



Tissue Engineering in Dentistry

Engenharia de Tecido em Odontologia

Pulpotomia com Proteína Morfogenética do Osso (rhBMP-2) em Dente Decíduo Humano

INTRODUÇÃO

Para melhor compreensão da importância da utilização dos biomateriais na clínica é interessante comentar sobre uma nova modalidade de terapia desenvolvida recentemente, a bioterapia, e que está sendo motivo de inúmeras investigações nos diferentes centros de pesquisas que utilizam a biotecnologia. Foi criado na década passada o termo "Tissue Engineering's" que traduzindo textualmente significa "Engenharia de Tecido" que é a confecção de tecidos e/ou órgãos em laboratórios. Como realmente ocorre a modelagem, condução, indução, enfim a construção ou criação destes elementos, a expressão "engenharia de tecido" parece ser bem apropriada. A engenharia de tecido expressa na sua essência a reposição de tecidos ou órgãos danificados por outros verdadeiramente biológicos e funcionais. A engenharia ou regeneração de um novo tecido formado a partir de um pré-existente é uma conduta que exige conhecimentos e atitudes multidisciplinares, principalmente na área biológica (biologia celular, biologia molecular e bioquímica), que de acordo KAIGLER, MOONEY⁸ (2001) existem três distintas estratégias que são a condução, a indução e os implantes de células, para alcançar o mesmo objetivo, ou seja, a da formação de tecido naturalmente saudável.

O método de condução utiliza um biomaterial de maneira passiva, para facilitar o crescimento ou a capacidade de regeneração de um tecido já existente. Um exemplo típico em nosso meio está na especialidade da periodontia, com o uso de membrana (biomaterial) como guia de regeneração, onde ela cria condições propícias para o crescimento das células do suporte periodontal e impede a proliferação de tecido gengival e migração de células responsáveis por reabsorção, para o interior da lesão periodontal (Figura 1).

O método de indução envolve a ativação de células próxima ao sítio de defeito com sinalizadores biológicos específicos, a origem deste mecanismo tem sua raiz no descobrimento das proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) que são capazes de induzir a diferenciação de células do tipo fibroblastos em osteoblastos que são responsáveis pela neoformação óssea (Figura 2).

O método de transplante de células reflete a verdadeira natureza multidisciplinar da engenharia de tecido, onde são acionados os conhecimentos e destreza do clínico, o trabalho laboratorial minucioso do biologista celular e a habilidade do bioengenheiro. O clínico remove uma pequena parte do tecido que contem as células de interesse. Princípios de biologia celular são necessários para a multiplicação das células em laboratório, enquanto o bioengenheiro distribui as células em um arcabouço ou confecciona o tecido em um bioretator, que depois são implantadas pelo clínico no local de deficiência (Figuras 3 e 4).

Arcabouço

Um aspecto comum para os três métodos da engenharia de tecido é que eles sempre estão associados a um arcabouço (matriz, carreador, mensageiro, veículo) de materiais poliméricos (colágeno, ácido poliláctico e/ou poliglicolítico). No método de

- Antonio Lucindo Bengtson

Professor Doutor da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Metropolitana de Santos (FONIMES)

- Antonio Carlos Guedes-Pinto

Professor Associado da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP)

- Nadya Galvão Bengtson

Professora Mestre da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Metropolitana de Santos (FONIMES)

- Camila Regina Galvão Bengtson

Aluna de graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP)

- Sérgio Luiz Pinheiro

Professor Mestre da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Metropolitana de Santos (FONIMES)

- Fausto Medeiros Mendes

Professor Mestre da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Metropolitana de Santos (FONIMES)

Os AA pesquisam os efeitos clínicos e indutivos de dentina reparativa, com o uso da BMP-2 recombinante humana, sobre a polpa de dentes decíduos

condição, o arcabouço normalmente é uma membrana que impede a atuação negativa de células específicas no processo regenerativo. No método de indução emprega o arcabouço para transporte e sustentação das proteínas indutivas. E no método de transplante de células o veículo não só transporta as células ou tecido como serve de guia para o crescimento de novo tecido.

