-7. Os resultados obtidos utilizando a BMP-2 e a BMP-4 são os mais significativos atualmente (MAZZONETTO, 2012).

A obtenção da BMP ocorre por isolamento do gene da proteína, com posterior recombinação em um grupo isolado de células e subsequente clonagem para a produção da proteína desejada, sendo agora denominada de Proteína Óssea Recombinante Humana (rhBMP) (WOZNEY *et al.*, 1988).

1.2.3 Mecanismo de ação das BMPs

A BMP possui múltiplas funções na morfogênese e no padrão de formação dos vertebrados, não apenas no desenvolvimento do esqueleto, mas também em outros tecidos e órgãos. Informações em relação à importância das BMPs durante a formação inicial e desenvolvimento, assim como evidências para basear a necessidade de múltiplas BMPs provém de estudos em ratos. Em regiões anatômicas específicas de ratos, condensações celulares são alteradas na forma e tamanho ou completamente ausentes na ausência ou presença das proteínas (WOZNEY *et al.*, 1988).

Através de células híbridas somáticas e sondas de hibridização de cDNA foi possível mapear as BMP-1 a BMP-7 para os seguintes cromossomos humanos: BMP-1 no cromossomo 8; BMP-2 e BMP-7 no cromossomo 20; BMP-3 no cromossomo 4; BMP-4 no cromossomo 14; BMP-5 e 6 no cromossomo 6. Como outros membros da superfamília TGF- β , foi encontrado uma grande dispersão dos genes das BMPs por todo o genoma humano, e esta dispersão facilita o desenvolvimento de várias funções tecido-específicas (WOZNEY *et al.*, 1988).

As maiores evidências para o envolvimento das BMPs na embriogênese provém do isolamento dos mRNA para as BMPs em vários tecidos, sugerindo funções múltiplas tanto na morfogênese quanto no padrão de formação fora do esqueleto. A hibridização “in situ”

evidenciou que o mRNA da BMP-2 é expresso durante o desenvolvimento dos membros, coração, dentes, mesênquima craniofacial e olhos (LEE, 1997).

Dentre as BMPs, principalmente BMP-2, BMP-4 e BMP-7 (ou proteína osteogênica-1) têm demonstrado capacidade de induzir formação óssea e cartilaginosa *in vivo*. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm sucessivamente mostrado a ação de reguladores pleiotrópicos das BMP, uma vez que participam de inúmeros eventos do processo de consolidação de fratura (GIORDANO; GIORDANO; KNACKFUSS, 2000).

Rasubala *et al.* (2003) utilizaram modelo experimental em ratos e realizaram reação imunohistoquímica para avaliar a localização espacial e temporal de BMP2, e foi observado que em três dias ocorre forte marcação em células osteogênicas em proliferação no periósteo, entre sete e quatorze dias osteoblastos e células multinucleadas foram identificadas em osso imaturo, e em 28 dias poucos osteoblastos apresentaram-se marcados.

As BMP-4, BMP-7 e BMP-8 se expressam por um limitado período durante a cicatrização da fratura (14 a 21 dias). BMP-5 e BMP-6 e outros membros da superfamília do TGF- β são expressos de três a 21 dias durante a fratura em camundongos, sugerindo que eles têm um efeito regulador em ambas às ossificações intramembranosa e endocondral (CHO; GERSTENFELD; EINHORN, 2009).

As BMPs osseoindutoras regulam os três passos da cascata de regeneração óssea, que incluem quimiotaxia, mitose e diferenciação celular, além do processo de ossificação propriamente dito. A ossificação induzida por BMPs pode ser realizada de duas maneiras: através de uma formação cartilaginosa prévia, ossificação endocondral ou indireta, que estimula células indiferenciadas a se multiplicarem e se diferenciarem, inicialmente, em fenótipo condroblástico. A partir do tecido cartilaginoso formado como base, uma segunda onda de migração ocorrerá, onde células indiferenciadas se transformarão em osteoblastos. O outro tipo de formação óssea ocorre através da diferenciação de células progenitoras diretamente em células ósseas, ossificação intramembranosa ou direta (LI; WOZNEY, 2001).

A cascata de sinalização das BMPs é composta por dois receptores transmembranares: tipo I e tipo II. Estes receptores são ativados ligando-se a moléculas BMP extracelulares e ativa vias como a Smad dependente (CARREIRA *et al.*, 2014).

As BMPs apresentam características osteoindutivas quando combinadas a uma esponja absorvível de colágeno e são implantadas no corpo, sendo capazes de induzir a migração, proliferação e diferenciação das células mesenquimais em osteoblastos (MEDTRONIC, 2018).

1.2.4 Estudo em animais

Hanisch *et al.* (1997) avaliaram defeitos periimplantares após tratamento com rhBMP-2. Foram inseridos bilateralmente implantes de superfície de hidroxiapatita na área de pré-molares de maxila e mandíbula de macacos *Rhesus*. Após um ano do período de osseointegração foi induzido periimplantite nas regiões, o que resultou em defeitos circunferenciais. Os defeitos foram aleatoriamente preenchidos com rhBMP-2 e esponja de colágeno absorvível (ACS), e os quadrantes contralaterais apenas com o carreador. Foi observado ganho ósseo vertical significativo entre o teste e o controle. Após o estudo concluíram que a rhBMP-2 possui capacidade de promover a formação óssea em defeitos avançados de periimplantite em animais.

Boyne, Nakamura e Shabahang (1999) e Boyne *et al.* (2006) avaliaram reconstruções de defeitos de continuidade em mandíbulas de primatas de meia idade e envelhecidos com a utilização de rhBMP-2. Seis primatas em cada estudo sofreram hemimandibulectomias bilaterais e foram reconstruídos com 0,75 mg de rhBMP-2 associado a esponja de colágeno. Em ambos os estudos foi observado que após quatro meses houve regeneração completa dos defeitos de tamanho crítico. Os animais receberam dois implantes nas áreas reconstruídas e colocados em função após quatro meses. Os resultados indicaram que a regeneração de defeitos mandibulares de tamanho crítico com o uso da rhBMP-2 em animais idosos é comparável ao grupo de meia idade.. Extrapolando os resultados ao nível clínico, seria de esperar que a rhBMP-2 produzisse um resultado comparável na regeneração de grandes defeitos do tipo hemimandibulectomia em pacientes humanos clínicos.

Em um estudo para avaliação da dosagem da utilização da rhBMP-2 foram utilizados cento e sessenta e oito ratos para fornecer observações radiográficas e de microscopia de luz da formação / maturação óssea e eventos aberrantes em 2, 4 e 8 semanas após a aplicação de rhBMP-2 / ACS em tamanho crítico de 8 mm de diâmetro. As dosagens foram de 1,25, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 μg de rhBMP-2. Os resultados evidenciaram que as dosagens de 1,25 a 2,5 μg apresentam propriedades indutivas essenciais. Dosagens superiores a 2,5 μg não induziram formação óssea adicional e não promoveram nenhum evento adverso significativo (PELAEZ *et al.*, 2014).

1.2.5 Estudos em humanos

Herford e Boyne (2008) avaliaram reconstruções de defeitos de continuidade após ressecção de mandíbula. As reconstruções foram realizadas em 14 pacientes com rhBMP-2 (1,5 mg/cc) associado a ACS. Não foi utilizado nenhum material de enxerto adicional. Os casos foram seguidos ao longo de um período de 6 a 18 meses. A função oclusal foi restaurada com próteses implantadas ou convencionais. Todos os casos relatados tiveram restauração óssea bem sucedida. A formação óssea na área cirúrgica pode ser palpada no final de 3 a 4 meses e identificada radiograficamente ao final de 5 a 6 meses. Este estudo indicou que o uso de rhBMP-2 sem materiais de enxerto ósseo concomitantes em grandes defeitos mandibulares de tamanho crítico produziu excelente regeneração da área estabelecendo a base para o retorno da função mastigatória.

