

Proteínas ósseas morfogenéticas e outros fatores de crescimento osseo

Bone morphogenetic proteins and other growth factors

Sandra Mastrocinque¹; Angélica Cecília Tatarunas¹; Maria Beatriz Cattony Zerwes¹; Genilson Fernandes de Queiroz¹; Alexandre Schmaedecke¹; Marília Aceto¹; Cássio Ricardo Auada Ferrigno^{2*}

Resumo

Fraturas complexas, de difícil tratamento, ainda são grandes desafios dentro da Medicina Humana e Medicina Veterinária. Os métodos cirúrgicos envolvendo enxertos ósseos podem trazer bons resultados porém, elevam o tempo cirúrgico, além de não estarem livres de complicações. A associação de proteínas ósseas morfogenéticas e outros fatores de crescimento, de maneira sistêmica ou local, pode contribuir sobremaneira para a consolidação de fraturas complexas em menor tempo e com menor incidência de intercorrências.

Palavras-chave: Consolidação de fraturas. Osteogênese. Cirurgia ortopédica.

Abstract

Complex fractures difficult to treat are still a challenge in Human Medicine and Veterinary Medicine. The surgical procedures involving the grafts may offer satisfactory results, but they increase surgical time and risk, besides the probability of complications. The use of bone morphogenetic proteins and other growth factors in systemic or local way may contribute to healing fractures, since it reduces healing time and complications.

Key words: Fracture healing. Osteogenesis. Orthopedic surgery.

Introdução

O reparo de fraturas complexas e defeitos ósseos de grande extensão, causados por fatores como traumas, doenças, deformidades de desenvolvimento ou ressecção de tumores, não raro se torna frustrante, as técnicas clássicas de estabilização e enxertia ósseas, quando usadas, nem sempre fornecem resultados satisfatórios. Fatores inerentes ao paciente podem interferir na evolução da cicatrização óssea, como por exemplo animais geriátricos, doenças endócrina, nutricional ou oncológica associadas (BRINKER; PIERMATTEI; FLO, 1990).

O uso de enxertos ósseos, quer seja do mesmo indivíduo ou não, possui algumas limitações como: quantidade a ser obtida, maior tempo operatório e trauma adicional ao local doador nos autoenxertos (esponjoso) e o risco de transmissão de doenças, reações imunológicas e necessidade de manutenção de um banco de ossos quando dos aloenxertos (cortical) (BURCHARDT, 1983; BOERO et al., 1989; KIRKER-HEAD, 1995; BAUER; MUSCHLER, 2000).

Vários materiais sintéticos já foram descritos como alternativas para substituir implantes ósseos,

¹ Pós-Graduandos do Departamento de Cirurgia – FMVZ/USP

² Prof. Dr. do Departamento de Cirurgia – FMVZ/USP

* Autor para correspondência.

incluindo: coral natural, hidroxapatita, fosfato tricálcico e polímeros sintéticos em estudos experimentais e clínicos (URIST, 1965; EINHORN et al., 1984; LINDHOLM; RAGNI; LINDHOLM, 1988), sendo estes osteocondutores (GOLDBERG; STEVENSON, 1987).

A osteoindução, ou seja, o processo de produção de tecido ósseo a partir de células indiferenciadas vem sendo intensamente pesquisada, principalmente no que tange ao emprego de proteínas indutoras de tecido ósseo e outros fatores de crescimento, os quais poderão ainda ser associados aos enxertos ósseos através da administração local ou de maneira sistêmica (KIRKER-HEAD, 1995).

Huggins em 1931 definiu o fenômeno da osteoindução ao demonstrar, em cães, que o autoimplante de epitélio de transição da bexiga urinária no músculo da parede abdominal promovia a formação de osso ectópico e; posteriormente, Levander em 1931 e 1937 reconheceu o fenômeno ao injetar extrato alcoólico de osso cru em tecido muscular e obter neoformação óssea. Spemann em 1938 deduziu então, uma teoria, que explicava o processo através da interação da indução e reação – o sistema indutor na osteoindução incluía a cartilagem hipertrofiada, recentemente formada a partir de matriz óssea desmineralizada, epitélio de transição e agentes osteogênicos, enquanto o sistema de reação consistia de células do tecido mesenquimal com a capacidade de se tornarem osteoblastos (HUGGINS, 1931; LEVANDER, 1931, 1937; SPEMANN, 1938 apud TUOMINEN et al., 2001).

Porém a descoberta que estimulou a pesquisa para uma substância osteoindutora na matriz óssea é creditada a Urist (1965), responsável pela descrição da formação de osso ectópico no implante intramuscular de matriz óssea desmineralizada em coelhos e ratos (TUOMINEN et al., 2001). A partir desta pesquisa, a busca pela “substância osteoindutora” dentro da matriz óssea se tornou uma crescente, e trabalho subsequente demonstrou que proteínas de baixo peso molecular poderiam ser

extraídas da matriz óssea desmineralizada (URIST; DELANGE; FINERMAN, 1983), as quais foram então nomeadas de proteínas ósseas morfogenéticas (*Bone Morphogenetic Proteins – BMP*).

As células mesenquimais não especializadas que se diferenciam em células formadoras de osso, em resposta à estimulação das proteínas morfogenéticas são denominadas células osteoprogenitoras indutíveis, estando presente em abundância no músculo esquelético e tecido conjuntivo, locais onde a formação de osso pode ser induzida com maior facilidade (FORELL; STRAW, 1993).

As pesquisas, portanto, se voltaram para o isolamento dos fatores osteoindutores e seqüencialmente no uso destes fatores individualmente, o que vem sendo feito até os dias de hoje.

