

O PAPEL DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSSEA NA REPARAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO

THE ROLE OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN ON BONE TISSUE REPAIR

ANTÔNIO APARECIDO DOS SANTOS¹, CÉSAR DÁRIO OLIVEIRA MIRANDA²,
MARIA TERESA DE SEIXAS ALVES³, FLAVIO FALOPPA⁴

RESUMO

Este estudo de revisão da literatura aborda os avanços do uso da proteína morfogenética óssea (BMP) na reparação do tecido ósseo e seus mecanismos de ação no tecido lesionado. As BMPs são moléculas pleiotrópicas que são envolvidas na quimiotaxia, mitose e diferenciação de células mesenquimais no tecido ósseo.

Descritores: Regeneração óssea; Fatores de crescimento; Proteínas morfogenéticas ósseas.

SUMMARY

This literature review study addresses the progresses of the use of the bone morphogenetic protein (BMP) for repairing the bone tissue and its mechanisms of action in the injured tissue. The BMPs are pleiotropic molecules that are involved in the chemotaxis, mitosis and differentiation of mesenchymal cells in the bone tissue.

Keywords: bone regeneration; growth factors; bone morphogenetic protein

INTRODUÇÃO

O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura abordando os avanços do uso da proteína morfogenética óssea (BMP) na reparação do tecido ósseo e seus mecanismos de ação no tecido lesionado.

BMPs são glicoproteínas responsáveis pelo recrutamento de células osteoprogenitoras para os locais de formação óssea⁽¹⁾. Para Bowers e Reddi⁽²⁾ as BMPs são proteínas encontradas em altas concentrações no tecido ósseo e são consideradas as responsáveis pela habilidade indutiva e regenerativa dos enxertos ósseos desmineralizados usadas em terapia periodontal.

DESENVOLVIMENTO

Os primeiros questionamentos sobre processos que determinam a neoformação óssea, em sítios desprovidos de tecidos ósseos, foram baseados na descoberta de Urist. Para ele um fator central seria o responsável por este efeito. Esse fator foi relatado como uma substância indutora de formação óssea, presente na matriz óssea. As células indutoras e as células induzidas eram provenientes do hospedeiro e estas mesmas células indutoras seriam descendentes de histiócitos e células do tecido conjuntivo perivascular. O termo osteoindução foi designado para um princípio fundamental de regeneração óssea desencadeado pela ação das proteínas ósseas morfogenéticas^(3,4).

De uma seqüência de aminoácidos de extrato altamente purificado, Wozney et al.⁽⁵⁾ obtiveram clones de DNA que continham o código de cada proteína. Ao todo, obtiveram 8 proteínas e 7 delas são denominadas de BMPs e apresentam características estruturais semelhantes. Através da purificação da BMP presente em osso bovino chegou-se a detalhes sobre a identificação e clonagem molecular de fatores com atividade da BMP. Com o isolamento de vários polipeptídeos, os autores determinaram a seqüência de vários aminoácidos e sintetizaram sonda de oligonucleotídeos. Dessa forma, foi possível a clonagem das BMPs de 2 a 9 (BM-2 a BMP-9), que constituem membros da família de fator de crescimento transformador beta (TGF- β). Os membros desta superfamília podem exercer efeito inibitório ou estimulatório sobre as células, dependendo do estágio de diferenciação celular em que venham a atuar⁽⁶⁾.

Segundo Wozney⁽⁷⁾, a atividade osteoindutiva das proteínas ósseas morfogenéticas somado à sua presença no tecido ósseo sugerem que elas são importantes reguladores no processo de reparação óssea e podem estar envolvidas na manutenção destes tecidos. Elas fazem parte da família de fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e inclui uma subfamília baseada em suas seqüências de aminoácidos. E relatou que as BMPs podem se apresentar sob duas formas: a) proteínas morfogenéticas ósseas derivadas do osso; b) proteínas morfogenéticas ósseas humanas recombinantes (rhBMP).

