

**Potencial osteogênico de células-tronco mesenquimais sobre-expressão da proteína morfogenética óssea 9**

**Osteogenic potential of mesenchymal stem cells over-expression of bone morphogenetic protein 9**

**Potencial osteogénico de células madre mesenquimales sobreexpresión de proteína morfogenética ósea 9**

Recebido: 06/09/2022 | Revisado: 02/12/2022 | Aceito: 03/12/2022 | Publicado: 24/04/2023

**Zildenilson da Silva Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2707-6123>

Centro Universitário Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: [zildenilsonsilva@gmail.com](mailto:zildenilsonsilva@gmail.com)

**Thales Peres Candido Moreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0622-3075>

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil

E-mail: [t.candido@usp.br](mailto:t.candido@usp.br)

**Perilo Marques Chaves Júnior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6655-6448>

Centro Universitário Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: [9.1sgtperilo.junior@gmail.com](mailto:9.1sgtperilo.junior@gmail.com)

**Ana Carolina da Silva Matias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2994-3315>

Centro Universitário Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: [carolmatias1799@gmail.com](mailto:carolmatias1799@gmail.com)

**Valéria Pinto dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1508-3622>

Universidade Tiradentes, Brasil

E-mail: [valeriasantos2807@gmail.com](mailto:valeriasantos2807@gmail.com)

**Moisés Matias Mateus**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7204-8180>

Centro Universitário Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: moysesmatias@hotmail.com

**Débora Landim Marques**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7020-2703>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: deboralandim2000@gmail.com

**Samara Evangelista da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3688-056X>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: samaraevangelista@alu.ufc.br

**José Rafael de Sá Alves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6124-7563>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: jrafasaalves@alu.ufc.br

**Bruna Damasceno Sá**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1531-6799>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: brunadamascenno@hotmail.com

**Michelle Carregosa Andrade**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0449-7459>

Universidade Federal de Sergipe, Brasil

E-mail: carregosamichelle79@gmail.com

**Resumo**

O tecido ósseo é composto por células capazes de reparação, remodelação e regeneração tecidual, mas que em grandes proporções não apresentam resultados satisfatórios. Assim, novas terapias baseadas na medicina regenerativa por meio de células-tronco vêm sendo avaliadas com o intuito de solucionar a problemática. O presente estudo busca avaliar, por meio de uma revisão integrativa da literatura, o potencial de formação óssea de células-tronco mesenquimais (CTM) sobre-expressão da proteína morfogenética óssea 9 (BMP-9). Trata-se de um estudo exploratório, qualitativo e descritivo. Para sua idealização, os descritores cadastrados no DeCS/MeSH “*regeneration*”, “*mesenchymal*

*stem cells*”, “*bone morphogenetic protein 9*” e “*growth differentiation factor 2*” foram interligados por meio dos operadores booleanos “*and*” e “*or*” e aplicados nas bases de dados da *PubMed/Medline*, *Scielo*, *Bireme* e *Google Acadêmico*. Dos 142 estudos localizados em um recorte temporal de 10 anos (2012 a 2022), 12 artigos publicados na língua inglesa e portuguesa foram incluídos na amostragem final. Dentre os resultados, estudos *in vitro* e *in vivo* evidenciam a terapia como promissora no processo de formação de tecido ósseo. BMP-9 e CTM aumentaram a potência de diferenciação de células no tecido, possibilitando o reparo em defeitos ósseos extensos. Ferramentas tecnológicas de edição genética têm sugerido grandes possibilidades de revolucionar a ciência, uma vez que são guias para a clivagem de DNA. Estudos futuros se fazem necessários com o enfoque na terapia celular, para que assim a aplicabilidade dessa técnica seja aprofundada cientificamente e posteriormente possa avançar para seu uso clínico nas ciências da saúde.

**Palavras-chave:** Regeneração; Terapia celular; Células-tronco mesenquimais; Proteína Morfogenética Óssea

### **Abstract**

Bone tissue is composed of cells capable of tissue repair, remodeling and regeneration, but which, in large proportions, do not present satisfactory results. Thus, new therapies based on regenerative medicine using stem cells have been evaluated in order to solve the problem. The present study seeks to evaluate, through an integrative literature review, the bone formation potential of mesenchymal stem cells (MSC) over-expression of bone morphogenetic protein 9 (BMP-9). This is an exploratory, qualitative and descriptive study. For its idealization, the descriptors registered in the DeCS/MeSH “regeneration”, “mesenchymal stem cells”, “bone morphogenetic protein 9” and “growth differentiation factor 2” were linked using the Boolean operators “and” and “or” and applied to the databases from *PubMed/Medline*, *Scielo*, *Bireme* and *Google Scholar*. Of the 142 studies located in a time frame of 10 years (2012 to 2022), 12 articles published in English and Portuguese were included in the final sample. Among the results, *in vitro* and *in vivo* studies show the therapy as promising in the process of bone tissue formation. BMP-9 and CTM increased the differentiation potency of cells in the tissue, enabling the repair of extensive bone defects. Technological tools of gene editing have suggested great possibilities to revolutionize science, since they are guides for the cleavage of DNA.

Future studies are needed with a focus on cell therapy, so that the applicability of this technique is scientifically deepened and can later advance to its clinical use in the health sciences.

**Keywords:** Regeneration; Cell therapy; Mesenchymal stem cells; Bone Morphogenetic Protein.

### **Resumen**

El tejido óseo está compuesto por células capaces de reparar, remodelar y regenerar tejidos, pero que, en grandes proporciones, no presentan resultados satisfactorios. Así, se han evaluado nuevas terapias basadas en la medicina regenerativa con células madre para solucionar el problema. El presente estudio busca evaluar, a través de una revisión integrativa de la literatura, el potencial de formación ósea de la sobreexpresión de la proteína morfogenética ósea 9 (BMP-9) en células madre mesenquimales (MSC). Se trata de un estudio exploratorio, cualitativo y descriptivo. Para su idealización, los descriptores registrados en el DeCS/MeSH “regeneración”, “células madre mesenquimales”, “proteína morfogenética ósea 9” y “factor de diferenciación de crecimiento 2” se vincularon mediante los operadores booleanos “y” y “o” y se aplicaron a las bases de datos de PubMed/Medline, Scielo, Bireme y Google Scholar. De los 142 estudios ubicados en un marco temporal de 10 años (2012 a 2022), 12 artículos publicados en inglés y portugués fueron incluidos en la muestra final. Entre los resultados, estudios *in vitro* e *in vivo* muestran que la terapia es prometedora en el proceso de formación de tejido óseo. BMP-9 y CTM aumentaron la potencia de diferenciación de las células en el tejido, lo que permitió la reparación de defectos óseos extensos. Las herramientas tecnológicas de edición de genes han sugerido grandes posibilidades para revolucionar la ciencia, ya que son guías para la escisión del ADN. Son necesarios futuros estudios con enfoque en la terapia celular, para que se profundice científicamente la aplicabilidad de esta técnica y pueda avanzar posteriormente a su uso clínico en las ciencias de la salud.