Proteína morfogenética do osso

Em 1965 URIST²⁶ desenvolveu experiência muito interessante, precursora de muitas outras com resultados importantes, onde ele implantou em tecido muscular da perna coelho, matriz de osso desmineralizado e observou que após três semanas havia formação de tecido ósseo ectópico. Concluiu que a matriz do osso continha algum elemento capaz de auto-indução, a qual denominou proteína morfogenética do osso [Bone Morphogenetic Protein (BMP)]. Desde esta época vários pesquisadores têm trabalhado no isolamento e clonagem deste fator, que na realidade são vários fatores indutivos, isto é, várias proteínas morfogenéticas do osso.

Apesar de todo avanço e o conhecimento da capacidade de determinadas células serem induzidas a se diferenciarem em osteoblastos, ainda falta muito para esclarecer os mecanismos celulares e moleculares que regem o potencial regenerativo do osso. As bases moleculares têm sido atribuídas as proteínas morfogenéticas do osso que na grande maioria pertencem a uma superfamília do Fator de Transformação do Crescimento b (TGF- b). Este grupo de proteínas é composto atualmente em torno de doze diferentes moléculas indutoras, cada qual com sua função e às vezes interagindo para uma determinada e específica atuação. São as BMP-1; -2; -3 (osteogenina); -4; -5; -6; -7 (proteína osteogênica-I = OP-1); -8 (OP-2) e as BMP-9 à -12 (RUTHERFORD et al.²¹; NAKASHIMA¹⁵, 1994; RIPAMONT et al.¹⁹; MATIN et al.¹³ 2001; SIX et al.²⁴ 2002).

Até pouco tempo parecia mais uma visão futurística a utilização de biomateriais indutores, entretanto, o seu uso hoje é uma realidade. Na medicina especialmente na ortopedia (GERHART et al.² 1993; TRIFFITT²⁵, 2002) e na odontologia principalmente na implantodontia e periodontia, com tendência promissora na área da traumatologia e endodontia.

Na implantodontia, a reabsorção residual da crista óssea começa logo após a extração ou perda do dente e é continua provocando a redução do volume de osso alveolar criando um problema para a indicação do implante dentário. MATIN et al.¹³ (2001); HUNT et al.⁶ (2001); MURUKAWA et al.¹¹ (2001) trabalhando com BMP-2 recombinante humana, os primeiros implantaram a proteína em alvéolos dentários de ratos e os outros na crista alveolar de cachorros e macacos, respectivamente, observaram que rhBMP-2 podia estimular, proliferar e diferenciar as células mesenquimais em osteoblastos no alvéolo preservando o volume e a densidade óssea. Está sendo utilizado também no levantamento de seio maxilar para aumentar a área óssea para receber implantes (McALLISTER et al.¹² 1998) e a utilização de BMPs no momento ou logo após a colocação do implante dental, aumenta a estabilidade e diminui o tempo requerido para osteointegração (SIGURSSON et al.²³ 1997).

Na periodontia a técnica mais preconizada atualmente é aquela que se utiliza membranas biológicas para a autocondição, porém, existem pesquisas com resultados animadores na forma-

ção de tecido ósseo e fixação periodontal com os efeitos indutivos das proteínas morfogenéticas do osso (RIPAMONTI et al.¹⁹, 1996; KUBOKI et al.⁹, 1998).

Na endodontia, alguns trabalhos experimentais em animais tem mostrado a capacidade indutora das BMPs na formação de osteodentina ou até mesmo de dentina como proteção biológica do tecido pulpar (RUTHERFORD et al.²¹, 1993; NAKASHIMA,¹⁴ 1994; RUTHERFORD, GU,²² 2000; MARUKAWA et al.¹¹, 2001; SIX et al.²⁴, 2002). Novos materiais e principalmente os bio-ativos para capeamento de tecido pulpar devem e precisam ser desenvolvidos. Agentes que possam aumentar o potencial cicatrizador do tecido conjuntivo pulpar com indução de grande quantidade de dentina ou osteodentina sobre a polpa exposta isolando-a e protegendo-a de microinfiltrações e futuras e possíveis infecções.

