



ANEXO III: FORMULARIO DE PROYECTOS DE I+D

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

1. Título del Proyecto de I+D.

ASOCIACIÓN DE PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS (BMPs) y ESTRADIOL (E2) EN LA REGENERACIÓN DE ALVEOLOS POST EXTRACCIÓN DE RATAS HEMBRAS Y MACHOS

2. Departamento/Instituto de radicación:

Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional del Oeste.

3. Línea de Investigación y Desarrollo de pertenencia:

(Marque con una cruz lo que corresponda)

Prioritaria	<input checked="" type="checkbox"/>	Complementaria	<input type="checkbox"/>
-------------	-------------------------------------	----------------	--------------------------

Denominación: Usos y aplicaciones de proteínas morfogenéticas

4. Tipo de Proyecto:

(Marque con una cruz lo que corresponda)

Acreditable	<input checked="" type="checkbox"/>	Reconocimiento institucional	<input type="checkbox"/>
-------------	-------------------------------------	------------------------------	--------------------------

5- Período de vigencia:

01/03/2023 al 31/12/2024

6. Justificación del Proyecto

(Máximo 1600 palabras. Desarrolle el objeto y problema del Proyecto así como el interés, la relevancia del Proyecto)

La realización de este proyecto pretende establecer un protocolo terapéutico para el tratamiento de zonas de déficit óseo, como lo son los alvéolos post extracción dentaria. En este sentido proponemos la colocación combinada de BMPs y Estradiol con la finalidad de generar un efecto sinérgico que acelere la regeneración ósea, evite la realización de cirugías en zonas dadoras de tejido óseo y disminuya los efectos secundarios. Finalmente se busca obtener un



hueso con óptimas propiedades en su calidad y cantidad para facilitar el tratamiento de especialidades odontológicas como Implantología, o rehabilitación odontológica integral.

7. Estado actual del conocimiento sobre el tema.

INTRODUCCIÓN

Las Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs), forman un único grupo de proteínas dentro de la superfamilia de Factores de Crecimiento Transformante beta (TGF- β) junto con otras proteínas como las activinas/inhibinas, o los factores de crecimiento y diferenciación (GDF). En 1965, Marshall R. Urist descubrió que el hueso desmineralizado es capaz de inducir nuevo hueso cuando se implanta ectópicamente en el músculo esquelético(1) y describió este fenómeno como "Formación ósea por autoinducción". Su observación fue la primera prueba de que la matriz ósea desmineralizada acelular tenía una actividad morfogénica ósea, ya que es capaz de inducir hueso nuevo en sitios ectópicos. Más tarde Strates y Urist, denominaron a las sustancias derivadas de los huesos y la dentina como "proteínas morfogenéticas óseas"(2) .

Las BMP son potentes quimioatrayentes (3, 4) mitógenos (5) y morfógenos (6 ,7) y actúan a través de un gradiente de concentración durante el desarrollo esquelético embrionario (7,8). Las BMP reclutan células madre mesenquimales y promueven la condensación (proliferación) y posteriormente desencadenan su diferenciación en hueso endocondral durante la morfogénesis esquelética (9,10). El ectodermo generalmente expresa BMP (11,12) como proteínas secretadas, que se unen a proteínas de la matriz extracelular (por ejemplo, proteoglicanos de sulfato de heparina y colágeno tipo IV), antagonistas de BMP (Noggin, Chordin, Sclerostin, Gremlins) y posteriormente se liberan y regulan, según sea necesario, la condensación y diferenciación del mesodermo (13,14). Las células que expresan BMP también expresan antagonistas de BMP para establecer un gradiente de concentración para las interacciones ligando-receptor para inducir la señalización aguas abajo (15).

La presencia de BMP en el implante atrae un número suficiente de células madre mesenquimales que inducen la proliferación y diferenciación en hueso (16,17).

Esta función biológica de BMP depende de la concentración, cuanto menor es la cantidad actúa como mitogénica (quimiotaxis), las concentraciones medias son mitogénicas (proliferación) y las concentraciones más altas son morfogénicas (diferenciación)(9,12,18,19). Las actividades



biológicas de las BMP con respecto a la quimiotaxis, la proliferación y la diferenciación han sido demostradas in vitro usando el ensayo de cámara de Boyden, ensayos de proliferación y diferenciación celular en cultivos usando una BMP y células mesenquimáticas indiferenciadas (20).