**Palabras clave:** Regeneración; Terapia celular; Células madre mesenquimales; Proteína morfogenética ósea.

## Introdução

O osso é caracterizado como um tecido de sustentação corporal que possui em sua composição grandes possibilidades de regeneração, que acontece devido as fases de reparação e remodelação, dependentes de diversas sinalizações entre células e tecidos em proximidade entre eles (QUILES *et al.*, 2021). Na grande maioria dos casos, esse tecido possui maiores taxas de sucesso de reparo quando possuem a presença de algum trauma, infecção ou neoplasia (FREITAS *et al.*, 2019). Todavia, quando essa região é lesionada em grandes proporções terapias complementares podem ser utilizadas como forma de restabelecer a funcionalidade do local (RODRÍGUEZ-MERCHÁN *et al.*, 2021), como o uso de enxertos autólogos (LUO *et al.*, 2021) e halogênico (FREITAS *et al.*, 2019).

Apesar da utilização de enxertos possibilitar o sucesso na prática clínica, a taxa de morbidade de um segundo sítio cirúrgico, além da transmissão de infecções podem estar presentes (FREITAS *et al.*, 2019). Nesse viés, o tratamento desses defeitos ósseos é uma situação clínica que requer intervenções desafiadoras e dependentes do papel das células regenerativas na fase adulta (RODRÍGUEZ-MERCHÁN *et al.*, 2021; KHORSAND *et al.*, 2017). Assim, a medicina regenerativa baseada em terapias celulares vem amplamente sendo disseminada como forma de intervenção em saúde, demonstrando abordagens satisfatórias em pesquisas presentes na literatura (FREITAS *et al.*, 2019; PRANSKUNAS *et al.*, 2019; KHORSAND *et al.*, 2017).

Nas últimas décadas, a busca por estudos que possibilitem o refinamento da técnica utilizada durante a terapia celular no processo de osteoindução se fizeram necessárias, com o principal enfoque na correção desses defeitos de origem óssea (SANTOS *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2019; SCARFI, 2016). Para que isso seja possível, o processo de migração, proliferação e diferenciação de células deve ser reorganizado por fatores que gerem a manifestação de sinais extracelulares com o intuito de suprir todos os mecanismos envolvidos (PRANSKUNAS *et al.*, 2019). Uma das grandes propostas da ciência para a resolutividade dessa problemática é a terapia genética com o intuito de sobre-expressar determinadas proteínas com o potencial de gerar a formação de osso (REDMAN *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2019). Essa tecnologia permite que uma determinada nuclease em associação a esse método gere um local que possui pequenos ácidos ribonucleicos (RNAs) e que posteriormente serão guias para a

clivagem de ácido desoxirribonucleico (DNA) (REDMAN *et al.*, 2016; PRANSKUNAS *et al.*, 2019).

Funciona como uma edição de genes que possibilita o envolvimento de dois componentes capazes de guiar o gene desejado, como a proteína 9 associada a CRISPR (Cas9), descrita na literatura científica como uma endonuclease que gera a quebra de fita dupla no DNA, possibilitando determinadas modificações no genoma em avaliação (QUILES *et al.*, 2021; REDMAN *et al.*, 2016). Por meio da implementação dessa técnica, é possível realizar a ativação ou desativação de genes e organismos celulares de forma exitosa. Portanto, é possível realizar a aplicação de uma série de testes em ambientes laboratoriais simulados, dos quais podem ser incluídos modelos *in vivo* e *in vitro*, além da obtenção de imagem em tempo real daquele ambiente (REDMAN *et al.*, 2016; SCARFI, 2016).

Ligado a isso, as células tronco possuem em sua constituição a possibilidade de se regenerar com o correto estímulo biológico, bem como se diferenciar dependendo de seu potencial (PRANSKUNAS *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2021). No caso das de origem mesenquimais (CTM), é possível observar a diferenciação de diversos tecidos (VHORA *et al.*, 2018), tais como o adiposo e osteogênico (LUO *et al.*, 2021). Sua associação a proteínas ósseas, como a proteína morfogenética óssea 9 (BMP-9) é algo que vem sendo avaliado na ciência regenerativa (PRANSKUNAS *et al.*, 2019; RODRÍGUEZ-MERCHÁN *et al.*, 2021). Essas proteínas estão em constante observação na literatura atual (SCARFI, 2016), das quais são caracterizadas como citocinas que estão diretamente ligadas ao fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) (REDMAN *et al.*, 2016; LUO *et al.*, 2021). Essas citocinas possuem em sua constituição agentes que possibilitam a formação do tecido ósseo, e seus efeitos possuem ação de proliferação e anti-apoptótica, sendo a proteína de maior grau osteogênico (REDMAN *et al.*, 2016).

Essa combinação de técnicas e biomateriais com essas células possibilitam o aumento na formação de tecido ósseo (RODRÍGUEZ-MERCHÁN *et al.*, 2021). Todavia, ainda não foram observados na literatura um estudo que evidencie de forma completa essa regeneração tecidual (REDMAN *et al.*, 2016; PRANSKUNAS *et al.*, 2019). Esse fator advém em decorrência comportamento biológico do corpo humano variável, podendo ser degradado de forma rápida ou possibilitar sua permanência por um longo período prejudicando o processo de regeneração do tecido ósseo (VHORA *et al.*, 2018).

Assim, estudos pré-clínicos demonstraram que o tratamento por meio de células mesenquimais induz a formação óssea em casos como a osteonecrose e em defeitos de origem óssea (REDMAN *et al.*, 2016). Colaborando com esses achados, dados na literatura evidenciam ainda que esse processo de regeneração afeta diretamente muitas citocinas, como a Interleucina 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) pró-inflamatório e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) que são disseminados nesse ambiente como forma de resposta de defesa natural do hospedeiro (REDMAN *et al.*, 2016; SCARFI, 2016).