Nesta direção nos propomos inicialmente observar "in vivo" as reações álgicas, sinais de alterações patológicas e a possibilidade de detectar radiograficamente os efeitos indutivos de dentina reparativa com o uso da BMP-2 recombinante humano em arcabouço de ácido polilático/poliglicolítico e de colágeno desenvolvidos pela KÜNZEL BIOMATERIALS sobre a polpa de dentes decíduos humanos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES) através do Parecer 01/02. Foram selecionadas crianças saudáveis na faixa etária de oito a dez anos de idade inscritas na Clínica de Graduação da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Metropolitana de Santos/SP, de ambos os gêneros, cujos responsáveis autorizaram por escrito. Para o estudo foram utilizados dez molares decíduos, com indicação de pulpotomia confirmada após avaliação clínica e radiográfica. Sendo que em cinco foi utilizada a Proteína Morfogenética do Osso-2 recombinante de humano (rhBMP-2) com o arcabouço de ácido polilático/poliglicolítico e cinco com arcabouço de colágeno seguindo a conduta descrita abaixo:

Técnica

Como o arcabouço e a rhBMP-2 não são e não contém medicamentos ou substâncias antimicrobianas, podemos considerar teoricamente que é um meio de fácil contaminação e para que a rhBMP-2 não sofresse influência do material restaurador seguimos o seguinte protocolo:

Radiografia, anestesia e isolamento absoluto: Após tomada radiográfica periapical de diagnóstico com posicionador de película (para padronização de angulação) e aplicação da anestesia indicada foi feito isolamento absoluto e antisepsia com digluconato de cloroxedina a 1% condição para a manutenção do campo livre de contaminação (Figuras 5 e 6).

Abertura da câmara pulpar: Quando presente, a cárie era removida totalmente evitando deixar restos de tecidos cariado nas paredes dentinárias. A abertura era feita através da remoção do teto da câmara pulpar, com brocas esterilizadas esféricas ou cones invertidas introduzidas no orifício de comunicação da câmara e o meio externo, e com movimentos de tração, o teto da câmara era removido totalmente (Figura 7).

Amputação da polpa coronária e hemostasia: Com cureta



Fig. 1 - Observar a membrana biológica promovendo o impedimento de células que pudesse perturbar a regeneração tecidual. Exemplo de condução com o uso membrana na periodontia (quadros menores)



Fig. 2 - Os sinalizadores biológicos (proteínas) induzindo a diferenciação celular e a formação de um novo tecido restabelecendo o defeito.



Fig. 3 - Células ou tecidos desenvolvidos fora do sítio de lesão e adaptação do mesmo na recuperação do defeito, caracterizando o transplante.

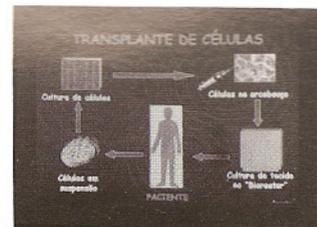


Fig. 4 - Esquema da remoção celular pelo clínico, cultura das células pelo biólogo celular e a confecção de tecido para o transplante pelo bioengenheiro e a colocação do tecido pelo clínico (envolvimento multidisciplinar).



Fig. 5 - Radiografia inicial evidenciando saúde do tecido ósseo de sustentação, o tecido cariado coronário e a não exposição do tecido pulpar.

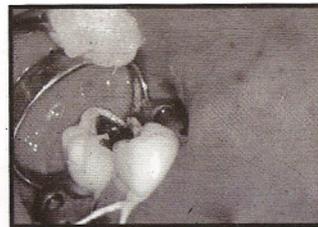


Fig. 6 - Após anestesia, isolamento e a antisepsia com penso de algodão embebido com digluconato de clorexidina a 1%.



Fig. 7 - Remoção do teto da câmara pulpar, cor e sangramento dentro de padrões de normalidade.



Fig. 8 - Limpeza da câmara com digluconato de clorexidina a 1%, hemostasia e o tecido pulpar em condições de receber a rhBMP-2.

afiada e esterelizada, suficiente para se estender através da entrada do canal, promovia-se a amputação total da polpa coronária deixando a vista somente os cotos pulpares. A câmara pulpar coronária era desinfetada com algodão embebido com digluconato de clorexidina a 1% e pensos de algodão esterilizados eram colocados sobre a entrada dos canais com leve pressão para promoção da hemostasia (Figura 8).

Colocação da rhBMP-2: Após a hemostasia, na câmara e sobre os cotos pulpares era acomodada a rhBMP-2 com arcabouço de ácido polilático/poliglicólico em um grupo de cinco dente e com o arcabouço de colágeno (Fig. 9) nos outros cinco molares, sobre a rhBMP-2 era adaptada uma base de guta percha, para isolar dos possíveis efeitos do material restaurador. Após a colocação da guta percha a cavidade era condicionada com ácido por 10 segundos, feito lavagem e secagem, aplicação do adesivo dentinário, restauração com resina composta e radiografia final (Figuras 10 a 16).