Freitas *et al.* (2013) compararam o uso da proteína morfogenética óssea recombinante humana (rhBMP-2) com enxerto ósseo autógeno para aumento de maxila anterior atrófica desdentada. Vinte e quatro indivíduos foram inscritos em um ensaio clínico randomizado. Os indivíduos receberam rhBMP-2 (1,5 mg / ml) ou osso autógeno particulado retirado da região retromolar mandibular. Uma tela de titânio foi usada para fornecer espaço e estabilidade à ferida. Os parâmetros para avaliação de volume ósseo foram obtidos através de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico comparando nível apical, médio e basal. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre o ganho ósseo horizontal do grupo que utilizou o enxerto autógeno comparado ao grupo que utilizou a rhBMP-2. Como conclusão o estudo demonstrou que a rhBMP-2 aparece como uma alternativa realista para o aumento de maxila anterior atrófica edêntula.

Um estudo realizado para avaliação de ganho vertical em maxila foi realizado através da utilização de enxerto xenógeno de origem bovina associado a rhBMP-2 e tela de titânio. Um total de 15 pacientes foi submetido ao procedimento de reconstrução e foi observado através da análise de TCFC o ganhos vertical. Os ganhos ósseos verticais máximos variaram de 4,4 a 16,3 mm. Após seis meses da cicatrização os implantes foram inseridos em todos os pacientes. Todos os implantes foram osseointegrados e submetidos a carga sem alteração (MISCH *et al.*, 2015).

1.2.6 INFUSE®

O Indutor Ósseo INFUSE® é um dispositivo que consiste de dois componentes: A rhBMP-2 e um veículo para a proteína morfogenética óssea, a esponja de colágeno absorvível (ACS). A proteína é uma versão de engenharia genética da proteína natural humana, normalmente encontrada em pequenas quantidades no corpo. O propósito da proteína é estimular a formação óssea (MEDTRONIC, 2018).

A rhBMP-2 e excipientes são liofilizados. Na reconstituição, cada milímetro de solução rhBMP-2 contém: 1,5 mg de rhBMP-2; 5,0 mg de sacarose, NF; 25 mg de glicina, USP; 3,7 mg de ácido L-glutâmico, FCC; 0,1 mg de cloridrato de sódio, USP; 0,1 mg de polysorbato 80NF e 1,0 ml de água estéril de injeção. A reconstituição da solução rhBMP-2 tem o pH de 4,5 e é limpo, incolor e essencialmente livre de substâncias particularmente visíveis (MEDTRONIC, 2018).

A ACS é uma matriz implantável absorvente, leve, branca e maleável feita de colágeno bovino tipo I, obtido do tendão flexor profundo (Aquiles). A ACS age como um veículo (carreador) para a rhBMP-2 (MEDTRONIC, 2018).

A rhBMP-2 se fixa naturalmente na esponja de colágeno. No entanto é necessário um mínimo de 15 minutos após a aplicação da proteína na esponja para assegurar a suficiente incorporação da mesma no carreador. Após 15 minutos da aplicação da proteína, 95% da proteína está seguramente fixada na esponja de colágeno. A incorporação oferece a vantagem da colocação da esponja de colágeno com rhBMP-2 cirurgicamente, minimizando a perda de rhBMP-2 se ela for comprimida durante o manuseio. A rhBMP-2 deve ser usada dentro de duas horas após a aplicação da proteína na esponja. Esta limitação é estabelecida apenas por precaução para evitar o ressecamento da esponja. Uma vez implantada, a esponja de colágeno será reabsorvida dentro de quatro a seis semanas via degradação celular pelos macrófagos. O colágeno promove uma superfície favorável para a fixação celular durante a formação osteoide precoce e então segue a reabsorção (MEDTRONIC, 2018).

Cada embalagem contém todos os componentes necessários para preparar o componente de Indutor Ósseo INFUSE®: A rhBMP-2 que deve ser reconstituída, água estéril, esponja de colágeno absorvível, seringas com agulhas, acompanhados de instruções de preparo. O número de cada item pode variar dependendo do tamanho a ser utilizado (MEDTRONIC, 2018).

A rhBMP-2 é fornecido como um pó liofilizado, em frascos distribuídos com 4,2 mg ou 12 mg de proteína. Após apropriada reconstituição, ambas as configurações resultam na

mesma formulação e concentração (1,5 mg/cc) de rhBMP-2. A solução é então aplicada para fornecer a(s) esponja(s) de colágeno absorvível. O componente do Indutor Ósseo INFUSE® é preparado no momento da cirurgia e exige uma quantidade prescrita de tempo (não menos que 15 minutos) (MEDTRONIC, 2018).

Nos últimos anos, a proteína morfogenética óssea humana recombinante 2 (rhBMP-2; Infuse, Medtronic) tornou-se uma opção alternativa para o enxerto ósseo. A vantagem significativa da rhBMP-2 é a capacidade de reconstruir defeitos ósseos sem a morbidade associada ao sítio cirúrgico de uma área doadora (HART; BOWLES, 2012).

Em 2007 a FDA aprovou o uso da rhBMP-2 associada a esponja de colágeno absorvível (ACS), para aplicação em procedimentos de levantamento de seio maxilar e regeneração localizada da crista alveolar associada a cavidades pós-extração. O uso de rhBMP-2 fora das indicações aprovadas pelo FDA é considerado “off label”. As utilizações off label da rhBMP-2 incluem reparo da fissura de palato, reconstrução de atrofia severa dos maxilares, defeitos segmentares após ressecção de tumores, tratamento da osteonecrose induzida por bifosfonatos e osteorradionecrose e reconstrução de atrofia severa de maxila em sua totalidade (FERNANDES *et al.*, 2018; JUNG *et al.*, 2017).

Diante do exposto, a dissertação tem por objetivo relatar uma série de casos de reconstrução óssea de maxila anterior atrófica apresentando defeitos de classe II e III de Seibert. As reconstruções foram realizadas com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlich Bio-Oss®) associado a rhBMP-2 e membrana de colágeno (INFUSE®) e conformados por meio de uma tela de titânio (W-LORIZ®). As reconstruções foram avaliadas por parâmetros clínicos e por parâmetros imaginológicos, obtidos por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Relatar uma série de casos de reconstrução óssea de maxila anterior atrófica apresentando defeitos do tipo II e III de Seibert, com enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio, avaliados por parâmetros clínicos e imaginológicos.

2.2 Objetivos específicos

- a) avaliar intercorrências trans e pós-cirúrgicas (dor, edema, eritema, exposição de tela e infecção);
- b) avaliar formação de tecido ósseo linear vertical e horizontal nos níveis apical, médio e cristal por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico após um ano da reconstrução com o enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio;
- c) avaliar o volume do enxerto por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico após um ano da reconstrução com o enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

O uso da proteína morfogenética óssea na reconstrução de maxila anterior atrófica: um estudo de série de casos

Artigo apresentado de acordo com as normas do periódico: **Journal of Periodontology (Qualis A1)**.

Normas para submissão de artigos podem ser encontradas no endereço eletrônico:
<https://aap.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/19433670/homepage/forauthors.html>

O uso da proteína morfogenética óssea na reconstrução de maxila anterior atrófica: um estudo de série de casos

Flávia L. Greze¹, Bruno C.L. Vidigal², Elton G. Zenóbio³, Maurício G. Cosso³, Martinho C.R. Horta³

¹ Programa de Pós-graduação em Odontologia, Mestrado Profissional em Implantodontia, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

² Professor, Departamento em Odontologia, Newton Paiva, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

³ Professor Adjunto, Departamento de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

Autor Correspondente:

Dr. Martinho Campolina Rebello Horta - Av. Dom José Gaspar, Prédio 46 - Programa de Pós-graduação em Odontologia, Coração Eucarístico, CEP: 30535-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

Telefone: 55 31 3319-4414

E-mail: martinhohorta@pucminas.br

RESUMO

Introdução: A Proteína Morfogenética Óssea (BMP) é uma alternativa aos enxertos ósseos autógenos por apresentar indução para a formação óssea, o que tem levado a resultados promissores na área da Odontologia quando associada aos biomateriais.

