

Uso da BMP-2 e 7 na promoção da osseointegração às superfícies dos implantes de titânio

The usage of BMP-2 and 7 for the promotion of the osseointegration to titanium implants surfaces

Fabiano Ribeiro Cirano*
Adriane Yaeko Togashi*
Luiz Antonio Pugliesi Alves de Lima**
Francisco Emilio Pustigliani***

Resumo

Para que seja possível a instalação dos implantes, há necessidade de que exista tecido ósseo de boa qualidade. Sem isto, as possibilidades de osseointegração e, portanto, de sucesso são muito reduzidas. As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) são substâncias osteoindutoras e têm sido utilizadas na regeneração periodontal e na osseointegração. Em função disto, foi realizada uma revisão de literatura para analisar a influência da BMP-2 e 7 na osseointegração da superfície dos implantes com o osso neoformado. As BMP-2 e 7 promovem uma neoformação óssea, produzindo uma área propícia para a instalação dos implantes. Além disso, estas proteínas permitem uma melhor osseointegração com a superfície de titânio, acelerando-a e possibilitando uma adaptação precoce às cargas funcionais. A aplicação da BMP-2 ou 7 pode ter utilidade clínica, no caso os implantes, além de ser uma alternativa para os enxertos ósseos autógenos. Novos estudos são necessários para analisar a viabilidade e o sucesso da aplicação destas proteínas no caso de implantes intra-orais em humanos.

Palavras-chave: Proteínas morfogenéticas ósseas; Osseointegração; Implante dentário; Titânio

Abstract

For the implants installation to be possible there is a need for a good quality osseous tissue to exist. Without this, the possibilities of osseointegration and, therefore, the success, are much reduced. The bone morphogenetic proteins (BMPs) are osseous inducers substances and have been used in the periodontal regeneration and in the osseointegration. In function of that, a literature revision was carried out to analyze the influence of BMP-2 and 7 in the osseointegration of implants surface, with the neoformed bone. The BMP-2 and 7 promote a bone neoformation, thus producing an adequate area for the implants installation. Besides that, these proteins allow a better osseointegration with the titanium surface, expediting it and enabling a precocious adaptation to the functional loads. The application of BMP-2 or 7 can have clinical utility, in this case the implants, besides being an alternative for the autogenous osseous grafts. New studies are necessary to analyze the viability and the success of these proteins application, in case of intraoral implants in humans.

Key words: Bone morphogenetic proteins ; Osseointegration; Dental implantation; Titanium

Introdução

Atualmente, os implantes de titânio são muito utilizados na clínica odontológica, oferecendo ótimos resultados estéticos e funcionais. A instalação dos implantes requer um tecido ósseo de ótima qualidade e em quantidade suficiente, sendo os insucessos geralmente relacionados à falta de integração da superfície de titânio com o tecido ósseo neoformado ao redor do implante.

Muitos materiais têm sido utilizados na tentativa de promover a formação e reparação do osso perdido e melhorar a osseointegração com os implantes de titânio, entre eles as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs),

substâncias osteoindutoras que iniciam o desenvolvimento dos tecidos através da estimulação da conversão fenotípica de células indiferenciadas, em células condroprogenitoras e osteoprogenitoras^{15,32}.

Estudos clínicos, em animais e in vitro, indicam que a BMP-2 e a BMP-7 (proteína osteogênica) são capazes de estimular a regeneração óssea, promover o preenchimento de defeitos ósseos maxilo-mandibulares e de perdas ósseas causadas por doença periodontal, participar da regulação do crescimento esquelético normal e da remodelação óssea em doenças metabólicas e acelerar a osseointegração e a formação óssea ao redor de implantes³².

* Alunos de pós-graduação, nível Doutorado, da Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) E-mail: cirano@usp.br

** Professor Livre Docente da Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da FOUSP.

*** Professor Titular da Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da FOUSP.

A proposta deste trabalho é avaliar o uso da BMP-2 e da BMP-7 na melhora da qualidade de osso neoformado e da osseointegração nas superfícies dos implantes de titânio, baseado na literatura existente.

Revisão da literatura

A ossificação heterotópica tem sido estudada por se tratar de um processo que pode ser útil na regeneração e reparação óssea⁷. Esse tipo de formação óssea ocorre por auto-indução³², sendo a substância ósseo-indutora chamada de proteína morfogenética óssea (BMP). Esta atua sobre as células mesenquimais indiferenciadas, induzindo sua conversão em células osteoprogenitoras, sendo capazes de induzir a formação óssea em regiões ectópicas, sem a necessidade da presença de periósteo¹⁸.

