

Periost dokusunun otoklavize kemik grefti-alıcı kemik bütünleşmesine etkisi: Tavşanlarda deneysel çalışma

The effect of periosteum on the union of the autoclaved bone graft-host bone: experimental study in rabbits

Alper Kaya,¹ Cengiz Tuncay,² Ümit Kaya,³ Hüseyin Demirörs²

¹Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada tavşan radius kemiğinden alınan otolog segmenter kemik greftinin otoklavda bekletilerek intramedüller tespitle alındığı yere tekrar yerleştirilmesi ve periost dokusu ile bütünleşmesinin iyileşmeye etkisi incelendi.

Gereç ve yöntemler: On altı erişkin tavşanda sol radiusun orta bölümünden 15 milimetre uzunluğunda kemik parça çıkarıldı. Çıkarılan kemikler 120 °C'de 15 dakika otoklavize edildi ve intramedüller Kirschner telleriyle yerine tekrar tespit edildi. Tavşanlar iki eşit gruba ayrıldı ve birinci gruptaki sekiz tavşanın greft-alıcı kemik birleşim bölgesi periost flebiyle örtülürken, ikinci gruptaki diğer sekiz tavşanın greft-alıcı kemik birleşim bölgesinde periost dokusu kullanılmadı. Cerrahi işlem sonrası 2, 4, 6. ve 8. haftalarda düz grafiler çekildi. Sekizinci haftanın sonunda elde edilen radyolojik bulgular Yang'ın modifiye radyolojik sayılama yöntemiyle değerlendirildi.

Bulgular: Radyolojik bulgular 8. haftada birinci grupta (ort. 10.94) ikinci gruba (ort. 6.06) göre daha fazla kallus dokusuyla, daha erken ve daha fazla iyileşme elde edildiğini gösterdi. Fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.04$, <0.05).

Sonuç: Periost yaması kolay uygulanabilen ve greft-alıcı bölgenin iyileşmesini hızlandıran biyolojik bir dokudur. Periost yama tekniği greft-alıcı kemik bölgesinin iyileşmesinde etkili bir yöntemdir ve bu teknik, yapısal allogreftlere uygulanmaya değer bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Greft iyileşmesi; periost; yapısal greft.

Objectives: In this study, we investigated the effect of periosteum on the union of autoclaved segmental bone grafts harvested from rabbit radii and replanted to their beds with intramedullary fixation to host bone.

Materials and methods: Segmental bone defects, 15 millimeters long, in the middle of the left radius were created in 16 adult rabbits. The resected bones were autoclaved 15 minutes at 120 °C and reimplanted and fixed with intramedullary Kirschner wires. The rats were divided into two groups; in the first group, eight rabbits' graft-host bone junctions were covered with periosteal flaps and in the second group, graft-host bone junctions were deperiostized. Plain X-rays were taken at 2, 4, 6 and 8 weeks after the operation. At the end of the 8th week radiological results were evaluated with modified Yang's radiological scoring system.

Results: Radiological results revealed more callus tissue and early, better healing in the first group (mean 10.94), than in the second group (mean 6.06) at 8th week. The difference was statistically significant ($p=0.04$, <0.05).

Conclusion: Periosteal flaps are biologic tissues that can be easily performed and enhance the healing of graft-host junctions. The periosteal flap technique is effective on the healing of graft-host bone junctions and this technique is worth applying to structural allografts.

Key words: Graft healing; periosteum; structural graft.

Günümüzde kemik greftleri tümör cerrahisinde, eklem protez cerrahilerinde, ekstremiteler uzunluk farklarının tedavisinde, deformitelerin düzeltilmesinde, kırıklarda iyileşmenin hızlandırılmasında veya defektin yerinin doldurulmasında ve spinal cerrahide artrodezin sağlanmasında kullanılmaktadır.^[1-3] Yapısal (strut) kemik greftlerinin yeniden şekillenmesi ve damarlanması, greftin canlılığına, alıcı ve vericinin immün uyumuna bağlıdır. Kortikal masif kemik allogreftlerin iyileşme hızının çok yavaş olduğu, yeni kemik oluşumunun nekrotik kemik içinde sadece birkaç milimetre ilerleyebildiği radyografik ve histolojik olarak gösterilmiştir.^[4,5]