Apesar dos estudos evidenciarem efeitos promissores por meios experimentais (VHORA *et al.*, 2018), isso não reduz a necessidade de avaliação clínica, visto que é fundamental o tratamento do defeito ósseo de forma preexistente e que são mais difíceis de realização de tratamento (DENG *et al.*, 2018). Desse modo, evidências sugerem que essas células mesenquimais podem gerar o aumento da angiogênese quando comparado a outros meios celulares em avaliação, estimulando assim o reparo ósseo em diferentes tipos e tamanhos (REDMAN *et al.*, 2016; DENG *et al.*, 2018). Com base nessas informações supracitadas, percebe-se que a terapia pode apresentar um grau de importância nas ciências da saúde, com enfoque na regeneração óssea de grandes lesões (SCARFI, 2016; DENG *et al.*, 2018).

Nesse contexto, o presente estudo possui como objetivo principal descrever, por meio da literatura científica, o potencial de formação, reparação e remodelação óssea de CTM sobre-expressão da BMP-9, gerando efeitos significativos na reabilitação óssea de lesões de grandes extensões no campo das ciências da saúde.

## **Metodologia**

### **Desenho do estudo e fundamentação teórica**

Estudo exploratório, descritivo, qualitativo, com desenho de pesquisa classificado como revisão integrativa da literatura (RI) (ERCOLE *et al.*, 2014). Quanto a esse método de pesquisa, Mendes, Silveira e Galvão (2008) destacam que possibilita ao pesquisador o olhar analítico sobre a temática avaliada, com a possibilidade de integralizar diversos estudos e assim gerar novos dados que podem ser aplicados clinicamente. Nesse contexto, inicialmente preconizou-se as seis etapas operacionais descritas por Sousa, Silva e Carvalho (2010) para o seguimento da pesquisa: 1º) criação da pergunta norteadora, 2º)

localização dos artigos na literatura, 3º) coleta das informações obtidas para a transcrição de dados, 4º) avaliação dos manuscritos previamente localizados visando a sua inclusão definitiva, 5º) análise entre os principais achados nos estudos selecionados, 6º) apresentação dos novos dados qualitativos na literatura científica.

### Acrônimo PICO

Por meio do acrônimo PICO, onde P=População, I= Intervenção, C= Controle e O=Desfecho do estudo (Tabela 1), descrito por Santos, Pimenta e Nobre (2007), a seguinte pergunta norteadora foi implementada: a sobre-expressão de proteína morfogenética 9 e células-tronco mesenquimais conduz a formação, reparação e regeneração óssea na ciências da saúde como forma de promover uma melhora no quadro clínico de grande lesões desse tecido?

**Tabela 1-** Acrônimo PICO

Descrição	Sigla	Estratégia
População	P	Estudos que utilizam células-tronco sobre-expressão da BMP9.
Intervenção	I	Potencial osteogênico.
Controle	C	Não utilizado.
Desfecho	O	Reparação óssea.

**Fonte:** Santos, Pimenta & Nobre (2007), adaptado.

### Busca de estudos

Os descritores cadastrados no Descritores em Ciências da Saúde (DECS) e *Medical Subject Headings* (MESH) “*regeneration/regeneração*”, “*mesenchymal stem cells/ Células-tronco mesenquimais*”, “*bone morphogenetic protein 9/ proteína morfogenética óssea 9*” e *growth differentiation factor 2/ fator 2 de diferenciação de crescimento*” foram aplicados no Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (*PubMed/Medline*), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (Bireme) e Google Acadêmico e posteriormente interligados através dos operadores booleanos “*and*” e “*or*” em um recorte temporal de 10 anos (2012 a 2022), conforme descrito na Tabela 2.



**Tabela 2** – Estratégia de busca nas bases de dados

Base de dados	Estratégia
PubMed/Medline	<i>Regeneration AND mesenchymal stem cells AND Bone Morphogenetic Protein 9.</i>
Scielo	Regeneração AND células-tronco mesenquimais
Bireme	Regeneração AND/OR células-tronco mesenquimais and Proteína Morfogenética Óssea 9
Google Acadêmico	Regeneração AND/OR células-tronco mesenquimais and Proteína Morfogenética Óssea 9 AND/OR Fator 2 de Diferenciação de Crescimento

**Fonte:** Autores, 2022.

### Critérios de elegibilidade

Nesse presente estudo de RI, apenas estudos *in vitro e in vivo* publicados em um recorte temporal de 10 anos (2012-2022), na língua inglesa ou portuguesa e relacionados a temática avaliada foram incluídos. Os estudos deveriam associar as CTM e a BMP-9 no processo de osteoindução nas ciências da saúde. Foram removidos estudos duplicados, incompletos, indisponíveis, inferiores a 2012, trabalhos de conclusão de curso (TCC), teses, dissertações de mestrado e/ou doutorado, documentos editoriais, anais de evento, revisões de literatura e demais estudos advindos da literatura cinzenta. Estudos que relacionavam outras proteínas e não utilizavam a BMP-9 em seus testes também foram desconsiderados na amostragem final.

### Tabulação de dados

Os dados quantitativos e qualitativos obtidos foram tabulados por meio do *software Microsoft Excel* versão 2021, sendo destacadas informações como o autor/ano, desenho da pesquisa, amostra e desfecho do estudo. Para a exclusão de estudo duplicados o gerenciador de referências *Mendeley Desktop 2.67.0* foi utilizado.