Métodos: Cinco pacientes do Departamento de Odontologia da PUC Minas apresentando defeitos do tipo II e III de Seibert foram submetidos a procedimento de reconstrução de maxila anterior atrófica utilizando a rhBMP-2 / ACS (Infuse Bone Graft, Medtronic) juntamente com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlich Bio-Oss® - Small/Large®) associado a Tela de Titânio (W-Lorenz®). A adição de uma matriz osteocondutora e da tela de titânio ao complexo rhBMP-2 / ACS, foi utilizada para servir como arcabouço para dar conformação a área enxertada. A dosagem de rhBMP-2 foi de 1,5 mg/cc. No estudo foram avaliados parâmetros clínicos e imaginológicos (por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico) como espessura, altura e volume do rebordo ósseo da região anterior de maxila.

Resultados: Uma análise descritiva dos dados mostrou ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume, em todos os cinco pacientes um ano após a reconstrução. As únicas intercorrências trans e pós-cirúrgicas observadas foram edema e eritema pós operatório, que foi mais pronunciado durante as duas primeiras semanas, e ocorreu em todos os pacientes.

Conclusão: Foi possível observar que a rhBMP-2 / ACS aparece como uma alternativa realista para o aumento da maxila anterior atrófica associada a defeitos desafiadores.

PALAVRAS-CHAVE

rhBMP-2, Reconstrução de maxila anterior atrófica, Biomateriais

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento promissor no campo da osseointegração, biomateriais e técnicas cirúrgicas avançadas levaram ao sucesso das reabilitações por meio dos implantes osseointegrados.¹

A maxila anterior atrófica apresenta desafios consideráveis para a reconstrução cirúrgica. A largura e a altura inadequada do rebordo alveolar frequentemente dificulta a instalação dos implantes dentários.²

Uma variedade de técnicas e materiais tem sido utilizada para a reconstrução de defeitos ósseos na região maxilofacial. Em caso de deficiências ósseas locais, enxertos ósseos autólogos, alogênicos e xenogênicos têm sido utilizados para esse fim.^{3,4}

O osso autógeno tem a capacidade de induzir a formação óssea por osteogênese, osteoindução e osteocondução. As vantagens de sua utilização estão na qualidade do osso formado, antigenicidade, custo reduzido e previsibilidade.⁵

A desvantagem em utilizar o osso autógeno, e não menos importante, se deve ao fato da necessidade de uma área doadora, o que leva a dor, perda de função temporária, limitação à quantidade de material doador disponível, e ainda a necessidade da criação de uma área cirúrgica adicional, o que leva a maior morbidade.⁵

As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) são membros da superfamília do fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e foram descritas pela primeira vez por Urist em 1965, e têm sido associados à mediação de vias de sinalização, que leva à proliferação e diferenciação de células envolvidas na indução da formação óssea.⁶⁻⁸

As BMPs participam do desenvolvimento embrionário (membros, estrutura craniofacial, modelação do sistema nervoso, formação da crista neural), organogênese e morfogênese dentária.⁹

Dentre as BMPs, principalmente BMP-2, BMP-4 e BMP-7 (ou proteína osteogênica-1) têm demonstrado capacidade de induzir formação óssea e cartilaginosa in vivo. Estudos in vitro e in vivo têm sucessivamente mostrado a ação de reguladores pleiotrópicos das BMP, uma vez que participam de inúmeros eventos do processo de consolidação de fratura.¹⁰

Nos últimos anos, a proteína morfogenética óssea humana recombinante 2 (rhBMP-2; Infuse, Medtronic) tornou-se uma opção alternativa para o enxerto ósseo. A vantagem significativa da rhBMP-2 é a capacidade de reconstruir defeitos ósseos sem a morbidade associada ao sítio cirúrgico de uma área doadora.¹¹

Em 2007 a FDA aprovou o uso da rhBMP-2 associada a esponja de colágeno absorvível (ACS), para aplicação em procedimentos de levantamento de seio maxilar e regeneração localizada da crista alveolar associada a cavidades pós-extração. O uso de rhBMP-2 fora das indicações aprovadas pelo FDA é considerado “off label”. As utilizações off label da rhBMP-2 incluem reparo da fissura de palato, reconstrução de atrofia severa dos maxilares, defeitos segmentares após ressecção de tumores, tratamento da osteonecrose induzida por bifosfonatos e osteorradionecrose e reconstrução de atrofia severa de maxila.^{3,12}

Os defeitos ósseos alveolares podem ser classificados com relação ao componente horizontal e vertical, sendo definidos como: Classe I Defeito em espessura (vestíbulo - lingual), com altura normal (ápico - coronal); Classe II Defeito em altura (ápico - coronal), com espessura normal (vestíbulo - lingual) e Classe III Defeito combinado (perda em espessura e em altura).¹³

Os desafios para as reconstruções complexas na região maxilofacial sem a utilização do enxerto ósseo autógeno levaram ao desenvolvimento do artigo apresentado. Diante do exposto, temos por objetivo relatar uma série de casos de reconstrução óssea de maxila anterior atrófica apresentando defeitos de classe II e III de Seibert. As reconstruções foram

realizadas com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlic Bio-Oss®) associado a rhBMP-2 e membrana de colágeno (ACS) (INFUSE®) e conformados por meio de uma tela de titânio (W-LORIZ®). As reconstruções foram avaliadas por parâmetros clínicos e por parâmetros imaginológicos, obtidos por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico.

DESCRIÇÃO DOS CASOS E RESULTADOS

Amostra

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de acordo com o processo CAAE nº 10199619.0.0000.5137.

Esta série foi composta por cinco casos clínicos.

Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo cinco indivíduos com boa saúde geral atendidos no Departamento de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, que apresentavam defeitos do tipo II e III de Seibert em região de maxila anterior.

Critérios de exclusão

Indivíduos menores de 18 anos, fumantes, portadores de diabetes, discrasias sanguíneas, pacientes que faziam uso crônico de agentes anticoagulantes, gestantes e lactantes.

Material utilizado

Foi utilizado a rhBMP-2 / ACS (Infuse Bone Graft, Medtronic) juntamente com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlic Bio-Oss® - Small/Large®) associado a Tela de Titânio (W-Lorenz®). A adição de uma matriz osteocondutora e da tela de titânio ao

complexo rhBMP-2 / ACS, foi utilizada para servir como arcabouço para dar conformação a área enxertada. A dosagem de rhBMP-2 foi de 1,5 mg/cc.

Protocolo cirúrgico

Os pacientes selecionados foram medicados igualmente com:

- a) Amoxicilina 500 mg - 1 hora antes do procedimento e mantida a cada 8 horas por 7 dias;
- b) Nimesulida 100 mg - 1 hora antes do procedimento e mantida a cada 12 horas por 3 dias.
- c) Dipirona sódica 500mg – 1 hora antes da cirurgia e mantida a cada 8 horas em caso de dor.

A técnica cirúrgica consistiu na realização de um retalho mucoperiosteal na região da crista anterior do rebordo alveolar de maxila contendo duas relaxantes. O leito receptor foi descorticalizado e sofreu pequenas perfurações para suprimento vascular do Bio-Oss® que foi inserido acima da membrana de colágeno associada a rhBMP-2. A tela de titânio foi parafusada no leito cirúrgico. O formato da tela foi definido anteriormente por meio de modelo prototipado no qual foi realizada adaptação e conformação antes do procedimento cirúrgico.

Parâmetros clínicos avaliados

Intercorrências trans e pós-cirúrgicas (dor, edema, eritema, exposição de tela e infecção).

Parâmetros imaginológicos avaliados

Formação de tecido ósseo linear vertical e horizontal nos níveis apical, médio e da crista óssea por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico após um ano da reconstrução com o enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio.

Avaliação do volume do enxerto por meio de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico após um ano da reconstrução com o enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio.

Método de registro tomográfico

As imagens da região anterior de maxila foram realizadas no tomógrafo Somaton Sensation 128 detectores (Siemens AG, Erlangen, Alemanha) seguindo o protocolo técnico: 120 kVp e 200 mA, 160 mm campo de visão, 0,7 mm de espessura, 0° angulação do gantry.

Método de análise das imagens tomográficas

Medidas volumétricas e lineares

Foram realizadas medidas volumétricas e lineares utilizando o software para IOS Osirix MD Imaging 6.5 (Pixmeo Genebra, Suíça) das regiões anteriores adquiridas.

