

# AMERİKA BİRLEŞİK DEVLETLERİNDE ORTOPEDİK GİRİŞİMLERDE OTOGREFTLERİN YERİNE KULLANILAN MATERYALLERE TOPLU BAKIŞ

*Emre TOMIN\**, *Burak BEKSAÇ\*\**, *Joseph M. LANE\**

## ÖZET

Özellikle hücre biyolojisi, biyokimya, moleküler biyoloji ve biyomateryaller alanlarındaki gelişmeler sonucu, ortopedi konusunda kemik biyolojisi, kırık kaynaması ve omurga füzyonlarının oluşum mekanizmaları daha iyi anlaşılır hale gelmiştir. Ancak şu unutulmamalıdır ki, tüm bu gelişmeler bu konulardaki pek çok problemi halen çözmeye yeterli görülmemektedir. Son zamanlarda ortopedi konusunda otojen greftin yerini tutabilecek pek çok yeni ürün piyasaya sürülse de, bunların önemli bir bölümünün yerinde kullanımını destekleyecek yeterli veri ve geniş kapsamlı araştırma bulunmayışı bir sürpriz değildir. Aşağıdaki makalede, bu gözlemin ışığında, ABD'de çeşitli ortopedik prodesürlerde kemik grefti yerine kullanılan veya kullanılma potansiyeli olan materyallerin veri analizleri sunulmaya çalışılmıştır.

## GİRİŞ

Kemik rejenerasyonu ortopedik cerrahide en temel ve önemli amaçlardan biridir. Kemik doku mühendisliğinin tam amacı, istenilen anatomik bölgede kemik üretiminin sağlanmasıdır. Kırık iyileşmesinde, omurga füzyonlarında ve kemik defektlerini doldurmak için, otojen kansellöz (spongioz) kemik grefti günümüzde "altın standard" olarak kabul edilmiştir. Bunun en büyük nedeni kemik iyileşmesine yardım eden asıl komponentleri sağlamasıdır. Bunlar:

1. Kemik iliğinde bulunan osteoprogenitör hücreler;
2. Osteokondüktif hidroksiapatit kollajen matriks;
3. BMP'lerin en önemli elemanı olduğu birçok osteoindüktif büyüme faktörleri olarak sayılabilir.

Bu özelliğine rağmen otojen kansellöz kemik greftinin (OKKG) birçok dezavantajı da vardır. Donör (verici) bölge ağrısı ve parestezisi, greft miktarının yetersizliği, %8-10'lara yaklaşan enfeksiyon riski otojen iliak kemik grefti bedeli olarak karşımıza çıkan negatif faktörlerdir<sup>118</sup>.

Otogreftlere alternatif olarak allogreftler ise biyolojik olarak zayıf özellikte olup enfeksiyon ve enflamasyon riskleri vardır<sup>32,67</sup>. Gerek otogreft gerekse allogreftlerin bu negatif etkilerinin üstesinden gelmek için araştırmacılar otojen kemik greftinin özelliklerini taklit edebilecek sentetik kompozit greftler geliştirmeye başladılar.

İdeal bir sentetik greft, kemik yapıcı osteojenik hücrelere dönüşerek farklılaşabilecek progenitör (kök) hücreler, bu hücrelerin yerleşeceği ve gelişmesine uygun ortam sağlayacak osteokondüktif matriks yapı ve osteoprogenitör hücreleri etkileyerek kemik oluşturmalarını sağlayacak osteoindüktif proteinler içermelidir<sup>32,68</sup>. Son yıllarda ticari olarak üretilen birçok kemik greft materyeli piyasaya sunulmuştur. Ama bunların kullanımı ve etkinlikleriyle ilgili geniş kapsamlı çalışmalar bulunmamaktadır. Bu yazıda Amerika Birleşik Devletleri (ABD) piyasasındaki kemik grefti materyalleriyle ilgili bilgiler derlenmiş ve her birinin ortopedik uygulamalarda kullanım sınırları belirginleştirilmeye çalışılmıştır.

## OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER => OSTEOGENEZ

Başarılı kemik ve doku rejenerasyonu belirli bir bölgede yeterli sayıda kemik üreten hücre varlığına bağlıdır. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik yapımını sağlarlar. Bu hücreler henüz spesifik bir doku hücrelerine farklılaşmamış bir grup olup, yaşamları boyunca çoğalabilme özelliğine sahiptir. Farklılaşmamış kök hücre klonları oluşturdukları gibi geçiş hücrelerine farklılaşarak, gelişerek kemik, kırık, ligaman, tendon ve yağ gibi bağ dokusu hücreleri de oluşturabilirler<sup>60</sup>. Osteoprogenitör hücrelerin, periost ve peritrabeküler yumuşak doku dahil bir çok kaynağı olabilir<sup>32</sup>; ama kemik iliği aspirasyonu ile elde edilen kök hücrelerin sayı ve kalite olarak biyosentetik greftlemeye en uygun materyal olduğu bilinmektedir<sup>67</sup>.

\* Hospital for Special Surgery, New York.

\*\* SSK Göztepe Eğitim Hastanesi, İstanbul.

Kemik iliğinden alınan bu plüripotent hücrelere çeşitli araştırmacılar çeşitli isimler vermişlerdir: Stromal ilik hücresi, progenitör bağ dokusu hücresi ve mezenkimal kök hücresi, vb<sup>32</sup>.

Wernitz ve ark<sup>113</sup> otojen kemik iliğinin osteojenik kapasitesini fare femurlarında oluşturulan segmental defektlerin iyileşmesine etkisini incelemiş ve kemik iliği greftlemesini takiben defekt bölgesinde woven kemik oluştuğunu, bu kemiğin gelişerek lameller kemiğe farklılaştığını ve hacimsel olarak şekillendiğini bildirmişlerdir. Yeterli miktarda otojen kemik iliği büyük taze defektlere yerleştirildiğinde otojen kemik greftlemesiyle elde edilen kaynama oranıyla karşılaştırılabilir bir kaynama elde etmişlerdir. Bu çalışmada otojen kemik iliğinin oluşturduğu kemik dokusu kansellöz grefte eş biyomekanik özellikler göstermiştir. Başka araştırmalarda da<sup>17-19</sup> yeterli miktarda<sup>68,89</sup> kullanılan taze kemik iliğinin büyük kemik defektlerini bile iyileştirdiği gösterilmiştir. Klinik araştırma olarak ise Connolly ve ark<sup>17</sup> ve Tiedmann ve ark<sup>106</sup> yeterli miktarda kullanılan kemik iliğinin nonunion tedavisindeki başarısını bildirmişlerdir (Tablo I). Her ne kadar klinik çalışma sayısı sınırlı olsa da; tüm sentetik greftler ve allogreftler kemik iliğiyle desteklenebilir ve aşırı yıkama sonrası kırık bölgesinde uygun bir kaynama ortamı –kırık hematomu– elde edilebilir.

