

## **PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSSEAS (BMPS): MODO DE AÇÃO, APLICAÇÃO E CARREADORES**

Luiz Felipe de Moraes de BARROS<sup>1</sup>; Thaís Fernanda da Silva MACHADO<sup>1</sup>;  
Vanessa Magalhães FERRAZ<sup>1</sup>; Cassio Ricardo Auada FERRIGNO<sup>2\*</sup>

A ortopedia e a traumatologia modernas têm como objetivo a perfeita consolidação óssea. Nos últimos anos, é crescente o número de pesquisas que relatam novas técnicas e implantes associados à biologia molecular. O presente estudo tem o intuito de revisar o modo de ação, aplicação e carreadores das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs). As BMPs são produtos de matriz óssea desmineralizada com a propriedade de formação do tecido ósseo e são componentes dos fatores de crescimento (TGF). Promovem a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos e condroblastos, com conseqüente organização do tecido ósseo. As BMPs são implantadas através de carreadores que fornecem estrutura para a formação do novo tecido e controlam o nível de concentração crítico e a localização das células indutoras. Estas ligam-se a receptores específicos, que em conjunto com as proteínas SMAD, ativam genes responsáveis pelo processo de mineralização. A ação das BMPs é auto regulada pelos fatores inibitórios, noggin e chordin que impedem a ligação com os receptores de superfície. Os vírus têm sido utilizados conferindo cicatrização óssea através de vetores de porções do DNA das BMPs. As indicações do uso das BMPs incluem reparação de fraturas, não união, fusão vertebral e na odontologia.

**Termos para indexação:** cicatrização, fatores de crescimento, osso, proteínas morfogenéticas ósseas

## **BONE MORPHOGENETIC PROTEINS (BMPS): ACTION MODE, APPLICATION AND CARRIERS**

Modern orthopedics and traumatology aim perfect bone consolidation. In the past years, the number of researches about new techniques, and new implants with molecular biology, increased. This research objectives a review of the application of the bone morphogenetic proteins (BMPS). The BMPs are demineralized bone products that form new bone tissue and they are growth factor components. They provide the differentiation of mesenchymal cells in osteoblastic and chondroblastic cells, with bone tissue organization. The BMPs are implanted through carriers which supply structure to new tissue formation, control the critical concentration level and locate inducing cells. They connect to specific receivers, and in association to SMAD proteins, they activate genes responsible for the calcification process. BMPs action is regulated by inhibitory factors, noggin and chordin, blocking the bond with surface receivers. The viruses are being used, providing bone cicatrization through the DNA vectors in the BMPs. The indications of the use of BMP include fracture repairs, non unions, spine fusions and dental procedures.

**Index terms:** healing, growth factor, bone, bone morphogenetic protein.

<sup>1</sup> Pós graduando da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

<sup>2</sup> Prof. Dr. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo  
Av. Orlando Máquez de Paiva , 87 São Paulo, São Paulo, Cep 05508-900, Tel. 5511 3091 1211. \*Autor para correspondência e-mail: cassioaf@usp.br

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a ortopedia vem procurando novos métodos para uma reparação óssea mais efetiva. Para tanto muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com objetivo de melhorar a cicatrização óssea. Estudos estes que envolvem não apenas técnica cirúrgica como também artifícios biológicos e moleculares. Neste sentido, Urist (1965) dedicou-se a pesquisar este fenômeno, extraindo do tecido ósseo produtos que, na ausência de osso, poderiam produzir o mesmo efeito. Em seus estudos descobriu que uma matriz óssea desmineralizada era capaz de formar tecido ósseo em um sítio ectópico como em tecido muscular. Estes produtos, embora não identificados por ele, foram denominados de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs). O mesmo autor comprovou que as BMPs extraídas do osso podem produzir diferenciação celular, organização do tecido ósseo com vascularização intensa, formação de cartilagem e a completa remodelação óssea com formação de estruturas de renovação do tecido calcificado. Reddi (1998) e Sampath e Reddi (1983) normatizaram este ensaio, o que permitiu alcançar e reproduzir o mapeamento da atividade indutora de osteogênese das várias frações de proteínas não colágenas.