Periost dokusu kemiğin dış yüzünü kaplayan damarlı bir bağ dokusudur. Dış tabakasında fibroblastlar ve Sharpey lifleri bulunurken, kambiyum adı verilen iç tabakasında kemikleşme, kırık iyileşmesi ve rejenerasyonu sağlayan çok potansiyelli mezenkimal kök hücreleri bulunmaktadır.^[6-8] Ayrıca periost hücrelerinde bulunan P maddesi (substance P) gibi reseptörlerin kemiğin periostal büyüme ve iyileşmesinde düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir.^[9]

Çalışmamızın amacı, hayvan modelinde uzun kemikte oluşturulan boşluğa yerleştirilen yapısal greftin alıcı kemiğe bütünleşmesine periost dokusunun etkisinin olup olmadığını radyolojik olarak değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

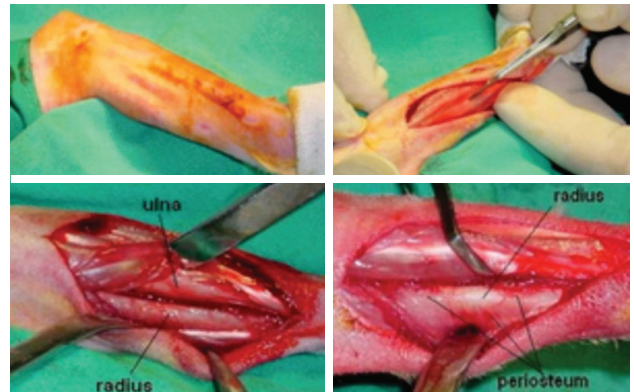
Çalışma Başkent Üniversitesi Etik ve Araştırma Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi. Çalışmada 16 adet Yeni Zelanda tipi erişkin erkek tavşan kullanıldı. Ortalama 16.8 aylık (dağılım 14-21 ay) olan tavşanların ortalama ağırlığı 2321 g (dağılım 2100-2600 g) idi. Tavşanlar iki eşit gruba ayrıldı ve cerrahi işlemler, arka arkaya iki deney gününde gerçekleştirildi. Deneyler hayvan hakları ilkelerine uygun olarak veteriner hekim gözetiminde yapıldı. Deneyler sırasında veya sonrasında herhangi bir sorunla karşılaşılmadı, enfeksiyon gelişen ve ölen denek olmadı.

Grup 1'deki deneklere ilk gün, yaklaşık 0.8 cc/kg ksilazin hidroklorid (Rompun®) + 0.8 cc/kg ketamin hidroklorür (Ketalor®) birleşimi, genel anestezi olarak kas içi enjeksiyonuyla, verildi. Enfeksiyon gelişmesini önlemek amacıyla ameliyat öncesi 0.1 cc/kg enrofloksasin (Baytril®) verildi ve ameliyat sonrası günlük aynı doz, dört gün süresince devam edildi.