As imagens foram delimitadas manualmente por um radiologista treinado utilizando a ferramenta *pencil* do software Osirix MD Imaging 6.5 (Pixmeo Genebra, Suíça).

A medida do volume foi realizada delimitando toda a extensão da região anterior de maxila pelo corte sagital por meio da ferramenta de delimitação *Generate Missing Rols* (*Region of Interest*) e em seguida calculado o volume da região anterior com a ferramenta *Compute Volume* (Fig. 1).

As medidas lineares foram realizadas pelo corte sagital tendo como referência o soalho da cavidade nasal. Foram realizadas medidas no mesmo corte para as regiões apical, média e

crystal. Foi levada em consideração a área desdentada referente ao elemento perdido, ou seja, uma medida de cada variável para cada elemento perdido (Fig. 2).

Avaliação descritiva dos casos

Foram analisados 5 pacientes, sendo 3 (60%) do sexo masculino e 2 (40%) do sexo feminino. Os defeitos apresentados pelos pacientes incluíram os do tipo II e III de Seibert, sendo oriundos de trauma e atrofia de rebordo (Tabela 1).

A paciente 1 chegou ao serviço com queixa álgica e de instabilidade das próteses retidas sobre dentes e implantes. Ao exame clínico e tomográfico foi observada extensa reabsorção óssea ao redor do implante referente ao elemento 12, próteses ferulizadas entre dentes e implantes, e reabsorção da tábua óssea referente ao elemento 13 e 22. Foi observado também ausência do elemento 11. Foi proposto para a paciente a remoção do implante 12, exodontia do elemento 13 e 22, realização do implante referente ao elemento 22, e simultaneamente a reconstrução da área com rhBMP-2 associado ao Bio-Oss® e conformado por uma tela de titânio. A paciente permaneceu com uma prótese fixa durante o período de um ano, retida nos implantes 21 e 14 que não se apresentavam perdidos. Após esse período a reabilitação com novos implantes será realizada.

Os pacientes 2, 4 e 5 compareceram ao serviço após dar entrada no Pronto Atendimento de suas cidades por terem sofrido trauma na região anterior de maxila. O paciente 2 sofreu queda de uma altura de dois metros com traumatismo na região anterior de maxila. Foi observado luxação lateral e intrusiva do elemento 11, luxação lateral do elemento 21 e fratura longitudinal no terço apical e médio com luxação lateral no elemento 22, o que resultou em perda de grande parte da tábua óssea vestibular nas áreas associadas. O paciente 4 sofreu um trauma frontal de bicicleta resultando em um impacto na região anterior de maxila com avulsão dos elementos 11 e 21, o que resultou na perda da tábua óssea vestibular (Fig. 3).

A paciente 5 sofreu um trauma de própria altura na região anterior de maxila com avulsão dos elementos 11 e 21, o que resultou na perda da tábua óssea vestibular. Devido à grande perda de tecido ósseo na parede vestibular dos três pacientes citados, e por se tratar de uma zona estética e com alto teor de exigência foi proposto a reconstrução da área com rhBMP-2 associado ao Bio-Oss®, e conformado por meio de uma tela de titânio (Fig. 4). Os pacientes permaneceram por um ano com uma prótese fixa estabilizada com auxílio de um aparelho ortodôntico, para evitar qualquer trauma na região reconstruída.

O paciente 3 compareceu ao serviço após observar perda de estabilidade nas próteses retidas sobre implantes referente aos elementos 11 e 21. Ao exame clínico e tomográfico (exames anteriores a instalação dos implantes) foi possível observar que o paciente já apresentava um defeito do tipo III de Seibert, e mesmo assim, os implantes foram instalados, e após um período de aproximadamente três anos foi observado extensa reabsorção óssea associada aos implantes instalados, o que resultou na perda dos mesmos. Foi proposto ao paciente a reconstrução da área com rhBMP-2 associado ao Bio-Oss® e conformado por uma tela de titânio. O paciente permaneceu com uma prótese fixa estabilizada com auxílio de um aparelho ortodôntico, para evitar qualquer trauma na região reconstruída.

Em todos os pacientes foram utilizadas a rhBMP-2 / ACS (Infuse Bone Graft, Medtronic) juntamente com enxerto xenógeno de origem bovina (Geistlich Bio-Oss® - Small/Large®) associado a Tela de Titânio (W-Lorenz®). A adição de uma matriz osteocondutora e da tela de titânio ao complexo rhBMP-2 / ACS, foi utilizada para servir como arcabouço para dar conformação a área enxertada. A dosagem de rhBMP-2 foi de 1,5 mg/cc. Não ocorreram intercorrências durante o procedimento cirúrgico.

As únicas intercorrências trans e pós-cirúrgicas observadas foram edema e eritema pós operatório, que foi mais pronunciado durante as duas primeiras semanas, e ocorreu em todos

os pacientes, sendo os mesmos orientados quanto a utilização da crioterapia, anti-inflamatório e observação das vias aéreas.

A tabela 2 descreve detalhadamente os valores de altura, espessura e volume dos pacientes antes e após um ano da reconstrução. Uma análise descritiva destes dados mostra ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume, em todos os cinco pacientes um ano após a reconstrução.

Apenas no caso 3 foi observado discreta perda em espessura na região cristal do elemento 21 sem proporcionar perda do volume do enxerto, que variou de 1,38 cm³ para 2,65 cm³.

DISCUSSÃO

Enxertos ósseos autógenos, tanto particulados quanto em blocos, têm sido considerados como o padrão ouro para o aumento do rebordo alveolar.¹⁴

As suas características osteocondutoras, osteoindutoras e osteogênicas o fazem preencher todos os requisitos principais para que ocorra neoformação óssea no leito receptor.¹⁵ Segundo Misch et al.⁵ a desvantagem em utilizar o osso autógeno, e não menos importante, se deve ao fato da necessidade de uma área doadora, o que leva a dor, perda de função temporária, limitação à quantidade de material doador disponível, e ainda a necessidade da criação de uma área cirúrgica adicional, o que leva a maior morbidade.⁵

Em um estudo para avaliação da dosagem da utilização da rhBMP-2 foram utilizados cento e sessenta e oito ratos para fornecer observações radiográficas e de microscopia de luz da formação / maturação óssea e eventos aberrantes em 2, 4 e 8 semanas após a aplicação de rhBMP-2 / ACS em tamanho crítico de 8 mm de diâmetro. As dosagens foram de 1,25, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 µg de rhBMP-2. Os resultados evidenciaram que as dosagens de 1,25 a 2,5 µg

apresentam propriedades indutivas essenciais. Dosagens superiores a 2,5 μg não induziram formação óssea adicional e não promoveram nenhum evento adverso significativo.¹⁴

Nesse contexto, a rhBMP-2 apresenta um alto potencial como substituto ósseo por estimular a angiogênese, bem como a migração, proliferação e diferenciação de células tronco mesenquimais em um fenótipo de células ósseas e cartilaginosas.¹⁶⁻¹⁸

Sítios com menos paredes ósseas circundantes e atrofia mais pronunciada são mais exigentes e requerem materiais e/ou técnicas que ofereçam maior atividade biológica e capacidade regenerativa. Como regra geral, o aumento ósseo onlay vertical é mais biologicamente e clinicamente desafiador do que o aumento ósseo horizontal.^{5,6,11}

Em nosso estudo de série de casos foram estudados defeitos desafiadores, sendo incluídos aqueles do tipo II e III de Seibert, para que fosse avaliado o potencial da proteína em reestabelecer defeitos críticos.

Uma análise descritiva dos valores de altura, espessura e volume dos rebordos dos pacientes antes e após a reconstrução mostra ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume, em todos os cinco pacientes um ano após a reconstrução (Tabela 2).