Kemik greftinde kullanılacak taze kemik iliği osteoprogenitör hücrelerin tek kaynağıdır. Ponsiyonla alındığından açık bir cerrahi girişim gerektirmez, ek zaman ve masraf istemez ve in vitro

kültür risklerini taşımaz. Ayrıca pelvise yapılan ponsiyonun hiçbir ek morbiditesi yoktur. Kemik iliği aspirasyonunun asıl dezavantajı progenitör hücrelerin intramedüller kan dolaşımı ile seyrelmesi ve otojen kansellöz greftte olan yoğunluğunun 1/2-40'ına düşmesi<sup>32</sup> ve yaşlılığa bağlı ilikteki kök hücre sayısının azalmasıdır. Bu oran bebeklerde 1/50,000 olup, yaşlılarda 1/2,000,000'a seyrelmektedir<sup>15,84</sup>.

Nonunion tedavisinde progenitör hücrelerin sayı ve konsantrasyonunun yüksek olması gereklidir. Ex-vivo olarak çoğaltılmış progenitör hücreler kademeli santrifüj ile ayrıştırılabilir. Bruder ve ark<sup>11</sup> kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerini özel bir kültür ortamında izole edip çoğaltmışlardır. Seramik ve kollajen içeren kompozit (bileşik) içeren kültür ortamında çoğaltılan bu hücreler, bir seri hayvan modelinde oluşturulan kritik kemik defektlerini iyileştirmiştir<sup>73,89,113</sup>. Her ne kadar klinik kullanım öncesi deneyleri halen devam ediyorsa da bu ürünler çok fonksiyonlu progenitör kök hücre popülasyonlarını çoğaltarak ek kullanım olanakları yaratmaktadır.

## OSTEOKONDÜKTİF MATRİKSLER

Progenitör hücrelerin biosentetik kemik greftlerine eklenmesi mutlaka gerekli olsa da, bu hücrelerin tek başlarına kullanımı kemik doku mühendisliği için yeterli değildir<sup>32</sup>. Kemik üretiminin en önemli ve mutlaka gerekli parametrelerinden biri, osteogenez sırasında progenitör hücrelerin yerleşeceği osteokondüktif bir iletim ortamıdır<sup>60</sup>. Osteokondüktif matrisler greftleme alanında kemiğin iyileşmesini başlatacak olan hücrelerin

Tablo I

### Osteoprogenitör Hücrelerin Kaynama Potansiyelini Arttırdığını Destekleyen Çalışmalar

Greft Materyeli	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
Kemik iliği	İnsan	118	+	Füzyon, kemik defekti, kaynama	DKM veya allogreft kemik iliği eklemesi	>90% kaynama	17,101,106
	İnsan	38	-	Kaynamama	Perkütan enjeksiyon	82% kaynama, bazı hastalar kemoterapi veya radyoterapi görmüş	18,34,43
	Hayvan	-	+	Uzun kemik defektleri ve heterotopik kemikleşmeyi değerlendirmek için yumuşak doku içine ekim	Kemik iliğinin HA, TKF, DKM veya allogreft ile beraber kullanımı	Kemik iliği eklenmiş denekler kontrol grubuna göre daha iyi kemik oluşumu ve kaynama oranı gösterdi.	72,84,88,112,113

Demineralize Kemik Matrisi (DKM); Hidroksiapatit (HA); Trikalsiyum Fosfat (TKF).

yapışması, migrasyonu ve dağılımı için gerekli uygun ortamı sağlar<sup>32</sup>. Yapısal iskeleti ve uygun ortamı sağlayan bu (OK) materyallerin aynı zamanda biyolojik olarak çözünebilir olması gereklidir<sup>60</sup>. Genellikle taşıyıcı matriksler osteoprogenitör hücreleri kendilerine çekme, migrasyonlarını kolaylaştırma ve neovaskülerizasyonu başlatma özelliğindedir. Son aşamada yeni kemik oluşumu başladıktan sonra taşıyıcının işlevi tamamlanır ve zararlı artıklar bırakmadan emilmesi beklenir<sup>5</sup>.

Hücre-matriks kompozitlerinin osteoblastik progenitör hücrelerin transplantasyonu sırasında uygun bir taşıyıcı ve destek olduğu ayrıca hücrelerin yaşaması ve çoğalması üzerine etkinliği gösterilmiştir. Allogreft kemik dokusu en iyi taşıyıcı-desteklerden biridir. Ama, potansiyel enfeksiyon riski, immün reaksiyon riski, immün reaksiyon ve yetersiz miktarlarda elde edilebilmesi nedeniyle, bunun yerine mineralize kollajen, kalsiyum fosfat seramikleri, hiyalüronik asit veya kollajen yapıda matriksler ve sentetik polimerler gibi taşıyıcılar geliştirilmektedir<sup>32</sup>.

Yapılan çalışmalarda biyosentetik seramiklerin rekonstrüktif ortopedik girişimlerde başarılı bir osteokondüktif ortam yarattığı gösterilmiştir<sup>32,60,67</sup>.

Fonksiyonel açıdan, bu materyalleri dört grupta inceleyebiliriz: 1. Yavaş emilen seramikler (Hidroksiapatit); 2. Hızlı emilen seramikler (Trikalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat, biyoaktif cam); 3. Hidroksiapatit ve kalsiyum fosfat bileşikleri; 4. Allogreft.

### HİDROKSIAPATİT (HA)

Klasik olarak yavaş emilen kalsiyum fosfat seramiği hidroksiapatit olarak isimlendirilir. Yüksek derecede kristalize hidroksiapatit in vivo stabil bir bileşiktir ve yılda %5-15 hızıyla emilir. Önce hayvan modelleri ve sonra insanda yapılan deneylerde poröz hidroksiapatit implantların (Tablo II) öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığını ve zamanla bu dokunun olgun lameller kemiğe dönüştüğü gösterilmiştir<sup>32</sup>. Hidroksiapatitin osteokondüktif özellikleri bu implantların kemiğe sıkı yapışmasına da ortam ve olanak sağlar. Ayrıca hidroksiapatitin lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik morfogenetik proteinlerine (BMP) karşı kuvvetli kimyasal bağlanma eğilimi olduğu Urist tarafından gösterilmiştir<sup>109</sup>.

Tablo II

### Hidroksiapatit'in Osteokondüktif Matriks Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
ProOsteon	İnsan	40	+	Tibia platosu metafiz defektleri	HA, iliak otogreft karşılaştırılması	Klinik veya radyografik farklılık yok	12
	İnsan	66	-	Distal radius veya uzun kemik diafiz/metafiz kırıkları	İnternal veya eksternal tespit + HA	Daha önce yapılan çalışmalar kontrol grubu olarak kullanılmış. Fonksiyonel ve radyografik sonuçlar eşdeğer	13,114
	Hayvan		+	Maksiller defekt	Büyük porlu ProOsteon 500'ün küçük porlu ProOsteon 200 ile karşılaştırılması	Büyük por yapısının içine 3 kat daha fazla kemik büyümesi (bone ingrowth) tespit edildi	98
	Hayvan		+	Uzun kemik defektleri ve spinal füzyon	HA, otogreft karşılaştırılması	HA implant iyi kemik büyümesi (bone ingrowth), rezorpsiyon veya enflamatuar yanıt göstermemesi ve remodeling'i az olmasına karşın biyomekanik ve radyografik olarak otogreftten kötü sonuç verdi	47,48,50

Devamı arka sayfada!