Estes pacientes estão sendo acompanhados periodicamente clínica e radiograficamente, até a época de esfoliação do dente, quando serão trabalhados e executados os exames histológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar dos grandes esforços na área de prevenção e educação odontológica para controlar as doenças bucais e favorecer um correto desenvolvimento estomatognático da criança, a incidência de traumatismos dentários e especialmente da doença cárie dentária, é muito grande. Desta forma, torna-se expressivo os problemas de ordem pulpar dos dentes decíduos. Para administrar este quadro, a odontologia curativa está presente,

evoluindo e aprimorando seus conceitos histo-fisio-patológicos e em especial os genéticos.

O tratamento eleito para dentes decíduos onde houve exposição pulpar com o mínimo de contaminação é a pulpotomia e utilização de substâncias químicas, pastas medicamentosas ou atualmente biomateriais, para a manutenção do remanescente radicular livre de processos patológicos. RANLY¹⁸ (1994) fez classificação baseada na ação dos materiais utilizados sobre os cotos pulpares, adaptando a esta classificação podemos descrever didaticamente em três grandes grupos: o primeiro desvitalização com efeito bastante agressivo ao tecido pulpar (formocresol, tricresolformalina, eletrocauterização, etc) (LOOS, HAN,¹⁰ 1971); o segundo grupo o de preservação (condução), que mantém a vitalidade do tecido pulpar radicular (óxido de zinco e eugenol, glutaraldeído, sulfato férrico, etc) (OLIVEIRA, SANDER,¹⁷ 1985) e o terceiro e mais favorável grupo é o de regeneração, que propõe além de manter o tecido radicular com vitalidade, promove estímulo ou indução para formação de tecido osteóide, osteodentina e/ou dentina [hidróxido de cálcio, pasta Guedes-Pinto, hidroxiapatita, fosfato de tetracálcio, Ca-BGP (Glicerofosfato-b-cálcio), MTA (agregado trióxido mineral), e um biomaterial BMP (proteína morfogenética do osso), etc] (BENGTSON et al.¹, 1992; IMAI et al.⁷, 1993; NAKASHIMA,¹⁶ 1990; YOSHIMINE, MAEDA,²⁷ 1995; GUEDES-PINTO,³ 1997; HAYASHI et al.⁴, 1999; HOLLAND et al.⁵ 2001).

Estudos recentes em pulpotomia e capeamento pulpar direto com as proteínas morfogenéticas do osso (BMP), especialmente as BMP-2; -4 e -7 (OP-1), têm sido desenvolvidos em dentes de ratos, cães e primatas, com perspectivas promissoras, as quais evidenciam sua participação no mecanismo de



Fig. 9 - As rhBMP-2 com arcabouço de colágeno e de polimeros (scaffold), observar que a conservação deve ser feita em temperatura a baixo de zero.



Fig. 10 - rhBMP-2 em arcabouço de polímero de ácido poliláctico e poliglicolítico sendo removido do recipiente.



Fig. 11 - Observar a consistência semelhante a isopor da rhBMP-2 em arcabouço de polímero e a retirada de um fragmento com uma lâmina de bisturi.



Fig. 12 - O fragmento de rhBMP-2 sendo levado com uma pinça para ser colocado na câmara pulpar.



Fig. 13 - A rhBMP-2 em arcabouço adaptada dentro da câmara sobre os cotos pulpares, observar o embebimento com sangue contendo alguns tipos de células que provavelmente serão diferenciadas.



Fig. 14 - A adaptação da guta percha para proteção da rhBMP-2 do condicionamento ácido e dos possíveis efeitos do material restaurador.

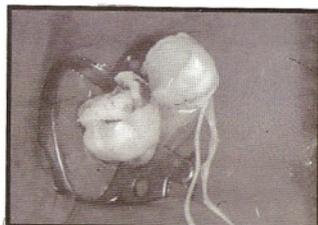


Fig. 15 - O primeiro molar restaurado com resina composta e a rhBMP-2 em arcabouço de colágeno sendo colocado no segundo molar.