Kawai e Urist⁽⁸⁾ analisaram as proteínas extraídas de tecidos dentais bovinos quanto à sua atividade osteoindutora e sugeriram que estas proteínas eram comparáveis às proteínas ósseas morfogenéticas bovinas.

Wang et al.⁽⁹⁾ e Wozney et al.⁽¹⁰⁾, afirmaram que a proteína óssea morfogenética recombinante humana dois (rhBMP-2) pura, quando implantada em altas doses pode induzir a formação óssea. O efeito da BMP quanto à formação da dentina reparadora foi examinado por Nakashima através da implantação das referidas proteínas ósseas morfogenéticas sobre polpas dentárias amputadas de animais. O autor verificou que estas proteínas estimularam mitoses de células mesenquimais e induziram a diferenciação de osteodentinócitos. A osteodentina resultante pode desempenhar alguma função na diferenciação dos osteoblastos⁽¹¹⁾.

Lyons et al.⁽¹²⁾ sugeriram que BMP-2 desenvolve múltiplas funções na morfogênese e no padrão de embriões de vertebrados. Usando hibridização in situ, mostraram que RNA de BMP-2 manifesta-se em uma variedade de tecidos embrionários como: epitelial, mesenquimal e do sistema esquelético. Dessa forma, RNA de BMP-2 foi encontrado em órgãos como: coração, folículos pilosos, botão dentário, mesênquima crânio facial e outros sítios.

Bowers et al.⁽¹³⁾ compararam o uso de osteogenina (BMP-3) associado ao enxerto desmineralizado seco e congelado (DFDBA), com matriz óssea (DFDBA), com tendão bovino sozinho e com tendão bovino combinado com osteogenina, no aumento dos processos regenerativos periodontais em defeitos infra-ósseos de humanos. Concluíram que a osteogenina combinada com DFDBA aumenta significativamente a regeneração dos aparatos de nova inserção e componentes teciduais, tais como: cimento, osso alveolar e ligamento periodontal.

Trabalho realizado: Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – Escola Paulista de Medicina

Endereço para correspondência: Antônio Aparecido dos Santos – Rua Francisco Coimbra, 72 apto 103 – CEP 03639-000 - São Paulo – SP - E-mail: antonioap.santos@terra.com.br

1. Fisioterapeuta, Mestrando do Departamento de Patologia da UNIFESP.

2. Médico Ortopedista Especialista em Cirurgia de Mão e Membro Superior

3. Professora Adjunta do Departamento de Patologia da UNIFESP. Chefe da Disciplina de Anatomia Patológica Geral, Sistemica, Forense e Bioética.

4. Professor Titular Livre Docente. Chefe do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da UNIFESP.

Trabalho recebido em: 31/05/05 aprovado em 10/06/05

Para Toriumi e Robertson⁽¹⁴⁾, um dos fatores mais importantes que podem determinar o sucesso ou fracasso de enxertos ósseos indutores em cirurgias reconstrutivas é a eficiência do material carreador. O carreador ideal deve aumentar a exposição dos tecidos do hospedeiro à substância de crescimento e assegurar uma distribuição uniforme sem permitir que o material implantado ultrapasse os limites do sítio. O carreador deve ser absorvido à medida em que for ocorrendo a formação óssea. Além disso, deve ser seguro, biodegradável, biocompatível e formulado para permitir tamanhos e formas adequados para o enxerto.

Saller e Kolb⁽¹⁵⁾, após uma revisão dos relevantes sucessos das proteínas ósseas morfogenéticas nas cirurgias buco-maxilo-facial e ortopédicas, demonstraram a eficácia do purificado, ou seja, do preparo concentrado de BMPs, na indução óssea, em áreas com implantes aparentemente perdidos.

Graves e Cochran⁽¹⁶⁾ descreveram a família dos cinco fatores de crescimento que tinham potencial para induzir regeneração periodontal, quando colocados em contato com osteoblastos e células do ligamento periodontal in vitro e in vivo. Nesse caso, incluíram o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e as proteínas ósseas morfogenéticas. Os autores relataram ainda a existência das seguintes BMPs: BMP-4, BMP-5, BMP-6 e BMP-7. A partir da BMP-2 a BMP-7, ocorre a presença de estruturas moleculares dos membros da família de fator de crescimento transformador beta (TGF- β).