### Resultados

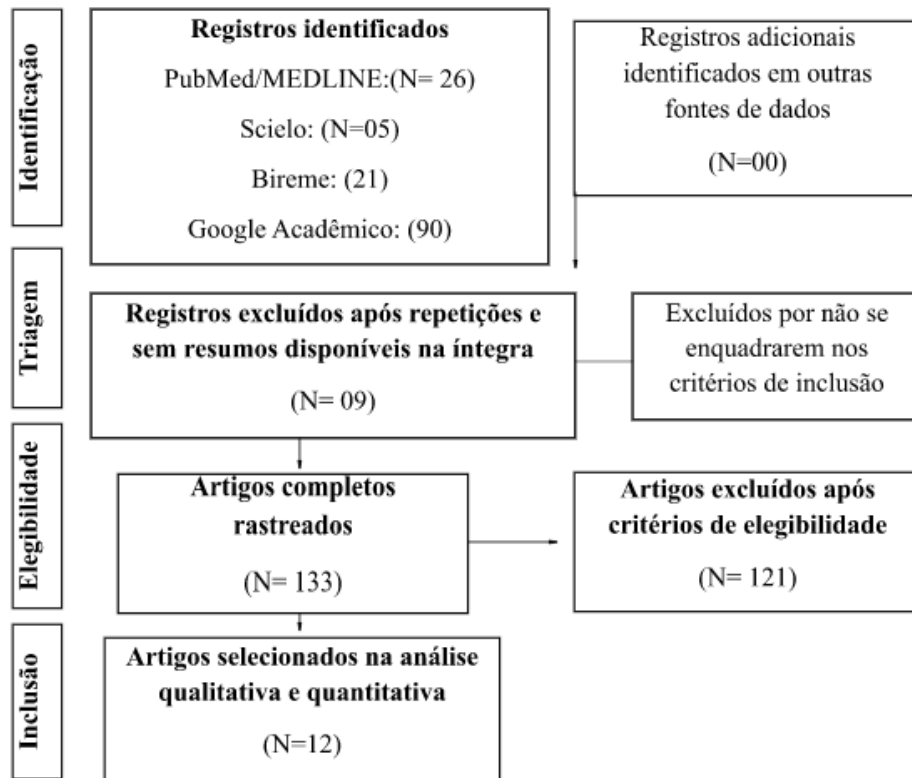
#### Seleção dos estudos

Este estudo foi idealizado com o objetivo de descrever o efeito de CTM sobre-expressão da BMP-9 no processo de formação de tecido ósseo. Por se tratar de um tema atual, a literatura científica evidência poucos estudos relacionados nas bases de dados nacionais e internacionais em saúde com essa proteína em específico, sendo evidenciados

na grande maioria a avaliação a proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) nesse processo de formação óssea. Todos os estudos tabulados possuem como desenho de pesquisa estudos *in vitro* e *in vivo*, ou associação de ambos. Esses estudos evidenciam efeitos promissores da sobre-expressão da BMP-9 e CTM, gerando a formação de tecido ósseo.

Com a busca na literatura, um total de 146 estudos foram localizados inicialmente com base na estratégia utilizada por meio dos operadores booleanos e descritores, sendo que destes, 26 eram da *PubMed/Medline*, 05 da *Scielo*, 21 da *Bireme* e 90 do *Google Acadêmico*. Após leitura dos *titulus* e resumos, 09 foram removidos em decorrência de duplicidade e/ou repetições, restando 133 estudos para a avaliação. Após avaliação, 121 foram removidos devido aos critérios de elegibilidade adotados, restando 12 artigos que foram incluídos na amostragem final para compor os resultados (Figura 1).

**Figura 1** – Fluxograma PRISMA da estratégia de pesquisa



Fonte: Galvão, Pansani & Harrad (2015), adaptado.

Desses estudos, 10 foram extraídos da *PubMed/Medline*, 01 da *Bireme* e 01 do *Google Acadêmico*. Na *bireme* não foram selecionados estudos na amostragem final após

avaliação dos critérios de elegibilidade. Os principais dados dos 12 estudos incluídos nessa RI foram destacados na Tabela 3 a seguir.

**Tabela 3** – Estudos incluídos na amostragem final após avaliação dos critérios de elegibilidade

<b>Autor/ Ano</b>	<b>Base de dados</b>	<b>Desenho do estudo/ amostra</b>	<b>Desfecho</b>
Wang <i>et al.</i> , 2013	Google Acadêmico	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Linhas: HEK-293, C2C12, C3H10T1/2 e HCT116. Proteínas: BMP-2, BMP-9 e GFP.	BMP-9 possibilita a superação da inibição de <i>noggin</i> , o que pode contribuir para a capacidade osteogênica.
Shui <i>et al.</i> , 2014	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vivo</i> . Principais materiais: esponja de colágeno tipo I, hidroxapatita-fosfato tricálcico e matriz óssea desmineralizada, usando células progenitoras osteoblásticas C2C12 expressando BMP-9.	A expressão de BMP-9 intermediada por adenovírus recombinante possibilita a indução efetiva da diferenciação osteogênica em células C2C12.
Zhang <i>et al.</i> , 2015	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Principais materiais: regiões de codificação de BMP-9 foram amplificadas por proteína C-reativa. A detecção da concentração de osteocalcina foi realizada por meio de imunoenensaio enzimático utilizando osteocalcina.	Presença de efeitos sinérgicos de BMP-9 e miR-548d-5p na diferenciação osteogênica de CTM.
Ren <i>et al.</i> , 2016	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Principais materiais: andaime composto de glicosaminoglicano mineralizado nanoparticulado osteogênico e fator de crescimento duplamente condrogênico e osteogênico, BMP-9, na diferenciação CTM.	Combinação de BMP-9 e glicosaminoglicano mineralizado nanoparticulado osteogênico possibilita o estímulo na diferenciação condrocítica e osteogênica de CTM.
Ruan <i>et al.</i> , 2016	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Principais materiais: células MC3T3-E1. O nível de expressão de fator de transcrição 2 relacionado à runt (Runx2) mRNA foi detectado por transcrição reversa-reação em cadeia da polimerase, e técnica <i>Western blotting</i> foi realizada para detectar os níveis de expressão proteica de BMP2, BMP4, BMP6, BMP7, BMP9 e Wnt3a.	Vetores lentivirais de terceira geração promovem uma melhora efetiva em termos osteogênicos de células MC3T3-E1.
Dumanian <i>et al.</i> , 2017	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vitro e in vitro</i> . Principais materiais: Poli (citrato de polietilenoglicol-co-N isopropilacrilamida associado à gelatina (PPCN-g). Células	iCALs transduzidas por BMP-9 semeadas em um andaime termorresponsivo PPCN-g são capazes de induzir a formação óssea em defeitos de tamanho crítico.