Posteriormente foram identificadas as seqüências genéticas e as proteínas responsáveis por estes eventos. Esta descoberta deu-se através da análise da seqüência de aminoácidos das proteínas indutoras e o mapeamento reverso da localização genética destas. Determinou-se, portanto, que as BMPs fazem parte de uma grande família de fatores de crescimento conhecidos como TGF (*transforming growth factors*) perfazendo um conjunto de pelo menos 18 diferentes proteínas, com composição e efeito biológico variados, e apresentadoras de potencial indutor em sítios específicos de múltiplos tecidos (MARIE, 1997). As proteínas SMAD em conjunto com as BMPs e seus receptores específicos induzem o processo de mineralização.

SMADs são proteínas evolutivamente conservadas, identificadas como mediadores da ativação transcricional pelos membros da superfamília TGF - beta das citocinas (OGASAWARA et al., 2004)

Atendo-se apenas àquelas de maior interesse terapêutico, pode-se afirmar que as BMP-2 e BMP-4 são muito semelhantes, variando apenas alguns aminoácidos na região N-terminal. As BMP 5, 6 e 7 são igualmente semelhantes, sendo também denominadas como OP-1 (*osteogenic proteins*) ao passo que a BMP-8 pode ser chamada de OP-2. Usando técnicas de biologia molecular foram obtidos homólogos de cada seqüência, após a inserção de fragmentos protéicos que expressam BMPs em células receptoras (BENTZ et al., 1989).

Assim, iniciou-se a produção de BMPs a partir de células de mamífero (CHO - chinese hamster ovaria) com DNA modificado, processo este chamado de clonagem e recombinação. As BMPs assim produzidas são chamadas de rhBMPs ou BMPs recombinantes humanas. Atualmente, a produção de rhBMPs já é feita a partir de *Escherichia coli*, para aumentar a produção e diminuir os custos (BESSHO, 2000).

## MODO DE AÇÃO DAS BMPS

As BMPs são proteínas multifuncionais e a implantação de BMP-2 ou BMP-7 em áreas não calcificadas produzem a formação de osso e cartilagem (WANG et al., 1990). Quando implantadas as BMPs se ligam a receptores específicos e, a partir deste acoplamento inicial, proteínas SMAD ativam genes no núcleo das células a iniciarem uma série de eventos de produção de proteínas relacionadas à mineralização.

Basicamente, as BMPs produzem efeitos de diferenciação, transformando células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos e condroblastos (YAMAGUCHI, 1998). O rhBMP-2 induz a expressão de osteocalcina que é uma proteína específica do osso e vários tipos de células, como células de calvária ROB-C26 e células de embrião C3H10T1/2. A aplicação desta

substância em mioblastos C2C12 interrompe a expressão de marcadores específicos de mioblastos e passam a apresentar fatores de expressão típicos de células ósseas. Conclui-se, desta forma, que a capacidade osteoindutora também pode estar ligada a células muito diferentes do tecido ósseo. As rhBMP-2 são amplamente usadas para melhorar a cicatrização óssea no entanto novos estudos estão em desenvolvimento para melhorar a qualidade desta ferramenta. Schmoekel et al. (2004) procuraram desenvolver uma molécula de rhBMP-2 não glicosilada. Esta molécula apresentava solubilidade reduzida e, desta forma, foi mais bem retida pela matriz de fibrina.

A atividade das BMPs é auto regulada sendo interferida por fatores de expressão negativa, ou inibitórios. Estes fatores podem se acoplar às BMPs impedindo que estas proteínas exerçam atividade estimulatória junto aos receptores específicos de membrana, o que parece compor um sistema interessante de *feedback* entre os efeitos de formação de osso e efeitos reversos deste processo (CANALIS et al., 2003).