Tablo II (Devamı)  
**Hidroksiapatit'in Osteokondüktif Matriks Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar**

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
	Hayvan		+	Radiusta kritik boyutta defekt	HA, TKF, Collagraft +/- kemik iliği, otogreft karşılaştırması	Kaynama için TKF ve HA'ya mutlaka kemik iliği desteği gerekli; Collagraft için kemik iliği pozitif etkili ama mutlaka gerekli değil. Kaynama için pozitif etkili greft yıkımı sadece TKF'de görüldü. Sadece TKF + kemik iliği otogreft eşdeğer radyografik ve biyomekanik özellikler gösterdi	55
Healos	İnsan	30	+	Spinal füzyon	HA iliak otogreft karşılaştırılması	HA grubunda %91 kaynamaya karşı iliak otogreft grubunda %100 kaynama	42
	Hayvan		+	Spinal füzyon	HA iliak otogreft karşılaştırılması	Çalışma ve kontrol gruplarında eşdeğer radyografik ve biyomekanik özellikler tespit edildi	41,104
Endobon	İnsan		-		Metafiz defektleri	Vaka sunumu serilerinde iyi sonuçlara rağmen 1996'dan beri yayınlanan çalışma yok	44,64,95,102
Surgibone	Hayvan		-		Kas içi kemik oluşumu	Altıncı haftada fibröz bir kapsül içinde enflamasyon dışında bir reaksiyon yok. Osteoid veya osteoblast yok.	4
Pyrost	Hayvan		-		Kas içi kemik oluşumu	Enflamatuvar cevap yok, bağ dokusu kapsül yapısı var, kemik oluşumu yok	4
Callopat	Hayvan		-		Kas içi kemik oluşumu	Hafif bir enflamatuvar cevap, kemik oluşumu yok	4

Koral HA, scleractinian *genus goniopora* nin bir türevidir. Bu mercan geniş por çapı ve 220-260 nm arası değişen bağlantıları ile kanselöz kemiğe çok benzer<sup>14</sup> (integre 500  $\mu\text{m}$ , Interpone Cross Int. Irvine, California). Bunun yanı sıra *genus porites* cinsi mercanın yapısı ise 200-250  $\mu\text{m}$  arası por çapı ve 190  $\mu\text{m}$ <sup>36</sup> bağlantıları ile interstisyel kortikal kemiğe benzerlik gösterir (Interpore 200  $\mu\text{m}$ , Interpore Crom Int., Irvine, California). İmplantasyon sonrası kemiğin mercan poroz yapısı içine büyümesi sonucu implantın mekanik özellikleri üzerlerini kaplayan kemik yapıya bağlı olarak anlamlı şekilde kuvvetlenir. Bucholz ve ark<sup>14</sup>, köpeklerde tibia metafiz defekti modelinde

yaptıkları çalışmada, altı aylık takip sonrası, defekte uyguladıkları mercan implantların mekanik gücünün normal kanselöz kemiğin üç katı ve yine aynı modelde uygulanan kanselöz otogreftlerden %50 fazla olduğunu göstermişlerdir. Mercan HA'nın yavaş emilmesi birçok klinik uygulamada dezavantaj olarak görülmektedir. Emilim hızını artırmak için mercan implantların hazırlanmasında bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu geliştirmelerden biri HA'nın kalsiyum karbonat ile birleştirilmesidir. Bu kompozit bileşik kalsiyum karbonatın hidrotermal yolla kısmi olarak hidroksiapatite çevrilmesiyle elde edilir. Bu işlem sonucu üstü ince bir HA tabakasıyla kaplı bir

kalsiyum karbonat ana yapısı ortaya çıkar. Sonuç olarak bu kompozit implantın erken dönemdeki biyolojik davranışı, saf bir mercan HA implantı gibidir. Birkaç ay sonra HA tabakası erir, kalsiyum karbonat yapı açığa çıkar ve kısa zamanda rezorbe edilir. Bu emilebilir mercan türevi HA kalsiyum karbonat bileşiği (ProOsteon 500 R™, Interpore Cros International, Irvine, California) trombositce zengin plazma konsantrasyonu ile beraber kullanılarak koyunlarda omurga füzyon modelinde denenmiştir. Sonuçlar açık olarak göstermiştir ki, büyüme faktörleri (özellikle TGF-β) içeren konsantrasyonun eklenmesiyle emilebilir mercan HA sentetik greftlerinde artan osteoblastik aktivite greftin daha derinine inmekte ve daha yoğun olmaktadır. Bu da otojen tedavinin osteokondüktif seramiklerin bioaktivitesini kuvvetlendirdiğinin açık kanıtıdır<sup>112</sup>.

Yapılan tüm hayvan deneylerinde, mercan HA'nın otojen kemik greftiyle karşılaştırma sonuçları kötü olmasına karşın, tibial plato kırıklarında Bucholz ve ark. mercan HA ile otojen kemik grefti arasında fonksiyonel açıdan bir fark olmadığını bildirmiştir<sup>13</sup>.

Kemik iliğinin poroz seramiklerin içinde iyi geliştiği ve hayvan deneylerinde mezenkimal kök hücrelerinin en iyi sonuçları hidroksiapatit seramik ile verdiği gösterilmiştir. Günümüze kadar insan kemik iliği ve seramik ortak yapısını, veya yüksek primatlarda trombosit ile zenginleştirilmiş eriyebilir mercan HA'nın kullanıldığı herhangi bir çalışma yayınlanmamıştır.

Son zamanlarda Avrupa'da bir başka HA ile şekil verilebilir kollajen sünger karışımı ürün piyasaya sürülmüştür. Burada amaç HA'nın osteokondüktif özelliği, mekanik sağlamlığıyla kollajenin elde şekil verilebilir ve eriyebilir olma özelliklerini taşıyan bir ürünün elde edilmesidir. Bir randomize insan deneyinde, 50 lomber omurga füzyonunda %100 başarı sağlayan otogreftte karşı HA/kollajen greftinin kullanımıyla %91 başarı sağlanmıştır<sup>43</sup>. Ayrıca bazı hayvan deneylerinde, bu ürün, otogreft ile karşılaştırıldığında radyolojik ve biyomekanik testlerde benzerlikler göstermiştir<sup>42,105</sup>.