O objetivo do presente trabalho foi revisar os conceitos e a utilização das proteínas morfogenéticas e dos fatores de crescimento ósseos, haja visto que apesar de intensamente estudado dentro da literatura humana o assunto é ainda pouco divulgado dentro da ortopedia veterinária.

Composição e Formação da Matriz Óssea

O tecido ósseo possui a característica única de crescimento e remodelamento ao longo da vida, sendo dotado de habilidade regenerativa e adaptativa (MOHAN; BAYLINK, 1991; FORELL; STRAW, 1993).

A rigidez do osso é determinada pelo balanço de formação óssea osteoblástica e reabsorção osteoclástica. O aumento do estresse mecânico promove formação óssea, estados de desuso e doenças crônicas levam a reabsorção (MARTINEZ; MILLIS, 2003).

Dois mecanismos são responsáveis pela homeostase do osso: regulação sistêmica por hormônios reguladores de cálcio e fósforo, por exemplo, hormônio da paratireóide, vitamina D e calcitonina e regulação local, mediante a função de proteínas morfogenéticas e fatores

de crescimento (MOHAN; BAYLINK, 1991; FORELL; STRAW, 1993).

Os fatores de crescimento são secretados pelos osteoblastos e estão presentes em quantidades muito pequenas. Os três principais componentes ósseos são o mineral, a matriz orgânica e células osteogênicas: mineral, sendo responsável por dois terços do volume ósseo e composto por cristais de fosfato de cálcio depositado como hidroxapatita; matriz orgânica, correspondendo a um terço da massa óssea e composta por colágeno, proteínas não colágenas e água (FORELL; STRAW, 1993). Incluídas dentro das proteínas não colágenas estão as proteínas ósseas morfogenéticas, as quais são responsáveis pela morfogênese óssea e regulação da atividade celular osteogênica (MOHAN; BAYLINK, 1991).

A matriz óssea desmineralizada é preparada a partir de osso cortical alo gênico por extração do componente mineral com uma solução ácida. A remoção do componente mineral e proteínas solúveis em ácido expõem BMPs ácido resistentes e outros fatores de crescimento que são potentes indutores de formação óssea (URIST; STRATES, 1971; TULI; SINGH, 1978).

As BMPs induzem a formação óssea através de ossificação endocondal (COOK; WOLFE; SALKED, 1995). Células mesenquimais indiferenciadas migram para o local do implante e proliferam. Condroblastos, derivados de células mesenquimais, secretam componentes da matriz extracelular para formar uma estrutura cartilágnea. A cartilagem hipertrofiada e a matriz extracelular tornam-se vascularizada por células hematopoiéticas e endoteliais; osteoblastos e osteoclastos aparecem localmente e a cartilagem é reabsorvida e substituída por osso (WANG; ROSEN; CORDES, 1988 apud KIRKER-HEAD, 1995).

Proteínas Ósseas Morfogenéticas

As BMPs pertencem à superfamília de proteínas denominadas de fator de crescimento transformador

(*transforming growth factor – TGF*), da qual fazem parte pelo menos 43 membros que participam de muitas funções biológicas, incluindo crescimento e diferenciação celular no padrão de formação embriogênico (WOZNEY; ROSEN, 1998; ZHU et al., 1999). Os fatores de crescimento são caracterizados pela sua capacidade de se ligar a receptores específicos de membrana, estimulando ou inibindo certas funções dentro da célula.

As BMPs 2 a 16 pertencem a superfamília TGF (sendo BMP 1 a única exceção) (EINHORN, 1995). Elas são osteoindutoras, porém, não possuem atividade mitogênica (osteogênica) (KIRKER-HEAD, 1995). A principal função das BMPs 2 a 16 é induzir a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em condroblastos, tanto na fase embriogênica como durante o crescimento e cicatrização (WANG; ROSEN; CORDES, 1988).

Dentro da superfamília, as proteínas podem ser subdivididas em subgrupos de acordo com a semelhança em suas fórmulas estruturais. Por exemplo, a BMP 2 e a BMP 4 são praticamente idênticas (92%) enquanto que 5, 6 e 7 são 90% idênticas (WOZNEY, 1992).

As BMPs 2, 4, 5, 6 e 7 possuem importância fundamental na regulação da formação de tecido esquelético e reparação, sendo que estas proteínas têm diferentes potenciais osteoindutores. As proteínas morfogenéticas ósseas 4 ou 5, por exemplo, precisam estar presentes em grandes quantidades para induzir a mesma quantidade de tecido ósseo que seria induzido pela BMP 2 (WOZNEY; ROSEN, 1998).

Estas proteínas são usadas adicionadas ou não a enxertos ósseos. As pesquisas são conduzidas principalmente no estudo da BMP-2, porque esta possui maior capacidade osteoindutora (WOZNEY, 1992).

As BMPs estão presentes na matriz óssea em quantidades muito pequenas e provavelmente agem em sinergismo. Algumas delas, por exemplo, as BMPs 2, 4 e 7 atuam na ausência de outras proteínas morfogenéticas (BOSTROM et al., 1996).

Através de tecnologia recombinante, Itoh, Mochizuki e Fuda (1998) relataram maior resistência aos efeitos osteoindutores de BMP-2 em cães quando comparado aos ratos e propôs que a quantidade de BMP-2 encontrada na matriz óssea desses animais pode ser insuficiente para osteoindução.