Actualmente se han identificado al menos veinte BMPs y, a excepción de la BMP-1 que es una metaloproteasa, todas ellas son citoquinas multifuncionales que se engloban en la súper familia de TGF- β (21,22). Las BMPs están altamente conservadas en las diferentes especies animales. Se pueden dividir en varias subfamilias en función de la similitud de su secuencia de aminoácidos del dominio maduro de la proteína. Así, podrían clasificarse en 4 grupos: BMP-2 y BMP-4 (con un 80% de homología en su secuencia); BMP-5, 6, 7 y 8 (con un 78% de homología); BMP-9 y 10; BMP-12, 13 y 14. La BMP-11 y BMP-15 son miembros más distantes de la familia de las BMPs y a su vez son similares a GDF 8 y 9 respectivamente. Lo mismo ocurre con la BMP- 16, 17 y 18. Éstas últimas podrían formar parte de un grupo diferente dentro de la superfamilia de TGF- β . Actualmente, la manipulación genética permite a los investigadores determinar la función fisiológica de cada una de ellas. La BMP-2, 4, 6, 7 y 9, destacan por su actividad osteoinductora y su capacidad para la formación de hueso ectópico (23,24)

En cirugía oral y maxilofacial, las BMP se utilizan para la regeneración ósea alveolar (25,26,27,28,29), elevación de seno (30,31,32,33), implantes dentales (34,35) y regeneración periodontal (36,37) y dental (38,39). Las más utilizadas en la actualidad son las BMP-2, esto podría ser así, ya que BMP-2 está aprobado por la FDA y, cuando se usa correctamente, elimina el requisito de recolectar hueso autógeno para los procedimientos de injerto, lo que beneficia tanto al paciente como al cirujano (40).

En los Estados Unidos, se encuentra disponible comercialmente el injerto INFUSE® Bone desde su aprobación por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) en julio de 2002 para su uso en la fusión intersomática lumbar anterior. En 2004 fue aprobado para Traumatología Ortopédica y en 2007 se autorizó en Cirugía Maxilofacial y Oral. El producto consiste en una mezcla de dos componentes, proteína morfogenética ósea humana recombinante 2 (rhBMP-2) en una esponja de colágeno absorbible (ACS). El componente de la solución de proteína morfogenética ósea, no debe usarse sin la esponja(41). En el caso del rhBMP-7, el producto comercial puede encontrarse como OP-1 Putty, que fue aprobado en abril de 2004. Está indicado para realizar una nueva fusión espinal posterolateral en pacientes que han tenido una



falla posterolateral. La masilla OP-1 está elaborada por una proteína en polvo humana (diseñada genéticamente) y colágeno de vaca (bovino) que se mezclan con agua estéril (solución salina) y un agente espesante para formar un material similar a la masilla. Sin embargo, otros como BMP-4, BMP-6 y BMP-14 aún están en estudio (42,43).

Por otra parte, los estrógenos son hormonas esteroideas lipofílicas, relacionadas clásicamente con la regulación de la función reproductiva del sexo femenino; sin embargo hoy se conoce que poseen varios efectos en numerosos tejidos de todo el organismo, tales como el sistema cardiovascular, el sistema inmune, sistema óseo, el sistema nervioso central y periférico (44) e incluso el complejo dentino-pulpar (45). Existen tres variedades de estrógenos: estrona (E1), 17- β estradiol (E2) y estriol (E3) (44) y son sintetizados por las células de la granulosa del ovario durante la fase folicular. El E2 es el estrógeno más abundante en la circulación(46).

En la actualidad se sabe que E2 induce la expresión del receptor alfa huérfano relacionado con el receptor del ácido retinoico (ROR α) Este se expresa generalmente en varios tejidos y actúa como factor de transcripción . Regula muchas vías celulares como la inflamación, la diferenciación y el metabolismo óseo debido a que incrementa los niveles de proteínas BMP 2 Y Runx2, activa la fosforilación de la cascada de señalización intracelular Smad 1/5/9 e induce por este mecanismo la diferenciación de osteoblastos , síntesis de fosfatasa alcalina y mineralización de la matriz.(47)

También existe evidencia de que E2 en forma dependiente de la dosis, aumenta los niveles de proteína y ARNm de OPG en osteoblastos humanos normales con aproximadamente 400 RE/núcleo en un 60 % y un 73 %, respectivamente. Por lo tanto, el aumento de la secreción de OPG por parte de los estrógenos por parte de las células osteoblásticas puede desempeñar un papel importante en la acción antirresortiva de los estrógenos sobre el hueso. (48)

8. Objetivos general y específicos

OBJETIVO GENERAL:

Analizar el efecto de la asociación de BMPs y Estradiol en la regeneración ósea de alveolos post extracción de ratas hembras y machos.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estudiar a través de análisis histomorfométricos la regeneración ósea de alveolos post extracción estimulados con BMPs y BMPs + E2 en ratas hembras y machos .
- Evaluar la formación/reabsorción ósea a través del recuento de osteoblastos (Ob) lineal y marcados con FA (fosfatasa alcalina) y de Osteoclastos (Oc) marcados con TRAP.

9. Hipótesis de la Investigación

“La asociación de BMP+E2 a nivel local acelera la regeneración ósea, disminuye la reabsorción ósea y mejora la cicatrización en alveolos post extracción de ratas hembras y machos”

10. Metodología a utilizar.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se trabajará con ratas wistar de machos y hembras, de aproximadamente 90 g (± 10 g) de peso corporal. Esto se debe a que a mayor edad se dificulta la extracción del primer molar inferior por la cementosis radicular que se produce en este tipo de roedores. Las ratas recibirán una dieta de laboratorio balanceada y agua ad-libitum. Se seguirá un control estricto con respecto al uso y cuidado de animales de laboratorio, teniendo en cuenta las normas del National Institute of Health (NIH publication Nº 85-23, revised 1985).

CIRUGÍAS

Los animales serán anestesiados intraperitonealmente con 1.28 mg de xilazina y 8 mg de ketamina cada 100 g de peso corporal. Las dosis de BMP-2 y estradiol que se aplicarán a los animales serán determinadas en relación a estudios previos y de acuerdo a las marcas comerciales que se logren adquirir.

Experiencias en Alveolos post-extracción

Se realizará la extracción de ambos primeros molares inferiores y los alvéolos post-extracción serán rellenados con esponjas reabsorbibles de colágeno (Hemospon®), previamente tratadas con BMP 2 y BMP 2+E2 en los siguientes grupos experimentales:

G1: alvéolos post-extracción de ratas macho, tratados con BMP-2

G2: alvéolos post-extracción de ratas macho, tratados con BMP-2 + E2



G3: alvéolos post-extracción de ratas hembra, tratadas con BMP-2

G4: alvéolos post-extracción de ratas hembra, tratadas con BMP-2 y E2

Se establecerán controles (G0, control) en los que se rellenarán los alvéolos post extracción sólo con esponja reabsorbibles de colágeno (Hemospon®).

Los animales serán sacrificados a los 15 y 30 días pos-extracción mediante sobredosis de anestesia. Para los grupos G3 y G4, previo a las intervenciones quirúrgicas, se evaluará que las hembras estén en el mismo ciclo estral. Los hemimaxilares serán resecados y sumergidos en solución fijadora de formol al 10% pH 7 durante 24hs. Se tomarán radiografías de las mandíbulas tratadas. Las muestras se desmineralizarán con EDTA, se realizará inclusión en parafina y se obtendrán cortes transversales, en sentido vestíbulo-lingual, orientados a nivel del alvéolo mesial del primer molar inferior. Las secciones se colorearán con H/E. Las muestras se analizarán histomorfométricamente mediante un programa de análisis de imágenes (Image Pro Plus 5.0), para determinar el volumen alveolar total (TBV), la altura de la tabla vestibular (VH) y la altura de la tabla lingual (LH)

Para evaluar la formación/reabsorción ósea se realizará el recuento de osteoblastos en forma lineal y de osteoclastos marcados con técnicas de FAL y TRAP .

11. Resultados Esperados

Se espera que la aplicación de BMPs asociada a E2 promueva y acelere la regeneración ósea de alveolos post extracción de ratas hembras y machos. Este efecto, podrá ser confirmado a través de estudios histomorfométricos por la preservación de la altura de las tablas vestibular y lingual y del volumen óseo total de los alvéolos. Así como también la identificación de un proceso activo de formación/reabsorción ósea, a través del recuento y marcación de osteoblastos y de Osteoclastos, con FA y TRAP respectivamente.

9. Hipótesis de la Investigación

“La asociación de BMP+E2 a nivel local, acelera la regeneración ósea, disminuye la reabsorción ósea y mejora la cicatrización en alveolos post extracción de ratas hembras y machos”

12. Antecedentes y funciones previstas del Grupo de Investigación en el área temática/disciplina



Este grupo de investigación representa un equipo de reciente formación. Sus integrantes provienen de diferentes áreas de la odontología, lo que brinda un valor agregado para el abordaje interdisciplinario de los problemas de déficit óseo que requieren técnicas regenerativas para rehabilitaciones de la cavidad bucal.

El Director del proyecto, Dr Sebastián Fontana es, Profesor de la Cátedra de Histología y Embriología en la UNC. Cuenta con experiencia en desarrollo de trabajos de investigación y experimentación en animales. Realizó numerosas presentaciones y publicaciones sobre oseointegración de implantes, utilización de sustancias y biomateriales para la regeneración ósea. Acredita Categoría III en el programa de Incentivos de la Nación. El Co-director Daniel Wenedicter, es Profesor Adjunto de la Universidad Argentina John F. Kennedy en la asignatura Cirugía Odontológica. Acredita expertis en la realización de cirugías reconstructivas y regenerativas del hueso en humanos, por lo que podrá aportar sus saberes en los procedimientos que se realizarán sobre los animales de experimentación. Su colaborador, el Odontólogo Ariel Espinoza es Ayudante Graduado en la asignatura Cirugía Odontológica de la Universidad Argentina John F. Kennedy, Escuela De Odontología y trabaja en el Hospital Municipal de Marcos Paz en el servicio de Cirugía y Traumatología Bucomaxilofacial. La Odontóloga Sabrina Soto es Profesora de la Cátedra de Biología Celular B de la Facultad de Odontología de la UNC y de Histología y Embriología en la UNO. Es Becaria Doctoral de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC) y desarrolla su trabajo en el Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra de Córdoba (INMEC-CONICET-UNC), siendo experta en procesamiento de muestras para técnicas de biología celular y molecular. En este sentido, colaborará en los procedimientos de laboratorio que requiere este proyecto, como así también en la obtención y análisis de los datos que resulten de las experimentaciones.

13. Transferencia de Resultados.

Los resultados que podrían alcanzarse en este estudio experimental, tendrían una transferencia directa en la confección de protocolos para la terapéutica de defectos óseos, como lo son los alvéolos post-extracción dentaria en humanos. Creemos que el efecto sinérgico entre BMPs y Estradiol significará en una aceleración de la regeneración ósea y, evitando la realización de cirugías en zonas dadoras de tejido óseo. De confirmarse la hipótesis, los hallazgos serán publicados en revistas de impacto.



14. Viabilidad y Factibilidad Técnica

El proyecto es altamente viable y con posibilidades técnicas concretas de realización y finalización. Esto se debe a que disponemos de los profesionales capacitados y un diseño metodológico experimental ya desarrollado por parte de los integrantes. La Escuela de Ciencias de la Salud de la UNO, ha puesto a disposición de este equipo de trabajo sus laboratorios, microscopios y facilidades administrativas. También contamos con el apoyo de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, que facilitará el acceso a los laboratorios de procesamiento histológico, uso de infraestructura y adquisición de animales de laboratorio en su Bioterio. Cabe aclarar que el pasado 22/06/2022 se firmó un Convenio Específico de Colaboración entre la UNO y la FO-UNC, hecho que brindará posibilidades de desarrollar este proyecto interinstitucional y de fortalecer los lazos entre ambas instituciones en el futuro.

15. Aspectos Éticos.

El proyecto de trabajo será presentado ante el organismo de evaluación, registro y fiscalización de investigaciones en salud correspondiente a las instituciones de su desarrollo (CAIS, CIEIS- UNC).

16. Aspectos de Seguridad Laboral, Ambiental y Bioseguridad requeridos

Los laboratorios de trabajo, oficinas, Bioterio y los laboratorios de histotecnología de la Facultad de Odontología de la UNC cuentan con las aprobaciones de seguridad ambiental correspondientes.

17. Intervención de terceros

Bioterio FO-UNC

Laboratorios de Histotecnología y de Procesamiento digital de imágenes de la FO-UNC (se adjunta convenio).



18. Cronograma de Actividades.

1er Año

Actividad	Mes											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Adquisición de materiales, insumos y animales		x	x									
Puesta a punto de las técnicas quirúrgicas en animales según los grupos experimentales				x	x							
Intervención quirúrgica de animales según cada grupo experimental						x	x	x				
Eutanasia de los animales y obtención de biopsias								x	x	x	x	x

2do Año

Actividad	Mes											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Procesamiento de las muestras		x	x	x								
Obtención de cortes histológicos / Técnicas de rutina e histoquímica (FAL y TRAP). Procesamiento histomorfométrico.					x	x	x	x				
Obtención de datos y Análisi estadístico									x	x		
Actualización bibliográfica/redacción de informe final de resultados										x	x	x

19. Presupuesto

Presupuesto del Primer año de ejecución

	Rubro	Descripción	Monto
1	Bienes de consumo	BMP2 (Jeringa 2ml) y 17-beta estradiol (E2)	215.000
2	Servicios no personales		
3	Servicios técnicos y profesionales	Animales de laboratorio-Mantenimiento en Bioterio	60.000
4	Servicios comerciales y financieros		
5	Pasajes y viáticos	Encuentros para la realización de experimentos	120.000
6	Bienes de uso	Suscripción a revistas	45.000
7	Equipamiento		
Total 1º Año			\$440.000



Presupuesto del Segundo año de ejecución

	Rubro	Descripción	Monto
1	Bienes de consumo	Insumos/reactivos para laboratorio/librería	50.000
2	Servicios no personales		
3	Servicios técnicos y profesionales	Horas de Microscopía y análisis de imágenes	25.000
4	Servicios comerciales y financieros	Programa de análisis de imágenes-estadística	25.000
5	Pasajes y viáticos	Movilidad para experiencias en laboratorio/presentaciones a congresos	120.000
6	Bienes de uso	Libros	30.000
7	Equipamiento	Cámara para fotomicroscopía	125.000
Total 2º Año			\$375.000

Rubros

1. Bienes de consumo: insumos de laboratorio, útiles de oficina, librería, fotocopias, etc.
2. Servicios no personales: alquiler de equipos y mantenimiento, etc.
3. Servicios técnicos y profesionales: traducciones, desgrabaciones, data-entry, etc.
4. Servicios comerciales y financieros: imprenta, internet, transporte y almacenamiento, etc.
5. Pasajes y viáticos en ámbito nacional, inscripciones a congresos nacionales o internacionales.
6. Bienes de uso: libros, revistas, programas de computación, etc.
7. Equipamiento

20. Referencias bibliográficas

(Consigne la bibliografía utilizada para la formulación del Proyecto)

1. Urist, M.R. 1965, "Bone: formation by autoinduction", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 150, no. 3698, pp. 893-899.
2. Urist, M.R. & Strates, B.S. 1971, "Bone morphogenetic protein", *Journal of dental research*, vol. 50, no. 6, pp. 1392-1406.
3. N.S. Cunningham, V. Paralkar, A.H. Reddi, Osteogenin and recombinant bone morphogenetic protein 2b are chemotactic for human monocytes and stimulate transforming growth factor β 1 mRNA expression, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89 (1992) 11740–11744.
4. W. Zhang, C. Zhu, Y. Wu, D. Ye, S. Wang, D. Zou, X. Zhang, D.L. Kaplan, X. Jiang, VEGF and BMP-2 promote bone regeneration by facilitating bone marrow stem cell homing and differentiation, *Eur Cell Mater* 27 (2014) 1–11.
5. S. Kann, R. Chiu, T. Ma, S.B. Goodman, OP-1 (BMP-7) stimulates osteoprogenitor cell differentiation in the presence of polymethylmethacrylate particles, *J. Biomed.*



- Mater. Res. A 94 (2010) 485–488.
6. A.H. Reddi, A. Reddi, Bone morphogenetic proteins (BMPs): from morphogens to metabologens, *Cytokine Growth Factor Rev.* 20 (5–6) (2009) 341–342.
 7. S. Matsuda, S. Harmansa, M. Affolter, BMP morphogen gradients in flies, *Cytokine Growth Factor Rev.* 27 (2016) 119–127.
 8. E. Bier, E.M. De Robertis, EMBRYO DEVELOPMENT. BMP gradients: a paradigm for morphogen-mediated developmental patterning, *Science* 348 (6242) (2015).
 9. V.S. Salazar, L.W. Gamer, V. Rosen, BMP signalling in skeletal development, disease and repair, *Nat Rev Endocrinol* 12 (2016) 203–221.
 10. Madaleno C. da Silva, J. Jatzlau, P. Knaus, BMP signalling in a mechanical context implications for bone biology, *Bone* 137 (2020) 115416.
 11. [12] E.E. Storm, T.V. Huynh, N.G. Copeland, N.A. Jenkins, D.M. Kingsley, S.J. Lee, Limb alterations in brachypodism mice due to mutations in a new member of the TGF Beta-superfamily, *Nature* 368 (1994) 639–643.
 12. [13] S.C. Chang, B. Hoang, T.J. Thomas, S. Vukicevic, F.P. Luyten, N.J.P. Ryba, C.A. Kozak, A.H. Reddi, M. Moos, Cartilage derived morphogenetic proteins, new members of the TGF-beta superfamily predominantly expressed in long bones during human embryonic development, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 28227–28234.
 13. [14] S. Vukicevic, T.K. Sampath (Eds.), *Bone Morphogenetic Proteins: Systems Biology Regulators*, Springer International Publishing, 2017.
 14. [15] V.M. Paralkar, S. Vukicevic, A.H. Reddi, Transforming growth factor B type 1 binds to collagen type IV of basement membrane matrix: implications for development, *Dev. Biol.* 143 (1991) 303–308.
 15. B.L. Hogan, Bone morphogenetic proteins in development, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 6 (1996) 432–443.
 16. [19] A.H. Reddi, C.B. Huggins, Biochemical sequence in the transformation of fibroblasts into cartilage and bone, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 69 (1972) 1601–1605.
 17. [20] T.K. Sampath, A.H. Reddi, Dissociative extraction and reconstitution of extra-cellular matrix components involved in local bone differentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 78 (1981) 7599–7602.
 18. [22] H. Zhang, Y. Zhang, M. Terajima, G. Romanowic, Y. Liu, M. Omi, E. Bigelow, D.M. Joiner, E.I. Waldorff, P. Zhu, M. Raghavan, M. Lynch, N. Kamiya, R. Zhang,



- K.J. Jepsen, S. Goldstein, M.D. Morris, M. Yamauchi, D.H. Kohn, Y. Mishina, Loss of BMP signaling mediated by BMPR1A in osteoblasts leads to differential bone phenotypes in mice depending on anatomical location of the bones, *Bone* 137 (2020) 115402.
19. [23] G. Sanchez-Duffhues, E. Williams, M.J. Goumans, C.H. Heldin, P. ten Dijke, Bone morphogenetic protein receptors: structure, function and targeting by selective small molecule kinase inhibitors, *Bone* 138 (2020) 115472.
20. [24] L. Erlacher, J. McCartney, E. Piek, P. ten Dijke, M. Yanagishita, H. Oppermann, F.P. Luyten, Cartilage-derived morphogenetic proteins and osteogenic protein-1 differentially regulate osteogenesis, *J. Bone Miner. Res.* 13 (1998) 383–392.
21. Hoffmann, A., Weich, H., Gross, G. & Hillmann, G. 2001, "Perspectives in the biological function, the technical and therapeutic application of bone morphogenetic proteins", *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 57, no. 3, pp. 294-308.
22. Kessler, E., Takahara, K., Biniaminov, L., Brusel, M. & Greenspan, D.S. 1996, "Bone morphogenetic protein-1: the type I procollagen C-proteinase", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 271, no. 5247, pp. 360-362
23. Bessa, P.C., Casal, M. & Reis, R. 2008b, "Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts)", *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, vol. 2, no. 1, pp. 1-13.
24. Bragdon, B., Moseychuk, O., Saldanha, S., King, D., Julian, J. & Nohe, A. 2011, "Bone morphogenetic proteins: a critical review", *Cellular signalling*, vol. 23, no. 4, pp. 609-620.
25. Clokie C. M., Sándor G. K. Reconstruction of 10 major mandibular defects using bioimplants containing BMP-7. *Journal of the Canadian Dental Association*. 2008
26. 15. Trombelli L., Farina R., Marzola A., Bozzi L., Liljenberg B., Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(7):630–639. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01246.x
27. Ayoub A., Challa S. R. R., Abu-Serriah M., et al. Use of a composite pedicled muscle flap and rhBMP-7 for mandibular reconstruction. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2007;36(12):1183–1192