Autor/ Ano	Base de dados	Desenho do estudo/ amostra	Desfecho
		progenitoras mesenquimais calvárias derivadas de murino (iCALs) expressando BMP-9.	
Khorsand <i>et al.</i> , 2017	Bireme	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Principais materiais: Complexos de A polietilenimina-mRNA (codificando BMP-2 ou BMP-9) foram fabricados e caracterizados quanto à eficácia de transfecção usando CTM. O potencial osteogênico das CTM tratadas com esses complexos foi determinado pela avaliação da expressão de genes, bem como através da detecção de deposição de matriz óssea.	A densidade de conectividade do osso regenerado foi maior em até duas vezes no grupo que recebeu BMP-9- cmRNA quando em comparação com BMP-2-cmRNA.
Zhang <i>et al.</i> , 2019	PubMed/Medline	Desenho: estudo <i>in vitro e in vivo</i> . Principais materiais: andaimes compostos de nano-hidroxiapatita, colágeno I e nanotubo de carbono de paredes múltiplas foram fabricados em várias concentrações por mistura e liofilização. Após o carregamento com BMP-9, as CTM foram semeadas para avaliar suas características num defeito crítico.	Após o carregamento com BMP-9, os efeitos na promoção da diferenciação osteoblástica e na formação óssea foram mais fortes.
Zhou <i>et al.</i> , 2020	PubMed/Medline	Desenho: estudo <i>in vitro e in vivo</i> . Principais materiais: CTM, vetor lentiviral do gene da proteína morfogenética óssea (BMP-9) e termogel P3HB4HB.	O material composto de CTM+BMP-9+termogel reparou tecidos cranianos lesionados de ratos por meio da expressão de fatores osteogênicos.
Chen <i>et al.</i> , 2021	PubMed/Medline	Desenho: estudo <i>in vitro</i> . Principais materiais: linha celular 293pTP utilizada para empacotamento e amplificação de adenovírus. CTM de incisivos de camundongos.	A proteína 2 de ligação de sequência rica em AT especial promove auto-renovação e diferenciação osteogênica de CTM de incisivos de camundongos.
Liu <i>et al.</i> , 2021	PubMed/Medline	Desenho: estudo <i>in vitro e in vivo</i> . Principais materiais: coloração de atividade da fosfatase alcalina e vermelho de Alizarina S para diferenciação osteoblástica. <i>Reverse Transcriptase Quantitative PCR</i> (RT-qPCR) e <i>western blot</i> para a expressão de fatores relacionados à angiogênese.	A BMP-9 potencializa a sinalização angiogênica de CTM co-cultivadas com células endoteliais da veia umbilical humana, elevando a formação óssea ectópica.

<b>Autor/ Ano</b>	<b>Base de dados</b>	<b>Desenho do estudo/ amostra</b>	<b>Desfecho</b>
Teven <i>et al.</i> , 2021	<i>PubMed/Medline</i>	Desenho: estudo <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . Células progenitoras calvárias murinas reversivelmente imortalizadas (iCALs) infectadas com vetores adenovirais que codificam BMP-9 ou GFP e avaliadas quanto a diferenciação osteogênica por meio de estudos de implantação de CTM.	BMP-9 possibilita o estímulo da diferenciação osteogênica em iCALs, sendo considerada um agente promissor para a regeneração do tecido calvário.

**Fonte:** Autores, 2022.

## Discussão

Com base na análise, esse presente estudo de RI observou uma aplicabilidade promissora em estudos *in vitro* e *in vivo* que utilizaram CTM e BMP-9 no processo de reparação de tecido ósseo. Essa sobre-expressão das proteínas e CTM pode potencializar o processo de formação óssea por meio da diferenciação celular, sugerindo efeitos benéficos em fraturas e traumas de grande extensão. Dentre os principais resultados obtidos, a literatura consultada destaca 3 grandes subtópicos, sendo eles o potencial de diferenciação de células osteoindutoras, o processo de reparação e regeneração de defeitos ósseos em estudos *in vitro* e *in vivo* e o processo de seleção celular na engenharia tecidual óssea.

## Potencial de diferenciação das CTM e BMP sobre-expressão

As CTM possuem grande potencial em sua aplicabilidade na ciência (REDMAN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2019; VHORA *et al.*, 2019), podendo se diferenciar em determinadas linhagens de origens condrogênicas, adipogênicas e osteogênicas, que em associação as BMPs apresentam funções importantes no processo de proliferação (WANG *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2021; REN *et al.*, 2016). Estudos recentes destacam que as BMPs, em especial a de numeração nove, apresenta grande formação de tecido ósseo (ZHOU *et al.*, 2020; VHORA *et al.*, 2019; KHORSAND *et al.*, 2017). Nesse contexto, Wang *et al.*, 2013 destacaram por meio de seu estudo *in vitro* que a BMP-9 pode ser fortemente ligada a inibição de *noggin*, proteína desenvolvida em diversos tecidos do corpo humano, contribuindo para o potencial osteogênico em CTM em associação a essa proteína.

Ligado a isso, a BMP-9 faz parte de uma família de TGF- $\beta$  (HUANG *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2015), desempenhando o processo de regulação das células com base em seus meios fisiológicos, incluído na imunologia o processo de proliferação, diferenciação e apoptose celular (ZHOU *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2019). As BMPs são passadas como um fator de crescimento (HUANG *et al.*, 2019), demonstrando efeitos promissores na regulação de angiogênese e do comprometimento de células-tronco com enfoque osteoblástico (REN *et al.*, 2016; SHEIKH *et al.*, 2015). Alguns estudos localizados na literatura científica destacam que a BMP-9 é uma das proteínas que possuem a maior potencialização de indução de diferenciação de células osteoblasticas, isso levado em comparação as outras BMPs presentes na ciência, apesar de pouco avaliada (LIU *et al.*, 2021; REN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2020).

As BMPs em associação as CTM, que são de origem não hematopoética, podem se diferenciar de diversos tecidos constituintes do corpo humano (WANG *et al.*, 2013), e em linhagens como a neuronal e cardiomiogênica, regulando a diferenciação de osteoblastos e gerando a formação óssea (WANG *et al.*, 2013). Quando ocorre a ruptura desses fatores genéticos há a geração de anomalias esqueléticas durante o processo de desenvolvimento (ZHANG *et al.*, 2019). A BMP-9 possibilitam ainda a proliferação de hepático, desempenhando um grande papel na indução e manutenção colinérgica neural do sistema nervoso central (SNC) (SHEIKH *et al.*, 2015).

Por meio da literatura avaliada, essa proteína demonstrou resultados satisfatórios em sua atividade osteoindutoras em estudos *in vitro* e *in vivo* (WANG *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2020; DUMANIAN *et al.*, 2017; VHORA *et al.*, 2019). No entanto, alguns fatores sobre a temática precisam ser avaliados com maior atenção (WANG *et al.*, 2013). Dentre esses, a sinalização das BMPs é normalizada de forma negativa em vários níveis de constituição celular, sendo incluídos nessa constituição a regulação extracelular, regulação intracelular e regulação transcricional (ZHANG *et al.*, 2015). Esses fatores em conjunto possuem grandes evidências que a BMP-9 possibilita a ligação de seus receptores cognatos ao *noggin*, gerando como consequência a resistência e capacidade de formação de tecido ósseo em CTM (WANG *et al.*, 2013).