### TRİKALSİYUM FOSFAT

Kalsiyum fosfat seramiğin en bilinen bileşiği trikalsiyum fosfattır (TKF). TKF implantlar, TKF toz şeklinin naftalin gibi bir taşıyıcı ile sıkıştırılmasıyla üretilir. Daha sonra taşıyıcı olarak kullanılan naftalin ortamdaki uzaklaştırılır ve poroz yapı ortaya çıkar. Bu üretim tarzı ile TKF implantlar HA'dan 10 ila 20 kat daha hızlı emilir. Buna rağmen bazı deneyler bu seramiğin segmentlerinin vücutta implantasyondan 10 yıl sonra bile kaldığını göstermiştir<sup>2,14,52</sup>. Ayrıca klasik deneylerde HA'nın kompressif testlerde, TKF'nin enjekte edilmeyen formundan daha kuvvetli olduğu gösterilmiştir. TKF'nin başarı ile uygulandığı birçok kullanım alanı vardır (Tablo III). Kortikokospongioz kemik ile karıştırılarak skolyoz ameliyatlarında, benign tümör eksizyonu ve travma sonrası defektleri doldurmak için kullanılmakta ve takipler olumlu sonuçlar göstermektedir<sup>2,69</sup>.

Tablo III

#### Trikalsiyum Fosfat'ın Osteokondüktif Matriks Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
Norian	İnsan	40	+	Konservatif tedavi sırasında redüksiyon kaybı olan radius distal uç kırıkları	Norian, eksternal fiksator karşılaştırması	Yedinci haftada Norian grubu daha iyi yakalama, ekstansiyon ve supinasyon gösterse de üçüncü ay sonunda gruplar arası fark yok. Her iki grup da, Norian grubu biraz daha fazla olmak üzere ilerleyici redilokasyon gösterdi	62
	İnsan	323	+	Distal radius kırıkları	Norian+alçı, sadece alçılama veya sadece eksternal fiksator karşılaştırması	Erken sonuçlar Norian grubunda daha iyi, ama birinci sene sonuçları eşdeğer; klinik olarak redüksiyon görüntüsünde fark yok. Eksternal fiksator grubunda daha yüksek enfeksiyon oranı, Norian grubunda ise materyelin yumuşak dokuya kaçması ile ilgili problem var.	63

Devamı arka sayfada!

Tablo III (Devamı)

**Trikalsiyum Fosfat'ın Osteokondüktif Matriks Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar**

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneği	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deneş Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
	İnsan	91	-	Femur boyun ve intertrokanterik kırıklar	Norian+ARİF	Önceki çalışmalarla eşdeğer kaynama oranları ve materyelin yumuşak dokuya kaçmasıyla ilgili tartışma	40
Biosorb	İnsan	54	-	Skolyoz	Otogreft+Biosorb, otogreft+allogreft karşılaştırması	Her iki grupta da %100 füzyon, implant 2 sene sonunda tamamen rezorbe	68
TKF	İnsan	50	-	Travma, kist veya tümör nedenli kemik defektleri		%95 iyi enkorporasyon, 4 kist rekürensi	2,13

Son zamanlarda çalışmalar enjekte edilebilir TKF çimento yapımı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu nedenle enjektabl TKF'ler perkütan uygulamalar için TKF'nin diğer bir formu olarak üretilmiştir. Bu çimentolar çeşitli oranlarda TKF, dibazik dikalsiyum fosfat ve tetrakalsiyum fosfat monoksit karışımlarıdır. Uygulama öncesi karıştırılarak kıvamlı bir sıvı elde edilir ve dakikalar içinde sertleşir. En önemli özelliği bu sertleşme reaksiyonu sırasında fazla ısı açığa çıkartmamasıdır<sup>32</sup>. Bu enjektabl çimentolardan bir örnek Norian SRS'dir (Norian Corp, Cupertino, California). TKF, mono kalsiyum fosfat monohidrat ve kalsiyum karbonat karışımı bir toz ve sodyum fosfat içeren sıvıdan oluşur. Bileşenleri karıştırılarak oluşturulan seramik bileşik yük taşımayan bir defekte doldurulabilir veya enjekte edilir<sup>47</sup>. Sertleşme süresi 10 dakika kadardır. HA ile karşılaştırıldığında, Norian SRS'nin küçük tanecik ve kristal yapısı nedeniyle osteoklastik emilimi daha kolaydır<sup>20</sup>. Hayvan deneylerinde çimentonun in vivo remodelasyonunun gerçekleşerek, kristal yapının içindeki karbonat yardımıyla konak kemik yapısına döndüğü gösterilmiştir. Histolojik olarak incelendiğinde, uygulamadan birkaç hafta sonra greft içinde damarsal kanallar görülmüş ve hızlı bir osteoklastik aktivite saptanmıştır. Bunu takiben yeni kemik oluşumu başlar. Bu dönüşüm sırasında minimal (çok düşük ve önemsiz nitelikte) enflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonu görülmüştür. Klasik olarak çimento kırık hattına veya kemik defektlerine açık veya kapalı metodlar ile enjekte edilebilir. İlk klinik kullanım distal radius ve femur boyun kırıkları için bildirilmiştir. Jupiter ve ark<sup>57</sup>, perkütan Norian SRS enjeksiyonu sonrası alçı tedavisiyle beş ekstraartiküler instabil distal radius kırığında tedavi sonucunun çok iyi olduğunu bildirmişlerdir. Hemen sonrasında, randomize prospektik bir çalışmada,

Norian SRS artı alçılama tedavisi, eksternal fiksatörler ile karşılaştırılmış ve bir senelik sonuçlar çok iyi olarak bildirilmiştir. Ancak çimentonun etraf yumuşak doku içine taşması bir dezavantaj olarak yorumlanmaktadır<sup>64</sup>. Diğer bir randomize çalışmada, Kopylov ve ark<sup>63</sup> konservatif tedavi sırasında deplase olan distal radius kırığı tedavisinde Norian SRS ile external fiksasyonu karşılaştırmışlar ve Norian ile tedavi edilen grubun 7. haftada daha iyi yakalama kuvveti, bilek ekstansiyonu ve daha fazla önkol supinasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Her iki metod da kırığı tam stabilize edememiş ve zaman içinde grafilerde ilerleyici deplasman görülmüştür. Goodman ve ark<sup>41</sup> çok merkezli bir çalışma ile deplase femur boynu kırıklarında Norian SRS'nin tedavi etkinliğini araştırmışlardır. Kırık redüksiyonunu takiben uygulanan kanüle vidaların içinden Norian SRS enjeksiyonu yapılmıştır. Son kontrolde 92 hastadan 9 tanesine kaynamama ve fiksasyon kaybı nedeniyle total kalça artroplastisi uygulanmıştır. Aynı merkezlerde, intertrokanterik femur kırıklarında kullanmak üzere Norian SRS ile enjeksiyonu kayıcı bir kalça çivisinin pilot çalışması yapılmıştır. Çalışma kriterlerine uyan 39 hastaya, kapalı redüksiyonu takiben intertrokanterik ve posteromedial defektli bölgeye Norian SRS enjeksiyonu ve kayıcı kalça çivisi uygulanmıştır. Tüm kırıklar 6. ay takibinde kaynamış olarak değerlendirilmiştir. Ama bu çalışmanın tartışmasında enjektabl seramiklerin potansiyel bir problemden bahsedilmiş ve bu enjeksiyonun zaten kırık ile bozulan beslenmeyi daha da bozarak avasküler nekroz ve kaynamama riskini artırabildiği belirtilmiştir.