Os fatores inibidores mais importantes são o noggin e o chordin. O primeiro tem grande afinidade por BMP-2 e BMP-4, impedindo que elas se acoplem aos receptores de superfície. Existem dois tipos de receptores, chamados de Tipo I e Tipo II e ambos são necessários para a transdução do sinal. Quando o receptor Tipo I está presente, esta atividade é aumentada. A atividade ótima da BMP exige, portanto, a presença dos dois receptores, sendo que a atividade específica é controlada pelo Tipo I (LUPPEN et al., 2002)

As proteínas Smad1, Smad5 e Smad8 sofrem fosforilação pela ação dos receptores e se translocam para o núcleo, onde regulam a transcrição dos genes alvo. O fator de transcrição (PEBP2[ $\alpha$ ]A/Cbfa1) parece ser o alvo específico das Smads ativadas. Sem este fator demonstrou-se ausência total de calcificação. Ogasawara et al. (2004) demonstraram que as BMP-2 podem estar reguladas a partir da expres-

são de ciclinas quinase dependentes. Estes autores perceberam que a expressão destas ciclinas inibiu a indução de diferenciação óssea.

## APLICAÇÕES DAS BMPs

As BMPs não são apenas um fator de indução de calcificação ectópica, estas também apresentam grande participação na diferenciação de outros tecidos, como demonstra a Tabela 1. Animais que foram suprimidos de BMPs apresentaram ao nascimento alterações morfológicas em coração, pulmões e fígado (CHEN et al., 2004). A ausência destas proteínas parece ainda estar associada à fisiopatologia da osteoporose (SUDA e MIYAJURA, 2004). Quando implantadas *in vivo* as BMPs induzem uma série de eventos, como formação óssea endocondral, incluindo infiltração de células mesenquimais, diferenciação destas células em condrócitos, remoção desta cartilagem, formação do osso, povoamento do osso com elementos da medula óssea, culminando com o processo de remodelação do tecido ósseo. Pela análise de doses progressivas, pode ser estabelecida uma curva de resposta, indicando ser a formação óssea dependente de uma dose mínima. Isto implica em afirmar que quanto maior e mais precoce a dose, maior será a formação de osso, podendo ocorrer também a ossificação intramembranosa, ou seja, sem a formação de cartilagem preliminar.

As BMP-2, segundo Luppen et al. (2002), foram capazes de incrementar o crescimento ósseo em coelhos submetidos a osteotomia bilateral ulnar e tratados com prednisolona, sugerindo que esta pode ser uma alternativa para o tratamento de fraturas nos casos em que o paciente está sendo submetido a terapia crônica de glicocorticoide.

O uso das BMPs está indicado não apenas no tratamento de fraturas. Alguns autores estudaram o uso destas proteínas para obter fusão entre corpos vertebrais. Mummaneni et al. (2004) compararam enxerto autólogo de crista ilíaca em relação a

BMP-2 para realização deste procedimento e constataram que houve fusão mais rápida quando de utiliza as BMPs. A associação de BMP e colágeno também foi testada na artrodese espinhal. Damien et al. (2002) e Helm et al. (2000) observaram intensa indução óssea e afirmaram que esta

pode ser uma boa opção para este propósito. A terapia genética também foi empregada como método auxiliar na fusão vertebral com uma taxa de fusão de 70%. Ainda observou-se a microscopia aparência de osso trabecular normal (HIDAKA et al., 2003).

TABELA 1 - Funções conhecidas dos tipos de BMPs

<b>Tipo de BMP</b>	<b>Função</b>
BMP-2	Osteoindutiva, apoptose, diferenciação de osteoblastos
BMP-3	Inibe osteogênese (osteogenina)
BMP-4	Osteoindutiva, desenvolvimento do pulmão e sistema ocular
BMP-5	Condrogênese
BMP-6	Condrogênese, diferenciação de osteoblastos
BMP-7	(OP-1) Osteoindutiva, desenvolvimento do fígado
BMP-8	(OP-1) Osteoindutiva
BMP-9	Hepatogênese, Desenvolvimento do sistema nervoso
BMP-10	Desenvolvimento cardíaco
BMP-11	Morfogênese do sistema nervoso e órgãos de origem mesodérmica
BMP-12	Desenvolvimento de tendões e ilíacos
BMP-13	Desenvolvimento de tendões e ligamentos
BMP-14	Condrogênese
BMP-15	Modifica atividade de hormônio folículo estimulante

Fonte: Laurent et al. (2004).