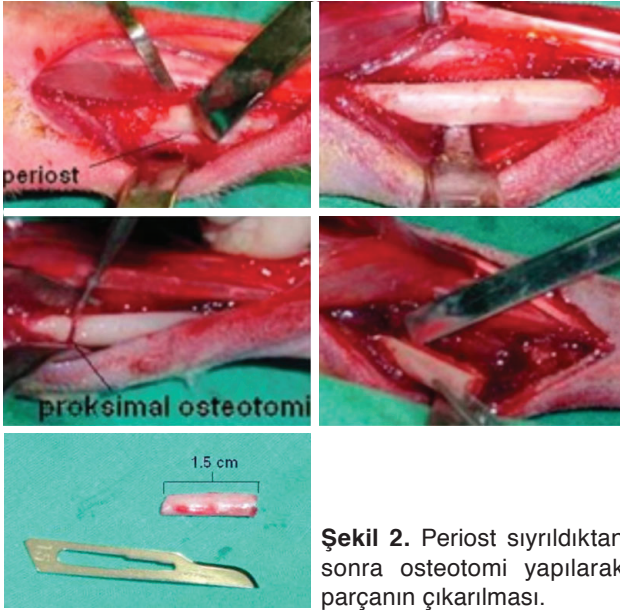
Cerrahi teknik

Her hayvanın sol kol ve önkolü tıraş edildikten sonra %10 povidon-iyot (Batticon®) solüsyonla temizlendi ve steril örtüldü. Daha sonra dorsoradial bölgeden uzunlamasına kesi ile girilerek cilt ve ciltaltı ve kaslar geçilerek radiusa ulaşıldı (Şekil 1). Periost tabakası bistüri ile uzunlamasına kesildikten sonra, zedelemeyen proksimale ve distale sıyrıldı ve yaklaşık 15 mm uzunluğunda kemik parça, 1 mm uçlu elektrikli kesici (biz) yardımıyla kesilerek çıkarıldı (Şekil 2). Çıkarılan parça kuru otoklavda 120 °C'de 15 dakika tutulduktan sonra, çıkarıldığı bölgeye tekrar yerleştirilip tespit edildi. Tespit işlemi, bir adet 1 mm'lik Kirschner telinin, çıkarılan parçanın bulunduğu bölgeden radius distal parçasına gönderilerek el bileğinden cilt dışına çıkarılması ve otoklavize parça tekrar yerleştirildikten sonra telin bu parçanın içinden proksimal radiusu tutacak şekilde proksimale doğru medüller kanal içinde ilerletilmesiyle yapıldı. Kirschner telinin distal ucu kesilerek içeride kalması sağlandı (Şekil 3). Bu işlemlerden sonra sıyrılmış olan periost dokusu proksimal ve distal kırık hatlarının üzerine örtüldü (Şekil 4). Radius kemiğine yakınlığından dolayı ulna üzerindeki periost tabakası kırık hattından uzaklaştırıldı.

Daha sonra, yara yıkanıp cilt ve ciltaltı dokusu 4/0 vicryl® ile kesintisiz dikilerek steril kapatıldı ve üst ekstremitelere kartondan hazırlanmış materyallerle atellendi. Her hayvana ağrı kesici olarak üç gün süresince, 0.007 mg/kg/gün fentanil, verildi. Deney hayvanları normal beslenme ve bakım protokolüne uygun olarak takip edildi. Ek ilaç ya da vitamin vs. uygulaması yapılmadı.



Şekil 1. Dirsek ve önkol bölgesinin boyanıp örtüldükten sonra radiusa ulaşılması ve üzerindeki periost tabakasıyla birlikte radius ve medialinde ulnanın görünümü.



Şekil 2. Periost sıyrıldıktan sonra osteotomi yapılarak parçanın çıkarılması.

İkinci gün, grup 2'deki denekler aynı şekilde hazırlanarak cerrahi işlem gerçekleştirildi. Bu grupta, periostla örtme işlemi yapılmadı. Ulna ile yakınlığından dolayı, ulna üzerindeki periost tabakası da kırık hattından uzaklaştırıldı. Bu aşama dışında, grup 1'e uygulanan tüm işlemler grup 2'ye de aynen uygulandı.

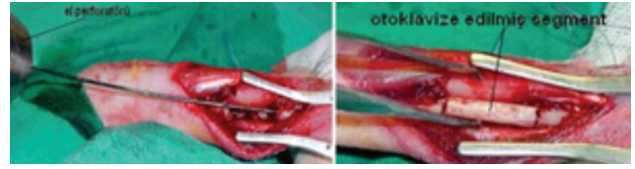
BULGULAR

Çalışmada herhangi bir sorun veya enfeksiyon bulgusuyla karşılaşılmadı. Deneylerin tamamı gerçekleştirildikten sonra, ilki ameliyat günü olmak üzere 2, 4, 6. ve 8. haftalarda her deneğin iki yönlü doğrudan önkol grafileri çekildi (Şekil 5).