**KALSİYUM SÜLFAT BİLEŞİKLERİ**

1970'li yılların sonunda Peltier unikameral kemik kistinin kaviter defektlerini doldurmak için kalsiyum

sülfat (alçı tozu) kullanımını bildirmiştir<sup>91</sup> (Tablo IV). Yirmialtı hastalık serisinde kalsiyum ile ilgili ciddi bir komplikasyon olmadığını ama iki hastada rekürrens geliştiğini bildirmiştir. Daha yeni bir araştırmada 13 hastada selim kemik kistlerinin ameliyatı sonucu oluşan defektler kalsiyum sülfat ile doldurulmuş ve başarılı sonuçlar alınmıştır<sup>78</sup>.

## BİOAKTİF CAMLAR

1999'dan beri silika bazlı yeni bir ürün Novabone Avrupa piyasasında olmasına rağmen literatürde insan deneyleri henüz yayınlanmamıştır (Tablo IV).

TKF ve %30 HA bileşimidir. Bu implantlar vücuda yerleştirildiğinde TKF süratle emerek altındaki HA'yı ortaya çıkarır ve bu stabil ve uzun ömürlü iskelet yapı üstünde yeni kemik oluşumu sağlanmaya çalışılır<sup>32</sup>. Ponsuti ve ark.<sup>90</sup> skolyoz tanısıyla faset eklem füzyonu ve internal fiksasyon uyguladıkları 12 adolesan hastada HA/TKF blokları kullanmışlardır. Hastaların bazılarında otojen greft HA/TKF'ye karıştırılmıştır. 15 aylık klinik ve radyolojik takip hastaların hepsinde füzyon geliştiğini göstermiş ve iki hastada yapılan biyopsiler ile seramik porlara (kanallarda) kemik üremesi

Tablo IV

## Değişik Materyellerin Osteokondüktif Matriks Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar

Greft Materyeli	Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
Kalsiyum Karbonat	Inoteb	Hayvan		+	T 7-8 füzyon	İliak otogreft Inoteb karşılaştırması	İliak otogreft Inoteb'e göre daha fazla mekanik dayanıklılık ve kaynama oranı gösterdi	30,3
Biyoaktif Cam	NovaBone	Çalışma yok						
	45S5	Hayvan		+	Femoral kondilde 6 mm çapında defekt	HA, 45S5 karşılaştırması	Her iki materyele de iyi kemik üremesi saptandı. 45S5 daha hızlı rezorbe oldu	87
Kalsiyum Sülfat	Osteoset	İnsan	39	-	İyi huylu lezyonların kretaji ile gelişen kaviter defektler	Kist kavitesinin greftlenmesi	Ciddi komplikasyon yok, 2 hastada rekürrens gözlemlendi	77,9
Allogreft	NA	Hayvan		+	Spinal füzyonlar ve uzun kemik defektleri	Otogreft, donmuş veya soğuk kurutulmuş allogreft karşılaştırması	Kaynama oranı ve biyomekanik olarak otogreft üstünlüğünü gösteren birçok çalışma var	3,22

Hidroksiapatit (HA).

## KALSİYUM KARBONAT

Fransa'da kalsiyum karbonat içerikli bir ürünün (Inoteb), köpekler üzerinde yapılan T 7-8 anterior füzyon çalışmalarında, otojen trikortikal iliak greftinden daha kötü sonuçlar verdiği bildirilmiştir<sup>31,34</sup> (Tablo IV).

## ALLOGREFT

Birçok çalışma, allogreftlerin uygun osteokondüktif özellikleri olduğunu göstermiştir. Ama altın standart otojen greftler ile karşılaştırıldığında kötü biomekanik özellikleri ve düşük kaynama oranları vardır. Bu da daha önce belirttiğimiz gibi biyolojik olarak zayıf özellikte olup enfeksiyon ve enflamasyon riskleri taşımaktadır<sup>32,67</sup> (Tablo IV).

## HA/TKF BİLEŞİKLERİ

Sentetik seramik üretiminin tamamen değişik bir ürünü de bifazik kalsiyum fosfat bileşikleridir. Çeşitli oranlarda karıştırılabilen seramiklere bir örnek %70

histolojik olarak kanıtlanmıştır. Bu pilot çalışmanın ardından, otojen iliak kanat greftini HA/TKF + dekortikasyon ile karşılaştıran randomize bir çalışma yapılmış ve 58 hastanın hepsinde benzer iyi klinik radyografik ve fonksiyonel sonuçlar elde edilmiştir. Buna ek olarak HA/TK seramiği ile tedavi edilmiş hastalarda daha az kan kaybı ve ameliyat sonrası komplikasyon ve ağrı görülmüştür<sup>27</sup> (Tablo V).

Chapman ve ark. HA/TKF seramiğini otojen kemik iliği ile karıştırarak travmatik uzun kemik kırıklarının tedavisinde kullanmışlar, iliak kanat otojen kemik greftine benzer füzyon ve fonksiyonel sonuçları daha düşük enfeksiyon oranlarıyla almışlardır<sup>16</sup> (Tablo V).

## OSTOİNDÜKTİVİTE

Osteoindüktif özellikler taşıyan kemik grefti ürünleri iki sınıfta incelenebilirler. Bunların birincisi Demineralize Kemik Matriksi (DBM) ürünleridir, son yıllarda rekombinant yolla sentetik olarak üretilmiş büyüme faktörleri de ikinci sınıfı oluşturur.

Tablo V  
**HA/TKF Kompozitlerinin Osteokondüktif Matris Olarak Kullanımını Destekleyen Çalışmalar**

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneyi	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deney Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
Collagraft	İnsan	213	+	Uzun kemik kırıkları	Kemik iliğiyle desteklenmiş Collagraft, iliak otogreft karşılaştırması	Kaynama ve fonksiyonel açıdan sonuçlar eşdeğer; iliak otogreft ile enfeksiyon oranı daha yüksek; 12 hastada bovin antikor gelişimi saptandı ama klinik reaksiyon görülmedi	15
	Hayvan		+	Kritik boyutta radial defekt	HA, TKF, Collagraft +/- kemik iliği, otogreft karşılaştırması	Kaynama için TKF ve HA'ya mutlaka kemik iliği desteği gerekli; Collagraft için kemik iliği pozitif etkili ama mutlak gerekli değil. Kaynama için pozitif etkili greft yıkımı sadece TKF'de görüldü. Sadece TKF+ kemik iliği otogreftte eşdeğer radyografik ve biyomekanik özellikler gösterdi	55
Triosite	İnsan	58	+	Skolyoz	Triosite+ vertebral dekortikasyon, iliak otogreft karşılaştırması	Her iki materyel 12 ay içinde enkorpore oldu, koreksiyon kaybı görülmedi. Triosite ile ameliyat sonrası iliak kanat şikayetleri olmadı ve daha az kan kaybı gözlemlendi. Tüm hastalar 12 ay içinde işlerine döndüler; 27 iliak otogreft hastasının 5'inde hafif ağrı şikayetleri kaldı.	26

Hidroksiapatit (HA); Trikalsiyum Fosfat (TKF).