Em um estudo de revisão sistemática conduzido por Fernandes et al.³, foi avaliada a taxa de sucesso da rhBMP-2 como material de enxertia na reconstrução da crista alveolar, preservação do alvéolo dentário e enxertos de seio maxilar inlay antes da colocação dos implantes dentários. Os desfechos secundários foram: efeitos adversos e complicações na região do enxerto, associação ou não com outros materiais de enxertia, quantidade e qualidade do osso neoformado, acompanhamento clínico e radiográfico, sucesso dos implantes e próteses implantossuportadas nas áreas enxertadas com rhBMP-2. Os estudos incluídos nesta revisão sistemática mostraram altas taxas de sucesso na regeneração óssea

antes da colocação do implante. O ganho médio foi de 8,01 mm de altura variando de 4,3 e 10,4 mm. Em largura, o ganho médio foi de 3,99 mm, variando de 2,16 a 6,59 mm.³

As únicas intercorrências trans e pós-cirúrgicas observadas em nossos pacientes foram edema e eritema pós operatório, que foi mais pronunciado durante as duas primeiras semanas em todos os pacientes. Como o fator de crescimento apresenta alto potencial quimiotático para as células inflamatórias, espera-se que a presença da rhBMP-2 esteja associada a fenômenos inflamatórios como aumento do fluxo sanguíneo local e aumento da permeabilidade vascular, com consequente exsudação leucocitária e plasmática, o que explica o extenso edema e eritema presentes nos pacientes submetidos ao procedimento de reconstrução. A observância da constrição das vias aérea é fator fundamental no acompanhamento pós operatório.^{10,12,19}

Outra complicação que não ocorreu em nosso estudo, mas que pode acontecer quando se utiliza a malha de titânio, é a sua exposição. A malha de titânio tem se mostrado ideal para este procedimento devido à sua característica inerente de atuar como uma parede ou guia para a formação do osso. Sua biocompatibilidade impede a reação do hospedeiro à função de barreira. A malha mantém espaço para prevenir o colapso devido à sua rigidez, impede a invasão dos tecidos moles pelo material de enxerto porque é inabsorvível, evita a compressão dos tecidos mucosos através da sua elasticidade, apresenta uma superfície lisa para impedir a aderência bacteriana ao material e é suficientemente plástica para permitir a modificação intra-operatória, conforme necessário. No pós-operatório, os pacientes podem ser submetidos a bochechos de clorexidina 0,12% por duas a quatro semanas e remoção da parte exposta.²⁰

O tempo de espera para remoção da tela e instalação dos implantes em nosso estudo foi um período de 12 meses. O tempo mínimo entre a reconstrução e a instalação de implantes em estudos anteriores foi entre 4 meses e o máximo de 12 meses.^{1,2,20} Entendemos

que por se tratar de defeitos extensos um período maior de maturação do tecido ósseo seria importante para reestabelecer totalmente a área reconstruída (Fig. 5).

O uso da rhBMP-2 apresenta baixos níveis de complicação geral e de eventos adversos em comparação com técnicas de auto-enxerto.²⁰ Assim, embora a rhBMP-2 com tela de titânio represente uma alternativa segura às técnicas de auto-enxerto, a avaliação completa do paciente e as precauções padrão são suficientes para garantir a segurança do paciente e excelentes resultados clínicos. Tal como acontece com a população de pacientes adultos, devem ser tomadas precauções para garantir a identificação rápida de complicações associadas ao edema profundo, eritema e exposição de tela.

Um fator que ainda restringe a utilização da rhBMP-2 está associada ao seu alto custo.

A principal limitação deste estudo está associada à sua natureza de avaliação de série de casos. Estudos futuros, principalmente ensaios clínicos randomizados, são importantes para a definição da efetividade dos materiais empregados para maxilas atroficas.

Nos cinco casos apresentados nesta série foi possível observar ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume um ano após a reconstrução. Outro ponto importante foi a ausência de intercorrências trans e pós cirúrgicas relevantes como exposição de tela, infecção e constrição de vias aéreas.

REFERÊNCIAS

1. Jung RE, Fenner N, Hämmerle CH, Zitzmann NU. Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12-14 years. *Clin Oral Implants Res* 2013;24:1065-73.
2. de Freitas RM, Susin C, Spin-Neto R, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of concept randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2013;40:968-75.
3. de Queiroz Fernandes J, de Lima VN, Bonardi JP, Filho OM, Queiroz SBF. Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review. *J Maxillofac Oral Surg* 2018;17:13-18.
4. Shimono K, Oshima M, Arakawa H, Kimura A, Nawachi K, Kuboki T. The effect of growth factors for bone augmentation to enable dental implant placement: A systematic review. *Jpn Dent Sci Rev* 2010;46:43-53.
5. Misch CM, Jensen OT, Pikos MA, Malmquist JP. Vertical bone augmentation using recombinant bone morphogenetic protein, mineralized bone allograft, and titanium mesh: a retrospective cone beam computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015;30:202-7.
6. Kim YJ, de Molon RS, Horiguti FR, et al. Vertical bone augmentation using deproteinized bovine bone mineral, absorbable collagen sponge, and recombinant human bone morphogenetic protein-2: an in vivo study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2018;33:512-22.
7. Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893-9.
8. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988;242:1528-34.

9. Carreira AC, Alves GG, Zambuzzi WF, Sogayar MC, Granjeiro JM. Bone Morphogenetic Proteins: structure, biological function and therapeutic applications. *Arch Biochem Biophys* 2014;561:64-73.
10. Giordano V, Giordano MN, Knackfuss IG. Bone growth and differentiation factors. Effects on bone healing process: present and future. *Rev Bras Med* 2000;57:1018-29.
11. Hart KL, Bowles D. Reconstruction of alveolar defects using titanium-reinforced porous polyethylene as a containment device for recombinant human bone morphogenetic protein. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70:811-20.
12. Jung J, Yoo HY, Kim GT, et al. Short-term teriparatide and recombinant human bone morphogenetic protein-2 for regenerative approach to medication-related osteonecrosis of the jaw: a preliminary study. *J Bone Miner Res* 2017;32:2445-52.
13. Seibert JS. Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part I. Technique and wound healing. *Compend Contin Educ Dent* 1983;4:437-53.
14. Pelaez M, Susin C, Lee J, et al. Effect of rhBMP-2 dose on bone formation/ maturation in a rat critical-size calvarial defect model. *J Clin Periodontol* 2014;41:827-36.
15. Li RH, Wozney JM. Delivering on the promise of bone morphogenetic proteins. *Trends Biotechnol* 2001;19:255-65.
16. Boyne PJ, Nakamura A, Shabahang S. Evaluation of the long-term effect of function on rhBMP-2 regenerated hemimandibulectomy defects. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999;37:344-52.
17. Boyne PJ, Salina S, Nakamura A, Audia F, Shabahang S. Bone regeneration using rhBMP-2 induction in hemimandibulectomy type defects of elderly sub-human primates. *Cell Tissue Bank* 2006;7:1-10.

18. Carter TG, Brar PS, Tolas A, Beirne OR. Off-label use of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) for reconstruction of mandibular bone defects in humans. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:1417-25.
19. Herford AS, Boyne PJ. Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:616-24.
20. Herford AS, Lowe I, Jung P. Titanium mesh grafting combined with recombinant human bone morphogenetic protein 2 for alveolar reconstruction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2019;31:309-15.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1 Corte sagital demonstrando em verde a delimitação para mensuração do volume ósseo após reconstrução de maxila anterior atrófica

Figura 2 Corte sagital demonstrando em verde a delimitação da altura do rebordo ósseo após reconstrução de maxila anterior

Figura 3 Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico evidenciando o defeito inicial da região anterior de maxila referente ao paciente 4

Figura 4 Sequência do planejamento e execução do procedimento cirúrgico de reconstrução de maxila anterior atrófica

Figura 5 Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico referente ao paciente 4 evidenciando o defeito após um ano da reconstrução de região anterior de maxila