Dördüncü haftada grup 1'de radyolojik iyileşme belirtileri, greft ve alıcı kemiğin her iki bileşkesinde de köprü kal dokusu ile görülmeye başlarken,



Şekil 4. Proksimal alıcı kemik-greft hattının periost dokusuyla örtülmesi.

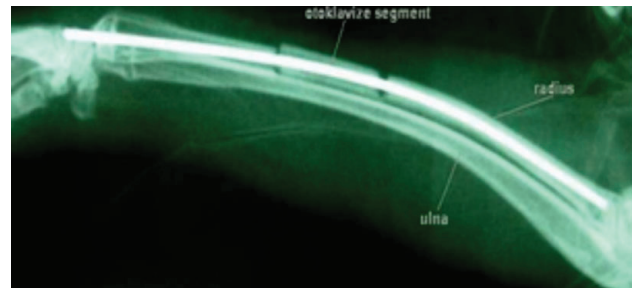


Şekil 3. Proksimalden distal parçaya intramedüller olarak gönderilen Kirschner telinin el bileğinde ciltten çıkarıldıktan sonra, otoklavize edilen parçanın defekt bölgesine yerleştirilmesi ve telin distalden proksimale gönderilerek tespitinin sağlanması.

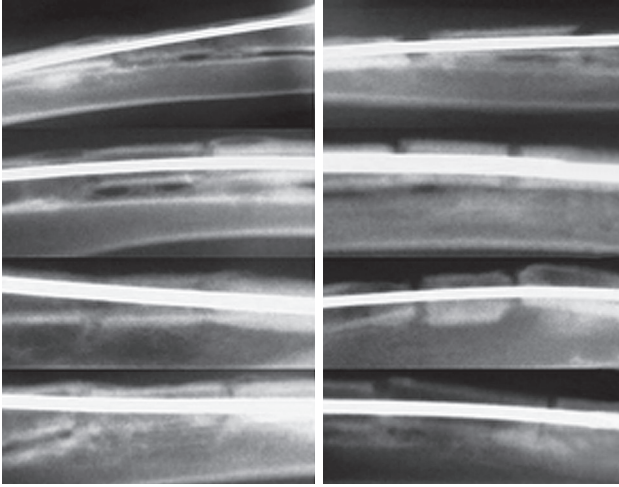
grup 2'de hiçbir denek hayvanında iyileşme belirtisi yok idi.

Sekizinci haftada elde edilen doğrudan grafiler karşılaştırıldığında, periost örtüsü olan grup 1'de greftin alıcı kemiğe kaynaması, kal dokusunun oluşması ve yeniden şekillenmesi periost örtüsü olmayan grup 2'ye göre daha iyi bulundu (Şekil 6). Grup 1'deki deneklerin altısında hem köprüleşme hem greft ile alıcı kemik arasındaki boşluğun dolması hem de greftin bütünleşmesinin radyolojik olarak çok iyi görülmesine karşın, grup 2'de sadece bir denekte iyileşme oldu, diğer yedisinde ise herhangi bir bütünleşme belirtisi olmadı veya çok az oldu.

Sekizinci haftada iki gruptan elde edilen doğrudan grafileri değerlendirmek için, Yang ve ark.nın^[10] kullandığı radyografik sayılama sistemi modifiye edilerek puanlama yapıldı. Yang ve ark.^[10] bu sayılama sistemini tavşanlarda dondurularak kurutulmuş kemik veya demineralize kemikle birleştirilen greftlerin iyileşmesini değerlendirmek için kullanmışlardır. Bu sistemde periostal köprü kal dokusu, osteotomi alanındaki boşluğun dolması ve yeniden şekillenmesi değerlendirilmekte ve iyileşmenin rakamsal karşılıkları verilmektedir (Tablo I). Çalışmamızda



Şekil 5. Otoklavize parçanın çıkarıldığı bölgeye yerleştirildikten sonra intramedüller Kirschner teli ile tespit edilmiş halini gösteren ameliyat günü çekilmiş radyografi örneği. El bileği seviyesinde Kirschner teli kesilerek cilt altında bırakılmıştır.