Não somente na fratura dos ossos longos está indicado o uso das BMPs.. As BMP-2 e 4 parecem ser mais expressas nas células osteoblásticas do que a BMP-7 durante o período de distração (CAMPISINI, 2003).

### **CARREADORES DE BMP**

Atualmente, esforços têm sido concentrados na busca de um implante carreador de BMPs que possa otimizar a sua aplicação. Os carreadores provêm três diferentes e importantes funções: atuam como um espaçador tridimensional, fornecendo a estrutura necessária para a formação do novo tecido; mantém o nível de concentração crítico das BMPs no local, permitindo que o processo de calcificação ocorra com segurança e mantém a BMP no local dese-

jado, impedindo que haja calcificação em locais indesejados (SAITO e TAKAOKA, 2003)

É absolutamente crítico o tempo de reabsorção do carreador: se for demasiado curto, não mantém a concentração adequada de BMP durante o tempo necessário e se muito longo pode impedir fisicamente o desenvolvimento do novo tecido calcificado, levando à formação óssea não-orientada e pseudoartrose (GEIGER et al., 2003).

O carreador mais utilizado atualmente é o colágeno bovino acelular (ACS), normalmente na forma de uma manta, que recebe a BMP dissolvida em solução-tampão no momento do procedimento, em doses de até 1,5 mg/ml. A desvantagem do colágeno é que este não oferece resistência mecânica, podendo ser deslocado por for-

ças musculares durante a cicatrização. Por outro lado, o colágeno une-se a BMP e favorece sua liberação controlada. O implante de colágeno pode, segundo Geiger et al. (2003), ser considerado uma opção segura como coadjuvante do uso de BMP-2 como já foi demonstrado em estudos com animais e humanos. Em um estudo clínico, Kujala et al. (2004) utilizaram-se de implante carreador feito de colágeno para reparação de não-união. Neste estudo puderam constatar que a utilização de implantes que contenham BMPs são uma alternativa superior ao enxerto autógeno para o tratamento de não-união. Outro caso do uso de BMP para tratamento não-união, porém em tibia, foi reportado por Pecina et al. (2003), por onde concluíram que a associação de BMPs como moléculas sinalizadoras e implante de células da medula óssea pode ser capaz de promover a cicatrização óssea. As BMPs podem ser aplicadas em associação a implantação de compostos de hidroxiapatita e células da medula óssea. Segundo Noshi et al. (2000), esta associação tem como principal objetivo incrementar o potencial osteogênico do composto de hidroxiapatita.

Sumner et al. (2004) conduziram estudo em que se avaliou o crescimento ósseo quando do uso de um carreador de hidroxiapatita e associações de doses crescentes e rhBMP-2, para reparar defeitos profundos em úmeros de cães e concluíram que este método pode incrementar o crescimento ósseo no local tratado. Ainda afirmaram que animais não tratados apresentavam baixa taxa de crescimento ósseo, porém a partir do momento que se administra alguma quantidade de BMP esta não pode ser elevada, pois uma menor porcentagem de osso será formada.

O uso de BMP-2 é considerado atualmente extremamente seguro, eficaz, de custo acessível e, principalmente, trás satisfação ao paciente e ao cirurgião (KHAN, 2004).

Além dos carreadores feitos de colágeno, os carreadores de polímeros biodegradáveis são amplamente usados. Esta