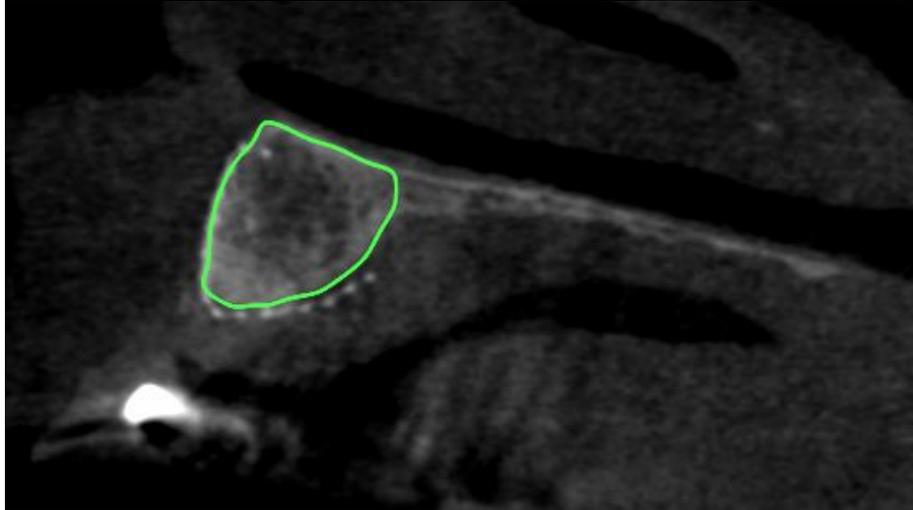


Figura 1 Corte sagital demonstrando em verde a delimitação para mensuração do volume ósseo após reconstrução de maxila anterior atrófica

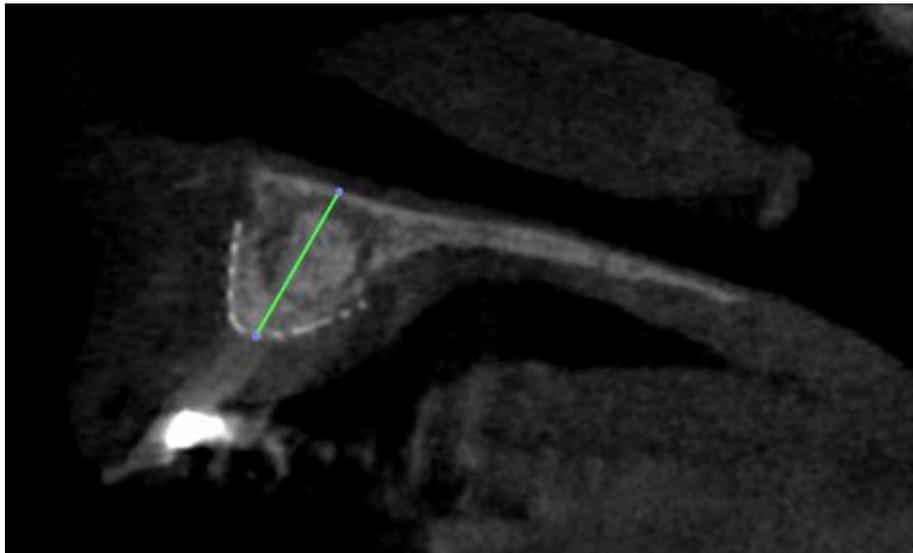


Figura 2 Corte sagital demonstrando em verde a delimitação da altura do rebordo ósseo após reconstrução de maxila anterior



Figura 3 Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico evidenciando o defeito inicial da região anterior de maxila referente ao paciente 4

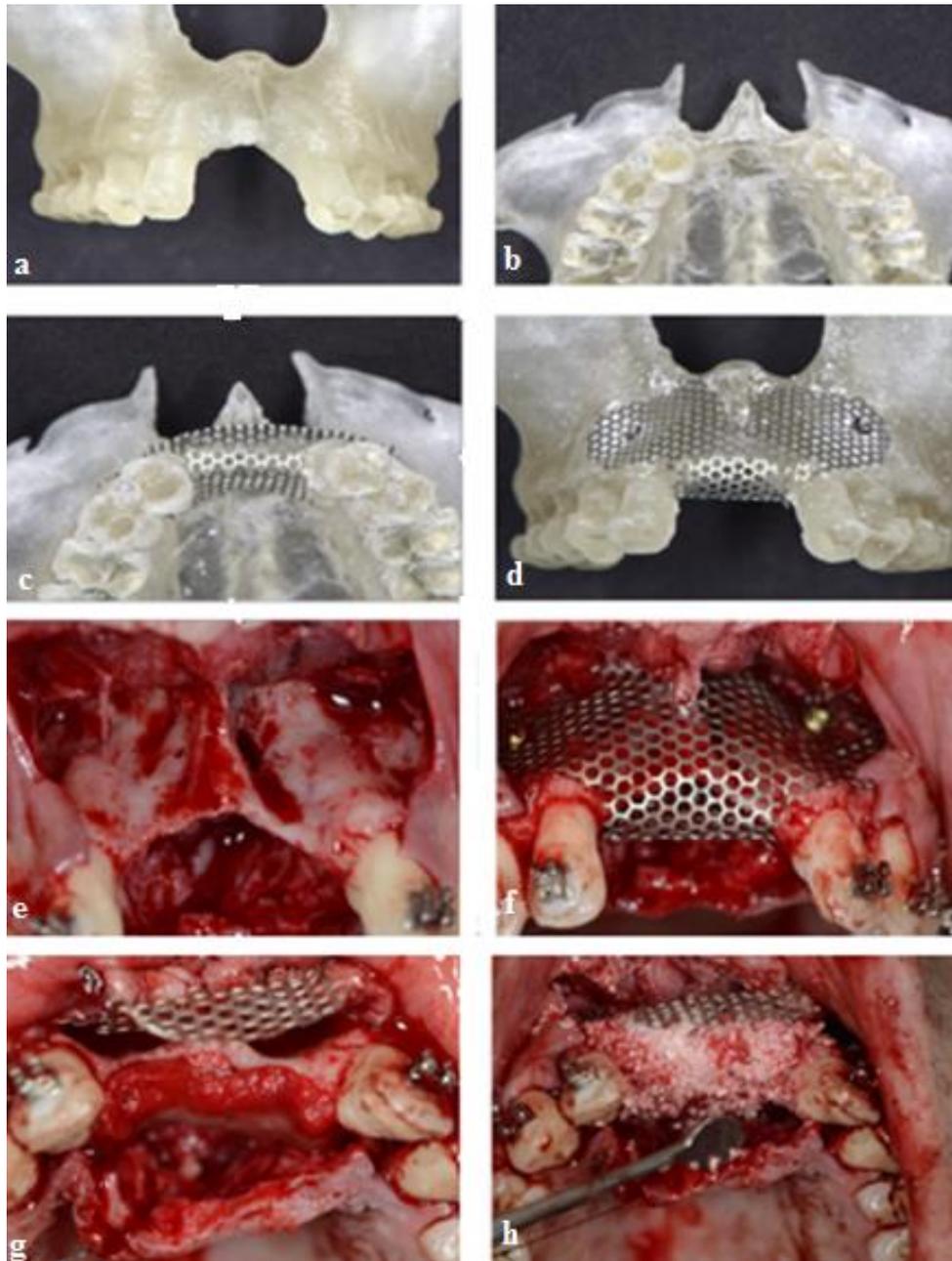


Figura 4 Sequência do planejamento e execução do procedimento cirúrgico de reconstrução de maxila anterior atrófica

a,b) Modelo prototipado; **c,d)** Conformação da tela; **e)** Defeito anterior a reconstrução; **f)** Adaptação da tela; **g)** Adaptação do complexo rhBMP – 2/ACS; **h)** Adaptação do enxerto de origem xenógena.