### DEMİNERALİZE KEMİK MATRİKSİ (DBM)

Bugün "Bone Morphogenetic Proteins" (BMP) adını verdiğimiz büyüme faktörleri ilk kez DBM'den ekstrakte edilmiş olup DBM'ye biyolojik aktivitesini vermektedir<sup>5</sup>. BMP'nin babası sayılan Urist 1965 yılında ilk kez DBM'yi farelerin baldır kasına implante ederek ektopik kemik oluşumunu stimüle etmiştir<sup>110</sup>. Bu deneyin sonucu Urist'in hipotezine göre DBM kemik oluşumunu başlatan bir bileşik içermektedir. Bu bileşik mezenkimal hücreleri kondroblast, osteoblast ve hematositoblastlara dönüştürerek endokondral kemik oluşturmaktadır<sup>109,111</sup>. Görüldüğü gibi DBM hem osteokondüktif, hem de osteoindüktif özellikler içermektedir.

Seyreltik (0.5N) hidroklorik asit ile kalsiyum hidroksiapatitin kemikten uzaklaştırılması sonucunda DBM elde edilir. Bu ürün kollajen, nonkollajenik proteinler (osteokalsin osteonektin, osteopontin vb.) ve birçok büyüme faktörü içerir. Bu büyüme faktörlerinin mitojenik, anjiyojenik ve hücre değişimi (differentiating) gibi farklı fonksiyonları vardır ki bunlar kemik kırıklarının iyileşmesi ve yeni kemik oluşumu için temel gereksinimlerdir. Birçok

araştırmacı demineralize kemiğin osteoindüktif etkisini gerek hayvan gerekse insan deneylerinde defalarca göstermiştir.

DBM kemik rejenerasyonu ve üremesini kolaylaştırmak ve stabilite sağlanmış kemik defektlerinin tamirinde kullanılmaktadır. Ayrıca, kist ve tümör defektleri, kırık tamirleri, kaynamama ve artrodezlerde kullanılan otojen kemik greftlerine karıştırılarak kullanılır<sup>61,77,107</sup> (Tablo VI). Diğer kemik greftlerine eklenerek kullanımı da mümkündür. Bu ürünler ile gelişen kemik yapının mekanik özelliklerinin otogreftler ile karşılaştırılabilir olduğu bildirilmiştir<sup>36,66</sup>.

Hayvan deneyleri DBM'nin tek başına<sup>30</sup> otojen kemik greftleriyle<sup>82,106</sup> ve seramikler ile kullanıldığında osteoindüktif özelliğini göstermiştir<sup>1</sup>. Ama son yıllarda yapılan bazı hayvan deneyleri, olumlu literatür bilgisine rağmen, DBM'nin stabil bir spinal füzyon için o kadar da etkili olmayabileceğini bildirmiştir<sup>23,46,79</sup>.

Klinik çalışmalarda DBM başarılı sonuçlar vermiştir. Glowachi ve ark. kraniyofasial rekonstrüksiyonlarda DBM kullanmışlardır<sup>38-40,80</sup>. Tiedeman ve ark.<sup>107</sup>



Tablo VI  
Demineralize Kemik Matriksinin (DKM) Füzyonu Arttırdığını Destekleyen Çalışmalar

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneği	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deneş Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
Grafton	İnsan	34	-	Çeşitli ayak ve ayak bileği füzyonları	Sadece Grafton, Allogreft/Grafton, veya Otogreft/Grafton karşılaştırması	Tüm vakalar iyi greft enkorporasyonu ile kaynakadı	57
	İnsan	24	+	Fibuler defekt	BMP7, Grafton, kendi haline bırakma karşılaştırması	6 hasta üzerinden Grafton ile 4, BMP7 ile 5 fibula kaynakadı. Tedavisiz bırakılan deneklerden hiçbirini kaynamadı.	36
	Hayvan		+	Spinal füzyon	Grafton +/- Otogreft, sadece Otogreft karşılaştırması	Eşdeğer kaynama oranları, ama Grafton/Otogreft kombinasyonu daha iyi, en iyi sonuçlar tabaka (Flex) formundaki Grafton ile elde edildi	75,78
Opteform	Çalışma yok						
Osteofil	Çalışma yok						
Dynagraft	Çalışma yok						
Lubboc	İnsan	27	-	Asetabular rekonstrüksiyon	Lubboc, allogreft karşılaştırması	Osteoliz veya greft oynaması görölmedi. Radyografik olarak allogreft ile eşdeğer bir görüntüsü var	71

DBM'nin tek başına ve otojen kemik iliği ile karıştırarak parçalı kırıkları, artrodezler ve canlı hastalardaki kemik defektlerinde kullanmış ve otojen kemik iliğiyle karıştırılan DBM'nin iliak kanat otogrefti kadar etkili olduğunu belirtmiştir. Bu seride 30 hasta (%77) radyolojik tam kaynama göstermiştir. Michelson ve ark.<sup>77</sup> arka ayak füzyonlarında iliak kanat otogreftiyle DBM'yi karşılaştırmıştır. DBM grubunda tüm hastalar<sup>29</sup> kaynamış, iliak grubunda ise 15 hastanın 13'ü kaynama göstermiştir. Kaynama zamanı 3-4 ay arasında olup grupları arası farklılık görülmemiştir. Bu çalışma ayak arkası artrodezlerinde, DBM'nin otojen iliak kemik greftiyle karşılaştırabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Killian ve ark.<sup>61</sup> ünükameral kemik kisti tedavisinde DBM kullanmışlar ve iki senelik takiplerde 11 hastanın sadece 2'si rekürrens göstermiştir.

DBM, Grafton (Osteotech, Shrewsbury, NJ) adıyla piyasada mevcuttur. Bu ürün, üç ticari şekilde kullanılabilir: Jel (enjeksiyon), putty (hamur

kıvamında elyaf yapısında) ve flex olarak adlandırılan elastik tabaka. Hayvan deneylerinde<sup>29</sup> Grafton'un tek başına veya otogreftler ile beraber<sup>76,79</sup> kullanıldığında osteoindüktif özellikleri kanıtlanmıştır. DBM'nin üretimi sırasında virüsleri inaktive ettiği de gösterilmiştir. Kullanımdaki dezavantajı ise greftin yapısal kuvveti olmadığından yük taşıyan bölgelerde kullanılmamasıdır.