A BMP-2 participa da diferenciação de células mesenquimais em células com fenótipo de osteoblastos, aumentando a atividade da fosfatase alcalina, do cAMP (em resposta ao hormônio da paratireóide) e de osteocalcina^{31,37}.

A necessidade de verificar a participação dos vários fatores no processo de indução óssea levou à produção de BMPs recombinantes, as quais permitiram maiores conhecimentos quanto ao modo de utilização destas proteínas para a neoformação óssea. Wang *et al.*³⁴ (1990) verificaram que o aumento da concentração de BMP-2 na matriz óssea implantada diminui o tempo para que ocorra nova formação óssea.

Sabe-se que mesmo quando implantada sozinha, em uma forma liofilizada, a rhBMP-2 conduz à formação óssea³⁴. Entretanto, a utilização de um substrato ou meio adequado permite que a BMP atue de modo mais efetivo²⁴, imobilizando a proteína em uma área específica e definindo a forma do osso a ser regenerado³⁵.

Alguns materiais foram testados como substratos para a implantação da BMP com resultados promissores como: composto de BMP bovina com gesso Paris e água³⁸; discos de hidroxiapatita, reabsorvíveis e não reabsorvíveis, tratados com osteogênina obtida da matriz óssea de babuínos²⁵; copolímero de ácido polilático-polietilenoglicol combinado com BMP parcialmente purificada, proveniente de osteossarcoma, e hidroxiapatita²¹; entre outros.

Estudos mais recentes estão testando várias formas de titânio como substrato para as BMPs, tendo em vista sua possível utilização nos casos de implantes, mostrando que a BMP estimula a formação óssea ao redor do titânio, assim como promove uma melhor aderência deste novo osso na superfície e no interior dos poros dos implantes de titânio¹⁴. Além disso, promove uma aceleração na maturação do osso neoformado e da osseointegração³⁶.

A partir destas informações, muitos trabalhos foram realizados para verificar a habilidade da BMP-2 e da BMP-7 em estimular a formação óssea ao redor de implantes e melhorar a osseointegração nas superfícies de titânio.

Desde 1995, Sirgurdsson *et al.*²⁵ já sugeriam que a

implantação de rhBMP-2 não regenera somente o osso alveolar original, mas também o ligamento periodontal e o aparelho de sustentação, sendo útil nos casos de implantes dentários, promovendo o aumento da crista alveolar ou a elevação do seio para fornecer, posteriormente, um osso adequado para o implante. Pode também ser aplicada no local das extrações ou ao redor de implantes, para aceleração do tempo apropriado para a colocação dos mesmos e/ou a osseointegração.

Cook *et al.*⁶, em 1995, avaliaram a eficácia da BMP-7 na cicatrização de alvéolos frescos após extrações, e na osseointegração de implantes revestidos ou não com hidroxiapatita. O preenchimento dos defeitos ósseos, a densidade e o grau de remodelação óssea foi maior nas áreas tratadas com BMP-7 e nos implantes revestidos com hidroxiapatita.

A rhBMP-2 atua de maneira diversa sobre os diferentes tipos celulares e biomateriais. Um estudo de Kim *et al.*¹⁶ (1997) mostrou que a rhBMP-2 estimula a produção de fosfatase alcalina pelas células da medula óssea fresca e colônias formadoras de fibroblastos (cfu-F), quando cultivadas em ligas de titânio ou titânio puro. Estes achados indicam que, clinicamente, enxertos de células da medula óssea fresca, ou cfu-F estimuladas por rhBMP-2, poderiam promover a formação óssea em áreas de defeitos ou ao redor de implantes.

A praticabilidade do emprego dos indutores ósseos (rhBMP-2) na regeneração de grandes defeitos maxilo-faciais foi estudada por Boyne *et al.*⁴ (1999). Defeitos hemimandibulares foram criados em coelhos e a rhBMP-2 foi aplicada através do uso de malha ortopédica ou de implantes de titânio intra-orais. Os resultados mostraram aumento da densidade e volume ósseo, bem como espessura do osso trabecular e da cortical óssea quando comparado às áreas não cirúrgicas, gerando uma área mais apropriada para a instalação de implantes intra-orais.

A BMP-2 também pode melhorar os resultados da osseointegração nos casos de implantes de titânio. Discos de titânio foram utilizados como meio para a cultura de células progenitoras de osteoblastos de ratos (2T9), sendo que o tratamento com BMP-2 mostrou um aumento da atividade osteoblástica *in vitro*²². Posteriormente, estes autores avaliaram a influência da topografia da superfície de titânio na interação entre os implantes dentários e os tecidos adjacentes, através de culturas de células 2T9 tratadas ou não com BMP-2, em superfícies de titânio polida e rugosa. Os resultados indicaram que a BMP-2 estimulou a expressão fenotípica, prolongou a atividade específica de fosfatase alcalina e proporcionou uma rápida produção de osteocalcina nas superfícies de titânio rugosas, quando comparadas às superfícies de titânio polidas. Para os autores, a área maior da superfície rugosa poderia melhorar os efeitos de diferenciação dos osteoblastos²³.

Cole *et al.*⁵ (1997) testaram implantes com e sem revestimento de hidroxiapatita, a fim de comparar sua influência na formação óssea. Os resultados sugeriram que os implantes tratados com BMP-2 propiciaram a formação de mais osso que os controles, independente-

mente da dose ou da presença de hidroxiapatita, mostrando que a rhBMP-2 permanece biologicamente ativa após a sua aplicação em implantes de titânio, podendo ser utilizada para aumentar a formação óssea aposicional nas superfícies dos mesmos.

Em um estudo em macacos, Hanisch *et al.*¹⁰ (1997) avaliaram a formação óssea e a osseointegração usando implantes de titânio em espaços cirúrgicos tratados com rhBMP-2. O estudo evidenciou o ganho vertical de osso com BMP-2. O osso neoformado pareceu ter uma qualidade similar à do osso residual em primatas não-humanos, sendo susceptível a osseointegração.

A BMP-2 altera de maneira significativa a organização dos osteoblastos, com um aumento dos níveis de fosforilização. Estes efeitos podem contribuir com as respostas celulares importantes para o crescimento e desenvolvimento das células ósseas, permitindo melhor osseointegração com implantes de titânio²⁶.

O uso da BMP-2 associada com outros fatores de crescimento na regeneração óssea guiada, ao redor de implantes dentários, promove um aumento da área de contato osso-implante e da quantidade de osso por superfície, melhorando a osseointegração e a quantidade de osso neoformado nos defeitos ósseos peri-implantares²⁰.

Os materiais carreadores também podem interferir na resposta ao uso da rhBMP quanto à formação óssea. Em 2001, Boyne e Shabahang³ testaram a habilidade de três tipos de carreadores de rhBMP-2 em induzir a formação óssea em grandes defeitos ósseos cirúrgicos, em maxilares de macacos. Os materiais avaliados foram: coral carbonato de cálcio (BioCoral), polimetilmetacrilato (HTR) e osso mineral poroso (Bio-Oss). Estes foram aplicados juntamente com implantes de titânio, produzindo uma boa osseointegração com as superfícies dos implantes. Apenas o Bio Coral não afetou a quantidade ou a qualidade da regeneração óssea alveolar.

Em 2002, Jennissen¹² analisou a possibilidade de aplicar a BMP-2 em ligas de titânio e metais inoxidáveis para o posterior uso na regeneração óssea ao redor de implantes. Os testes foram realizados em carneiros e coelhos adultos. Os resultados mostraram que a BMP-2 aumentou a capacidade osteoindutora, principalmente nos implantes de titânio.

Procurando avaliar as propriedades funcionais da regeneração óssea através da aplicação de rhBMP-2, Murakawa *et al.*¹⁹ (2002) criaram defeitos ósseos na mandíbula de macacos jovens, os quais foram fixados com placas de titânio e tratados com rhBMP-2. Vinte semanas após a cirurgia, os implantes dentários foram instalados dentro da mandíbula regenerada. A carga mastigatória foi implantada 8 semanas após a inserção dos implantes. Os resultados mostraram que a mandíbula estava completamente regenerada após a indução com rhBMP-2 e ocorreu excelente remodelamento e consolidação do novo osso após a aplicação da carga mastigatória, demonstrando assim que a rhBMP-2 pode ser uma alternativa efetiva aos enxertos autógenos, nos casos de implantes dentários e de cirurgias reconstrutivas.

A interação entre as BMPs e a microtopografia dos

implantes de titânio pode modular a diferenciação e a mineralização das células ósseas segundo Boyan *et al.*¹ (2002). Entretanto, o estudo de Van den Dolder *et al.*³⁹ (2003) mostrou que o aumento da rugosidade das superfícies dos implantes de titânio não tiveram efeito na proliferação e na diferenciação dos osteoblastos de ratos tratados com BMP-2, em comparação com as células cultivadas em titânio usinado. Por outro lado, Tabeke *et al.*³⁰ (2003) investigou os efeitos da topografia do substrato de titânio na expressão de osteoindutores e mostrou que, em 24 horas, não havia evidências da BMP-2 nas células aderidas ao titânio polido, mas expressões da BMP-2 estavam presentes nas células aderidas ao titânio jateado, sugerindo que a topografia da superfície de titânio pode contribuir com sinais osteoindutores durante a neoformação óssea.

O conhecimento dos fatores que controlam a função osteoblástica é importante para estabelecer o sucesso da osseointegração. O controle farmacogenético dos osteoblastos para aumentar o conteúdo mineral ao redor dos implantes pode oferecer a única vantagem clínica na melhora da osseointegração e na redução do tempo de espera para a aplicação da carga. Os peptídeos da BMP-7, aderidos a substratos sólidos, podem fornecer a base biológica para a imobilização deste fator nos implantes de titânio para induzir a diferenciação osteoblástica e a mineralização em um modelo superior¹⁷.

Um material implantado no osso é geralmente inserido em coágulo sanguíneo, sendo que as interações entre células e proteínas durante o tempo inicial da implantação determinam a cicatrização posterior. Diante disso, muitos estudos estão focados nos tecidos ao redor dos implantes, avaliando a cicatrização óssea através da aderência de células na superfície dos implantes de titânio. Pode-se demonstrar a influência da BMP-2 na osteoindução pelo aumento das células positivas para a BMP-2 durante o período inicial da instalação dos implantes e pela grande população destas células na superfície do implante, 4 dias após a sua instalação⁹.

O osso induzido pela aplicação de rhBMP-2, em esponja de colágeno reabsorvível (ACS), permite a instalação, osseointegração e adaptação às cargas funcionais nos casos de implantes dentários. Em 2003, Jovanovic *et al.*¹³ observaram a formação óssea e a osseointegração em defeitos alveolares tratados com rhBMP-2/ACS, em cachorros. Foram posteriormente submetidos à instalação de implantes de titânio e aplicação de carga funcional e foi verificado que a aplicação da rhBMP-2 resultou na formação de um novo osso com trabeculado lamelar e cortical característicos de osso normal, sem diferenças na osseointegração dos implantes instalados no osso induzido ou no osso controle.

Contradizendo estes estudos, Stenport *et al.*²⁸ (2003) compararam a formação de osso ao redor de implantes de titânio em sítios tratados com rhBMP-7, colágeno e sem aplicação de qualquer substância (controle). Verificaram que o crescimento ósseo foi maior nos sítios tratados com rhBMP-7 quando comparado à aplicação do colágeno. Entretanto, nos sítios controle a formação óssea foi ainda maior, mostrando que o uso da BMP-7 não

contribui para o aumento da ancoragem óssea no caso dos implantes de titânio.

A BMP-2 também pode ser utilizada nos casos de implantes de titânio para a ancoragem ortodôntica, mostrando uma osseointegração mais rápida e efetiva, suportando a aplicação de forças muito superiores¹¹.

A aplicação da BMP também é válida para diminuir o tempo da cicatrização e da osseointegração nos casos de implantes intra-orais. Boyne e Jones² (2004) relataram um caso onde a cicatrização do tecido ósseo periimplantar ocorreu em um tempo bem inferior ao convencional pela aplicação de BMP, através de uma esponja colágena reabsorvível no defeito ósseo, antes da instalação do implante maxilar.

Sumner *et al.*²⁹ (2004) realizaram um estudo em cães para determinar se a rhBMP-2 aumenta a osseointegração em implantes de superfície porosa, e se acelera a cicatrização ao redor do implante. Os resultados mostraram que nos grupos tratados com doses de 100 ou 400 µg de BMP-2 a osseointegração foi significativamente maior que no grupo controle. Os melhores efeitos foram obtidos com doses de 100 µg. Em todos os grupos tratados, a cicatrização ao redor dos implantes foi melhor que nos controles. Os autores concluíram que a aplicação da rhBMP-2 em implantes de superfície porosa estimula a osseointegração e a cicatrização, sendo a osseointegração inversamente dose-dependente.

A BMP-2 também pode melhorar a resposta cicatricial tanto em implantes de titânio hidrofóbico como hidrofílico, com aumento da produção de osteocalcina e da atividade da fosfatase alcalina, resultando em nova formação óssea²⁴.

Discussão

A difusão do uso dos implantes dentários no meio odontológico induziu os pesquisadores a buscarem substâncias que pudessem contribuir para a formação de um tecido ósseo de qualidade e em quantidade suficiente para a instalação dos implantes, assim como para melhorar e/ou acelerar o processo de osseointegração com a superfície de titânio, fundamentais para o sucesso desta alternativa clínica.

As BMPs são substâncias com potencial para a osteoindução, sendo que as BMP-2 e 7 são as mais estudadas por promover melhores índices de regeneração e neoformação óssea^{18,32}.

Diante de muitos estudos mostrando o sucesso da aplicação da BMP-2 e da BMP-7 na regeneração óssea periodontal, alguns pesquisadores viram a possibilidade da aplicação destas substâncias no caso dos implantes, visando propiciar a melhora ou aceleração da osseointegração. Verificaram também a biocompatibilidade dos implantes com as BMPs.

O titânio é o principal material utilizado na fabricação dos implantes intra-orais e estudos *in vitro* e com animais mostraram que esse material não interfere na estimulação celular pelas BMP-2 e 7 para promover a neoformação óssea^{14,36}. As BMPs permanecem biologicamente ativas em contato com as superfícies de titânio⁵, sendo que em

alguns casos o contato com ligas de titânio pode aumentar a capacidade osteoindutora da BMP-2¹².

A maioria dos estudos analisados mostra que o uso da BMP-2 ou da BMP-7 pode ser de grande utilidade no caso dos implantes intra-orais. Essas proteínas são capazes de regenerar e remodelar todo o aparelho periodontal de sustentação, incluindo o osso alveolar e o ligamento periodontal²⁷. A aplicação destas substâncias antes da instalação dos implantes promove o preenchimento de defeitos alveolares, com uma neoformação óssea de densidade e trabeculado similares ao osso normal, além de um aumento da cortical e da altura alveolar vertical, características estas de uma área apropriada para a instalação dos implantes^{4,6,10,13}.

A aceleração da osseointegração do osso neoformado com as superfícies de titânio dos implantes pela aplicação das BMPs-2 e 7 é muito importante clinicamente, permitindo a instalação de cargas funcionais em um período mais curto, diminuindo o tempo de espera dos pacientes para a colocação das próteses sobre implantes^{6,11,13,27}.

Um dos pontos mais relevantes da aplicação das BMPs-2 e 7 nos casos de implantes é a melhor qualidade da osseointegração, com um aumento da área de contato osso-implante e boa penetração do osso neoformado nos poros dos implantes de titânio^{13,20,29}. Talvez a melhor osseointegração seja decorrente da alteração da organização dos osteoblastos pela aplicação da BMP-2, estimulando as respostas celulares importantes para o crescimento e desenvolvimento das células ósseas²⁶. Além disso, os peptídeos da BMP-7 aderem às superfícies sólidas do titânio e fornecem a base biológica para a imobilização desta proteína ao redor dos implantes, induzindo a diferenciação osteoblástica e a mineralização do tecido ósseo de modo mais eficaz¹⁷.

A aplicação de substâncias como a hidroxiapatita nos implantes de titânio, com a finalidade de melhorar a osseointegração em tecido ósseo estimulado pela BMP-2 ou 7, não oferece vantagens significantes⁵⁻⁶.

Os estudos mostram contradições em relação à influência da microtopografia da superfície de titânio dos implantes quanto à formação óssea e osseointegração na presença de BMP-2 e 7. Para alguns autores, a superfície rugosa apresenta uma área maior de contato, propiciando melhores condições para a expressão dos osteoindutores, modulando a diferenciação e a mineralização das células ósseas^{1,23,30}. Em contra-partida, para Van den Dolder *et al.*³³ (2003) a proliferação e a diferenciação de osteoblastos tratados com BMP-2 é similar tanto em superfícies de titânio usinadas como jateadas.

A formação de um tecido de ótima qualidade para a instalação de implantes mostra que a implantação cirúrgica da BMP-2 tem utilidade clínica e pode ser uma alternativa real aos enxertos ósseos autógenos^{10,19}.

Conclusão

Com base na revisão da literatura apresentada, pode-se concluir que a aplicação de BMP-2 e 7 pode ser uma alternativa válida no caso dos implantes dentários, devi-

do a formação de um tecido ósseo de qualidade para a instalação dos mesmos, promovendo uma boa osseointegração e acelerando a adaptação destes às cargas funcionais.

É válido ressaltar que ainda são necessários muitos estudos pré-clínicos e clínicos para analisar a viabilidade e o sucesso da aplicação destas proteínas no caso de implantes intra-orais em humanos.

Referências

1. Boyan BD, Bonewald LF, Paschalis EP, Lohmann CH, Rosser J, Cochran DL, Dean DD, *et al.* Osteoblast-mediated mineral deposition in culture is dependent on surface microtopography. *Calcif Tissue Int.* 2002; 71(6):519-29.
2. Boyne PJ, Jones SD. Demonstration of the osseointegrative effect of bone morphogenetic protein within endosseous dental implants. *Implant Dent.* 2004; 13(2):180-4.
3. Boyne PJ, Shabahang S. An evaluation of bone induction delivery materials in conjunction with root-form implant placement. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001; 21(4):333-43.
4. 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(5):344-52.
5. Cole BJ, Bostrom MP, Pritchard TL, Sumner DR, Tomin E, Lane JM, *et al.* Use of bone morphogenetic protein 2 on ectopic porous coated implants in the rat. *Clin Orthop.* 1997; 345:219-28.
6. Cook SD, Salkeid SL, Rueger DC. Evaluation of recombinant human osteogenic protein-1 (rhOP-1) placed with dental implants in fresh extraction sites. *J Oral Implantol.* 1995; 21:281-9.
7. Ekeland A, Brosjo O, Nilsson OS. Experimental induction of heterotopic bone. *Clin Orthop Relat Res.* 1991;(263):102-12.
8. Eriksson C, Nygren H, Ohlson K. Implantation of hydrophilic and hydrophobic titanium discs in rat tibia: cellular reactions on the surfaces during the first 3 weeks in bone. *Biomaterials.* 2004; 25:4759-66.
9. Eriksson C, Broberg M, Nygren H, Oster L. Novel *in vivo* method for evaluation of healing around implants in bone. *J Biomed Mater Res.* 2003; 66A(3): 662-8.
10. Hanisch O, Tatakis DN, Rohrer MD, Wöhrle PS, Wozney JM, Wikesjö UM. Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in nonhuman primates. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12(5-6):785-92.
11. Hassan AH, Evans CA, Zaki AM, George A. Use of bone morphogenetic protein-2 and dentin matrix protein-1 to enhance the osteointegration of the Onplant system. *Connect Tissue Res.* 2003; 44(1):30-41.
12. Jennissen HP. Accelerated and improved osteointegration of implants biocoated with bone morphogenetic protein 2 (BMP-2). *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 961:139-42.
13. Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW, Spiekermann H, Nishimura R, Wozney JM, *et al.* Long-term functional loading of dental implants in rhBMP-2 induced bone. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(6):793-803.
14. Kawai T, Miki A, Ohno Y, Umemura M, Kataoka H, Kurita S, *et al.* Osteoinductive of composites of bone morphogenetic protein and pure titanium. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;(290):296-305.
15. Kenley RA, Abrams J, Ron E, Turek K, Mardem LJ, Hollinger JO. Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharm Res.* 1993;10:1393-401.
16. Kim KJ, Itoh T, Kotake S. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on human bone marrow cells cultured with various biomaterials. *J Biomed Mater Res.* 1997;35(3):279-85.
17. Kirkwood K, Rheude B, Kim YJ, White K, Dee KC. *In vitro* mineralization studies with substrate-immobilized bone morphogenetic protein peptides. *J Oral Implantol.* 2003; 29(2):57-65.
18. Lee MB. Bone morphogenetic protein: background and implications for oral reconstruction. *J Clin Periodontol.* 1997;24:355-65.

19. Marukawa E, Asahina I, Oda M, Seto I, Alam M, Enomoto S. Functional reconstruction of the non-human primate mandible using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 31:287-95.
20. Meraw SJ, Reeve CM, Lohse CM, Sioussat TM. Treatment of peri-implant defects with combination growth factor cement. *J Periodontol.* 2000; 71(1):8-13.
21. Myamoto S, Takoaka K, Okada T, Yosikawa H, Hashimoto J, Suzuki S, *et al.* Polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;(294):333-43.
22. Ong JL, Cardenas HL, Cavin R, Carnes DL Jr. Osteoblast responses to BMP-2- treated titanium *in vitro*. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12(5):649-54.
23. Ong JL, Carnes DL, Cardenas HL, Cavin R. Surface roughness of titanium on bone morphogenetic protein-2 treated osteoblast cells *in vitro*. *Implant Dent.* 1997;6(1):19-24.
24. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin N Am.* 1987;18:207-12.
25. Ripamonti U, Ma S, van den Heever B, Reddi AH. Osteogenin, a bone morphogenetic protein, adsorbed on porous hydroxyapatite substrata, induces rapid bone differentiation in calvaria defects of adult primates. *Plast Reconstr Surg.* 1992; 90(3):382-93.
26. Shah AK, Lazatin J, Sinha RK, Lennox T, Hickok NJ, Tuan RS. Mechanism of BMP-2 stimulated adhesion of osteoblastic cells to titanium alloy. *Biol Cell.* 1999; 91:131-42.
27. Sirgudsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turker TJ, Wozney JM, Wikesjo UME. Periodontal repair in dogs. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J Periodontology.* 1995; 66:131-8.
28. Stenport VF, Johansson C, Heo SJ, Aspenberg P, Albrektsson T. Titanium implants and BMP-7 in bone: an experimental model in the rabbit. *J Mater Sci Mater Med.* 2003;14(3):247-54.
29. Sumner DR, Turner TM, Urban RM, Turek T, Seeherman H, Wozney JM. Locally delivered rhBMP-2 enhances bone ingrowth and gap healing in a canine model. *J Orthop Res.* 2004; 22(1):58-65.
30. Tabeke J, Champagne CM, Offenbacher S, Ishibashi K, Cooper LF. Titanium surface topography alters cell shape and modulates bone morphogenetic protein 2 expression in the J774A.1 macrophage cell line. *J Biomed Mater Res.* 2003; 64A(2):207-16.
31. Thies RS, Bauduy M, Ashton BA, Kurtzberg L, Wozney JM, Rosen V. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblastic differentiation in W-20-17 stromal cells. *Endocrinology.* 1992; 130: 1318-24.
32. Urist MR. The search for and the discovery of bone morphogenetic protein (BMP). *In: Urist MR, O'Conner BT, Burwell RG, editors. Bone grafts, derivatives and substitutes.* London: Butterworth Heinemann;1994.p.315-62.
33. Van den Dolder J, de Ruijter AJ, Spauwen PH, Jansen JA. Observations on the effect of BMP-2 on rat bone marrow cells cultured on titanium substrates of different roughness. *Biomaterials.* 2003 May; 24(11):1853-60.
34. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, *et al.* Recombinant human bone morphogenetic protein induce bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87(6):2220-4.
35. Wozney JM. Molecular biology of the bone morphogenetic proteins. *In: Urist MR, O'Conner BT, Burwell RG, editors. Bone grafts, derivatives and substitutes.* London: Bulterworth Heinemann; 1994.p.397-413.
36. Xiang W, Baolin L, Yan J, Yang X. The effect of BMP on osseointegration of titanium implants. *J Oral Maxillofacial Surg.*1993;51:(6)647-51.
37. Yamaguchi A, Katagiri T, Ikeda T, Wozney JM, Rosen V, Wang EA, *et al.* Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblastic maturation and inhibits myogenic differentiation *in vitro*. *J Cell Biol.*1991;113:(3):681-7.
38. Yamazaki Y, Oida S, Akimoto Y, Shioda S. Response of the mouse femoral muscle to an implant of a composite of bone morphogenetic protein and plaster of Paris. *Clin Orthop Relat Res.* (234):240-9.

Recebido em 26/6/2006

Aceito em 28/8/2006