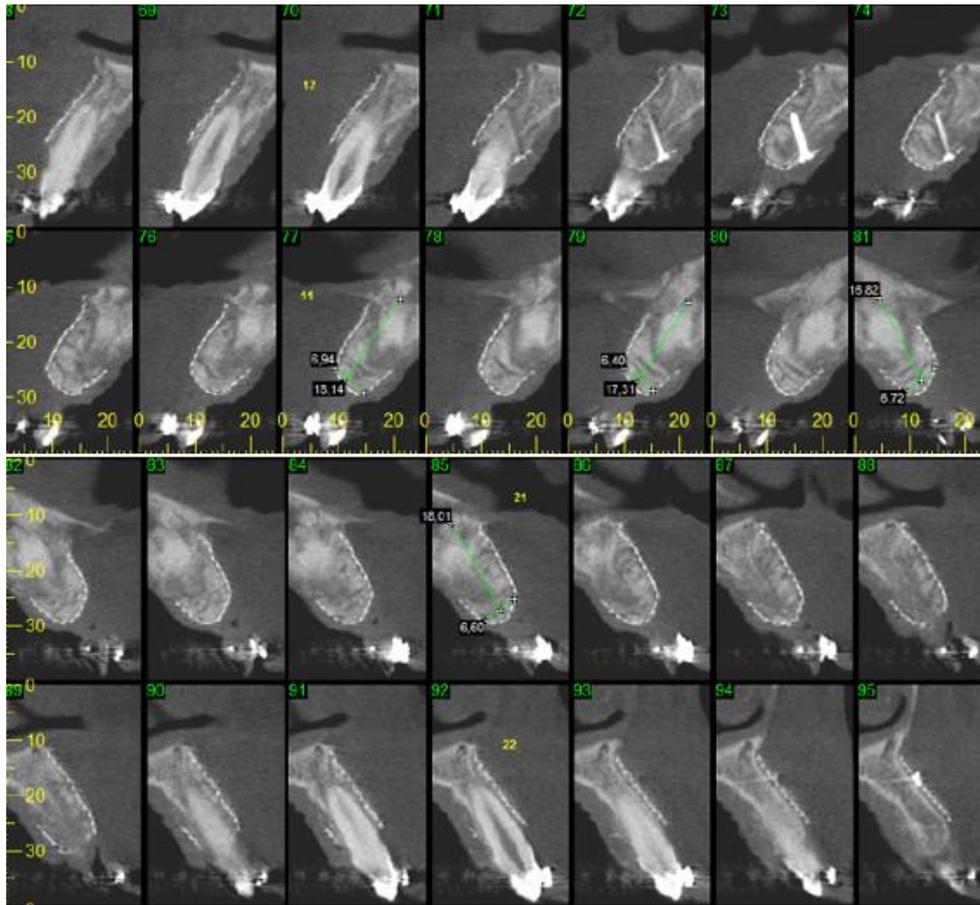


Figura 5 Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico referente ao paciente 4 evidenciando o defeito após um ano da reconstrução de região anterior de maxila. A imagem hiperdensa difusa se refere a maturação do tecido ósseo neoformado.

Tabela 1 Perfil dos pacientes submetidos a reconstrução de maxila anterior atrófica

Paciente	Idade	Sexo	Área reconstruída	Origem do defeito
1	75 anos	Feminino	#13,12 e 11	Atrofia de rebordo
2	53 anos	Masculino	#11,21 e 22	Trauma
3	19 anos	Masculino	#11 e 21	Atrofia de rebordo
4	22 anos	Masculino	#11 e 21	Trauma
5	27 anos	Feminino	#13,12 e 11	Trauma

Dentes.

Tabela 2 Análise do ganho ósseo horizontal, vertical e de volume através de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico. Avaliação das variáveis anterior e após um ano da reconstrução

Paciente	Antes da reconstrução			1 ano após a reconstrução		
1	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)
	#13: 8,00	#13 (A): 8,00	1,37	#13: 13,15	#13 (A): 10,2	2,42
		#13 (M): 7,00			#13 (M): 9,2	
		#13 (C): 5,00			#13 (C): 4,28	
	#12: 7,00	#12 (A): 8,00		#12: 11,94	#12 (A): 10,1	
		#12 (M): 4,2			#12 (M): 9,2	
		#12 (C): 2,1			#12 (C): 4,64	
	#11: 12,6	#11 (A): 12,3		#11: 11,68	#11 (A): 12,00	
		#11 (M): 9,3			#11 (M): 11,1	
	#11 (C): 5,5			#11 (C): 4,71		
2	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)
	#11: 19,70	#11 (A): 4,90	2,15	#11: 23,30	#11 (A): 12,10	2,95
		#11 (M): 5,40			#11 (M): 8,05	
		#11 (C): 2,80			#11 (C): 5,58	
	#21: 19,20	#21 (A): 5,50		#21: 22,75	#21 (A): 10,10	
		#21 (M): 5,40			#21 (M): 10,30	
		#21 (C): 5,20			#21 (C): 7,15	
	#22: 18,20	#22 (A): 8,10		#22: 20,93	#22 (A): 9,20	
		#22 (M): 5,10			#22 (M): 10,10	
	#22 (C): 3,98			#22 (C): 5,10		
3	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)
	#11: 8,49	#11 (A): 9,12	1,36	#11: 18,40	#11 (A): 12,80	2,50
		#11 (M): 7,49			#11 (M): 9,51	
		#11 (C): 5,05			#11 (C): 6,28	
	#21: 8,77	#21 (A): 11,70		#21: 15,80	#21 (A): 13,00	
		#21 (M): 8,07			#21 (M): 10,40	
	#21 (C): 5,82			#21 (C): 4,87		
4	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)
	#11: 15,64	#11 (A): 4,50	0,94	#11: 18,14	#11 (A): 10,20	2,14
		#11 (M): 3,30			#11 (M): 9,80	
		#11 (C): 1,30			#11 (C): 6,94	
	#21: 16,20	#21 (A): 5,80		#21: 18,01	#21 (A): 10,50	
		#21 (M): 4,20			#21 (M): 9,20	
	#21 (C): 2,90			#21 (C): 6,60		
5	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)	Altura (cm)	Espessura (cm)	Volume (cm ³)
	#13: 13,58	#13 (A): 9,10	1,38	#13: 18,03	#13 (A): 12,50	2,65
		#13 (M): 7,89			#13 (M): 11,30	
		#13 (C): 6,25			#13 (C): 5,44	
	#12: 17,77	#12 (A): 12,70		#12: 20,99	#12 (A): 14,10	
		#12 (M): 4,20			#12 (M): 10,00	
		#12 (C): 3,30			#12 (C): 6,23	
	#11: 17,49	#11 (A): 15,10		#11: 21,73	#11 (A): 10,00	
		#11 (M): 4,20			#11 (M): 11,20	
	#11 (C): 4,40			#11 (C): 7,27		

Região correspondente ao dente; (A) Apical; (M) Média; (C) Cristal.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos cinco casos apresentados nesta série foi possível observar ganho considerável de tecido ósseo tanto no sentido vertical como no sentido horizontal e no volume um ano após a reconstrução. Outro ponto importante foi a ausência de intercorrências trans e pós cirúrgicas relevantes como exposição de tela, infecção e constrição de vias aéreas.

Foi possível observar que a rhBMP-2 / ACS aparece como uma alternativa realista para o aumento da maxila anterior atrófica associada a defeitos desafiadores.

REFERÊNCIAS

- BOYNE, P.J.; NAKAMURA, A.; SHABAHANG, S. Evaluation of the long-term effect of function on rhBMP-2 regenerated hemimandibulectomy defects. **The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**, v.37, n.5, p. 344-352, Oct. 1999.
- BOYNE, P.J. *et al.* Bone regeneration using rhBMP-2 induction in hemimandibulectomy type defects of elderly sub-human primates. **Cell and Tissue Banking**, v.7, n.1, p. 1-10, Mar. 2006.
- CARREIRA, A.C. *et al.* Bone Morphogenetic Proteins: structure, biological function and therapeutic applications. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.561, n.9, p. 64-73, Nov. 2014.
- CHO, J.; GERSTENFELD, L.C.; EINHORN, T.A. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.17, n.3, p. 513-520, Mar. 2002.
- FAVERANI, L.P. *et al.* Surgical techniques for maxillary bone grafting – literature review. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.41 n., p. 61-67, Jan./Feb. 2014.
- FERNANDES, J.Q. *et al.* Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review. **Journal of Maxillofacial and Oral Surgery**, v.17, n.1, p. 13-18, Mar. 2018.
- FREITAS, R.M. *et al.* Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of concept randomized clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v.40, n.10, p. 968-975, Oct. 2013.
- GIORDANO, V.; GIORDANO, M.N.; KNACKFUSS, I.G. Bone growth and differentiation factors. Effects on bone healing process: present and future. **Revista Brasileira de Medicina**, v.57, n.9, p. 1018-1029, Sept. 2000.
- HART, K.L.; BOWLES, D. Reconstruction of alveolar defects using titanium-reinforced porous polyethylene as a containment device for recombinant human bone morphogenetic protein. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.70, n.4, p. 811-820, Apr. 2012.
- HANISCH, O. *et al.* Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defect. Following surgical implantation of rhBMP-2. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v.12, n 5, p. 604-610, Dec. 1997.
- HERFORD, A.S.; BOYNE, P.J. Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.66, n.4, p. 616-624, Apr. 2008.
- JUNG, J. *et al.* Short-term teriparatide and recombinant human bone morphogenetic protein-2 for regenerative approach to medication-related osteonecrosis of the jaw: a preliminary study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.32, n.12, p. 2445-2452, Dec. 2017.