categoria de implantes está representada por uma enorme gama de materiais tais como ácido polilático, copolímero de ácido polilático e polietilenoglicol e outros (SAITO e TAKAOKA, 2003). O *poly-D,latic-glycolic acid/sponge* foi utilizado por Tamura et al. (2001) para reparação de craniotomias em ratos. Comparando-se a associação deste carreador a BMPs e a células osteoblásticas primárias, separados e conjuntamente, constataram maior mineralização no implante que era provido dos três componentes. Os arcabouços (*scaffolds*) porosos podem receber BMP no momento da aplicação e constituem-se meio mais apropriado para a formação óssea, não apenas por serem porosos, mas pelo fato de que o tempo de reabsorção é controlado quando se escolhe a proporção entre PLA (ácido polilático) e PGA (ácido poliglicólico) (SAITO e TAKAOKA, 2003). Os mesmos autores ainda afirmaram que a aplicação das BMPs em associação a materiais carreadores está indicada em casos de fraturas cominutivas expostas, ressecção de tumores ósseos. Sugere-se a utilização de implantes de titânio com superfície porosa nos casos em que se necessita de distração de ossos longos. Hu et al. (2003) utilizaram o PLA em associação a hidroxiapatita, colágeno e BMP para reparar experimentalmente defeitos em radio de cães. Observou-se que além de provocar formação óssea, o emprego do BMP acelerou a degradação dos biomateriais. Um grupo de pesquisadores testou a associação entre BMP, TGF- $\beta$  e PLA e observaram que a aplicação local de BMP e TGF- $\beta$  pode resultar em incremento da formação do calo ósseo e melhorar a resistência biomecânica do osso formado (HELM et al., 2000).

Atualmente, as investigações mais modernas concentram-se em estudar como a terapia genética pode auxiliar na cicatrização óssea. Os vírus têm sido usados como vetores de partes de DNA das BMPs responsáveis por sua função e estes por sua vez podem mimetizar o processo de cicatrização e reparação óssea (FRANCESCHI et al., 2004) Um adenoví-

rus transfer de BMP-2 foi empregado experimentalmente por Southwood et al. (2004), em coelhos, para aumentar a cicatrização de fraturas contaminadas de fêmur. Foi constatado que este procedimento antecipa os estágios iniciais da cicatrização em fraturas infectadas. Uma restrição importante ao uso dos adenovírus é em animais imunocompetentes. Segundo Sonobe et al. (2004), animais imunossuprimidos que foram tratados com o vetor de adenovírus que expressa BMP-2 obtiveram indução da cicatrização óssea ao passo que nos animais imunocompetentes não houve a indução desejada. Isto se deu devido à rápida eliminação das partículas virais. Estes autores acreditam que o uso de um carreador de colágeno, por exemplo, pode mascarar a resposta imune e permitir a atividade viral.

A aplicação do vetor de adenovírus contendo BMP-6 foi administrada pela via percutânea com auxílio de fluoroscopia em estudo experimental realizado por Laurent et al. (2004) relatando fusão anatomicamente precisa.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

Há muito tempo se vem estudando as atividades osteoindutoras das BMPs, quer seja em sítio ósseo ou em sítios ectópico (URIST, 1965). Sabe-se hoje em dia que as BMPs desempenham importante função na diferenciação das células mesenquimais em condrócitos e em osteoblastos. Desta forma, pesquisadores têm se dedicado a estudar a aplicabilidade destas proteínas não somente no auxílio à melhora da cicatrização óssea nas fraturas como também para estabilização da coluna vertebral e na odontologia.

Os recentes avanços na Biologia Molecular têm permitido a descoberta de novas formas de se fazer uso das chamadas proteínas morfogenéticas do osso. A inclusão de seqüências de genes que expressam BMPs em partículas virais e bacterianas tem otimizado de forma relevante as propriedades osteoindutoras destas prote-

ínas. Ainda os avanços alcançados em relação aos novos materiais carreadores contribuíram para a melhor efetividade das BMPs.

A literatura recente mostra, por meio de estudos clínicos e experimentais, que estas proteínas podem ser usadas com segurança e sucesso na correção de fraturas, não-união e fusão vertebral, tanto em animais quanto humanos. Desta forma, a ortopedia e a traumatologia podem contar com as BMPs como uma ferramenta terapêutica importante, sendo que um longo caminho entre a descoberta das BMPs e a aprovação para uso clínico já foi percorrido.