Ripamonti e Reddi⁽¹⁷⁾ afirmaram que, além de suas funções na osteogênese pós-fetal, as BMPs podem exercer múltiplas funções no desenvolvimento embriogênico e organogênico, incluindo esquelotogênese, desenvolvimento crânio facial e dos tecidos dentais.

Hughes et al.⁽¹⁸⁾ demonstraram, através de testes in vitro, com células osteoprogenitoras de rato, que BMP-6, BMP-4 e BMP-2 podem estimular diferenciação osteoblástica. Sugeriram que uma célula osteoprogenitora precoce é uma importante célula para a ação das BMPs durante indução óssea.

Nevins et al.⁽¹⁹⁾ analisaram a eficácia, segurança e facilidade técnica em induzir formação óssea em defeitos ósseos em cães, e levantamento da membrana do seio maxilar com o uso de uma esponja de colágeno absorvível impregnada de rhBMP-2. Os resultados sugeriram substancial formação óssea e em 68% dos defeitos ósseos tratados, novo osso foi formado.

Lee⁽²⁰⁾ revisou as bases biológicas das proteínas ósseas morfogenéticas e suas implicações na reconstrução oral. Relatou que os materiais utilizados como enxerto ósseo poderiam oferecer uma osteocondição na presença de uma matriz física ou suporte, ocorrendo desta forma, deposição de novo osso. Definiu osteoindução como ato ou processo de estimular a osteogênese, desta forma o osteoblasto ajudaria a matriz óssea.

Ripamonti e Duneas⁽²¹⁾ fizeram uma revisão sobre a morfogênese

dos tecidos e a regeneração provocada pelas proteínas ósseas morfogenéticas. Esses autores postularam que a regeneração tecidual na vida pós-natal mimetiza eventos que ocorrem no curso normal do desenvolvimento e regeneração tecidual, similarmente reguladas por seleta família de morfogênese. Dessa forma, teríamos atuação de todas as BMPs no desenvolvimento de tecidos e órgãos, algumas com maior expressão de proteínas específicas como nos rins (BMP-3 e BMP-7), no sistema nervoso central e periférico, fígado (BMP-9), pulmão (BMP-3 e BMP-4), coração, dentes, gônadas, pele e fígado (BMP-9).

Lynch et al.^(22,23) afirmaram que uma ocorrência de lenta liberação de rhBMP-2, com rápida eliminação sistêmica, associada a outros estudos farmacocinéticos, como a absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção confirmaram a falta de efeitos tóxicos para rhBMP-2. A capacidade das BMPs em induzir a formação de osso através de processo endocondral ou intramembranoso não estava ainda claro. Sugeriram que uma série de fatores envolvidos como dose da BMP aplicada, local da implantação, respostas das células no local do implante, vascularização e natureza do material carreador, seriam os fatores responsáveis pela determinação do tipo de ossificação.

Ripamonti e Tasker⁽²⁴⁾ afirmaram que a engenharia de regeneração tecidual tem se desenvolvido rapidamente no campo da biologia celular e molecular. Os grandes processos recentes na elucidação da biologia molecular das BMPs e seus receptores ajudaram na promoção e entendimento de um grande campo de uso futuro para as BMPs.

Minamide et al.⁽²⁵⁾ avaliaram dois sistemas de carregamento para as BMPs, o primeiro foi uma estrutura porosa chamada true bone ceramics e o outro foi o colágeno tipo I. Os resultados mostraram que o primeiro apresentava sua estrutura porosa preenchida por osso e foi mais eficiente que o colágeno tipo I, e que promoveu um rápido crescimento com formação de osso resistente.

