

# Respuesta histológica al uso de proteína morfogenética ósea tipo 2 (rhBMP-2) en defectos óseos provocados en ratas Wistar.

## Estudio Experimental

Cap. 1/o. C.D. Cuauhtémoc **Bello-Hernández,\***

C.D. Gilberto **Pérez-Romero,\*\*** Tte. Cor. C.D. Ret. Joel Omar **Reyes-Velázquez\*\*\***

Hospital Central Militar-Escuela Militar de Graduados de Sanidad. Ciudad de México.

### RESUMEN

### *Histological response to the use of bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in bone defects induced in Wistar rats. Experimental study*

### SUMMARY

**Introducción.** Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs Bone Morphogenetic Proteins) son un grupo de factores de crecimiento con habilidad para inducir la formación de hueso y cartílago. Marshall Urist, en 1965, fue el primero que describió la actividad morfogenética del hueso.

**Objetivo.** Es la valoración de la respuesta histológica mediante el conteo celular de un grupo experimental a los cuales se les aplicó la proteína morfogenética ósea número 2 (rhBMP-2) y un grupo que se dejó como control.

**Material y métodos.** Se utilizaron 26 ratas Wistar a las cuales se les provocó un defecto óseo en el cuerpo de la mandíbula de forma bilateral; al defecto del lado derecho se aplicó la proteína morfogenética ósea tipo 2 (rhBMP-2) y en el lado contralateral se dejó la cicatrización ósea normal. Estas evaluaciones histológicas fueron observadas durante cinco tiempos, es decir: a la primera, segunda, tercera, cuarta y sexta semanas, respectivamente.

**Resultados.** Los resultados de este estudio se basaron en el conteo celular (osteocitos, osteoblastos y osteoclastos), los cuales son las células más representativas en la síntesis de la matriz ósea. En todos los grupos comparados, el lado experimental observó una mayor cantidad de células precursoras (osteoblastos), por lo que podemos concluir que la rhBMP2 participa de manera activa sobre la síntesis de matriz ósea, en comparación con la cicatrización ósea que se lleva a cabo de forma habitual.

**Palabras clave:** Proteínas morfogenéticas, matriz ósea, osteocitos, osteoblastos, osteoclastos.

**Introduction.** Bone morphogenetic proteins (BMPs Bone Morphogenetic Proteins) are a group of growth factors with ability to induce the formation of bone and cartilage. Marshall Urist in 1965, was the first to describe bone morphogenetic activity.

**Objective.** Is the assessment of histological response by the cell count of an experimental group to which they applied the numbers bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) and one group was left as control.

**Material and methods.** Wistar rats were used 26 to which they caused a defect in the body of the mandible bilaterally, the right side defect was applied bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) and on the contralateral side was left normal bone healing. These histological evaluations were observed for five days, ie the first, second, third, fourth and sixth weeks, respectively.

**Results.** The results of this study were based on cell counts (osteocytes, osteoblasts and osteoclasts), which are most representative cells in the bone matrix synthesis. In all groups compared, the experimental side was a higher number of precursor cells (osteoblasts), so we can conclude that the rhBMP2 actively participates in the synthesis of bone matrix, compared with bone healing that takes place as usual.

**Key words:** Morphogenetic proteins, bone matrix, osteocytes, osteoblasts, osteoclasts.

\* Egresado del Curso de Especialización y Residencia en Cirugía Oral y Maxilofacial, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México, D.F. \*\* Profesor del Curso de Especialización y Residencia en Cirugía Oral y Maxilofacial, Escuela Militar de Graduados de Sanidad. \*\*\* Cirujano Maxilofacial, Ex-Jefe de la Subsección de Cirugía Maxilofacial del Hospital Central Militar y Ex-Jefe del Curso de Especialización y Residencia en Cirugía Oral y Maxilofacial de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México, D.F.

Correspondencia:

Dr. Cuauhtémoc Bello-Hernández

Sección de Estomatología, Hospital Central Militar. Blvd. Manuel Ávila Camacho s/n, Col. Lomas de Sotelo, C.P. 11200.

Correo electrónico: temocbello@hotmail.com

Recibido: Noviembre 17, 2010.

Aceptado: Septiembre 9, 2011.