## Reparação e Regeneração de defeitos ósseos

Os defeitos de origem óssea e de articulações são considerados comum e de altas prevalência na sociedade (REN *et al.*, 2016), o que tem se tornando um problema alarmante e que exige intervenção por meio da reparação com o correto material (ZHOU *et al.*, 2020). O processo de regeneração óssea é um fator importante no tratamento desses defeitos (RUAN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2015), que na grande maioria dos casos, vem em decorrência de infecções, traumas e presença de tumores com posterior ressecção óssea que pode gerar o aumento da morbidade (ZHOU *et al.*, 2020). Sua gravidade está diretamente relacionada a área em que houve a perda dos ligamentos do segmento ósseo, assim estratégias são implementadas para o tratamento clínico desses defeitos (ZHOU *et al.*, 2020; RUAN *et al.*, 2016). Materiais aloplásticos e autoenxertos são considerados boas opções atualmente disponíveis no tratamento, que dentre esses enxertos, o de origem autógena foi considerado o padrão como método terapêutico (SHEIKH *et al.*, 2015). Todavia, sua aplicação é limitada ao doador do material, além da presença de eventos adversos como a dor, infecção do local, lesão no nervo e possibilidade de potencializar novas fraturas locais (ZHOU *et al.*, 2020).

O processo de reparação e defeitos ósseos de grandes tamanhos é desafiador para profissionais atuantes na área de cirurgia (WANG *et al.*, 2013). Diversas estratégias vêm sendo avaliadas na ciência como forma de intervir e obter êxito em termos estéticos e funcionais ao paciente (SHEIKH *et al.*, 2015), assim as BMPs podem fornecer o processo de osteoindução, possibilitando a remodelação do tecido ósseo por meio do estímulo de células específicas (REN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2020). Essa ação é particularmente promissora no processo de promover a diferenciação de células osteogênicas de origem mesenquimais (TEVEN *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2019; DUMANIAN *et al.*, 2017). As BMPs de maneira geral são fatores diretamente ligados ao crescimento ósseo e comumente utilizadas para o processo de promoção da osteogênese de CTM e a geração de um novo tecido de origem óssea em ensaios *in vivo e in vitro* (ZHANG *et al.*, 2020). Dentre as variedades de proteínas utilizadas, as de numeração 9 é considerada como uma alternativa promissora no processo de formação óssea (SHUI *et al.*, 2014), desencadeando também a diferenciação osteogênica de CTM e ativando os fatores de sinalização (WANG *et al.*, 2013).

A formação de tecido ósseo, além de sua reabilitação em totalidade são efeitos que advém de uma interação entre diferentes tipos de células e tecidos com o objetivo de gerar um novo tecido mineralizado naquele determinado local afetado (ZHOU *et al.*, 2020; TEVEN *et al.*, 2015; KHORSAND *et al.*, 2017). Esses tecidos podem ser de origem nervosa, autônoma, sensorial ou vascular, visto que o processo pode ser intermediado pelos osteoblastos (SHEIKH *et al.*, 2015). Um dos fatores de extrema importância nesse desenvolvimento tecidual são os vasos sanguíneos, agregando diversas substâncias que são indispensáveis no processo de homeostase do tecido ósseo no ambiente a ser reabilitado (DUMANIAN *et al.*, 2017). Esse microambiente possui sais minerais e fatores de crescimento que promovem a formação de células osteoblasticas (LIU *et al.*, 2021). Nesse sentido, as CTM, além de possuírem diversos potenciais de diferenciação em sua constituição (RUAN *et al.*, 2016), são consideradas populares visto sua vascularização, que possui um isolamento de fontes ilimitadas e não invasivas (ZHANG *et al.*, 2020).

Atualmente essas células vêm sendo utilizada em diversos campos da saúde (REN *et al.*, 2016), como em cirurgias da coluna devido a sua aplicabilidade promissora no processo de proliferação e migração de células (ZHANG *et al.*, 2020), bem como sua imunomodulação (LIU *et al.*, 2021). Nesses casos, as BMPs exercem o papel de reabilitar o tecido ósseo, aumentando a proliferação e diferenciação do processo osteogênico e angiogênico dessas células-tronco (LIU *et al.*, 2021; RUAN *et al.*, 2016). A BMP-9 é uma das proteínas que menos é estudada e que possibilita a regulação de células de origem endoteliais e angiogênese, gerando o processo de indução do fenótipo do tipo colina, restrito de produzir glicose hepática (CHENARD *et al.*, 2012). Ela regula ainda diversos genes específicos por meio de um perfil de transcrição, além de fazer *cross-talk*, ou seja, a transmissão de sinal através de outras vias de acesso (LIU *et al.*, 2021).

O material utilizado para a reparação de tecido ósseo deverá realizar o processo de expressão genética (ZHANG *et al.*, 2020), possibilitando assim a proliferação celular e participação de atividades fisiológicas no tecido, causando a formação do tecido ósseo (ZHOU *et al.*, 2020; KHORSAND *et al.*, 2017). Alguns fatores devem ser considerados como forma prévia a aplicação clínica de materiais de reparo tecidual, como o equilíbrio entre a porcentagem de degradação do material utilizado e o processo de crescimento tecidual de células (MAY *et al.*, 2019), bem como o processo de manutenção da resistência desses materiais de forma mecânica (ZHOU *et al.*, 2020). Apesar disso, a



BMP-9 é considerada a proteína morfogenética, entre todas as outras em avaliação (KHORSAND *et al.*, 2017), como a de maior potencial de indução de diferenciação em diversos estudos presentes na literatura científica (CHEN *et al.*, 2021).