Fig. 16 - Radiografia final evidenciando dentro da câmara imagem radiolúcida contendo as rhBMPs-2 em arcabouço e o vedamento das margens com a resina composta.

indução e produção biológica de dentina (NAKASHIMA,¹⁶ 1990; RUTHERFORD et al.²¹, 1993; NAKASHIMA,¹⁴ 1994; NAKASHIMA,¹⁵ 1994; RUTHERFORD, GU,²² 2000; MARUKAWA et al.¹¹, 2001; HUNT et al.⁶, 2001; ROCHA et al.²⁰, 2002; SIX et al.²⁴, 2002).

A confirmação de formação de osteodentina e até mesmo de dentina abriu novas perspectivas para o tratamento racional do tecido conjuntivo pulpar. Após dez meses, nos dentes deciduos humanos que realizamos pulpotomias e aplicamos sobre os cotos pulpares proteína morfogenética de osso-2 recombinante humana (rhBMP-2), pode-se considerar até presente momento, como sucesso clínico e radiográfico, porque apenas um dos dentes pulpotomizados apresentou leve sintomatologia dolorosa no primeiro dia após o tratamento que logo houve a remissão do sintoma. Quanto aos tecidos moles de suporte apresentavam coloração normal e ausência de edema, abscesso, fistula ou qualquer outro sinal de alteração patológica.

Quanto ao exame radiográfico de controle, também não foi observada qualquer alteração do tecido ósseo de suporte que demonstrasse condição anormal, como rarefação óssea, áreas radiopacas ou radiolúcidas. Com muita acuidade pode-se dizer que há em alguns dentes formação de tênue camada de tecido duro dentro da câmara o que só poderá ser confirmado com os estudos histológicos.

RESUMO E CONCLUSÃO

Uma das atuações da biotecnologia contemporânea é na "Engenharia de Tecido", uma atividade multidisciplinar que tem

como proposta a formação biológica de tecido funcional. A matriz do osso contém proteínas capazes de auto-indução através da diferenciação celular, denominadas proteínas morfogenéticas do osso (BMPs). A indução e produção biológica de osteodentina e/ou dentina pela ação das BMPs tem sido demonstrado no tecido pulpar de animais que sofreram pulpotomias. A proposta inicial deste relato é de observar "in vivo" as reações álgicas, sinais de alterações patológicas e a possibilidade de detectar radiograficamente os efeitos indutivos de dentina reparativa com o uso da BMP-2 recombinante humano em arcabouço de ácido poliláctico/poliglicolítico e de colágeno desenvolvidos pela KÜNZEL BIOMATERIALS sobre a polpa de dentes deciduos humanos. Após dez meses de acompanhamento não foi observado sintomatologia ou qualquer sinal clínico/radiográfico de patologia.

DESCRITORES: Pulpotomia dente decíduo. Proteína morfogenética do osso-2 (rhBMP-2).

AGRADECIMENTOS

À KÜNZEL BIOMATERIALS e aos Professores Dr. Aguinaldo Campos Jr. e Dr. Águedo Aragones pela doação da Proteína morfogenética do osso-2 recombinante humana.

ABSTRACT

"Tissue engineering's" is a multidisciplinary activity within contemporaneous biotechnology that has the aim of biologically forming new functional tissue. The bone matrix contains proteins capable of autoinduction by means of cell differentiation that are denominated bone morphogenetic

proteins (BMPs). The biological induction and production of osteodentin and/or dentin through the action of BMPs has been demonstrated in the pulp tissue of animals that were submitted to pulpotomy. The aim of this report was to make "in vivo" observations of painful reactions, signs of pathological alterations and the possibility of radiographically detecting the inductive effects of reparative dentin, with the use of human recombinant BMP-2 in a framework of polylactic/polyglycolic acid and collagen developed by Künzel Biomaterials, on the pulp from human deciduous teeth. After a six-month follow-up, no symptomatology or any clinical or radiographic sign of disease was observed.

DESCRIPTORS: Pulpotomy deciduous teeth. Bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2)