Purificação e Clonagem

As BMPs foram purificadas pela primeira vez por Wang, Rosen e Cordes (1988) ao isolarem três polipeptídeos de osso bovino, que mais tarde, resultaram na produção de três proteínas recombinantes denominadas de BMP-1, BMP-2A e BMP-3. Enquanto a purificação reduzia a probabilidade de efeitos adversos da implantação, o processo era trabalhoso e fornecia somente pequenas quantidades da substância ativa (FORELL; STRAW, 1993; KIRKER-HEAD, 1995).

Por esta razão, Wozney, Rosen e Celeste (1988) empregaram a tecnologia do DNA recombinante para produzir mais facilmente os fatores purificados. Inicialmente eles identificaram e clonaram genes bovinos responsáveis pela codificação das BMPs 1 a 3. Os clones foram utilizados como provas para identificar RNAs mensageiros humanos correspondentes aos genes bovinos. Desta forma os DNAs humanos correspondentes, foram isolados. Os genes humanos codificados, foram mais tarde, transferidos para células ovarianas de hamster chinês ou para células de *Escherichia coli*, para produzir maiores quantidades de BMPs. Suas recombinantes humanas são referidas com o prefixo rh (rhBMP-1 a rhBMP-9) (KIRKER-HEAD, 1995).

Com a purificação de proteínas osteogênicas humanas para fornecer uma seqüência de aminoácidos, clones de DNA complementares foram isolados, clonados e expressos em células de hospedeiros. Deste modo foram encontradas as BMPs de 1 a 7 (WOZNEY; ROSEN; CELESTE, 1988; WOZNEY, 1989; CELESTE et al., 1990). As BMPs recombinantes 2, 4 e 7 induziram formação óssea em muitos experimentos

e, atualmente, são testadas em estudos clínicos (TUOMINEN et al., 2000).

Embora uma simples rhBMP seja capaz de induzir formação óssea ectópica (WANG; ROSEN; CORDES, 1988), é interessante que a quantidade de rhBMP humana necessária para induzir osso “in vivo”, é 10 vezes maior quando comparada a BMP altamente purificada, extraída de bovinos. Bessho et al. 1999 demonstraram esta diferença. no efeito entre a BMP purificada humana derivada da matriz óssea e a BMP humana recombinante. Este fato sugere que a ação da BMP nativa é, uma combinação da atividade de diferentes BMPs ou, representa efeitos sinérgicos entre elas (TUOMINEN et al., 2000).

Extração das BMPs

Após os experimentos pioneiros de Urist, as BMPs foram extraídas de diferentes espécies, incluindo coelho, porcos (WU; HU, 1988), bovinos (WANG; ROSEN; CORDES, 1988), cães (HECKMAN et al., 1991) e humanos (URIST; DELANGE; FINERMAN, 1983), sendo o processo de separação das proteínas de difícil execução, devido estas serem quase totalmente insolúveis em soluções convencionais. Adicionalmente, as BMPs nativas estão presentes no osso cortical em proporções muito pequenas, aproximadamente 1-2µg BMP/kg de osso cortical, e por isso, grandes quantidades de osso são necessárias para produzir BMPs para experimentos (TUOMINEN et al., 2000). Entretanto, com o avanço da engenharia genética, proteínas morfogenéticas ósseas recombinantes podem ser produzidas em quantidades ilimitadas, sendo empregadas em estudos laboratoriais e clínicos (RILEY et al., 1996). Fato de extrema importância a ser citado, se refere a homologia entre os códigos genéticos das BMPs nas diferentes espécies de mamíferos, o que permite o emprego de BMPs recombinantes de uma espécie para outra, sem estimular resposta antigênica (KIRKER-HEAD, 1995).

Carreadores de BMPs

Para otimizar a osteoindução das BMPs, elas devem estar associadas a uma substância carreadora apropriada, a qual parece possuir efeito sobre a farmacocinética e ação destas proteínas (LINDHOLM; GAO, 1993).

O material carreador deve apresentar algumas características (ALDINGER et al., 1991) dentre elas:

- ✓ Relativa solubilidade em condições fisiológicas
- ✓ Biodegradabilidade
- ✓ Proteção contra atividade proteolítica
- ✓ Ser substrato para adesão celular e proliferação
- ✓ Ser imunologicamente inerte
- ✓ Liberar as BMPs lentamente
- ✓ Ser estável mecanicamente no defeito ósseo
- ✓ Facilmente manufaturado

Muitos carreadores já foram testados experimentalmente, mas o material ideal para carrear as BMPs ainda não foi definido, dependendo provavelmente, da indicação clínica para o uso da proteína morfogenética a ser empregada (WOZNEY; ROSEN, 1998). Para o reparo de uma fratura, uma estrutura parecida com a do osso esponjoso, com excelente propriedade osteo-indutiva, pode ser desejável. Para a reconstrução de um defeito ósseo de grande extensão, um material mais rígido deve ser preferido (KIRKER-HEAD, 1995).

As BMPs recombinantes ou endógenas, ou ambas, têm sido combinadas com fosfato tricálcico², hidroxiapatita, matriz óssea desmineralizada, fibrina humana, osso sintético, colágenos variados e polímeros sintéticos absorvíveis (KIRKER-HEAD, 1995; TUOMINEN et al., 2001).

Estudos Clínicos

No intuito de pesquisar o real potencial clínico das BMPs, vários estudos foram realizados no homem durante a década de 80, dentre eles, o emprego desta

proteína parcialmente purificada, adicionada em cápsulas de gelatina, em 12 pacientes com não-união de fraturas de fêmur. Os pacientes foram submetidos à fixação interna e enxertos (em oito dos 12 casos estudados), sendo os resultados bastante satisfatórios, uma vez que, 11 dos 12 pacientes, obtiveram consolidação das fraturas (JOHNSON; URIST; FINERMANG, 1988).