Şekil 6. Grup 1 ve grup 2'nin ameliyat sonrası 8. haftadaki grafi örnekleriyle karşılaştırılması. Sol sütunda grup 1 (periost örtüsü kullanılan grup)'e, sağ sütunda ise grup 2 (periost örtüsü kullanılmayan grup)'ye ait doğrudan grafi örnekleri görülmektedir. Grup 2 grafi örneklerinde kaynama bulguları yok veya zayıf iken, 8. haftada grup 1'deki grafi örneklerinde belirgin kal dokusu, greft-alıcı kemik aralığının kapanması ve yeniden şekillenme görülmektedir.

her iki osteotomi hattı ayrı ayrı değerlendirildi ve puanları toplandı (Tablo II).

İstatistiksel değerlendirme

Çalışma, sekizer denek bulunan iki grup üzerinden yapıldı ve iki grup arasında radyolojik değerlendirme puanlarının ortalamaları arasında anlamlı fark olup olmadığı test edildi.

İstatistiksel değerlendirme amacıyla her iki grupta 30'dan az birim olduğu için teknik olarak non-parametrik Mann-Whitney U-testi kullanıldı. Test %95 güven aralığında gerçekleştirildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı bulundu. Ortalama değerler tablo III'de verilmiştir. Z tablo değeri olasılığı açısından iki grup arasında fark anlamlı bulundu ($p=0.04$).

Deneyssel olarak oluşturulan segmenter kemik defektine otoklavize edilerek yerleştirilen kemik greft modelinde, alıcı kemik-greft bileşkesi periost dokusu ile örtülebilirse, bu işlemin yapıldığı gruba göre radyolojik kaynama bulgularında olumlu yönde anlamlı fark bulunmaktadır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, tümör çıkarılmasından sonra olduğu gibi, uzun kemiklerde segmenter eksiklik

olan hastalarda kullanılan yapısal kortikal greftlerin kaynamasını hızlandırmak amacıyla periost dokusunun kullanılması hayvan modelinde uygulanarak radyolojik olarak araştırıldı. Çalışmada aynı denekten çıkarılan kemik parçası otoklavize edilerek biyolojik olarak canlılığını yitirmiş otogreft olarak kullanıldı, alıcı kemik ve greft bileşkesi periost dokusuyla örtülebildiğinde iyileşmenin daha iyi olduğu radyolojik olarak gösterildi.

Greftlerle ilgili uzun dönem sonuçları etkileyen olumsuzluklardan en önemlisi, segmenter yapısal allogreftlerin alıcı kemik dokusuna kaynamamaları veya kaynama gecikmesidir.^[10-12] Segmenter allogreft veya otogreft uygulamalarında greftin tutunması için greftin dengesi, greft-alıcı kemik teması ve dengesi gibi mekanik etkenlerin önemi bilinmektedir.^[13-14] Sorger ve ark.nın^[15] çalışmalarında 24 yıl içinde tümör nedeniyle yapısal allogreft uygulanan 1046 hastanın 183'ünde (%17.7), ameliyat sonrası ortalama 3.2 yıl içinde allogreft kırıkları gelişmiştir. Kırıkların çoğunun allogreft-alıcı kemik bileşkesinde görülmesi kaynama sorununu göstermektedir. Berrey ve ark.nın^[16] yaptıkları bir çalışmada da tümör nedeniyle masif allogreft yerleştirilen 274 hastanın 43'ünde (%16) ameliyattan ortalama 28.6 ay sonra kırık gelişmiştir. Literatürdeki benzer çalışmalarda %3-29 arasında kaynamama oranları

TABLO I

Yang ve ark.nın^[10] puanlama sisteminden modifiye edilen radyografik sayılama sistemi

	Değerlendirme	Puan
Periost reaksiyonu	(En fazla 8 puan)	
Yok		0
Minimal		1
Orta derecede (Gap'in yarısından fazla)		2
Gap'in yarısından fazla ama tam değil		3
Tam		4
Osteotomi alanı	(En fazla 8 puan)	
Tamamen radyolüsen		0
Kısmen radyolüsen		2
Osteotomi hattı dolu		4
Yeniden şekillenme	(En fazla 8 puan)	
Yok		0
Medüller		1
Kortikal		2