CONCLUSÃO

As BMPs apresentam diversas possibilidades de aplicação em odontologia, ortopedia e em outras áreas de conhecimento que envolvam a diferenciação celular por representarem um grupo distinto de fatores indutores, capazes de estimular a diferenciação de células fonte-mesenquimais em células especializadas, induzindo a neoformação óssea e o reparo de tecido ósseo.

As indicações para o uso de BMPs estão associadas principalmente a grandes perdas ósseas, decorrentes de anomalias de desenvolvimento, bem como defeitos ósseos causados por algum trauma na estrutura óssea, doenças infecciosas e inflamatórias. Uma avaliação definitiva sobre o uso clínico de BMPs, só será possível após a elucidação de todos os diferentes fatores que influenciam na reparação tecidual, juntamente com o desenvolvimento de um sistema carreador apropriado. O que garantirá um protocolo de tratamento mais adequado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Somerman M, Hewitt AT, Varner HH, Schiffmann E, Termine J, Reddi AH. Identification of bone matrix-derived chemotactic factor. *Calcif Tissue Int* 1983; 35:481-5.
2. Bowers GM, Reddi AH. Regeneration of the periodontium in advanced periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1992; 122:45-8.
3. Urist M. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-9.
4. Urist MR, Strat BS. Bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1971; 50:1392-1406.
5. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitscock LM, Whitters MJ, Kriz RW et al. Novel regulators of bone formation molecular clones and activities. *Science* 1988; 242:1528-34.
6. Wozney JM, Rosen V, Byrne M, Celeste AJ, Moutsatsos I, Wang EA. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci* 1990; 13 (Suppl):149-56.
7. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur J Oral Sci* 1998; 106:160-6.
8. Kawai RW, Urist MR. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1989; 68: 1069-74.
9. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:2220-4.
10. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev* 1992; 32:160-7.
11. Nakashima M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of dog by bone morphogenetic protein. *J Arch Oral Biol* 1990; 35:493-7.
12. Lyons KM, Peltton RW, Hogan BL. Organogenesis and pattern formation in the mouse: RNA distribution patterns suggest a role for bone morphogenetic protein-2 A (BMP-2A). *Development* 1990; 109:833-44.
13. Bowers G, Felton F, Middleton C, Glynn D, Sharp S, Mellonig J, Corio R et al. Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 1991; 62:690-702.
14. Toriumi DM, Robertson K. Bone inductive biomaterials in facial plastic and reconstructive surgery. *Facial Plast Surg* 1993; 9:29-36.
15. Saller HS, Kolb E. Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) in cranio-maxillo-facial surgery. BMP in compromised surgical reconstructions using titanium implants. *J Craniomaxillofac Surg* 1994; 22:2-11.
16. Graves DT, Cochran DL. Periodontal regeneration with polypeptide growth factors. *Curr Opin Periodontol* 1994; 2:178-86.
17. Ripamonti U, Reddi AH. Periodontal regeneration: potential role bone morphogenetic proteins. *J Periodontol Res* 1994; 29:225-35.
18. Hughes FJ Collyer J, Stanfield M, Goodman SA. The effects of bone morphogenetic protein-2, -4 and -6 on differentiation of rat osteoblast cells in vitro. *Endocrinology* 1995; 136:2671-7.
19. Nevins MC, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney JA, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996; 16:8-19.
20. Lee MB. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. *J Clin Periodontol* 1997; 24:355-65.
21. Ripamonti U, Duneas N. Tissue morphogenesis and Regeneration by morphogenetic proteins. *Plast Reconstr Surg* 1998; 1:227-39.
22. Lynch SE, De Castilha GR, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Reddy MS, Antoniadis HN. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991; 62:458-67.
23. Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, Weber HP, Stich H, Fox CH, Williams RC. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-1 combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol* 1991; 62:710-6.
24. Ripamonti U, Tasker JR. Advances in biotechnology for tissue engineering of bone. *Curr Pharm Biotechnol* 2000; 1:47-55.
25. Minamide A, Kawakami M, Hashizume H, Sakata R, Tamaki T. Evaluation of carries of bone morphogenetic protein for spinal fusion. *Comment In: Spine* 2001; 26:850.