Diğer DBM ürünleri Opteform TM, Osteofil TM (Regeneration Technologies, Inc., Alachua, Florida) ve Dynagraft (Gensci Regeneration Lab. Inc., Irving, California) isimleri altında piyasaya verilmiştir. İlk iki ürün jelatin kollajen bir taşıyıcı içinde DBM içermektedir. Katı yapıda olup, uygulama için şekillendirmeden önce ısıtılması gerekmektedir. Ayrıca ürünün nem miktarının sabit kalması gerektiğinden donmuş dokular gibi saklanmalıdır. Dynagraft ürünlerinin jel ve putty şekli polimer bir taşıyıcı, matris şekli (tabaka) ise kollajen bir taşıyıcı içinde DBM içermektedir. Halen, Osteofil ve Dynagraft ile ilgili herhangi bir klinik deney veya hayvan çalışması yoktur.

## KEMİK MORFOGENETİK PROTEİNLERİ (BMP) VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Akut enflamasyon ve doku hasarı sonrası tüm tamir olayları gibi kırık iyileşmesi de kimyasal mediatörler ile yönetilir. Kemik matriksinden kaynak alan birçok büyüme faktörleri kırık iyileşmesinde önemli roller oynamaktadır. Kırık kaynaması karışık bir işlemdir. Hücre farklılaşmasını ve yeni kemik oluşumunu yapım ve yıkım yönünde etkileyen birçok peptid yapının dengeli çalışmasını gerektirir. Bu mediatörler birçok kaynaktan salgılanabilir ve birden fazla fonksiyonları olması yanında diğer organların rejenerasyonunu da etkilerler.

Bugünkü bilgilerimize göre osteoindüktif faktörler, vücutta birçok hücre grubunun farklılaşmış fenotiplerinin üretilmesi ve çoğalmasını kontrol eden polipeptid büyüme faktörlerinin bir üst ailesidir. Günümüzde bilinen kimyasal mediatörler grubu şunlardır (Tablo VII):

1. TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor- $\beta$  ailesi: BMP'ler (BMP-1 hariç), BMP'lerin bir alt grubu olan GDF2'ler (1-10) inhibitörler, aktivinler ve gliol nörotropik faktör bu grupta yer alır.
2. a-FGF ve b-FGF (Fibroblast Growth Factor asitik ve bazik).

Tablo VII  
Büyüme Faktörlerinin Füzyonu Arttırdığını Destekleyen Çalışmalar

Greftin Piyasa İsmi	İnsan ve Hayvan Deneği	Denek Sayısı	Randomizasyon?	Deneş Konusu	Kullanılan Materyel	Sonuçlar	Referanslar
BMP2	Hayvan		+	Spinal füzyon ve uzun kemik defektleri	Çeşitli taşıyıcılarla (kemik iliğı, iliak otogreft, DKM) karıştırılan BMP2, iliak otogreft karşılaştırması	BMP2'nin biyomekanik ve kaynama oranı olarak üstünlüğünü gösteren birçok çalışma mevcut	9,61,67,68,80,94,7,100,116,117
BMP7 (OPI)	Hayvan		+	Spinal füzyon ve uzun kemik defektleri	Çeşitli taşıyıcılarla karıştırılan BMP7, iliak otogreft karşılaştırması	BMP7'nin biyomekanik ve kaynama oranı olarak üstünlüğünü gösteren birçok çalışma mevcut	20,21,23,24
	İnsan	24	+	Fibular defekt	BMP7, Grafton, kendi haline bırakma karşılaştırması	6 hasta üzerinden Grafton ile 4, BMP7 ile 5 fibula kaynadı. Tedavisiz bırakılan deneklerden hiçbiri kaynamadı	36
	İnsan	124	+	Tibial kaynamama	BMP7, iliak otogreft karşılaştırması	BMP7 grubunda %81, iliak otogreft grubunda ise %85 kaynama saptandı	32
NeOsteo (Bovine BMP karışımı)	Hayvan		+	Spinal füzyon ve uzun kemik defektleri	BMP+DKM veya otogreft, iliak otogreft karşılaştırması	BMP eklenmesiyle kaynama oranları ve biyomekanik özelliklerde artış gözlemlendi	7,99
Non spesifik İnsan BMP	İnsan	43	-	Segmental defektler ve kaynamama	BMP+ otogreft	43 hastadan 42'sinde kaynama sağlandı	52-54
Non spesifik Büyüme Faktörleri konsantresi	İnsan		-	Spinal füzyon	Büyüme faktörleri + otogreft	Erken greft konsolidasyonu ve yüksek kaynama oranı gözlemlendi	70,74
bFGF	Hayvan		+	Fibular osteotomi	Perkütan tek enjeksiyon, taşıyıcı madde enjeksiyonu karşılaştırılması	Daha büyük kallus ve artmış kılma gücü	91

Demineralize Kemik Matriksi (DKM); Bone Morphogenetic Proteins (BMP); Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF).

3. PDGF (Platelet Derived Growth Factor).
4. IGF I-II<sup>60</sup> (Interleukin like Growth Factor).

Normal koşullar altında bu faktörlerin tümü karmaşık bir sıra ile salgılanıp, beraber çalışarak kemik oluşumunu başlatır<sup>5</sup>. Bu faktörler içinde en önemlileri kemik yapım ve tamirinde mihenk taşı rolünü üstlenen düşük molekül ağırlıklı BMP'lerdir<sup>116</sup>.

BMP'ler bölgesel osteoblast ailesinden progenitor hücreleri uyarak ve kemik kollajen sentezini arttırarak encondral kemik üretimini başlatan düşük molekül ağırlıklı (30-40 kDa) peptidlerdir<sup>59</sup>.

İlk kez Urist, DBM'den Guanidin HCl ile kollajen dışındaki proteinleri ekstrakte etmiş ve bu bileşiği klasik kromatografi yöntemleriyle daha da saflaştırarak kemik üretme potansiyeli olan ve human bone morphogenetic protein (hBMP) diye isimlendirdiği bir karışım elde etmiştir. hBMP ve benzer olarak osteogenin (BMP-3) insan kemik matrislerinden elde edilmiştir ve rekombinant teknikle üretilen rhBMP'ler gibi saf peptid yapı içermez. Bu yapı birçok farklı BMP polipeptidi yanı sıra diğer büyüme faktörü polipeptidleri de (mitojenik, anjiyojenik vb.) içermektedir.

Johnson ve ark.<sup>54,55</sup> spinal füzyon ve yerleşik psödoartroz tedavisinde insan BMP ekstratesini (hBMP) kullanmış ve spinal füzyonlarda %100, yerleşik psödoartrozlarda %93 başarı oranı bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki 70 hastada BMP kullanımına ilişkin bir yan etki bildirilmemiştir. Sandhu ve ark.<sup>93</sup> posterior entrümantasyon sonrası psödoartroz gelişen 5 vakada hBMP ve otojen kemik grefti kullanmışlar ve 4 hastada tam kaynama elde etmişlerdir. Buna benzer bir yaklaşım da ameliyat öncesi bağışlanmış kandan hazırlanmış büyüme faktörlerinin konsantrasyonunun otojenik kemik greftine eklenmesidir<sup>71</sup>. Sigara tiryakileri ve daha önce başarısızlıkla sonuçlanmış füzyonlarda bu teknik kullanılarak olumlu sonuçlara ulaşılmıştır<sup>75</sup>.