Em estudo mais recente desenvolvido por Johnson e Urist (2000) 30 pacientes humanos com não-união de fraturas de fêmur, foram tratados com BMP humana parcialmente purificada associada a placa e enxerto cortical homólogo. Vinte e quatro dos 30 pacientes demonstraram consolidação dentro de seis meses, quatro necessitaram de novas intervenções cirúrgicas e dois pacientes não mantiveram acompanhamento no estudo. Os autores concluíram que a combinação de BMP ao enxerto cortical homólogo foi bastante satisfatório na indução de formação óssea.

Stevenson et al. (1994) empregaram BMP bovina associada a carreadores sintéticos no tratamento de fraturas de fêmur em ratos, obtendo bons resultados, com elevação da taxa de crescimento ósseo. Ao realizar estudo com BMP-2 recombinante nesta mesma espécie, Yasko et al. (1992) observaram que quanto maior o defeito ósseo produzido, maiores quantidades de BMPs são necessárias para ocorrer a consolidação. Ao empregar dose equivalente a 1,4 g de BMP, não ocorreu consolidação após quatro semanas do implante enquanto o grupo que recebeu dose de 11g de BMP, mostrou sinais de crescimento ósseo após sete dias de implantação da proteína.

Em cães, muitos estudos experimentais com BMPs recombinantes estão sendo desenvolvidos. Cook et al. (1994) empregaram as proteínas recombinantes 2 e 7 em matriz óssea desmineralizada para tratamento de fraturas de rádio-ulna, demonstrando que ambas propiciaram semelhante eficácia. A rhBMP-2 recombinante também foi empregada, experimentalmente, com sucesso, para tratamento de fraturas de mandíbula em cães (TORIUMI et al., 1991).

Heckman et al. (1991) produziram um modelo de não-união na diáfise de cães e testaram o poder osteoindutor da proteína morfogenética nestes animais. Os autores observaram que esta propiciou cicatrização óssea quando associada a polímero de ácido polilático, mas não, quando associada ao osso desmineralizado bovino extraída por guanidina. Resultado similar foi observado por Tuominen et al. (2001), os quais concluíram que ossos heterógenos desmineralizados parecem não ser bons carreadores para proteínas morfogenéticas ósseas.

Em estudo prévio, Nilsson et al. (1996) empregaram BMP bovina, em defeito ósseo de rádio-ulna em cães, na dose de 100 mg, em uma cápsula sem nenhum carreador e, compararam com o emprego de enxerto autógeno cortical na pata contralateral. Os autores descreveram que a incorporação do enxerto ósseo ocorreu dentro de período semelhante à regeneração óssea induzida pelo implante de BMP, porém, o tamanho do calo ósseo e a quantidade de osso neoformado foi, significativamente maior, no membro que recebeu enxerto autógeno.

Apesar do relato de muitos estudos experimentais em cães, a literatura ainda carece de estudos clínicos nesta espécie, os quais poderiam acrescer em muito os conhecimentos dos benefícios destas proteínas para tratamento de fraturas em Medicina Veterinária.

Outros Fatores de Crescimento

Além das proteínas ósseas morfogenéticas, outros fatores de crescimento estão envolvidos na osteogênese e podem, assim como as BMPs, ser uma nova perspectiva para o tratamento de fraturas. Dentre eles podemos citar o hormônio de crescimento, os fatores derivados de plaquetas, fatores de crescimento insulina like, fator de crescimento transformante β (TGF β), (FORELL; STRAW, 1993) e outros (Tabela 1). Enquanto as BMPs são responsáveis pela osteogênese, os fatores de crescimento estimulam a síntese de DNA, divisão mitótica e diferenciação da função celular. As células

alvo das BMPs são as células mesenquimais não especializadas do tecido conjuntivo, enquanto, os fatores de crescimento atuam em populações de células diferenciadas. Vários órgãos e tecidos, os quais podem ou não incluir as células-alvo, são fontes de fatores de crescimento (FORELL; STRAW, 1993).

Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)

Os fatores derivados de plaquetas têm sido recentemente investigados em estudos experimentais (RASUBALA et al., 2003). São sintetizados pelas plaquetas e estocados em grânulos, sendo também produzidos por macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e células musculares. Possuem potente atividade mitogênica para células mesenquimais incluindo fibroblastos e osteoblastos e estimulam a expressão de TGF β proveniente de macrófagos (MILLIS, 1999).

A atividade osteogênica aumentada foi descrita em osteotomia de tíbia de ratos (NASH et al., 1994) e defeitos de calota craniana em coelhos (VIKJAER et al., 1997) quando usado localmente, bem como evidências de efeitos administrando-se de forma sistêmica (MITLAK et al., 1996).

Hormônio de crescimento (Somatotropina)

Alguns autores citaram o emprego de hormônio de crescimento ou somatotropina para acelerar a consolidação de fraturas. Wilkens et al. (1996) avaliaram os efeitos metabólicos e histológicos da utilização de somatotropina em cães submetidos à osteotomia ulnar, e observaram melhora significativa dos aspectos histológico e metabólico da cicatrização óssea nestes animais. A somatotropina atua diretamente em receptores próprios, produzindo efeito anabólico em osteoblastos (ERNST; FROESCH, 1988) ou indiretamente, via estimulação parácrina do fator de crescimento insulina like.

Estudo recente Andreassen e Oxlund (2003) demonstrou efeito positivo da administração local (linha de fratura) de hormônio de crescimento em fratura de tíbia em ratos. Efeito sistêmico deste hormônio também já foi descrito por Bail et al. 2002.