KIM, Y.J. *et al.* Vertical bone augmentation using deproteinized bovine bone mineral, absorbable collagen sponge, and recombinant human bone morphogenetic protein-2: an in vivo study in rabbits. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.33, n.3, p. 512-52, May/June 2018.

LEE, M.B. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. **Journal of Clinical Periodontology**, v.24, n.6, p. 355-365, June 1997.

LI, R.H.; WOZNEY, J.M. Delivering on the promise of bone morphogenetic proteins. **Trends in Biotechnology**, v.19, n.7, p. 255-265, July 2001.

MAZZONETTO, R. **Enxertos ósseos em implantodontia**. São Paulo: Editora Napoleão, 2012. 573 p.

MEDTRONIC. **U.S. Food and Drug Administration. Summary of safety and effectiveness data for INFUSE® bone graft**. 2018. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf5/P050053b.pdf. Access in: 5 de Mar. de 2018.

MISCH, C.M. *et al.* Vertical bone augmentation using recombinant bone morphogenetic protein, mineralized bone allograft, and titanium mesh: a retrospective cone beam computed tomography study. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.30, n.1, p. 202-207, Jan./Feb. 2015.

PELAEZ, M. *et al.* Effect of rhBMP-2 dose on bone formation/ maturation in a rat critical-size calvarial defect model. **Journal of Clinical Periodontology**, v.41, n.8, p. 827-836, Aug. 2014.

RASUBALA, L. *et al.* Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. **The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**, v.41, n.3, p. 173-178, June 2003.

ROCCHIETTA, I.; FONTANA, F.; SIMION, M. Clinical outcomes of vertical bone augmentation to enable dental implant placement: a systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35, Suppl.8, p. 203-215, Sept. 2008.

SEIBERT, J.S. Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part I. Technique and wound healing. **The Compendium of Continuing Education in Dentistry**, v.4, n.5, p. 437-453, Sept./Oct. 1983.

SHIMONO, K. *et al.* The effect of growth factors for bone augmentation to enable dental implant placement: A systematic review. **Japanese Dental Science Review**, v.46, n.1, p. 43-53, Feb. 2010.

URIST, M.R. Bone formation by autoinduction. **Science**, v.150, n.3698, p. 893-912, Nov. 1965.

WOZNEY, J.M. *et al.* Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. **Science**, v.242, n.4885, p. 1528-1534, Dec. 1988.

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Projeto: O USO DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA NA RECONSTRUÇÃO DE MAXILA ANTERIOR ATRÓFICA

Prezado Senhor (a), XXXXXX

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que estudará a utilização da Proteína Morfogenética Óssea Humana do tipo II associada ao osso heterógeno de origem bovina na reconstrução de maxila anterior atrófica, ou seja, a parte de cima dos maxilares será reconstruída com um enxerto capaz de induzir a produção de osso, e conseqüente esta cirurgia permitirá a instalação futura dos implantes que servirão de suporte para a prótese. Os biomateriais utilizados nessa pesquisa serão o Bio-Oss®, que é um osso de origem bovina, estéril (sem micróbios), e o Infuse® que é uma proteína óssea produzida em laboratório através de técnicas genéticas, sendo seguro para utilização em humanos. Você foi selecionado(a) porque se enquadra dentro dos pré-requisitos exigidos à pesquisa, e por ter características que consideramos necessárias para realização do estudo. Portanto, gostaria de convidá-lo a participar desse estudo. Nesta pesquisa você será submetido(a) a uma cirurgia de reconstrução do maxilar superior, que apresenta defeitos ósseos severos, ou seja, falta de osso para colocar implantes (defeitos do tipo II e III de Seibert). Você também vai autorizar o acesso a seus exames de tomografia dos maxilares, que estão em nosso banco de dados.

Este Termo de Consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

O objetivo desse estudo é avaliar a formação de tecido ósseo através de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico após um ano da reconstrução com o enxerto xenógeno bovino associado a rhBMP-2 e tela de titânio. Explicando de forma mais simples, o objetivo é avaliar a formação de osso com a utilização do enxerto de forma a permitir a instalação dos implantes. Se concordar em participar deste estudo você assinará esse termo consentindo autorizando a se submeter ao procedimento e a utilização dos exames realizados como fonte de informação para a pesquisa.

Riscos e desconfortos

Todo cirurgia envolve riscos de complicações durante e após o procedimento, que dependem tanto da cirurgia quanto do paciente. Para diminuir estes riscos, vamos realizar uma avaliação detalhada de sua saúde, um exame de boca criterioso, uma avaliação cuidadosa dos seus exames de Tomografia e um bom planejamento cirúrgico. Seguindo esses cuidados diminuimos os riscos. Embora a utilização dos enxertos estudados esteja embasada na ciência atual, ainda há a necessidade de mais estudos para garantir a previsibilidade dos mesmos. Portanto, pode haver perda parcial ou total do enxerto, com o seguinte risco: a não obtenção de ganho ósseo necessário para instalar os implantes planejados. Caso isso ocorra ou caso você não aceite realizar o tratamento proposto pela pesquisa, seu tratamento odontológico não será interrompido,

e será realizado com outras técnicas bem fundamentadas, como prótese fixa suportada nos dentes presentes (ponte fixa) ou prótese total (dentadura).

Pode haver dor e inchaço após a realização da cirurgia. Para diminuir esses desconfortos utilizaremos medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios, devidamente indicados para o seu caso.

Durante a realização de seus exames de Tomografia, todos os cuidados inerentes a radiação serão tomados e as normas de proteção radiológica serão seguidas. Os exames serão realizados de acordo com as recomendações da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e PORTARIA Nº 453 DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

As informações obtidas nesse estudo serão confidenciais, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação em todas as fases da pesquisa, e quando da apresentação dos resultados em publicação científica ou educativa, uma vez que os resultados serão sempre apresentados como retrato de um grupo e não de uma pessoa. Você poderá se recusar a participar ou a responder algumas das questões a qualquer momento, não havendo nenhum prejuízo pessoal se esta for a sua decisão. Todo o procedimento será realizado de forma gratuita e após a fase cirúrgica os pacientes serão encaminhados para reabilitação protética na PUC Minas.

Benefícios

A perda dos dentes gera grande desconforto e muitas vezes constrangimento ao indivíduo. Associada à perda dental está à reabsorção óssea, principalmente na maxila. Essa condição clínica muitas vezes impossibilita o tratamento dentário com implantes. Portanto, este estudo tem grande potencial de melhorar a qualidade de vida aos indivíduos participantes. A pesquisa também é importante para o avanço do conhecimento sobre técnicas e materiais empregados neste tipo de tratamento odontológico.

Toda pesquisa será feita de forma gratuita e o paciente será devidamente encaminhado para as próximas etapas do tratamento.

Para todos os participantes, em caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa, será observada, nos termos da lei, a responsabilidade civil.

Você receberá uma via deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador responsável, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisador responsável: Flávia Louise Greze

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, coordenado pela Prof.^a Cristiana Leite Carvalho, que poderá ser contatado em caso de questões éticas, pelo telefone 3319-4517 ou e-mail cep.proppg@pucminas.br.

Departamento de Odontologia

Av. Dom José Gaspar, 500 - Fone: 3319-4517 - Fax: 3319-4517

CEP 30535.610 - Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil

O presente termo será assinado em 02 (duas) vias de igual teor.

Belo Horizonte, 28 de agosto de 2015

Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para participar deste estudo.

Nome do participante (em letra de forma)

Assinatura do participante ou representante legal

Data:

Eu, Flávia Louise Greze, comprometo-me a cumprir todas as exigências e responsabilidades a mim conferidas neste termo e agradeço pela sua colaboração e sua confiança.

Assinatura do pesquisador

Data: