

Morfogenetski proteini kosti - nova nada u rekonstrukciji koštanih defekata stomatognatoga područja

Irina Filipović-Zore¹
Davor Katanec¹
Mato Sušić¹
Damir Dodig
Marinka Mravak-Stipetić²
Dubravka Knezović-Zlatarić³

¹Zavod za oralnu kirurgiju
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

²Zavod za oralnu patologiju
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

³Zavod za mobilnu protetiku
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Koštani morfogenetski proteini jesu skupina od devet poznatih proteina koji predstavljaju čimbenike rasta i diferencijacije s mogućnošću indukcije nove kosti. Osteoindukcija je točno usklađeni slijed bioloških reakcija koji dovode do pretvorbe mezenhimalnih stanica u hrskavicu i kost.

In vitro i in vivo studije su dokazale kako su proteinima, da bi mogli ostvariti svoju kliničku funkciju, potrebni nosači. Do sada se kao nosač najviše upotrebljavala ACS (apsorbable collagen sponge). Potraga za što vrsnijim nosačem i dalje traje.

Dosadašnja istraživanja na eksperimentalnim modelima (štakori, psi, mini svinje i čimpanze), i na ljudima dobrovoljcima pokazuju velik potencijal BMP-a u rekonstrukciji koštanih defekata stomatognatoga područja.

Do sada su dobiveni obećavajući rezultati u parodontnoj kirurgiji, augmentaciji alveolarnih grebena, augmentaciji dna maksilarnog sinusa, liječenju periimplantitisa, te u liječenju i većih koštanih defekata nakon odstranjenja tumora.

Ključne riječi: morfogenetski proteini kosti, osteoindukcija.

Acta Stomat Croat
2000; 311-318

PREGLEDNI RAD
Priljeno: 20. listopada 2000.

Adresa za dopisivanje:

Dr.sc. Irina Filipović-Zore
Zavod za oralnu kirurgiju
Stomatološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Gundulićeva 5, 10000 Zagreb

Uvod

Rekonstrukcija i cijeljenje velikih koštanih defekata stalan je predmet proćavanja i istraživanja biomedicinskih znanstvenika diljem svijeta.

Gledajući kroz povijest, još daleke godine 1668. nizozemski kirurg Job van Meekeren opisao je uzi-

manje kalvarija grafta s pseće lubanje za presađivanje i nadopunu defekata lubanjskih kostiju vojnika. Godine 1674. nizozemski znanstvenik Antoni van Leeuwenhoek, jedan od izumitelja svjetlosne mikroskopije, opisuje i histološku građu kosti. U istome razdoblju Antonius de Hyde objašnjava stvaranje kalusa preko kalcifikacije krvnoga

ugruška na eksperimentalnom žabljem modelu. Flamanac Ollier godine 1867. objavio je ispravan rad o obnovi kosti. Godine 1820. Nijemac Philips von Walter napravio je prvi klinički autograft, a 1880. Škot William Macewen napravio je prvi klinički alograft. Potanki pregled koštanih usadaka i mogućnost rekonstrukcije njima objavio je godine 1915. U.S. Albee. U doba Drugoga svjetskog rata, godine 1942., kada je tadašnja medicina vapila za rekonstruktivnim materijalima zbog ratnog traumatizma, Inčan objavljuje knjigu o bankama kosti. U ovome kratkom povijesnom pregledu važno je spomenuti da je godine 1975. u Australiji Taylor napravio prvi fibula-graft.

Rekonstrukcija i cijeljenje velikih koštanih defekata još i danas stvaraju velik problem liječnicima, osobito kirurzima traumatolozima, ortopedima i maksilofacijalnim i oralnim kirurzima. Liječenje manjkavosti lokomotornog i stomatognatoga sustava doživjelo je u posljednjih dvadesetpet godina znatne izmjene, i naravno napredak. Od prvoga fibula-grafta do danas učinjeno je mnogo na tehnici vaskulariziranih koštanih presađaka, te je danas koštano tkivo među najčešće presađivanim ljudskim tkivima i mnogo se češće rabi nego koža, ovojnice, arterije i vene. Među glavnim razlozima takva odnosa jest i činjenica da kost ima alogenetsku strukturu, a time i moć stvaranja osteoindukcije bez obzira na preživljavanje koštanoga tkiva koje je poslužilo kao usadak (1).

Osim presađivanja kosti, osamdesetih su se godina u rekonstruktivnoj kirurgiji kosti učestalo rabili preparati na bazi trikalcij fosfata i hidroksilapatita koji su trebali imati u zacjeljivanju koštanih defekata osteokonduktivnu zadaću (2-6).

Tako se implantate koji se rabe u rekonstruktivnoj kirurgiji koštanoga tkiva može klasificirati:

1. *Autologni implantati* - implantati koji se presađuju s jednoga mjesta na drugo kod iste jedinice:
 - a) kortikalna kost
 - b) koštana srž
 - c) kombinacija kortikalne kosti i koštane srži
2. *Alogenični implantati* - implantati presađeni s jedne jedinice na drugu unutar iste vrste. To su:
 - a) smrznuta osušena kortikalna kost i koštana srž

3. *Ksenogenični implantati* - implantati presađeni s jedinice druge vrste:
 - a) smrznuta i osušena teleća kost
4. *Aloplastični implantati* - implantati od različitih materijala kojima se potiče stvaranje kosti:
 - a) kolagenska vlakna
 - b) trikalcijum-fosfat
 - c) hidroksilapatit

Do sada znani materijali, pretežno na bazi HA (hidroksilapatita), pokazuju da je potrebno naći bolji pripravak budući da je uspjeh uporabe dosadašnjih pripravaka samo razmjerno zadovoljavajući.

Znatan napredak u razumijevanju stvaranja kosti, kao i u rješavanju koštane rekonstrukcije i zacjeljivanja, donijela je identifikacija potpuno nove obitelji proteina, "morfogenetskih koštanih proteina" (BMP) (1).

Problem osteoindukcije prvi je razjasnio Duhamel, ali se glavnim istraživačem i otkrivačem morfogenetskih proteina smatra A.H. Reddi s Kalifornijskoga sveučilišta koji je u *in vitro* studijama dokazao njihovu veliku osteoinduktivnu sposobnost te omogućio njihovu kliničku primjenu u ortopedskoj kirurgiji, stomatologiji, plastičnoj i rekonstruktivnoj kirurgiji (7,8).

Osim navedenih pretkliničkih i kliničkih ispitivanja na životinjama s ciljem da se otkriju sva svojstva BMP-a, diljem SAD-a provode se ispitivanja i na ljudima.

Tako se u dosadašnjoj literaturi spominje pozitivan utjecaj BMP-a na stvaranje novih bubrežnih jedinica (glomerula) prigodom aplikacije u bolesni bubrežni te na pojačano grananje živčane stanice tretirane BMP-om (9,10).

Struktura i klasifikacija BMP-a (bone morphogenetic proteins)

Morfogenetski koštani proteini (BMP-bone morphogenetic proteins) skupina su od devet do sada poznatih proteina (11,12).

Oni predstavljaju čimbenike rasta i diferencijacije izolirane iz kosti s mogućnošću indukcije i regeneracije raznih vrsta mišićno-skeletnih tkiva (kosti, hrskavica, tetiva, ligamenata, parodonta i dentina), a podskupina su velike skupine trans-

formirajućega čimbenika rasta (TGF- β -transforming growth factor) (13).

Proteini BMP-2 do BMP-9 imaju slične strukturne osobitosti, za razliku od BMP-1 koji se zbog svojega slijeda aminokiselina ne može svrstati u TGF- β superobitelj, a nije ni sposoban potaknuti stvaranje kosti.

Naime, proteini BMP-2 do BMP-9 imaju slične strukturne osobitosti: hidrofobnu sekretornu vodeću sekvencu, veliku regiju propeptida i zrelu regiju-domenu.

Ta zrela domena sadržava aktivnu tvar molekule; unutar domene nalazi se sedam cisteinskih ostataka koji su karakteristični za TGF- β superobitelj.

Iznimku čini BMP-8 koji sadržava osmi cistein u toj regiji (14).

Molekularna biologija i mehanizam djelovanja BMP-a

Morfo-genetski proteini kosti jesu čimbenici rasta i diferencijacije izolirani iz kosti sa sposobnošću da sami regeneriraju oštećenu kost u postfetalnom životu ponavljanjem staničnih zbivanja koja se

događaju u formiranju kosti za vrijeme embrionalnog razvoja. Već se tridesetak godina zna da proteinski ekstrakti kosti omogućuju regeneraciju muskuloskeletalnih tkiva na životinjskim modelima (stvaranje nove hrskavice i koštanoga tkiva u njoj).

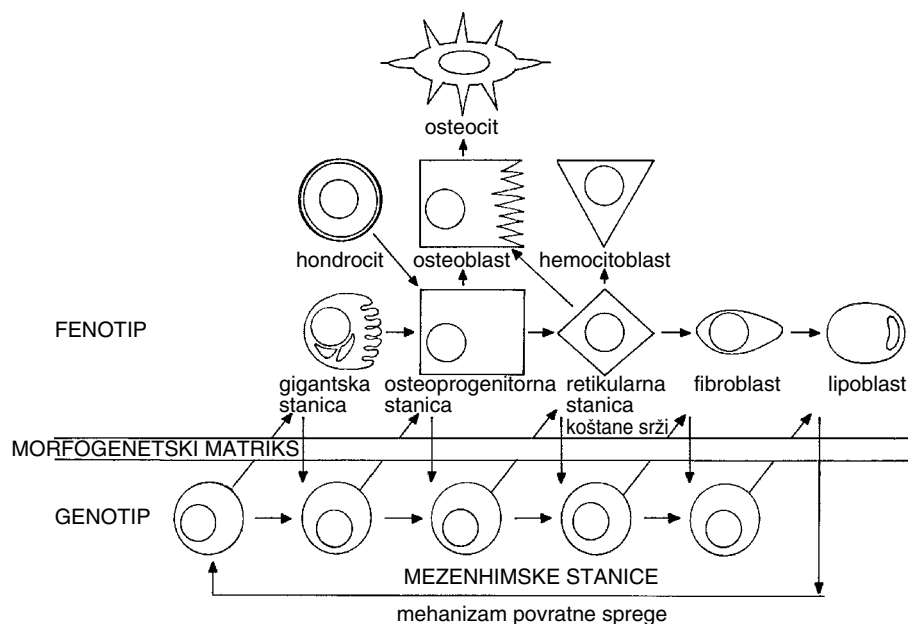
Time je dokazana specifična biološka aktivnost BMP-a koja je određena odgovorom stanica i mikrookoline raspoložive na mjestu ozljede (15-19).

Taj proces poznat je kao enhondralna osifikacija. Ne stvara se nova kost izravno iz mezenhima intramembranoznim okoštavanjem, nego prije toga slijedi hrskavična međufaza, kao za vrijeme fetalnog rasta i razvoja.

Primarno djelovanje BMP-a jest diferencijacija mezenhimalnih prekursor stanica u stanice koje stvaraju hrskavicu i kost (Slika 1).

Mehanizam događaja koji slijedi pod utjecajem BMP-a jest sljedeći: diferencijacija mezenhima, proliferacija mezenhimalnih zametnih stanica, hondrogeneza, hipertrofija i mineralizacija hrskavice, angiogeneza i vaskularna invazija, diferencijacija osteoblasta i konačno osteogeneza (1).

Ipak, upotrebljavajući veće količine BMP-a može se vidjeti da osteogeneza teče istodobno s hondrogenezom (12,13).



Slika 1. Primarno djelovanje BMP-a

Figure 1. The primary activity of BMP (bone morphogenetic proteins)

Mora se spomenuti da BMP-i postoje i na različitim neskeletalnim mjestima za vrijeme razvoja.

To pokazuje i njihovu moguću ekstrasketalnu ulogu, što su već neki pretklinički eksperimenti dokazali na životinjama (9,10).

Članovi skupine transformirajućega čimbenika rasta- β (TGF- β) provode signale od stanične membrane do jezgre preko specifičnih tip I i tip II receptora i Smad proteina (20).

Smad 1 i Smad 2 proteini posrednici su signala BMP-a, budući da su Smad 2 i Smad 3 provodnici signala TGF- β .

Smad 4 je zajednički posrednik za oba puta. Smad 6 i 7 su inhibitori signala članova skupine TGF- β (17,20).

Koštani matriks je jedno od najvećih spremišta TGF- β . Pet izoformi je izolirano iz goveđega koštanog matriksa, a čine ih tri homodimera i dva heterodimera. U ljudskome koštanom tkivu, ovisno o stanju unutar koštanih stanica, TGF- β 1 je dominantna izoforma TGF- β (21).

TGF- β se nalazi unutar koštanih stanica kao inaktivni prekursori kompleks u latentno povezanom obliku (proteinskom). Aktivacija latentne forme može se pokrenuti putem tkivnih proteaza, promjenom pH i osteoklastičnom resorpcijom (21).

Osteoindukcija BMP-om

Kost ima alogenetsku strukturu, a time i sposobnost stvaranja osteoindukcije bez obzira na preživljavanje koštanoga tkiva koje je poslužilo kao usadak. To je ujedno i jedan od glavnih razloga zbog čega je danas koštano tkivo među najčešće presađivanim ljudskim tkivima.

Kost je tkivo što se stalno obnavlja tijekom života izazivajući morfogogenetski oblikovan odgovor, i to ostaje njezinim obilježjem nakon rođenja.

Osteoindukcija predstavlja točan slijed bioloških reakcija, veoma usklađenih, koje dovode do pretvorbe mezenhimalnih stanica u hrskavicu i kost, pod utjecajem difuzibilnog morfogogenetskog proteina kosti.

Nakon ugradnje dekalificiranoga koštanog matriksa u izvanskeletna mjesta, potkožno ili intra-

muskularno, indukcijom usatka u primaocu nastaje hrskavica i kost.

Stanice koje reagiraju na podražaj morfogogenetskog proteina najvjerojatnije su nediferencirane mezenhimalne stanice mišića i mišićnih ovojnica.

Bez morfogogenetskog proteina one nemaju osteoinduktivnu sposobnost. BMP-i su za sada izolirani iz organskoga matriksa kortikalne kosti pokusnih životinja, dentina i cakline, te ljudskog osteosarkoma (1,22).

Na staničnoj razini osteoindukcija se zbiva u tri faze: kemotaksija, mitogeneza i diferencijacija.

Mora se spomenuti da je optimalna indukcija stvaranja kosti ovisna o zajedničkom (sjedinenom) djelovanju BMP-a i komplementarnog nosača, što ima najveću važnost za buduće terapije (12,23).

BMP-u je potreban nosač jer je topiv u ekstracelularnoj tekućini, te je bez nosača fagocitiran u roku od deset dana (12).

Nosači BMP-a

Idealan nosač morao bi biti imunološki inertan, osteokonduktivan, resorptivan, bioapsorbilan, te bi se s njim trebalo lako rukovati i lako ga oblikovati, tako da se najbolje prilagodi mjestu uporabe.

Nadalje, važno je da inicira optimalnu osteogenu aktivnost s razmjerno malim dozama rhBMP-a i da pomogne angiogenezu te naposljetku vaskularizaciju (11).

Godine 1996. Sigurdsson i suradnici u svojem radu (24) ispitali pet materijala kao kandidate za nosače. To su bili:

1. pseći demineralizirani koštani matriks (canine demineralized bone matrix-DBM),
2. goveđi kristalinični koštani matriks (Bio-Oss) iz kojega je organska komponenta izvađena,
3. upijajuća kolagena spužva (ACS-apsorbable collagen sponge) goveđega kolagenog tipa I,
4. poli (D, L-laktid-co-glikolid) mikročestice (PLGA),
5. granule poliakrilat kiseline (Drilac).

No ni jedan od tih nosača nije se pokazao idealnim.

DBM, na primjer, stvara velik postoperativni otok i povećanu koštanu masu u odnosu prema veličini prije operacije. Potencijalni prijenos infektivnih uzročnika također ograničava upotrebu DBM-a.

Bio-Oss je porozni kristalinični goveđi koštani materijal iz kojega je izvađena organska sastavnica. No, Bio-Oss se polako resorbira tako da nakon odgovarajućeg vremena potrebnog za stvaranje nove kosti čestice neresorbiranoga Bio-Oss-a zastaju i uzrokuju poroznu strukturu, to jest malu gustoću kosti.

Spora resorpcija materijala može ograničiti njegovu uporabu.

ACS je upijajuća kolagena spužva dobivena iz kolagena tipa I iz goveđe tetive. Postoperativno oticanje je umjereno, rukovanje je veoma lagano, ali ne i sposobnost adekvatnog zadržavanja prostora.

PLGA je pokazala slaba mehanička svojstva i neadekvatno kliničko rukovanje.

Drilac s krvlju također iskazuje loš fizički integritet. Loše kliničko rukovanje i spora resorpcija ograničavaju njegovu prihvatljivost i korisnost kao nosača (24).

Pretklinička i klinička ispitivanja

Nakon pronalaska BMP-a počelo se njihovim pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima, a posljednjih godina provedena su mnoga eksperimentalna i klinička ispitivanja osteoinduktivnih predstavnika BMP-a, kao što su rhBMP-7 (OP-1) i rhBMP-2.

In vivo je dokazano da OP-1 (rhBMP-7) ima mogućnost indukcije nove koštane formacije (16,17).

Studije na životinjama pokazale su da osim OP-1 i rhBMP-2 ima osteoinduktivnu sposobnost, dapače da ima ključnu ulogu u rastu i regeneraciji kosti.

Istraživanja provedena na nekoliko vrsta sisavaca pokazala su da oba osteogena proteina uzrokuju stvaranje nove kosti (15-20).

Tako možemo spomenuti da OP-1 u kombinaciji s proizvedenim koštano kolagenim nosiocem visoke čistoće može pojedinačnom lokalnom aplikacijom

dovesti do obnove i regeneracije koštanih defekata na dugim kostima pasa, zečeva i ne humanih primata (npr. kod afričkog zelenog majmuna koštani defekt tibie veličine 2 cm, zacijelio je za 20 tjedana) (25).

Mehanička su testiranja pokazala da koštani defekti tretirani s OP-1 nakon četiri tjedna pokazuju veću čvrstoću nego netretirani nakon dvanaest tjedana (17).

Također su studije na štakorima i malim svinjama u smislu mandibularne augmentacije i rekonstrukcije mandibularnih diskontinuiteta, pokazale da OP-1, uz Bio-Oss kao nosioca, djeluju visoko osteoinduktivno (26).

RhBMP-2 u kombinaciji s ACS (apsorbirajućom kolagenom spužvom) kao nosačem također je kirurški siguran i upotrebljiv implantat za rekonstrukciju različitih maksilo-facijalnih defekata (27).

Osim toga, rhBMP-2/ACS inducirao je stvaranje nove kosti u svih tretiranih pacijenata (sinuslifting) bez negativnih komplikacija, što je dokazano histološkom raščlambom, biopsijom i CT-om (28).

Mnogi znanstvenici ispitivali su rhBMP-2 i rhBMP-7/OP-1 na životinjskim modelima kao mogućnost parodontne terapije (29-33). Svrha je bila ustanoviti da li proteini induciraju stvaranje cementa, parodontnog ligamenta i regeneraciju alveolne kosti.

Životinje korištene za pokuse bili su majmuni, beagle psi i štakori.

Indikacije za upotrebu BMP-a u oralnoj i maksilofacijalnoj kirurgiji

Koštane morfogenetske proteine možemo upotrebljavati kod koštanih defekata različite etiologije. Tako ih možemo upotrebljavati kod saniranja većih fraktura i defekata kosti nastalih kao posljedica traume (udarci, strijelne ozljede), nakon operativnih odstranjenja malignih procesa, cista, većih ostitičkih procesa i tumora. Upotrebljavaju se i u parodontologiji kod opsežnije kompromitiranih parodontoloških bolesnika (29,30).

Glavni problem parodontne terapije jest regeneracija parodonta (29).

To znači da je potrebno inicirati osteogenezu i cementogenezu sa stvaranjem novog cementa na površini korijena, ogoljenoga infektivno-upalnom bolesti, stvaranje kosti i uraštanje funkcionalno orijentiranih novih vlakana vezivnoga tkiva u kost i cement.

Idealna regeneracija zahtijeva novo stvaranje kosti, novo odlaganje cementa na ogoljele korijene i uraštanje funkcionalno orijentiranih novih kolagenih vlakana parodontnog ligamenta u novu kost i cement.

Primjeri današnjih terapija regeneracije parodonta uključuju koštane kaleme i GTR (guided tissue regeneration) tehnike. Kako one ne zadovoljavaju, jer su dosta klinički nepredvidljive, ostaje potreba za razvojem novih terapija. U tome bi morfogenetski koštani proteini mogli biti ključno rješenje.

Danas je u rutinskoj uporabi u parodontologiji morfogenetski protein cakline (EMDOGAIN-BIORA AB) švedskoga proizvođača (31-37).

Rezultati studija na primatima pokazali su da proteini caklinskoga matriksa, zajedno s mukoperiostalnim režnjom, dovode do neogeneze periodontalnog potpornoga tkiva koje je identično onome formiranom za vrijeme razvoja zuba.

Novonastala tkiva karakterizirana su acelularnim cementom koji čvrsto leži na dentinu, funkcionalno orijentiranim periodontalnim ligamentom i novom alveolarnom kosti.

Zatim su provedena ispitivanja na ljudima, a rezultati su bili slični onima dobivenim na primatima (35,36,37).

BMP-i se upotrebljavaju kod atrofičnih alveolarnih grebena i kod augmentacije dna sinusa (sinuslifting), koja omogućuje protetsko zbrinjavanje pacijenata ugradnjom dentalnih implantata i konačnim fiksnim ili fiksno-mobilnim protetskim radom.

Također se njima možemo koristiti kod dehisijencije kosti kao posljedice periimplatitisa. Kao neistraženu mogućnost svakako treba na humanome modelu ispitati mogućnosti uporabe BMP-a kod proširenih indikacija za apicoektomiju (periradikularne ostitičke promjene) i za stvaranje dentina na još vitalnim zubima.

Zaključak

Pronalaskom koštanih morfogenetskih proteina otvoreno je novo poglavlje u rekonstruktivnoj maksilofacijalnoj i oralnoj kirurgiji te u kirurgiji parodonta.

Istraživanjima na primatima, psima i štakorima dokazano je da osteoinduktivni koštani morfogenetski proteini rhBMP-2 i rhBMP-7/OP-1 induciraju stvaranje nove kosti.

S prikladnim nosačem ta dva osteoinduktivna proteina omogućavaju cijeljenje raznih koštanih defekata maksilofacijalnog područja.

Uspješno fiksno-protetsko zbrinjavanje ugradnjom dentalnih implantata, pošto su podignuta dna sinusa u pacijenata kod kojih nalazimo parcijalnu i totalnu bezubost, upotrebom je BMP-a postalo vrlo pouzdano (38).

Osim toga, parodontološki kompromitirani bolesnici, kao skupina pacijenata koji su u dosadašnjoj terapiji imali relativno zadovoljavajuće rezultate, uspješno se danas tretiraju morfogenetskim proteinima cakline.

Zaključno možemo reći da je naknadna uporaba na ljudima pokazala izvrsne rezultate i uz daljnje istraživanje svojstava proteina i odgovarajućih nosača budućnost terapije koštanim morfogenetskim proteinima vrlo je obećavajuća.

Budući da je jedan od glavnih istraživača i izumitelja BMP-a profesor S. Vukičević s našeg, Zagrebačkog sveučilišta, u perspektivi se nadamo da će se neke od indikacija uporabe BMP-a u stomatologiji, ispitane na životinjskome modelu, početi prvotno rabiti na humanome modelu kod nas na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu.

Literatura

1. FILIPOVIĆ I. Utjecaj ovariektomije na koštani i stomatognati sustav kod štakora. Zagreb: Stomatološki fakultet 1989. Magistarski rad.
2. ŠTAMBUK D, MACAN D, KOBLER P, KNEŽEVIĆ G, ŠTAMBUK LJ. Primjena trikalcijfosfatne keramike za punjenje periapikalnih koštanih defekata čeljusti. Acta Stomatol Croat 1995; 29:243-51.

3. KARABEGOVIĆ DŽ, ZAKLAN-KAVIĆ D. Primjena Synthografta nakon apikotomija zuba s opsežnim koštanim defektom i marginalno apeksnom komunikacijom parodonta. *Acta Stomatol Croat* 1990; 24:175-83.
4. ABE H, MANAKA N, FUJI T, SUESHI G, OGIUCHI H. Application of sintered synthetic hydroxylapatite particles to maxillofacial bone defects. *Oral Surg* 1987; 63:250-9.
5. FRAME JW, ROUT RG, BROWNE RM. Ridge augmentation using solid and porous hydroxylapatite particles with or without autogenous bone plaster. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45:771-9.
6. FERRARO JW. Experimental evaluation of ceramic calcium phosphate as a substitute for bone grafts. *Plast Reconstr Surg* 1979; 63:634-40.
7. REDDI AH. Bone Morphogenetic Proteins: Bench to bedside. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 1. Zagreb. 1998.
8. URIST MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150:893-9.
9. BAŠIĆ N, MARTINOVIĆ S, BAŠIĆ M, VUKIČEVIĆ S. The role of bone morphogenetic protein in kidney development. First European Conference on Bone Morphogenetic Proteins. Abstract pp 30. Zagreb, 1998.
10. CHARETTE MF, RUEGER D, WITHERS G, BANKER G, LEIN P, HIGGINS D. Neurotrophic activities of bone morphogenetic proteins. First European Conference on Bone Morphogenetic Proteins. Abstract pp 88. Zagreb, 1998.
11. LEE MB. Bone morphogenetic proteins: Background and implications for oral reconstruction. A review. *J Clin Periodontol* 1997;24:353-65.
12. REDDI AH. Regulation of cartilage and bone differentiation by bone morphogenetic proteins. *Curr Opin Cell Biol* 1992;4:850-5.
13. WOZNEY JM. BMP family and osteogenesis. *Molec Rep Dev* 1992; 32:160-7.
14. RIPAMONTI U, REDDI AH. Periodontal regeneration: Potential role of Bone morphogenetic proteins. Review article. *J Periodont Res* 1994;29:225-35.
15. WOZNEY JM. The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. *J Periodontol* 1995;66:506-10.
16. RIPAMONTI U, MA S, CUNNINGHAM N i sur. Initiation of bone regeneration in adult baboons by osteogenin, a bone morphogenetic protein. *Matrix* 1992; 12:369-380.
17. KUBER SAMPATH T. Biology of "BMP". First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp2 Zagreb, 1998.
18. TRISTAN S, MICHAEL J, LEWIS AND JAMES J BENEDICT. The identification of Proteins in "BP", an osteoinductive fraction derived from bovine bone. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 11. Zagreb. 1998.
19. PARALKAR VM, GRASSER WA, VUKIČEVIĆ S, KAJIJI S, THOMPSON DD. Molecular regulation of BMP family. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 9. Zagreb. 1998.
20. SAKOU T, ISHIDOU Y, YAMAMOTO T, NAGAMINE T, MATSUNAGA S, KUBER SAMPATH T, TEN DIJKE P. Intricate localization of Smads, the TGF-beta family signaling components during enchondral ossification. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 4. Zagreb. 1998.
21. PFEILSCHIFTER J. The role of TGF-beta in bone remodeling. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 3. Zagreb. 1998.
22. TAKIGUCHI T, KOBAYASHI M, SUZUKI R i sur. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblast differentiation and suppresses matrix metalloproteinase-1 production in human bone cells isolated from mandibulae. *J Periodont Res* 1998;33: 476-85.
23. RIPAMONTI U, REDDI AH. Periodontal regeneration: Potential role of Bone morphogenetic proteins. Review article. *J Periodont Res* 1994; 29:225-35.
24. SIGURDSSON TJ, NYGAARD L, TATAKIS D i sur. Periodontal repair in dogs: Evaluation of rhBMP-2 carriers. *Int J Periodont Rest Dent* 1996;16:525-37
25. RUEGER DC, TUCKER MM, SALKALD SL, POPICH LS. Studies evaluating the use of OP-1 (BMP-7) in the repair and regeneration of segmental long bone defects. First european conference on bone morphogenetic proteins. Abstracts pp 14. Zagreb. 1998.
26. N.R. KUBLER, K.K. WURZLER, T.KIRCHNER, W. SEBALD, J.F. Reuther. Reconstruction of mandibular defects with rhBMP-2. *Knjiga sažetaka; str.68/ Zagreb, Croatia, 1998.*
27. TERHEYDEN H, JEPSEN S. Maxillofacial bone reconstruction using RhOP-1 and different carrier materials. First European Conference on Bone Morphogenetic Proteins. Abstracts pp 67. Zagreb. 1998.
28. MARGOLIN MD, COGAN AG, TAYLOR M i sur. Maxillary sinus augmentation in the non-human primate: a comparative radiographic and histologic study between recombinant human osteogenic protein-1 and natural bone mineral. *J Periodontol* 1998; 8:911-9.
29. RIPAMONTI U, HELIOTIS M, VAN DER HEEVER B, REDDI AH. Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (*papio ursinus*). *J Periodont Res* 1994;29:439-45.
30. KING GN, KING N, HUGES FJ. The effect of root surface demineralization on bone morphogenetic protein-2 induce healing of rat periodontal fenestration defects. *J Periodont* 1998;69:561-70.
31. HAMMARSTROM L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997; 24:658-68.

32. HAMMARSTROM L, HEIJL L, GESTRELIUS S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997; 24:669-77.
33. GESTRELIUS S, ANDERSSON C, JOHANSSON AC i sur. Formulation of enamel matrix derivate for surface coating. *J Clin Periodontol* 1997; 24:678-84.
34. GESTRELIUS S, ANDERSSON C, LIDSTROM D, HAMMARSTROM L, SOMERMAN M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivate. *J Clin Periodontol* 1997; 24:685-92.
35. HEIJL L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivate in one human experimental defect. *J Clin Periodontol* 1997; 24:693-6.
36. ZETTERSTROM O, ANDERSSON C, ERIKSSON L. i sur. Clinical safety of enamel derivate (EMDOGAIN) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24:697-704.
37. HEIJL L, HEDEN G, SVADSTROM G, OSTRGEN A. Enamel matrix derivate (EMDOGAIN) in the treatment of intabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24:705-14.
38. LILLY LC, RIEDER G. Clinical evaluation of rh BMP-2/ASC in maxillary sinus floor augmentation. First european conference of bone morphogenetic proteins. Abstract pp 65. Zagreb, 1998.