Schmidmaier et al. (2002) compararam os efeitos da administração local ou sistêmica de hormônio de crescimento recombinante espécie-específico em ratos submetidos a fratura de tíbia, observando maior eficácia quando da administração local, em comparação com a administração subcutânea. A combinação de ambos os métodos, entretanto, não acelerou a consolidação da fratura.

Fatores de crescimento insulina like (IGF)

Juntamente com as BMPs e TGF², o IGF-I e IGF-II têm efeitos anabólicos significativos no osso. O IGF proporciona proliferação e aumento da atividade metabólica de osteoblastos e isto resulta numa maior produção de osteocalcina. A osteocalcina é a proteína não colagenosa em maior quantidade no organismo com grande especificidade para a atividade osteoclástica. Sua função principal consiste na regulação da maturação óssea e mineralização da matriz óssea. O IGF-I, in vitro, demonstra um aumento na expressão de BMP-2 e BMP-4 e a ação osteogênica local desta proteína é possivelmente mediada pelas BMPs (MARTINEZ; WALKER, 1999).

Fator de crescimento transformador β (TGF β)

Como parte da superfamília dos TGF, o TGF² é um fator de crescimento multifuncional que demonstra ser um mediador normal da fisiologia celular e embriogênese dos tecidos. A maior quantidade de TGF² no organismo está presente na matriz óssea extracelular, e o segundo local de maior quantidade é nas plaquetas (RILEY et al., 1996; MILLIS, 1999; MARTINEZ; WALKER, 1999).

O TGF² participa dos processos inflamatórios e de reparação. Apresenta efeito mitogênico para

fibroblastos e é um potente estimulador de colágeno, fibronectina e produção de proteoglicanos pelos fibroblastos (MILLIS, 1999). Ele tem grande espectro de ação de atividades celulares, incluindo controle da proliferação e da atividade metabólica de células precursoras mesenquimais ósseas tais como condrócitos, osteoblastos e osteoclastos assim como potente ação quimiotática para macrófagos (RILEY et al., 1996; MARTINEZ; WALKER, 1999).

Considerações Finais

Perante a literatura consultada e tendo em vista o grande potencial clínico das BMPs e outros fatores de crescimento, conclui-se que a Medicina Veterinária ainda carece de estudos clínicos que avaliem o emprego destas substâncias osteoindutoras no tratamento das fraturas de difícil resolução, uma vez que, diversas pesquisas experimentais na espécie canina demonstraram eficácia e segurança na sua utilização. Sob este aspecto, os autores vêm adotando o uso agentes osteoindutores, principalmente BMP e plasma rico em plaquetas no tratamento de quadros de não união de fraturas e fraturas com alta cominuição, e a avaliação dos resultados parciais apontam alta eficácia, com significativa diminuição do tempo de consolidação óssea (Figuras 1, 2 e 3).

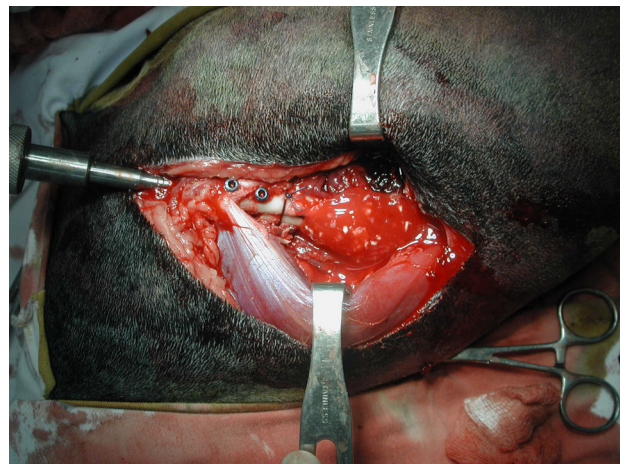


Figura 1. Imagem fotográfica da utilização de plasma rico em plaquetas como adjuvante de consolidação óssea em fratura diafisária de fêmur de cão.

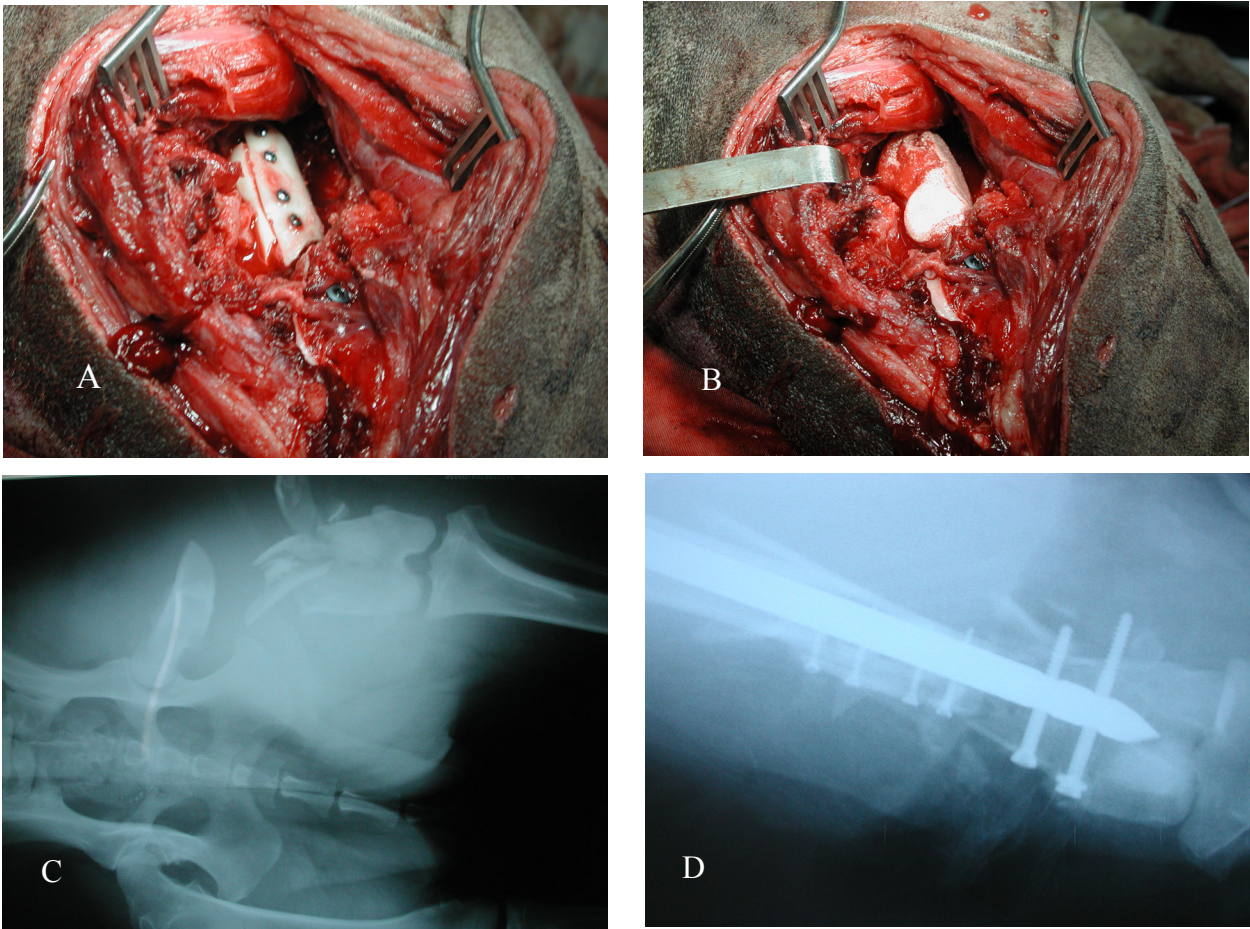


Figura 2. Imagens fotográficas de enxerto combinado de PRP e osso liofilizado em fratura cominutiva diafisária de fêmur de cão de aproximadamente 40 Kg, reduzida por técnica de Interlocking nail, com evolução radiográfica do processo. A) aproximação das esquirolas com fixação por parafusos; B) Utilização do enxerto; C) Exame radiográfico do momento pré-operatório; D) Imagem radiográfica do pós-operatório imediato.

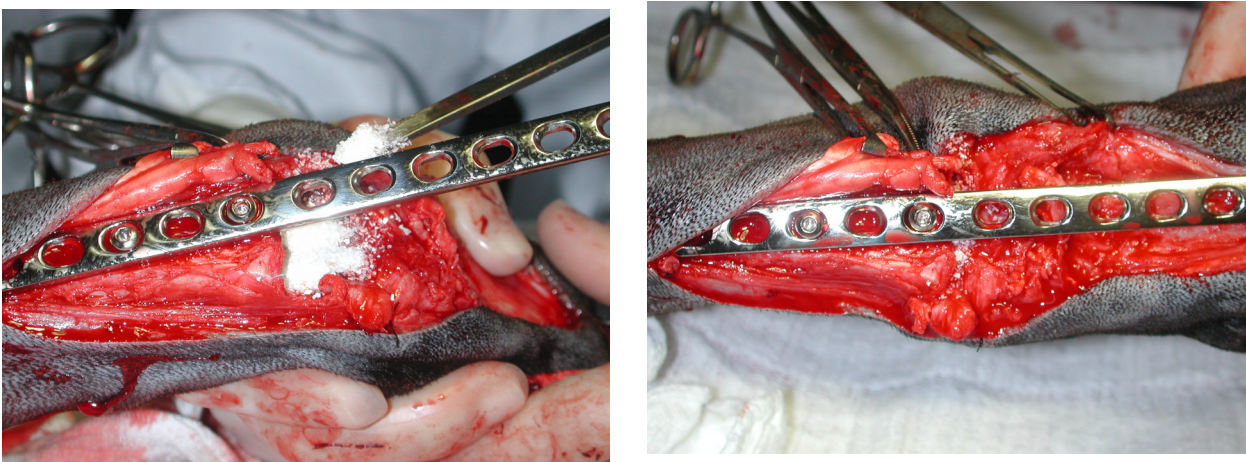


Figura 3. Imagens forográficas da utilização de BMP em artodese de carpo de cão, associado ao produto de fresagem do osso subcondral

Tabela 1. Fatores de crescimento envolvidos na cicatrização óssea

Fator de Crescimento	Abreviação	Fonte	Funções
Fator de Crescimento derivado de Plaquetas	PDGF	Plaquetas, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos, células musculares	Quimiotaxia de macrófagos e fibroblastos, metabolismo de colágeno, angiogênese e mitogênico para fibroblastos e osteoblastos.
Fator de Crescimento de Fibroblastos	FGF	Células endoteliais, macrófagos, ossos e condrócitos	Mitogênico para células endoteliais, fibroblastos, condrócitos e osteoblastos; estimula matriz e deposição de colágeno e angiogênese.
Fator de Crescimento Epidérmico	EGF	Plaquetas e outros tecidos	Quimiotático para células endoteliais e fibroblastos, estimula a angiogênese e atividade das collagenases.
Fator de Crescimento Transformador β	TGF β	Macrófagos, plaquetas, condrócitos, osteoblastos, matriz óssea e rim	Mitogênico para fibroblastos, condroblastos e osteoblastos, síntese de colágeno e ativa outros fatores de crescimento, induz diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas.
Somatotropina	GH, STH	Pituitária anterior	Anabolismo generalizado, crescimento da fise, estimula a proliferação e função dos osteoblastos, eleva o crescimento de células imaturas e a produção de IGF pelo fígado e osteoblastos.
Fator de Crescimento insulina <i>like</i>	IGF	Fígado, osteoblastos, condroblastos, fibroblastos e matriz óssea	Estimula a síntese de colágeno, proliferação de fibroblastos, síntese de proteoglicanos sulfatados, atua na função dos osteoblastos, mitogênico para células diferenciadas (incluindo osteoblastos).

Fonte: modificado de Millis (1999)

Referências

ALDINGER, G.; HERR, G.; KUSSWETTER, W.; REIS, H. J.; THIELEMANN, F. W.; HOLZ, U. Bone morphogenetic protein: a review. *International Orthopaedics*, Berlin, v.15, n.2, p.169-177, 1991.

ANDREASSEN, T. T.; OXLUND, H. Local anabolic effects of growth hormone on intact bone and healing fractures in rats. *Calcified Tissue International*, New York, v.6, p.39-42, 2003.

BAIL, H. J.; KOLBECK, S.; KRUMMREY, G.; SCHMIDMAIER, G.; HAAS, N. P.; RASCHK, M. J. Systemic application of growth hormone for enhancement secondary and intramembranous fractures healing. *Hormone Research*, Basel, v.59, Suppl. 3, p.39-42, 2002.

BAUER, T. W.; MUSCHLER, G. F. Bone graft materials: an overview of the basic science. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.371, p.10-27, 2000.

Bessho et al. 1999 (*FALTA A REFERENCIA)

BOERO, M. J.; SCHNEIDER, J. E.; MOSIER, J. E.; GUFFY, M. M.; BUTLER, H. C.; LEIPOLD, H. W. Evaluation of the tibia as a source of autogenous cancellous bone in the horse. *Veterinary Surgery*, Philadelphia, v.18, n.4, p.322-327, 1989.

BOSTROM, M.; LANE, J. H.; TOMIN, E.; BRWNE, M.; BERBERIAN, W.; TUREK, T.; SMITH, J.; WOZNEY, J.; SCILDHAUER, T. Use of morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, n.327, p.272-282, 1996.

- BRINKER, W. O.; PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. Fractures: classification, diagnosis and treatment. In: *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Treatment*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1990. p.3-58.
- BURCHARDT, H. The biology of bone graft repair. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.174, p.28-42, 1983.
- CELESTE, A. J.; IANNAZZI, J. A.; TAYLOR, R. C.; HEWICK, R. M.; ROSEN, V.; WANG, E. A.; WOZNEY, J. M. Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified in bovine bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.87, n.24, p.9843-9847, 1990.
- COOK, S. D.; WOLFE, M. W.; SALKED, S. L.; RUEGER, D. C. Effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of segmental defect in non human primates. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.77, p.734, 1995.
- COOK, S. D.; BAFFES, G. C.; WOLFE, M. W.; SAMPATH, T. K.; KUEGER, D. C. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 induces healing in a canine long-bone segmental defect model. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.30, p.302-312, 1994.
- EINHORN, T. A. Current concept review: enhancement of fracture healing. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.77A, p.940, 1995.
- EINHORN, T. A.; LANE, J. M.; BURSTEIN, A. H.; KOPMAN, C.R.; VIGORITA, V. J. The healing of segmental bone defects by demineralized bone matrix. A radiographic and biomechanical study. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.66, n.2, p.274-279, 1984.
- ERNST, M.; FROESCH, E. R. Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum free cultures via local synthesis of insulin-like growth factor I. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Orlando, v.151, n.1, p.142-147, 1988.
- FORELL, E. B.; STRAW, R. C. Bone morphogenetic proteins and bone derived growth factors. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, Stuttgart, v.6, p.166-171, 1993.
- GOLDBERG, V. M.; STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.225, p.7-16, 1987.
- HECKMAN, J. D.; BOYAN, B. D.; AUFDEMORTE, T. B.; ABBOTT, J. T. The use of bone morphogenetic protein in the treatment of non-union in a canine model. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.73, n.3, p.750-764, 1991.
- ITOH, T.; MOCHIZUKI, M.; FUDA, K. Repair of ulnar segmental defect by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dogs. *Journal of Veterinary Science*, Suwon, v.60, p.451-458, 1998.
- JOHNSON, E. E.; URIST, M. R.; FINERMANG, G. A. Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral non-unions. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.230, p.257-265, 1988.
- JOHNSON, E. E.; URIST, M. R. Human bone morphogenetic protein allografting for reconstruction of femoral nonunion. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.371, p.61-74, 2000.
- KIRKER-HEAD, C. A. Recombinant bone morphogenetic proteins: novel substances for enhancing bone healing. *Veterinary Surgery*, Philadelphia, v.24, p.408-419, 1995.
- LINDHOLM, T. S.; GAO, T. G. Functional carriers for bone morphogenetic proteins. *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae Fenniae: Supplementum*, Helsinki, v.207, p.3-12, 1993.
- LINDHOLM, T. S.; RAGNI, P.; LINDHOLM, T. C. Response of bone marrow stroma cells to demineralized bone matrix in experimental spine fusion in rabbits. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.230, p.296-302, 1988.
- MARTINEZ, S. A.; WALKER, T. Bone grafts. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, Philadelphia, v.29, n.5, p.1207-1219, 1999.
- MARTINEZ, S. A.; MILLIS, D. L. Bone grafts. In: SLATTER, D. *Textbook of Small Animal Surgery*. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 2003. p.1875-1891.
- MILLIS, D. L. Bone end non-bone-derived growth factors and effects on bone healing. *The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, Philadelphia, v.29, n.5, p.1221-1245, 1999.
- MITLAK, B. H.; FINKELMAN, R. D.; HILL, E. L.; LI, J.; MARTIN, B.; SMITH, T.; D'ANDREA, M.; ANTONIADES, H. N.; LYNCH, S. E. The effect of systemically administered PDGF-BB on the rodent skeleton. *Journal of Bone and Mineral Research*, Washington, v.11, p.238, 1996.
- MOHAN, S.; BAYLINK, D. J. Bone growth factors. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.263, p.30-48, 1991.
- NASH, T. J.; HOWLETT, C. R.; MARTIN, C.; STEELE, J.; JOHNSON, K. A.; HICKLIN, D. J. Effect of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. *Bone*, New York, v.15, p.203, 1994.
- NILSSON, O. S.; URIST, M. R.; DAWSON, E. G.; SCHMALZRIED, T.; FINERMAN, G. A. M. Bone repair induced by morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.68-B, n.4, p.635-642, 1996.
- RASUBALA, L.; YOSHIKAWA, H.; NAGATA, K.; IJIMA, T.; OHISHI, M. Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures

- in rats. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, Edinburgh, v.41, n.3, p.173-178, 2003.
- RILEY, E. H.; LANE, J. M.; URIST, M. R.; LYONS, K. M.; LIEBERMAN, J. R.; Bone morphogenetic Protein-2: biology and applications. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.324, p.39-46, 1996.
- SCHMIDMAIER, G.; WILDEMANN, B.; HEEGER, J.; GABELEIN, T.; FLYVBJERG, A.; BAIL, H. J.; RASCHKE, M. Improvement of fracture healing by systemic administration of growth hormone and local application of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1 *Bone*, New York, v.31, n.1, p.165-72, 2002.
- STEVENSON, S.; CUNNINGHAM, N.; TOTH, J.; DAVY, D.; REDDI, A. H. The effect of osteogenin (a bone morphogenetic protein) on the formation of bone in orthotopic segmental defects in rat. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.76-A, n.11, p.1676-1687, 1994.
- TORIUMI, D. M.; KOTLER, H. S.; LUXEMBURG, D. P.; HOLTROP, M. E.; WANG, E. A. Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, Chicago, v.117, n.10, p.1101-1112, 1991.
- TULI, S. M.; SINGH, A. D. The osteoinductive property of decalcified bone matrix. An experimental study. *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v. 60, p. 116-123, 1978.
- TUOMINEN, T.; JÄMSÄ, T.; TUUKKANEN, J.; NIEMINEN, P.; LINDHOLM, T. C.; LINDHOLM, T. S.; JALOVAARA, P. Native bovine bone morphogenetic protein improves the potential of biocoral to heal segmental canine ulnar defects. *International Orthopaedics*, Berlin, v.24, n.5, p.289-294, 2000.
- TUOMINEN, T.; JÄMSÄ, T.; TUUKKANEN, J.; MARTTINEN, A.; LINDHOLM, T. S.; JALOVAARA, P. Bovine bone implant with bovine bone morphogenetic protein in healing a canine ulnar defect. *International Orthopaedics*, Berlin, v.25, n.1, p.5-8, 2001.
- URIST, M.R.; DELANGE, R. J.; FINERMAN, G. A. M. Bone cell differentiation and growth factors. *Science*, Washington, v.220, n.4598, p.680-686, 1983.
- URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. *Science*, Washington, v.150, n.698, p.893-899, 1965.
- URIST, M. R.; STRATES, B. S. Bone morphogenetic protein. *Journal of Dental Research*, Washington, v.50 (suppl), p.1392-1406, 1971.
- VIKJAER, D.; BLOM, S.; HJORTING-HANSEN, E.; PINHOLT, E. M. Effect of platelet-derived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *European Journal of Oral Sciences*, Copenhagen, v.105, p.59, 1997.
- WANG, E. A.; ROSEN, V.; CORDES, P. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.85, n.24, p.9484-9488, 1988.
- WILKENS, B. E.; MILLIS, D. L.; DANIEL, G. B.; MUNSON, L.; PATEL, K. R.; BUONOMO, F. C. Metabolic and histologic effects of recombinant canine somatotropine on bone healing in dogs using an unstable osteotomy gap model. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v.57, n.9, p.1395-1401, 1996.
- WOZNEY, J. M. Bone morphogenetic proteins. *Progress in Growth Factor Research*, Kidlington, v.1, n.4, p.267-280, 1989.
- WOZNEY, J. M. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Molecular Reproduction and Development*, New York, v.32, n.2, p.160-167, 1992.
- WOZNEY, J. M.; ROSEN, V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.346, p.26-37, 1998.
- WOZNEY, J. M.; ROSEN, V.; CELESTE, A. J. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, Washington, v.242, n.4885, p.1528-1534, 1988.
- WU, Z. Y.; HU, X. B. Separation and purification of porcine bone morphogenetic protein. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, v.230, p.229-236, 1988.
- YASKO, A. W.; LANE, J. M.; FELLINGER, E. J.; ROSEN, V.; WOZNEY, J. M.; WANG, E. A.. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2). *Journal of Bone and Joint Surgery*, Boston, v.74A, n.5, p.659-670, 1992.
- ZHU, H.; KAVSAK, P.; ABDOLLAH, S.; WRANA, J. L.; THOMSEN, G. H. A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature*, London, v.400, n.6745, p.687-693, 1999.