En fazla toplam puan: 22

TABLO II

Radyograflerin puanlanması

Grup 1 Denek no	Puanlama	Grup 2 Denek no	Puanlama
1	6	1	0
2	20	2	2
3	15	3	4
4	2	4	20
5	18	5	1
6	19	6	7
7	10	7	2
8	18	8	5

bildirilmiştir.^[17-22] Çalışmamızda (periost dokusu kullanılmayan) ikinci grupta, 8. haftanın sonunda deneklerin çoğunda (n=7) radyolojik olarak kaynama bulgularının görülmemesi veya yetersiz görülmesi, kaynama süresinin normalden uzun süreceğini veya kaynamama gelişmesinin daha çok görüleceğini göstermiştir. Bu durum yapısal greftlerin alıcı kemiğe tutunmasının zorluğunu belirtmektedir.

Taguchi ve ark.^[23] tavşan tibiasında segmenter kemik defektine, otoklavize edilmiş otogreftle birlikte damarlı otojen greft uygulamışlardır. Çalışma dört grupla gerçekleştirilmiştir; kemikteki eksik bölge, ilk grupta sadece otoklavize greft, ikinci grupta otoklavize greft ve damarlı greft, üçüncü grupta otoklavize greft ve kemik iliği, dördüncü grupta ise otoklavize greft, damarlı greft ve kemik iliği bileşimiyle doldurulmuştur. On altı haftanın sonunda histolojik ve biyomekanik değerlendirme yapılmış ve en iyi sonucun dördüncü grupta elde edildiği, radyolojik olarak da kaynamanın yine erken (8. haftada) dördüncü grupta, belirttiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, periost yamasıyla örtülen otoklavize greft-alıcı kemik bileşkesinde, damarlı greft veya kemik iliği kullanılmasına benzer şekilde 8. haftada radyolojik olarak belirgin kaynama bulguları elde edildi. Ancak bu çalışmayla histolojik ve biyomekanik olarak karşılaştırılmadı.

Çalışmamızda periost dokusunun kullanılmasının nedeni, kırık iyileşmesinde oldukça önemli rol oynadığının bilinmesidir.^[9,24] Periostun flep şeklinde greft ve alıcı kemik hattını örtmesiyle, aynı insanın başka bir bölgesinden veya başka bir insandan nakledilmiş kemiğin de iyileşmesine katkısı olacağı düşüncesinden hareket edildi. Periost

TABLO III

Radyograflerin ortalama değerleri

Gruplar	Sayı	Sıra ortalaması	Sıra ortalamaları toplamı
Grup 1	8	10.94	87.50
Grup 2	8	6.06	48.50
<i>Toplam</i>	16		

dokusunda bulunan osteoprogenitör hücreler ve farklılaşmamış mezenkimal hücreler hem embriyonik intramembranöz kemikleşme, hem de endokondral kemik oluşumuna katkıda bulunmaktadır. McKibbin^[25] uzun kemiğin çapının yarısı kadar periostun köprüleşerek boşluğu kapatabildiğini bildirmiştir.

Literatür incelendiğinde greftlerin alıcı dokuyla bütünleşmesindeki sorunlar nedeniyle bütünleşmeyi hızlandırmaya yönelik çalışmaların çokluğu göze çarpmaktadır.^[26-31] Bu çalışmalarda osteojenik protein-1, kemik morfojenik protein-2 (KMP-2), büyüme faktörleri, dönüştürücü büyüme faktörü (transforming growth factor) beta 1, beta 2 ve demineralize kemik matriksi gibi etkenler kullanılmıştır. Bu maddelerin elde edilmesi ve hazırlanması zor ve maliyetleri yüksektir. Tavşan modelinde kemikte boşluk oluşturulduktan sonra çıkarılan parçanın otoklavize edilmesi rutin uygulamada protein denatürasyonuna ve doku ölümüne neden olduğu için önerilmeyen bir yöntemdir.^[32] Ancak biyolojik olarak "ölü" veya "ölüye yakın" özellikler taşıyan kemiğin de kaynayabileceğini göstermek açısından uygun olduğu düşünüldü.