28. Mhawi A. A., Peel S. A. F., Fok T. C. O., Clokie C. M. L. Bone regeneration in athymic calvarial defects with Accell DBM100. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2007;18(3):497–503.
29. Fiorellini J. P., Howell T. H., Cochran D., et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *Journal of Periodontology*. 2005;76(4):605–613.
30. Koch F. P., Becker J., Terheyden H., Capsius B., Wagner W., on behalf of the research group of this multicenter clinical trial A prospective, randomized pilot study on the safety and efficacy of recombinant human growth and differentiation factor-5 coated onto β -tricalcium phosphate for sinus lift augmentation. *Clinical Oral Implants Research*. 2010;21(11):1301–1308
31. Gruber R. M., Ludwig A., Merten H. A., Pippig S., Kramer F. J., Schliephake H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a pilot study in the Goettingen miniature pig comparing autogenous bone and rhGDF-5. *Clinical Oral Implants Research*. 2009;20(2):175–182
32. Boyne P. J., Lilly L. C., Marx R. E., et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005;63(12):1693–1707.
33. Boyne P. J., Marx R. E., Nevins M., et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *International journal of periodontics & restorative dentistry*. 1997;17
34. Palmieri A., Pezzetti F., Brunelli G., et al. Short-period effects of zirconia and titanium on osteoblast microRNAs. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2008;10(3):200–205.
35. Polimeni G., Wikesjö U. M., Susin C., et al. Alveolar ridge augmentation using implants coated with recombinant human growth/differentiation factor-5: histologic observations. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010;37(8):759–768.
36. Herberg S., Siedler M., Pippig S., et al. Development of an injectable composite as a carrier for growth factor-enhanced periodontal regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(11):976–984
37. Kwon D. H., Bisch F. C., Herold R. W., et al. Periodontal wound healing/regeneration following the application of rhGDF-5 in a β -TCP/PLGA carrier in critical-size



- supra-alveolar periodontal defects in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010;37(7):667–674.
38. Furey A., Hjelmhaug J., Lobner D. Toxicity of flow line, Durafill VS, and Dycal to dental pulp cells: effects of growth factors. *Journal of Endodontics*. 2010;36(7):1149–1153.
 39. Narukawa M., Suzuki N., Takayama T., Shoji T., Otsuka K., Ito K. Enamel matrix derivative stimulates chondrogenic differentiation of ATDC5 cells. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(2):131–137.
 40. McKay W. F., Peckham S. M., Badura J. M. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE® Bone Graft) *International Orthopaedics*. 2007;31(6):729–734
 41. Medtronic Sofamor Danek USA, Inc. INFUSE Bone Graft product information: Oral/Facial. Memphis, TN; 2006. Available online at www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf5/P050053c.pdf. accessed February 2010.
 42. Stryker Biotech. OP-1 Implant® Product Information. Hopkinton, MA; 2009. Available online at www.stryker.com/stellent/groups/public/documents/web_prod/126737.pdf. accessed February 2010.
 43. Stryker Biotech. OP-1 Putty® Product Information. Hopkinton, MA; 2009. Available online at www.stryker.com/stellent/groups/public/documents/web_prod/127024.pdf. Last accessed February 2010.
 44. Lang TJ. Estrogen as an immunomodulator. *Clin Immunol Orlando Fla*. 2004 Dec;113(3):224–30.
 45. Inaba T, Kobayashi T, Tsutsui TW, Ogawa M, Uchida M, Tsutsui T. Expression status of mRNA for sex hormone receptors in human dental pulp cells and the response to sex hormones in the cells. *Arch Oral Biol*. 2013 Aug;58(8):943–50
 46. Tratado de Fisiología Medica de Guyton 12° Edición. [Internet]. [cited 2015 Oct 6]. Available from: http://www.taringa.net/comunidades/bibliotecamedica/7672656/Tratado-de-Fisiologia-Medica-de-Guyton-12_-Edicion_.html
 47. Hyeon-Young Mina, Hyo-Eun Sona, Won-Gu Janga. Estradiol-induced ROR α expression positively regulates osteoblast differentiation. *Steroids* 149 (2019) 108412
 48. Lorenz C. Hofbauer, Sundeep Khosla, Colin R. Dunstan, David L. Lacey, Thomas C. Spelsberg, B. Lawrence Riggs. Estrogen Stimulates Gene Expression and Protein Production of Osteoprotegerin in Human Osteoblastic Cells. *Endocrinology*, Volume 140, Issue 9, 1 September 1999, Pages 4367–4370,



2022 - "LAS MALVINAS SON ARGENTINAS"

Universidad Nacional del Oeste