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BENGTON, A. L. et al. Pulpotomia em dentes decíduos com o emprego da Pasta Guedes-Pinto. *Rev Odontopediatr*, v.1, n.1, p.5-13, jan./mar. 1992.
2. GERHART, T. N. et al. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop*, v.293, p. 317-326, 1993.
3. GUÊDES-PINTO, A. C. Tratamento endodôntico em dentes decíduos. In: GUEDES-PINTO, A. C. *Odontopediatria*. São Paulo: Santos, 1997. p. 535-555.
4. HAYASHI, Y. et al. Hydroxiapatite applied as direct pulp capping medicine substitutes for osteodentin. *J Endod*, v.25, n.4, p.225-229, Apr. 1999.
5. HOLLAND, R. et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J*, v.12, n.2, p.109-113, 2001.
6. HUNT, D. R. et al. Hyaluronan supports recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone reconstruction of advance alveolar ridge defects in dogs. A pilot study. *J Periodontol*, v.72, n.5, p.651-658, May 2001.
7. IMAI, M., HAYASHI, U. Ultrastructure of wound healing following direct pulp capping with Calcium-b-glycerophosphate (Ca-BGP). *J Oral Pathol Med*, v.22, n.9, p.411-417, 1993.
8. KAIGLER, D., MOONEY, D. Tissue engineering's impact on dentistry. *J Dent Educ*, v.65, n.5, p.456-462, May 2001.
9. KUBOKI, Y. et al. Regeneration of periodontal ligament and cementum by BMP-applied tissue engineering. *Eur J Oral Sci*, v.106 (suppl 1), p.197-203, 1998.
10. LOOS, P. S., HAN, S. S. Na enzyme histochemical study of the effects of various concentrations of formocresol connective tissues. *Oral Surg*, v.3, n.4, p.571-585, 1971.
11. MARUKAWA, E. et al. Bone regeneration using recombinant human one morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in alveolar defects of primate mandibles. *Br J Oral Maxillofac Surg*, v.39, n.6, p.452-459, Dec. 2001.
12. McALLISTER, B. S. et al. Residual lateral wall defects following sinus grafting with recombinant human osteogenic protein-1 or bio-oss in the chimpanzé. *Int J Periodont Rest Dent*, v.18, n.3, p.227-239, 1998.
13. MATIN, K. et al. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction: An experimental study in the rat. *Int J oral maxillofac Implants*, v.16, n.3, p.400-411, May./Jun. 2001.
14. NAKASHIMA, M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and 4. *J Dent Res*, v.73, n.9, p.1515-1522, Sept. 1994.
15. NAKASHIMA, M. Induction of dentine in amputated pulp of dogs by recombinant human bone morphogenetic proteins-2 and -4 with collagen matrix. *Archs Oral Biol*, v.39, n.12, p.1085-1089, Dec.1994.
16. NAKASHIMA, M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. *Archs Oral Biol*, v.35, n.7, p.493-497, 1990.
17. OLIVEIRA, F.M., SANDER, R.I. Glutaraldeído como fixador em odontopediatria. *RGO*, v.33, n.4, p.350-353, 1985.
18. RANLY, D. M. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. *Ped Dent*, v.16, n.6, p.403-409, Nov./Dec. 1994.
19. RIPAMONT, U. et al. Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1/BMP-7) in boboon (*papio ursinus*). *Archs Oral Biol*, v.41, n.1, p.121-126, Jan. 1996.
20. ROCHA, L. R. et al. Biocompatibility of anionic collagen matrix as scaffold for bone healing. *Biomater*, v.23, n.2, p.449-456, Jan. 2002.
21. RUTHERFORD, R. B. et al. Induction of reparative dentine formation in monkey by recombinant human osteogenic protein-1. *Archs Oral Biol*, v.38, n.7, p.571-576, Jul. 1993.
22. RUTHERFORD, R. B., GU, K. Treatment of implamed ferret dental pulps with recombinant bone morphogenetic protein-7. *Eur J Oral Sci*, v.108, n.4, p.200-206, 2000.
23. SIGURSSON, T.J., FU, E., TATAKIS, D.N., ROHRER, M.D., WIKESJÖ, U.M.E. Bone morphogenetic protein-2 for peri-implante bone regeneration and osseointegration. *Clin Oral Impl Res*, V.8, n.5, p.367-374, Oct. 1997.
24. SIX, N. et al. Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein-7 (Osteogenic Protein 1). *Archs Oral Biol*, v.47, n.3, p.177-187, Mar. 2002.
25. TRIFFITT, J. T. Osteogenic stem cells and orthopedic engineering: Summary and update. *J Biomater Res*, V.63, n.4, p.384-389, special 2002
26. URIST, M. R. Bone: formation by autoinduction. *Science*, v.150, n.698, p.893-899, Nov. 1965.
27. YOSHIMINE, Y, MAEDA, K. Histologic evaluation of tetracalcium phosphate-based cement as a direct pulp-capping agent. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v.79, n.3, p.351-358, Mar. 1995.