Tiyapatanaputi ve ark.^[33] sıçanlarda 4 mm'lik femur segmentini cansız allogreft, canlı izogreft, cansız izogreft ve periostsuz izogreft ile doldurmuşlar ve periost dokusunun greft iyileşmesindeki önemini histolojik olarak göstermişlerdir. Çalışmamız, radyolojik olarak bu çalışma sonuçları ile benzerlikler göstermektedir.

Çalışmamızda, cerrahi işlem sırasında nazik davranılarak alıcı yatağındaki periost korundu ve greft yerleştirildiğinde bileşkenin flep şeklinde periostla örtülmesi teknik olarak uygulanabilir. Aynı tekniğin insanlarda da uygulanabilir olduğunu düşünmekteyiz. Hipotezimiz; segmenter kemik boşluklarında tamir için kullanılan kemik greftlerinin sağlam periost dokusuyla örtülebildiği takdirde, periost dokusundan

kaynaklanan iyileşmenin de kaynamaya önemli katkısının olabileceği idi. Bu düşüncemiz çalışmada elde edilen radyolojik sonuçlar ile doğrulandı. Hazırlanması, temin edilmesi zor ve maliyeti oldukça yüksek olan diğer maddelere göre (demineralize kemik matriksi, büyüme faktörleri gibi) periost dokusunun kullanılması daha pratiktir, doğaldır ve ek maliyet getirmemektedir.

Sonuç olarak, segmenter kemik boşluklarında periost dokusunun flep şeklinde greft-alıcı kemik bileşkesine örtülerek kullanılmasının greft-alıcı kemik kaynamasını hızlandıran bir yöntem olduğu ve bu tür cerrahiler sırasında alıcı yatağındaki periost dokusunun olabildiğince korunması gerektiği kanısına varıldı.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Zhang X, Awad HA, O'Keefe RJ, Gulberg RE, Schwarz EM. A perspective: engineering periosteum for structural bone graft healing. *Clin Orthop Relat Res* 2008;466:1777-87.
- Chandler HP, Tigges RG. The role of allografts in the treatment of periprosthetic femoral fractures. *Instr Course Lect* 1998;47:257-64.
- Cornell CN, Lane JM. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop Relat Res* 1998;(355 Suppl):S267-73.
- Enneking WF, Campanacci DA. Retrieved human allografts: a clinicopathological study. *J Bone Joint Surg [Am]* 2001;83-A:971-86.
- Enneking WF, Mindell ER. Observations on massive retrieved human allografts. *J Bone Joint Surg [Am]* 1991;73:1123-42.
- Allen MR, Hock JM, Burr DB. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone* 2004;35:1003-12.
- Augustin G, Antabak A, Davila S. The periosteum. Part 1: Anatomy, histology and molecular biology. *Injury* 2007;38:1115-30.
- Orwoll ES. Toward an expanded understanding of the role of the periosteum in skeletal health. *J Bone Miner Res* 2003;18:949-54.
- Korkusuz F, Korkusuz P, Özkul A. Identification of substance P receptors on fibroblast-like cells derived from the periosteum: an in vitro cell culture study. *Eklem Hastalik Cerrahisi* 2006;17:94-100.
- Yang CY, Simmons DJ, Lozano R. The healing of grafts combining freeze-dried and demineralized allogeneic bone in rabbits. *Clin Orthop Relat Res* 1994;298:286-95.
- Eckardt JJ, Eilber FR, Rosen G, Mirra JM, Dorey FJ, Ward WG, Kabo JM. Endoprosthetic replacement for stage IIB osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res* 1991;270:202-13.
- Eckardt JJ, Matthews JG 2nd, Eilber FR. Endoprosthetic reconstruction after bone tumor resections of the proximal tibia. *Orthop Clin North Am* 1991;22:149-60.
- Stevenson S. Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. *Clin Orthop Relat Res* 1998;(355 Suppl):S239-46.
- Hornicek FJ, Gebhardt MC, Tomford WW, Sorger JI, Zavatta M, Menzner JP, et al. Factors affecting non-union of the allograft-host junction. *Clin Orthop Relat Res* 2001;382:87-98.
- Sorger JI, Hornicek FJ, Zavatta M, Menzner JP, Gebhardt MC, Tomford WW, et al. Allograft fractures revisited. *Clin Orthop Relat Res* 2001;382:66-74.
- Berrey BH Jr, Lord CF, Gebhardt MC, Mankin HJ. Fractures of allografts. Frequency, treatment, and end-results. *J Bone Joint Surg [Am]* 1990;72:825-33.
- Fox EJ, Hau MA, Gebhardt MC, Hornicek FJ, Tomford WW, Mankin HJ. Long-term followup of proximal femoral allografts. *Clin Orthop Relat Res* 2002;397:106-13.
- Ortiz-Cruz E, Gebhardt MC, Jennings LC, Springfield DS, Mankin HJ. The results of transplantation of intercalary allografts after resection of tumors. A long-term follow-up study. *J Bone Joint Surg [Am]* 1997;79:97-106.
- Jofe MH, Gebhardt MC, Tomford WW, Mankin HJ. Reconstruction for defects of the proximal part of the femur using allograft arthroplasty. *J Bone Joint Surg [Am]* 1988;70:507-16.
- Mnaymneh W, Malinin TI, Makley JT, Dick HM. Massive osteoarticular allografts in the reconstruction of extremities following resection of tumors not requiring chemotherapy and radiation. *Clin Orthop Relat Res* 1985;197:76-87.
- Vander Griend RA. The effect of internal fixation on the healing of large allografts. *J Bone Joint Surg [Am]* 1994;76:657-63.
- Thompson RC Jr, Pickvance EA, Garry D. Fractures in large-segment allografts. *J Bone Joint Surg [Am]* 1993;75:1663-73.
- Taguchi Y, Pereira BP, Kour AK, Pho RW, Lee YS. Autoclaved autograft bone combined with vascularized bone and bone marrow. *Clin Orthop Relat Res* 1995;320:220-30.
- Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998;(355 Suppl):S7-21.
- McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg [Br]* 1978;60-B:150-62.
- Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983;174:28-42.