## REFERÊNCIAS

- BENTZ, H.; NATHAM, R.M.; ROSEN, D.M. et al. Purification and characterization of unique osteoinductive factor from bovine bone. **Journal of Biochemistry**. Tokyo, v.264, p. 20805-20810, 1989.
- BESSHO, K.; KONISHI, Y.; KAIHARA, S. et al. Bone induction by Escherichia coli -derived recombinant human bone morphogenetic protein-2 compared with Chinese hamster ovary cell-derived recombinant human bone morphogenetic protein-2. **British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**, Edinburgh, v.38, p.645-649, 2000.
- CAMPISINI, P.; HAMDY, R.C.; LAUZIER, D. et al. Expression of bone morphogenetic proteins during mandibular distraction osteogenesis. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.111, p.201-208, 2003.
- CANALIS, E.; ECONOMIDES, A.N.; GAZZERRO, E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v.24, p.218-35, 2003.
- CHEN, D.; ZHAO, M.; HARRIS, S.E. et al. Signal transduction and biological functions of bone morphogenetic proteins. **Frontiers in Bioscience**, Tampa, v.1, n.9, p.349-58, 2004.
- DAMIEN, C.J.; GROB, D.; BODEN, S.D. et al. Purified bovine extract and collagen for spine arthrodesis: preclinical safety and efficacy. **Spine**, Philadelphia, v.15, n.27, p.50-58, 2002.

- FRANCESCHI, R.T.; YANG, S.; RUTHERFORD, R.B. et al. Gene therapy approaches for bone regeneration. **Cells Tissues Organs**, Basel, v.176, p.95-108, 2004.
- GEIGER, M.; LI, R.H.; FRIESS, W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v.28, n.55, p.1613-1629, 2003.
- HE, X.B.; LU, W.Z.; TANG, K.L. et al. Effects of bone morphogenetic protein and transforming growing factor-beta on biomechanical property for fracture healing in rabbit ulna. **Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke ZA Zhi**, Chengdu Shi, v.17, p. 185-188, 2003.
- HELM, G.A.; ALDEN, T.D.; BERES, E.J. et al. Use of bone morphogenetic protein-9 gene therapy to induce spinal arthrodesis in the rodent. **Journal of Neurosurgery. Spine**, Charlottesville, v.92, p.191-196, 2000.
- HIDAKA, C.; GOSHI, K.; RAWLINS, B. et al. Enhancement of spine fusion using combined gene therapy and tissue engineering BMP-7 expressing bon marrow cells and allograft bone. **Spine**, Philadelphia, v.28, p.2049-2057, 2003.
- HU, Y.; ZHANG, C.; ZHANG, S. et al. Develop of a porous poly(l-lactic acid)/ Hidroxiapatite/collagenscaffold as a BMP delivery system and its use in healing canine segmental bone defect. **Journal of Biomedical Materials Research**, Hoboken, v.67, p.591-598, 2003.
- KHAN, S.N.; LANE, J.M. The use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) In orthopaedic applications. **Expert Opinion on Biological Therapy**, London, v. 4, p.741-748, 2004.
- KUJALA, S.; RAATIKAINEN, T.; RYHANEN, J. et al. Composite implant of native bovine bone morphogenetic protein (BMP), collagen carrier and biocoral in the treatment of resistant ulnar nonunions: reports of five preliminary cases. **Archives of Orthopaedic Trauma Surgery**, New York, v.124, p.26-30, 2004.
- LAURENT, J.J.; WEBB, K.M.; BERES, E.J. et al. The use of bone morphogenetic protein-6 gene therapy for percutaneous spinal fusion in rabbit. **Journal of Neurosurgery. Spine**, Charlottesville, n.1, p.90-94, 2004.
- LI, R.H.; BOUXSEIN, M.L.; BLAKE, C.A. et al. rhBMP-2 injected in a calcium phosphate paste (alpha-BMP) accelerates healing in the rabbit ulnar osteotomy model. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, n.21, p.997-1004, 2003.
- LUPPEN, C.A.; BLAKE, C.A.; AMMIRATI, K.M. et al. Recombinat human bone morphogenetic protein-2 enhances osteotomy healing in glucocorticoid-treated rabbits. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, n.17, p.301-310, 2002.
- MARIE, P.J. Effects of bone morphogenetic proteins on cells of the osteoblastic lineage. **Journal Cell Engineering**, [s.l.], n.2, p.92-99, 1997.
- MUMMANENI, P.V.; PAN, J.; HAID, R.W. et al. Contribution of recombinant human bone morphogenetic protein-2 to rapid creation of interbody fusion when used in transforaminal lumbar interbody fusion: a preliminary submission report. **Journal of Neurosurgery. Spine**, Charlottesville, n.1, p.19-23, 2004.
- NOSHI, T.; YOSHIKAWA, T.; IKEUCHI, M. et al. Enhanced of the in vivo osteogenic potential of marrow/hydroxyapatite composites by bovine bone morphogenetics protein. **Journal of Biomedical Materials Research**, Hoboken v.52, p.621-630, 2000.
- NOSHI, T.; YOSHIKWA, T.; DOHI, Y. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 potentates the in vivo osteogenic ability of marrow/hydroxyapatite composites. **Artificial Organs**, Cleveland, n.25, p.201-208, 2000.
- OGASAWARA, T.; KAWAGUCHI, H.; JINNO, S. et al. Bone morphogenetic protein-2 induced osteoblast differentiation requires Smad-mediated down-regulates of Cdk06. **Molecular Cell Biology**, London, v.24, p.6560-6568, 2004.
- PECINA, M.; HASPL, M.; JELIC, M. et al. Repair of a resistant tibial non-union with a recombinant bone morphogenetic protein-7 (rhBMP-7) **International Orthopaedics**, Berlin, n.27, p.320-321, 2003.
- REDDI, A.H. Bone Morphogenetic proteins: an unconventional approach to isolation of first mammalian morphogens. **Nature Biotechnology**, New York, n.16, p.247-252, 1998