## Introducción

La humanidad está en constante evolución y renovación; la medicina no puede estar apartada de este proceso. Es por esto que cada día se lucha no sólo por la simplificación o exactitud en los procedimientos quirúrgicos, sino también en conseguir una recuperación más rápida que traiga consigo resultados óptimos para los pacientes, es por eso que la rhBMP-2 es una alternativa más en el proceso de cicatrización ósea.

El presente estudio se enfoca al uso de la proteína morfogenética ósea tipo 2 como material osteoinductor. Este tipo de células contienen funciones y propiedades que, como su nombre lo indica, morfogénesis, son sustancias que inician el desarrollo de tejidos y órganos, siendo inductoras a la rápida formación del hueso. Con estas proteínas que son resultado de la ingeniería genética revolucionada, se disminuirán o incluso se sustituirán los materiales de sustituto óseo.

Marshall R. Urist, en 1965, publicó en la revista Science el descubrimiento de una familia de proteínas osteoinductivas, seguido por Wozney en la clonación de proteínas morfogenéticas con técnicas de ADN recombinante, en 1988.<sup>1</sup>

El hueso es un tejido conectivo que consiste esencialmente en una matriz extracelular mineralizada y células especializadas: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. La matriz extracelular está compuesta en 65% de matriz inorgánica, 22% de matriz orgánica y 9% restante por agua. El principal componente orgánico de la matriz es el colágeno tipo I, que supone alrededor de 90%, el restante 10% lo componen una serie de proteínas no estructurales de menor tamaño, entre las que se encuentran la osteocalcina, osteonectina, algunas fosfoproteínas, sialoproteínas, factores del crecimiento y proteínas séricas.<sup>2</sup>

Un defecto óseo es un espacio en el hueso que finalmente necesita ser rellenado con hueso nuevo. Para que se produzca el crecimiento en un defecto, es importante que exista un coágulo sanguíneo, la conservación de los osteoblastos y el contacto con el tejido vivo.<sup>3</sup>

La corrección de defectos óseos es un problema frecuente, motivo por el cual se utiliza una amplia variedad de materiales de sustitución ósea. Estos materiales pueden ser de origen natural o sintético; deben tener buenas propiedades mecánicas, ser biocompatibles (es decir, atóxicos), inertes desde el punto de vista inmunitario, no carcinógenos y favorecer o inducir una respuesta en el tejido óseo.<sup>4</sup>

Entre los materiales biológicos utilizados se encuentran las proteínas morfogenéticas, que son péptidos producidos localmente por los osteoblastos, regulados por mecanismos endocrinos. Se encuentran distribuidas a lo largo de las fibras colágenas del hueso normal, en células periostales y mesenquimales de la médula ósea.<sup>4</sup>

Watchel, en 1991, concluye que las técnicas y materiales en regeneración ósea para tratar los defectos óseos de los maxilares son diferentes según el tipo y la localización de la atrofia.<sup>5</sup>

Actualmente los materiales más utilizados son el hueso del mismo paciente (autólogo), el aloinjerto, el xenoinjerto y el aloplástico, sin embargo, a través de los años la investigación ha probado materiales biológicos, polímeros, cerámicos, tratando de encontrar el material ideal que los reemplace y elimine los problemas presentados al utilizarlos como morbilidad del sitio donador, limitación por disponibilidad, cantidad de hueso; así como la posibilidad de transmisión de enfermedades al utilizar hueso de cadáver.<sup>6</sup>

Los injertos óseos tienen una doble función: mecánica y biológica, dependiendo del resultado clínico que se busque, una de sus funciones puede ser más importante que la otra en la interfase injerto óseo-huésped; existe una compleja relación donde múltiples factores pueden intervenir en la correcta incorporación del injerto, como pueden ser: zona de implantación, vascularización del injerto, interfase hueso-huésped, técnicas de conservación, factores locales y sistémicos diversos.<sup>7</sup>

De acuerdo con su estructura, los injertos pueden ser corticales y esponjosos, cada uno posee determinadas características y cualidades. Por su origen han sido clasificados en:

- **Autólogos (autoinjertos):** Éstos se componen por tejido tomado del mismo individuo, proporciona mejores resultados, generalmente tomados intraoralmente de rama mandibular y mentón, extraoralmente de tibia, radio, costillas, calota craneal y cresta ilíaca.
- **Homólogos (aloinjertos):** Se componen de tejido tomado de un individuo de la misma especie, no relacionado genéticamente con el receptor. Existen tres tipos de aloinjertos óseos: congelados, desecados (lío-filizados) y des-mineralizados.
- **Isogénicos (isoinjertos):** Se componen por tejido tomado de un individuo genéticamente relacionado con el individuo receptor.
- **Heterólogos (xenoinjertos):** Se componen de tejido tomado de un donador de otra especie (principalmente bovino y porcino).
- **Sustitutos no óseos (aloplásticos):** Injertos naturales o sintéticos (las biocerámicas como el fosfato tricálcico, hidroxiapatitas sintéticas, cristales bioactivos y los polímeros).<sup>8</sup>

Es importante definir los tres mecanismos básicos de la regeneración ósea:

- **Osteogénesis:** Es la capacidad que tiene el injerto de transferir células viables (células progenitoras), depende exclusivamente de la supervivencia de las células trasplantadas, principalmente de los preosteoblastos y osteoblastos; se origina principalmente en hueso esponjoso, debido a su rápida revascularización, que puede ser completa a las dos semanas, mientras que el cortical puede llevar varios meses.
- **Osteoinducción:** Es la capacidad que tiene el injerto de estimular las células mesenquimatosas indiferenciadas en

células óseas, inicia por medio de la transformación de células mesenquimatosas indiferenciadas de la zona receptora a células osteoformadoras en presencia de moléculas reguladoras del metabolismo óseo. Dentro de este grupo existen las proteínas morfogenéticas.

- **Osteoconducción:** Es un proceso lento y prolongado, donde el injerto tiene la función de esqueleto, éste es progresivamente colonizado por vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona receptora, que va lentamente reabsorbiéndolo y depositando hueso nuevo.<sup>8</sup>

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs Bone Morphogenetic Proteins) son un grupo de factores de crecimiento y citocinas conocidas con habilidad para inducir la formación de hueso y cartílago. Urist, en 1965, fue el primero que describió el descubrimiento de la actividad morfogenética del hueso.<sup>9</sup>

La BMP-2 es una proteína osteoinductora que existe naturalmente en el ser humano y que es producida por los osteoblastos y almacenada en la matriz mineral. Puede ser elaborada por recombinación de ADN, creando una réplica exacta de la proteína natural.<sup>1</sup>

Se le llama recombinación porque una vez aislado el gen, es modificado y recombinado en un ADN comúnmente utilizado para la producción celular, o sea que, recombinante se refiere a la inserción o recombinación de un gen para la producción de una célula específica.<sup>1</sup>

Aparecido dos Santos, en el 2005, mencionó que los primeros estudios sobre los procesos que determinan la neoformación ósea en sitios desprovistos de tejido óseo, fueron basados en el descubrimiento de Urist, quien lo describió como una sustancia inductora presente en la matriz ósea. Las células inductoras de las células inducidas eran provenientes de histiocitos y células de tejido conjuntivo perivascular.<sup>10</sup>

Alaoui, en el 2009, describió que hasta la fecha son más de veinte BMPs humanas que han sido identificadas, de las cuales BMP-2 y BMP-7 son las más conocidas. Aún existen cosas por mejorar como: la afinidad de unión a los receptores específicos de BMPs, disminución de la sensibilidad a los inhibidores de BMP naturales, un mejor perfil de inmunogenicidad y aumento de solubilidad y estabilidad.<sup>11</sup>

Matin, en 2001, estudió la reabsorción ósea posterior a extracciones dentales en ratas Wistar, a las cuales se les colocó gelatinas de ácido poliláctico con rhBMP-2 en unos alveolos y otros se mantuvieron como control. Después de sacrificar se hicieron estudios morfológicos e histológicos y se demostró el aumento de cantidad y calidad de hueso en menor tiempo en los alveolos en los que se colocó rhBMP-2 en relación a los que no fue colocada.<sup>12</sup>

Marukawa, en el 2002, investigó el uso de rhBMP-2 en perros, a los cuales les implantó cilindros de titanio con cámaras huecas en el extremo apical, que fueron llenadas unas con rhBMP-2 y otras como control. Los resultados después de sacrificar a los animales en distintos momentos y el análisis de las muestras demostraron que en sitios con-

finados alrededor de los implantes dentales, la rhBMP-2 induce la regeneración ósea en una posición íntima al implante y la cantidad de hueso formado fue tres veces mayor en los implantes con rhBMP-2, que el lado control, durante el mismo lapso.<sup>13</sup>

Podemos citar que las BMPs presentan diversas posibilidades de aplicación en la Odontología u otras áreas del conocimiento que envuelvan la diferenciación celular, ya que representan un grupo distinto de factores inductores capaces de estimular células mesenquimáticas en células especializadas induciendo la neoformación ósea y la reparación del tejido óseo.<sup>10</sup>

## Material y métodos

El presente estudio se desarrolló en las instalaciones del bioterio del Hospital Central Militar y en el Departamento de Patología Bucal de la Unidad de Especialidades Odontológicas. Se realizó en 26 ratas de raza Wistar, machos, con edad de dos meses y peso aproximado de 250 g, los cuales estaban sanos durante el tiempo que duró el estudio y a los cuales se les provocaron defectos óseos mandibulares en región de cuerpo mandibular de forma bilateral hasta llegar a hueso esponjoso, dichos defectos fueron realizados mediante una fresa de bola del número 6; estableciendo cinco grupos (una, dos, tres, cuatro y seis semanas), los cuales se identificaron debido al tiempo en que se sacrificaron los especímenes, todos los especímenes tuvieron en la hemiarcada mandibular derecha el defecto tratado con proteínas morfogenéticas, mientras que en la hemiarcada izquierda se dejó el proceso normal de cicatrización ósea o sea el control.

En la fase quirúrgica se utilizó instrumental básico de cirugía. Aproximadamente cinco minutos antes del procedimiento se indujo la sedación del animal con una mezcla de clorhidrato de ketamina y clorhidrato de xilazina vía intramuscular previo pesaje del espécimen en la báscula para establecer la cantidad de medicamento a utilizar para su relajación.

Se realizó incisión lineal sobre el cuerpo mandibular del lado derecho, previo protocolo de antisepsia intra y extraoral y colocación de campos quirúrgicos estériles, se levantó colgajo mucoperióstico para exponer superficie ósea y provocar un defecto con una fresa de bola de carburo del número 6.

Una vez realizado el defecto óseo en el lado derecho de la mandíbula se colocaron 20 µL de proteína morfogenética ósea tipo 2 (rhBMP-2) a una concentración de 0.9 µg/mL (*Figura 1*). Ya colocada la proteína morfogenética ósea tipo 2 en el defecto provocado, se reposicionó el colgajo y se suturó con vicryl<sup>MR</sup> 5-0.

Se realizó el procedimiento sobre el lado derecho en el cual se colocó la proteína morfogenética ósea No. 2; se llevó a cabo el mismo procedimiento sobre el lado izquierdo con la diferencia que en el lado izquierdo una vez que se incidió y se levantó el colgajo mucoperióstico y se provocó el defecto con fresa de bola del número 6, se reposicionó el colgajo y se



**Figura 1.** Proteína morfogenética ósea tipo 2 (rhBMP-2) homogénea ya reconstituida. Fuente: Directa.



**Figura 2.** Defecto óseo provocado. En la imagen se muestra el defecto óseo que se provocó en el lado derecho de la mandíbula. Fuente: Directa.



**Figura 3.** Colocación de la rhBMP-2. En esta imagen se observa la colocación de la rhBMP-2 sobre el defecto óseo que se provocó sobre el lado derecho de las ratas wistar. Fuente: Directa.

suturó con vicryl<sup>MR</sup>5-0, se dejó llevar a cabo el proceso normal de cicatrización ósea.

Se sacrificaron las ratas Wistar y se obtuvo sus mandíbulas (Figura 2), las cuales se colocaron en formol al 10%, y se

transportaron al laboratorio para su proceso que inició con una descalcificación de las muestras al sumergirse en ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 10%, posteriormente en ácido nítrico al 5% para completar su proceso, una vez que ya estaban descalcificadas se obtuvieron los cortes del área donde se provocó el defecto óseo (Figura 3) y se evaluó la respuesta histológica, observando la evolución de la formación de la matriz osteoide mediante el conteo celular (Figura 4).

## Resultados

Se realizó el análisis histológico a los 19 animales de experimentación que sobrevivieron al periodo postoperatorio mediante el conteo celular en el Servicio de Patología de la Unidad de Especialidades Odontológicas estableciendo cinco grupos; determinando la respuesta histológica mediante el conteo celular de la zona en donde se provocó el defecto óseo a la primera, segunda, tercera, cuarta y sexta semanas de la aplicación de la rhBMP-2 a un aumento de 40X (Figuras 5-9).

## Discusión

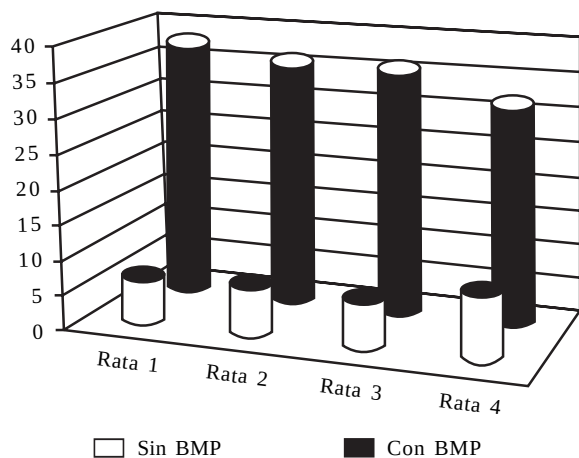
El presente estudio confirma la capacidad osteoinductora de la proteína morfogenética ósea tipo 2 (rhBMP-2), a través del conteo celular formando una mayor cantidad de matriz osteoide que en el lado control sin mostrar reacción inmunológica alguna.

La respuesta histológica mostrada por las rhBMP-2 en este estudio demuestra un alto grado de proliferación de células osteoinductores en el defecto óseo en comparación con la respuesta obtenida durante el proceso de cicatrización normal del hueso, esto coincide con Marukawa el cual observó una mayor cantidad de células osteoinductores alrededor de implantes dentales con la aplicación de la rhBMP-2.

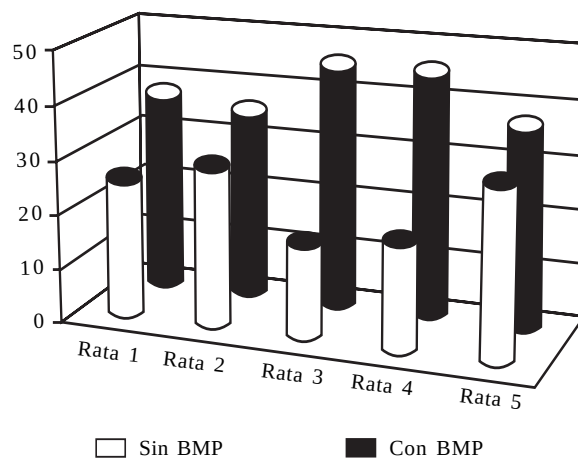
Con los resultados obtenidos en este estudio, en el cual se observó una mayor cantidad de células que intervinieron en la



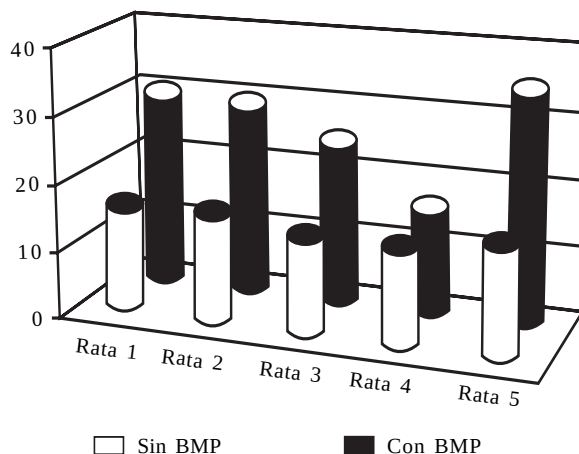
**Figura 4.** Área del defecto provocado. Imagen que muestra el defecto el cual se delimita para su observación histológica. Fuente: Directa.



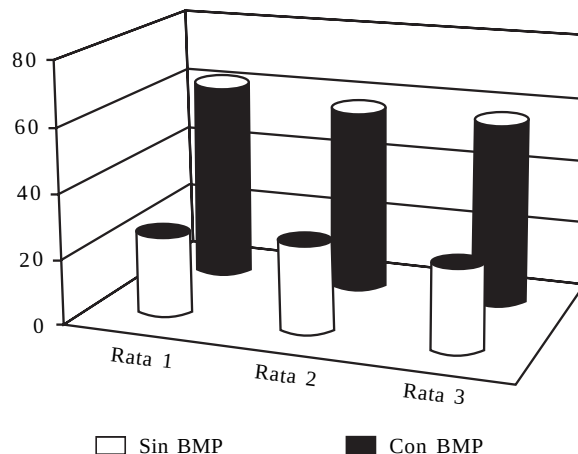
**Figura 5.** Comparación osteoblástica a la 1/a. semana. Gráfica que representa la diferencia en el conteo celular con osteoblastos entre ambos grupos. Fuente: Directa.



**Figura 7.** Respuesta osteoblástica a la 3/a. semana. Gráfica que muestra la diferencia en el conteo osteoblástico entre ambos grupos. Fuente: Directa.



**Figura 6.** Comparación osteoblástica a la 2/a. semana. Gráfica que representa el conteo celular de osteoblastos a la segunda semana. Fuente: Directa.



**Figura 8.** Respuesta osteoblástica a la 4/a. semana. Gráfica que muestra la diferencia en la respuesta celular entre ambos grupos de estudio. Fuente: Directa.

síntesis de matriz osteoide en el lado al cual se aplicó la rhBMP-2, podemos relacionarlos con los obtenidos por Matin, en el 2001, el cual demostró aumento de calidad y cantidad ósea en menos tiempo con la colocación de rhBMP-2.

La capacidad osteoinductora de la rhBMP-2 nos deja una idea clara de las ventajas que ofrece este producto en comparación con la cicatrización ósea normal, o incluso con los sustitutos óseos osteoconductores que se comercializan actualmente en el mercado, reafirmando lo que observó Wikesjö, en el 2009, quien concluyó demostrando el potencial osteoinductor a través del aumento de reborde alveolar para la colocación de implantes.

La aceleración producida en la neoformación ósea con la aplicación de la proteína morfogenética ósea tipo 2 a través del conteo celular, pone de manifiesto la diferencia en la reacción histológica de este tejido, produciendo resultados semejantes a Sailhan, quien determinó en su estudio sobre distracción ósea observando un aumento en la aceleración

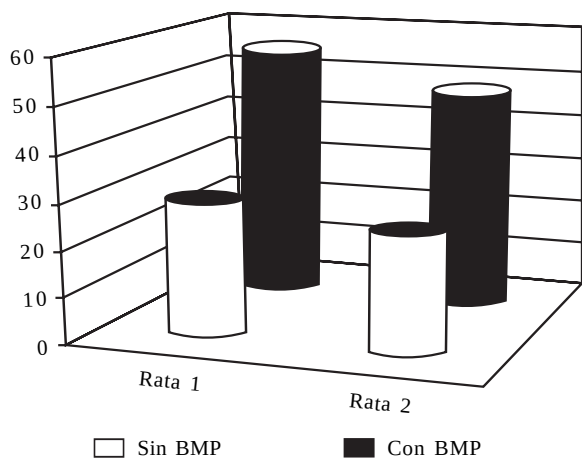
de la formación ósea en los grupos a los cuales se les colocó la rhBMP-2 en comparación a la distracción que no se le colocó citada proteína.

La respuesta histológica mostrada en este estudio es una afirmación más sobre el uso y el potencial que presenta la rhBMP-2 en el proceso de osteoinducción.

## Conclusiones

Al final de este trabajo de investigación se concluyó que son muchas las ventajas que ofrece el uso de la proteína morfogenética tipo 2, la cual se relaciona con la calidad del hueso producido, el tiempo en la cicatrización, la biocompatibilidad mostrada con los tejidos y los diferentes usos en los que se puede aplicar.

La respuesta mostrada durante el proceso de cicatrización, nos confirma que es una alternativa más en la neoformación y conservación ósea, ya que induce la respuesta his-



**Figura 9.** Respuesta osteoblástica a la 6/a. semana. En esta gráfica se sigue presentando mayor número de células osteoblásticas presentes en el grupo experimental. Fuente: Directa.

tológica en menor tiempo en comparación con la formación de matriz ósea de forma habitual.

Hay mucho camino por recorrer con este producto innovador, el cual ha sido una importante aportación a la investigación, logrando su biocompatibilidad, reduciendo al máximo los efectos no deseados, luchando constantemente en la mejora para desarrollar las técnicas óptimas y sencillas durante su aplicación.

Debido a los resultados obtenidos en este estudio se sugiere su aplicación en tratamientos que requieran la colocación de sustitutos óseos (los cuales sólo presentan características osteoconductoras), ya sea empleándolos en sustitución de estos o en combinación con los mismos, para ofrecer una alternativa eficaz en la conservación de procesos alveolares y corrección de defectos óseos a los pacientes que lo requieran.

Este trabajo de investigación ha presentado resultados que muestran un mayor número de células encargadas de sintetizar matriz ósea formada mediante el uso de la rhBMP-2 en comparación de la respuesta de cicatrización ósea normal.

Este producto innovador requiere de muchos más estudios y aplicaciones clínicas, siendo una opción su colocación en los pacientes del Servicio de Cirugía Maxilofacial, que requieran tratamientos que implique la colocación de sustitutos óseos los cuales solo presentan capacidad osteoconductoras,

como, por ejemplo, en defectos de rebordes alveolares, patologías quísticas o tumorales, en el cierre de fisuras palatinas, cirugía reconstructiva maxilofacial, en colocación de implantes dentales y elevación de seno maxilar, en distracción osteogénica y, finalmente, en la conservación ósea. Es por ello que debido a los resultados encontrados en este trabajo y en investigaciones clínicas podemos sugerir la utilización de este producto en combinación con los sustitutos óseos.

## Referencias

1. Spagnoli D, Mazzone R. Reconstrucciones en implantodoncia. Editorial Amolca; 2011.
2. Carranza, Newman. Periodontología Clínica. 8a. Ed. México: Edit. Mc Graw Hill Interamericana; 2004.
3. Erlich PJ, Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporosis Int* 2002; 13: 688-700.
4. Rivera JA, Riaño CH, Monsalve PA, Restrepo LF. Injertos óseos. Nueva alternativa. Fase II. Evaluación de las propiedades osteoinductoras de las proteínas morfogenéticas óseas parcialmente purificadas, implantadas en tejido subcutáneo de un modelo experimental lapino. *Rev Col Cienc Pec* 2003; 16: 3.
5. Watchel H, Langford A, Reichart P. Guided bone regeneration next to osseointegrated implants in humans. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; 6: 127-35.
6. Rivera JA, Riaño CH, Echavarría A, Monsalve P. Injertos óseos. Nueva alternativa. Fase III. Obtención, caracterización y evaluación de hidroxiapatita sintética y el compuesto de hidroxiapatita sintética porosa- Proteínas morfogenéticas óseas en un modelo experimental lapino. *Rev Col Cienc Pec* 2004; 17: 1.
7. Baron Zarate-Kalfópulos, Reyes SA, Injertos óseos en Cirugía Ortopédica. *Cirugía y Cirujanos* 2006; 217-22.
8. Soto Góngora S, Taxis GM. Injertos óseos. Una alternativa efectiva y actual para la reconstrucción del complejo cráneo-facial. Artículo de revisión, Universidad FES Zaragoza México, aprobado 12 de junio de 2004.
9. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 12(698): 893-9.
10. dos Santos A, Oliveira MC, de Seixas AM, Faloppa F. O papel da proteína morfogenética ósea na reparacao do tecido osseo. *Acta Ortopédica Brasileira* 2005; 13(4).
11. Alaoui-Ismaïli MH, Falb D. Design of second generation therapeutic recombinant bone morphogenetic proteins. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20(5-6): 501-7.
12. Matin K, Nakamura H, Irie K. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction: An experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofacial Implants* 2001; 16: 400-11.
13. Marukawa E, Asahian I, Oda M, Enomoto S. Functional reconstruction of the non-human primate mandible using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral & Maxillofacial Surgery* 2002; 31: 294-302.