### **Processo de seleção celular na engenharia do tecido ósseo**

O processo de angiogênese precedente a formação de tecido ósseo, além do sistema de vasos desse sistema, possibilita o fornecimento de nutrientes como os fatores de crescimento, citocinas e hormônios, além da remoção de diversos resíduos de origem metabólica capazes de gerar uma ponte entre o tecido ósseo e o circundante (CHENARD *et al.*, 2012). No processo de metabolização desse tecido, a angiogênese pode gerar um novo foco na prevenção e perda de massa óssea (CARREIRA *et al.*, 2015). Assim, as CTM realizam o processo de diferenciação, a partir de um mesoblasto que possua condições adequadas para a cultura celular (LIU *et al.*, 2021; Khorsand *et al.*, 2017). A co-cultura de CTM e endoteliais podem fornecer um maior número de CTM, promovendo assim o processo de angiogênese e osteogênese, sendo considerada uma terapia promissora no processo de engenharia de tecido de sustentação e regeneração óssea (LIU *et al.*, 2021; DUMANIAN *et al.*, 2017).

As CTM pertencem a um grupo de células que geram a diferenciação de osteoblastos, mioblastos e condrócitos em ambientes que adequados que possibilitem a ação de citocinas (LIU *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2020). Esse potencial de diferenciação poderá variar com base nas características dessas células sendo que esse fator considerado fundamental para a sua semente e manipulação, assim as CTM podem ser sementes que possuem grande potencial no processo de regeneração de tecidos, sem a rejeição no processo imunológico (LIU *et al.*, 2021; MAY *et al.*, 2019). Essa engenharia óssea é fundamentada no processo de carregamento celular com o potencial de formação de tecido ósseo, ou seja, células de potencial osteogênico com estruturas de condução (CARREIRA *et al.*, 2015). Além disso, possibilitam a liberação de fatores de crescimento de tecido ósseo (ZHANG *et al.*, 2015), e o processo de revascularização nesse tecido por meio do processo de suprimento sanguíneo de forma adequada (CARREIRA *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2020).

As pesquisas atualmente relacionadas a engenharia desse tecido ósseo são focadas no processo de seleção celular no suprimento sanguíneo (CARREIRA *et al.*, 2015). A angiogênese possui direta relação em tempo e espaço nesse contexto de formação durante a fase do desenvolvimento embrionário, além da formação tecidual e no processo de cicatrização de fraturas em geral (LIU *et al.*, 2021). Com base nos dados destacados nesta presente RI, percebe-se que a aplicação desses processos biológicos em grandes defeitos de origem óssea possui a capacidade de reparação, apesar de seu custo proibitivo. A atividade dessa proteína em específico ainda é considerada desconhecida pela literatura, visto que o alcance da dose-resposta específica é um desafio a ser investigado no intuito de biodisponibilizar a proteína de acordo com o tempo de regeneração e cicatrização fundamental para a reparação completa do defeito a ser restabelecido (DUMANIAN *et al.*, 2017).

Em suma, esse presente estudo de RI descreveu de forma atual o processo de diversos estudos que utilizaram as BMPs e células-tronco mesenquimais em associação como forma de osteoindução nas ciências da saúde, principalmente na correção de defeitos ósseos de grande extensão. Com base na análise crítica dos estudos tabulados, observou-se que esse processo regenerativo é considerado promissor em estudos *in vitro* e *in vivo*, com enfoque em ferramentas tecnológicas capazes de gerar, observar e alterar determinados genes em laboratório com visando potencializar o efeito da BMP-9 e promover a formação do tecido ósseo. Diferentes métodos foram utilizados para avaliar a temática em questão, bem como a implementação de diversos materiais em conjunto ou isoladamente, não sendo observadas um padrão de alta prevalência nos estudos incluídos na presente análise da literatura científica, o que posteriormente destaca-se que não foram evidenciadas recomendações claras e conclusões específicas sobre o uso de tais materiais e métodos em investigação.

### **Considerações Finais**

Com base na literatura avaliada, é possível concluir que o processo de sobre-expressão de CTM e BMP-9 possibilita a reparação tecidual óssea em estudos *in vivo* e *in vitro*. Destaca-se o processo de regeneração em grandes defeitos ósseos existentes, sendo considerada uma terapia promissora e vantajosa em comparação aos enxertos. A

utilização de ferramentas que possibilitem a avaliação genômica promovem uma maior modulação do ambiente de avaliação, permitindo maiores possibilidades de formação óssea para a área das ciências da saúde quando comparado as demais terapias regenerativas, como os enxertos autólogos atualmente disponíveis. Com base nisso, espera-se que esse presente estudo de RI possa contribuir para aprimoramento da técnica e temática para que novos estudos sejam idealizados com enfoque nessa terapia celular com a BMP-9 e CTM no processo de formação, reparação e remodelação tecidual óssea, possibilitando novos métodos de reabilitação óssea em diversas áreas da saúde, contribuindo para o seu avanço clínico na saúde.

## Referências

CARREIRA, Ana Claudia Oliveira *et al.* Bone morphogenetic proteins: promising molecules for bone healing, bioengineering, and regenerative medicine. **Vitamins & Hormones**, v. 99, p. 293-322, 2015.

CHEN, Qiuman *et al.* Special AT-rich sequence-binding protein 2 (Satb2) synergizes with Bmp9 and is essential for osteo/odontogenic differentiation of mouse incisor mesenchymal stem cells. **Cell proliferation**, v. 54, n. 4, p. e13016, 2021.

CHENARD, Kristofer E. *et al.* Bone morphogenetic proteins in craniofacial surgery: current techniques, clinical experiences, and the future of personalized stem cell therapy. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, 2012.

DENG, ZH *et al.* Proteínas morfogenéticas ósseas para regeneração da cartilagem articular. **Osteoartrite e cartilagem**, v. 26, n. 9, pág. 1153-1161, 2018.

DUMANIAN, Zari P. *et al.* Repair of critical sized cranial defects with BMP9-transduced calvarial cells delivered in a thermoresponsive scaffold. **PLoS One**, v. 12, n. 3, p. e0172327, 2017.

ERCOLE, Flávia Falci; MELO, Laís Samara de; ALCOFORADO, Carla Lúcia Goulart Constant. Revisão integrativa versus revisão sistemática. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 18, n. 1, p. 9-12, 2014.

FREITAS, Gileade P. *et al.* Cell therapy: effect of locally injected mesenchymal stromal cells derived from bone marrow or adipose tissue on bone regeneration of rat calvarial defects. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.

GALVÃO, Taís Freire; PANSANI, Thais de Souza Andrade; HARRAD, David. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 24, p. 335-342, 2015.

HUANG, Xia *et al.* Dentinogenesis and tooth-alveolar bone complex defects in BMP9/GDF2 knockout mice. **Stem Cells and Development**, v. 28, n. 10, p. 683-694, 2019.