- SAITO, N.; TAKAOKA, K. New Synthetic biodegradable polymers as BMP carriers for bone tissue engineering. **Biomaterial**, Surrey, v.24, p.2287-22, 2003.
- SAMPATH, T.K.; REDDI, A.H. Homology of bone inductive proteins from human, monkey, bovine, and rat extracellular matrix. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, n.80, p.6591-6595, 1983
- SCHMOEKEL, H.; SCHENSE, J.C.; WEBER, F.E. et al. Bone healing the rat and dog with non-glycosated BMP-2 demonstrating low solubility in fibrin matrices. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, v.22, p. 376-381, 2004.
- SONOBE, J.; OKUBO, Y.; KAIHARA, S. et al. Osteoinduction by bone morphogenetic protein 2-expressing adenoviral vector: application of biomaterial to mask the host immune response. **Human Gene Therapy**, New York, v.15, p.659-668, 2004.
- SOUTHWOOD, L.L.; FRISBIE, D.D.; KAWCAK, C.E. et al. Evaluation of Ad-BMP-2 for enhancing healing in a infected defect fracture rabbit model. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, n.22, p.66-72, 2004.
- SUDA, T.; MIYAURA, C. Recent advance in basic research for osteoporosis **Nippon Rinsho**, Osaka, v.62, p.13-20, 2004.
- SUMNER, D..R.; TURNER, T.M.; URBAN, R.M. et al. Locally delivered rhBMP-2 enhances in growth and gap healing in canine model. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, v.22, p.58-65, 2004.
- TAMURA, S.; KATAOKA, H.; MATSUI, Y. et al. The effects of transplantation of osteoblastic cells with bone morphogenetic protein (BMP)/carrier complex on bone repairing. **Bone**, New York, n.29, p.169-175
- URIST, M.R. Bone formation by autoinduction. **Science**, Washington, v.150, p.893-899, 1965.
- WANG, E.A.; ROSEN, V.; D'ALESSANDRO, J.S. et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v.87, p.2220-2224, 1990.
- YAMAGUCHI, A. Recent advances in researches on bone formation-role of BMP in bone formation. **Nippon Rinsho**, Osaka, v.56, p.1406-11, 1998.