27. Salkeld SL, Patron LP, Barrack RL, Cook SD. The effect of osteogenic protein-1 on the healing of segmental bone defects treated with autograft or allograft bone. *J Bone Joint Surg [Am]* 2001;83-A:803-16.
28. Schwarz N, Schlag G, Thurnher M, Eschberger J, Dinges HP, Redl H. Fresh autogeneic, frozen allogeneic, and decalcified allogeneic bone grafts in dogs. *J Bone Joint Surg [Br]* 1991;73:787-90.
29. Lee FY, Storer S, Hazan EJ, Gebhardt MC, Mankin HJ. Repair of bone allograft fracture using bone morphogenetic protein-2. *Clin Orthop Relat Res* 2002;397:119-26.
30. Lamerigts NM, Buma P, Aspenberg P, Schreurs BW, Slooff TJ. Role of growth factors in the incorporation of unloaded bone allografts in the goat. *Clin Orthop Relat Res* 1999;368:260-70.
31. Chen P, Carrington JL, Hammonds RG, Reddi AH. Stimulation of chondrogenesis in limb bud mesoderm cells by recombinant human bone morphogenetic protein 2B (BMP-2B) and modulation by transforming growth factor beta 1 and beta 2. *Exp Cell Res* 1991; 195:509-15.
32. Köhler P, Kreicbergs A. Incorporation of autoclaved autogeneic bone supplemented with allogeneic demineralized bone matrix. An experimental study in the rabbit. *Clin Orthop Relat Res* 1987;218:247-58.
33. Tiyyapatanaputi P, Rubery PT, Carmouche J, Schwarz EM, O'keefe RJ, Zhang X. A novel murine segmental femoral graft model. *J Orthop Res* 2004;22:1254-60.