KHORSAND, Behnoush *et al.* A comparative study of the bone regenerative effect of chemically modified RNA encoding BMP-2 or BMP-9. **The AAPS journal**, v. 19, n. 2, p. 438-446, 2017.

LIU, Ziming *et al.* Bone morphogenetic protein 9 enhances osteogenic and angiogenic responses of human amniotic mesenchymal stem cells cocultured with umbilical vein endothelial cells through the PI3K/AKT/m-TOR signaling pathway. **Aging (Albany NY)**, v. 13, n. 22, p. 24829, 2021.

LUO, Wenping *et al.* BMP9-initiated osteogenic/odontogenic differentiation of mouse tooth germ mesenchymal cells (TGMCS) requires Wnt/ $\beta$ -catenin signalling activity. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, n. 5, p. 2666-2678, 2021.

MAY, Rahel Deborah *et al.* Application of cytokines of the bone morphogenetic protein (BMP) family in spinal fusion-effects on the bone, intervertebral disc and mesenchymal stromal cells. **Current stem cell research & therapy**, v. 14, n. 8, p. 618, 2019.

MENDES, Karina Dal Sasso; SILVEIRA, Renata Cristina de Campos Pereira; GALVÃO, Cristina Maria. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto & contexto-enfermagem**, v. 17, p. 758-764, 2008.

PRANSKUNAS, Mindaugas; GALINDO-MORENO, Pablo; PADIAL-MOLINA, Miguel. Extraction socket preservation using growth factors and stem cells: A systematic review. **Journal of oral & maxillofacial research**, v. 10, n. 3, 2019.

QUILES, Georgia K. *et al.* Efeito da sobre-expressão de bmp9 por crispr-cas9 na diferenciação osteoblástica de células-tronco mesenquimais. *In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 73., 2021. Anais eletrônicos [...]* São Paulo: Sociedade Brasileira Para o Progresso da Ciência, 2021. p. 01 – 02. Disponível em: [https://reunioes.sbpcnet.org.br/73RA/inscritos/resumos/10265\\_1d6baf65e0b240ce177cf70da146c8dc8.pdf](https://reunioes.sbpcnet.org.br/73RA/inscritos/resumos/10265_1d6baf65e0b240ce177cf70da146c8dc8.pdf). Acesso em: 10 ago. 2022.

REDMAN, Melody *et al.* What is CRISPR/Cas9?. **Archives of Disease in Childhood-Education and Practice**, v. 101, n. 4, p. 213-215, 2016.

REN, Xiaoyan *et al.* Nanoparticulate mineralized collagen scaffolds and BMP-9 induce a long-term bone cartilage construct in human mesenchymal stem cells. **Advanced healthcare materials**, v. 5, n. 14, p. 1821-1830, 2016.

RODRÍGUEZ-MERCHÁN, Emerito Carlos. A review of recent developments in the molecular mechanisms of bone healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 767, 2021.

RUAN, Wendong *et al.* Effect of BMPs and Wnt3a co-expression on the osteogenic capacity of osteoblasts. **Molecular Medicine Reports**, v. 14, n. 5, p. 4328-4334, 2016.

SANTOS, Cristina Mamédio da Costa; PIMENTA, Cibele Andrucio de Mattos; NOBRE, Moacyr Roberto Cuce. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 15, p. 508-511, 2007.

SANTOS, Isabella Cristine dos *et al.* Células-tronco mesenquimais sobre-expressando proteína morfogenética óssea 9 por CRISPR-CAS9 aumentam o reparo de defeitos ósseos críticos. **Anais da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**, v. 36, p. 38, 2020.

SCARFÌ, Sonia. Use of bone morphogenetic proteins in mesenchymal stem cell stimulation of cartilage and bone repair. **World journal of stem cells**, v. 8, n. 1, p. 1, 2016.

SHEIKH, Zeeshan *et al.* Bone regeneration using bone morphogenetic proteins and various biomaterial carriers. **Materials**, v. 8, n. 4, p. 1778-1816, 2015.

SHUI, Wei *et al.* Characterization of scaffold carriers for BMP9-transduced osteoblastic progenitor cells in bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 102, n. 10, p. 3429-3438, 2014.

SOUZA, Marcela Tavares de; SILVA, Michelly Dias da; CARVALHO, Rachel de. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v. 8, p. 102-106, 2010.

TEVEN, Chad M. *et al.* Bone morphogenetic protein-9 effectively induces osteogenic differentiation of reversibly immortalized calvarial mesenchymal progenitor cells. **Genes & Diseases**, v. 2, n. 3, p. 268-275, 2015.

VHORA, Imran *et al.* Colloidally stable small unilamellar stearyl amine lipoplexes for effective BMP-9 gene delivery to stem cells for osteogenic differentiation. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 8, p. 3550-3560, 2018.

VHORA, Imran *et al.* Lipid-nucleic acid nanoparticles of novel ionizable lipids for systemic BMP-9 gene delivery to bone-marrow mesenchymal stem cells for osteoinduction. **International journal of pharmaceuticals**, v. 563, p. 324-336, 2019.

WANG, Yi *et al.* Noggin resistance contributes to the potent osteogenic capability of BMP9 in mesenchymal stem cells. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 31, n. 11, p. 1796-1803, 2013.

ZHANG, Bo *et al.* Leptin potentiates BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through the activation of JAK/STAT signaling. **Stem cells and development**, v. 29, n. 8, p. 498-510, 2020.

ZHANG, Ran *et al.* Acceleration of bone regeneration in critical-size defect using BMP-9-loaded nHA/ColI/MWCNTs scaffolds seeded with bone marrow mesenchymal stem cells. **BioMed research international**, v. 2019, 2019.

ZHANG, Wei *et al.* Synergistic effects of BMP9 and miR-548d-5p on promoting osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

ZHOU, Cheng *et al.* A Composite Tissue Engineered Bone Material Consisting of Bone Mesenchymal Stem Cells, Bone Morphogenetic Protein 9 (BMP9) Gene Lentiviral Vector, and P3HB4HB Thermogel (BMSCs-LV-BMP9-P3HB4HB) Repairs Calvarial Skull Defects in Rats by Expression of Osteogenic Factors. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 26, p. e924666-1, 2020.

**Processo de revisão por pares**

O presente Artigo foi revisado por meio da avaliação aberta em 1 rodada. A rodada contou com a revisão de Mônica Patrícia de Franca Silva e Marina Santos. O processo de revisão foi mediado por Max Leandro de Araújo Brito.