Rekombinant gen teknolojisiyle üretilen BMP'ler klinik ve temel araştırmalarda kullanılmaktadır. Günümüze dek 26 rhBMP rapor edilmiştir. Ancak bu BMP'lerin pek çoğunun isimlerine rağmen kemik, kıkırdak, tendon veya bağ dokusu yapımı ile ilgileri yoktur. Kemik yapımı da etkili olduğu bilinen rhBMP'ler, rhBMP-2 ve rhBMP-7 (diğer adıyla Osteogenin Protein = OP-1) ve GDF-5 (MP-52, BMP-14) çeşitli deneysel hayvan modellerinde başarıyla kemik oluşturmuştur.

Kollajen, guanidin, HCl-demirize kemik matriksi veya vücutta eriyebilen polimerler ile beraber kullanıldıklarında, bu BMP'ler kemirgen, köpek,

koyun ve primat (maymun) modellerinde büyük kemik defektlerini iyileştirme kapasitesine sahiptir. BMP'ler kırık iyileşmesinde önemli rol oynar. Bostrom ve ark. fare kırık kalluslarının değişik safhalarında, BMP-2 ve BMP-4'ü immunohistokimyasal teknikler kullanarak başarıyla göstermişlerdir. Bu çalışma BMP'nin encondral membranöz kırık iyileşmesindeki fizyolojik yerini göstermesi açısından çok önemlidir. Encondral kırık iyileşmesinin erken evrelerinde kallus içinde sadece birkaç primitif hücre pozitif boyanırken, encondral kemik yapımı başladığında, özellikle primitif mezenkimal ve kondrositik hücrelerde BMP-2 ve BMP-4'ün miktarı anlamlı oranda çoğalmıştır<sup>11</sup>.

Günümüze kadar olan BMP çalışmaları hayvan modellerinde geliştirilmiştir. İnsan çalışmaları halen ABD ve Avrupa'da devam etmektedir. Yasko ve ark.<sup>117</sup> tip I kollajen ile kombine BMP kullanarak farede 5 mm'lik femoral defektlerde %81 kaynama bildirmişlerdir. Koyun modellerinde rhBMP-2 kullanarak uzun dönem kaynama çalışmaları Kinker-Head ve ark.<sup>62</sup> tarafından incelenmiş ve 12 ayda tüm defektin kapanıp, remodelize olduğu görülmüştür. Bu çalışmada woven ve lamellar kemik dokusu sırasıyla defekti doldurmuş, normal bir kaynama sırasında görülen ossifikasyonu, kemik modellemesi ve remodellemesi izlemiştir. Zegzula ve ark.<sup>119</sup> tavşan radiuslarında hazırladıkları kritik defektleri rhBMP-2 ve PLA (poli DL-laktik asit) ile doldurmuşlar, histomorfometrik ve radyolojik olarak kemik oluşumunun otojenik grefte benzer olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada gerek otojenik greft, gerekse rhBMP-2 doldurulmuş defektler taşıyıcı doldurulmuş kontrol gruptan istatistiksel olarak çok daha iyi bir performans göstermişlerdir. Cook ve ark.<sup>21,22,25</sup> fare, köpek ve primatlarda BMP-7'yi (OP-I) denemişlerdir. Afrika yeşil maymunu kullanarak yaptıkları deneyde 6 ulnadan 5'i ve 5 tibiadan 4'ü tamamen kemik köprü ile birleşmiş ve 4-6 hafta içinde kaynamıştı. Aynı seride kontrol olarak otojen kemik grefti kullanılan tüm tibia ve ulna defektleri fibröz kaynama göstermiş ve minimal kemik oluşumu olmuştur.

Bu doğrultuda, ilk BMP'ler spinal füzyonlarda denenmeye başlandı. Rekombinant faktörlerin denenmesi içinde Boden ve ark.<sup>6,7</sup>, Sandhu ve ark.<sup>94</sup>, Schimandle ve ark.<sup>97,98</sup> ve Muschler ve ark.<sup>81</sup> çeşitli omurga modelleri geliştirdiler. Sandhu ve ark.<sup>94,95</sup> köpek interspinöz proses modelinde yaptığı rh BMP-2 çalışmalarında önemli faktörün BMP'nin dozu olduğunu ve kaynamanın dekortikasyondan bağımsız olduğunu bildirdiler. Ayrıca rh BMP-2'nin poliaktik asit taşıyıcısıyla, düşük veya yüksek dozlarda (2.3 mg'den 57 mg'ye) 3.

ay sonunda otojen kemik greftinden daha başarılı sonuçlar verdiği gösterildi. Bu çalışmalarda 3. ayın sonunda %100 kaynama oranı elde edildi<sup>94,95</sup>. Yüksek doz BMP'li füzyonlar düşük doz ile tetiklenen füzyonlardan aksiyel planda daha kuvvetli idi. rhBMP-2'li füzyonlar tüm anatomik planlarda otogreft füzyonundan daha kuvvetli idi. Bu çalışmalar yüksek doz rh BMP-2'nin köpek omurgası posterolateral lomber füzyonunda etkinliğini göstermiştir.

rh BMP-7'nin (OP-1) spinal füzyon etkinliği ise köpeklerde Cook ve ark.<sup>21</sup> tarafından denenmiştir. Sonuçlar rh BMP-7'nin posterior spinal füzyon için uygun ve etkili bir büyüme faktörü olduğunu ve otojen greftten daha hızlı bir şekilde kaynama oluşturduğunu göstermektedir.

Klinik öncesi araştırmaların ışığında pilot insan çalışmaları başlamıştır. Boden ve ark.<sup>8</sup> insan omurgasında rh BMP-2'nin osteoindüktif kapasitesini denemişlerdir. Çok merkezli ama kısıtlı hasta sayısı ile yürütülen bir çalışmada iki grup oluşturulmuş ve anterior fazyon kalıplarına içine 1. grupta otojen iliak greft, 2. grupta ise kollajen ve rh BMP-2 doldurulmuştur. Tüm hastalar tek seviyeli lomber dejeneratif disk hastalığı tanısıyla tek seviyeli anterior lomber füzyon amaçlanarak ameliyat edilmişlerdir. rh BMP-2 grubundaki hastalar otojen iliak greft alınan hastalara göre hastanede daha kısa (2'ye karşı 3,3 gün) kalmışlardır. Rh BMP-2 grubundaki 11 hastadan 10'u 3. ay sonunda, kalan 1 tanesi de 6 ay'ın sonunda kaynamış kabul edildiler. Kontrol (otojen iliak greft) hastalarından 1 tanesi 1 sene sonunda psödoartroz olarak kabul edildi. rh BMP-2 ile indüklenen füzyon grubunda, BT ile yapılan kontrollerde kalıbın içinde ve önünde yeni ve devamlılığı olan kemik oluştuğu gösterildi.

13-16 mm'lik fibular defektlerin onarımı için yapılan randomize çalışmada Grafton (DBM), OP-1 (BMP-7) ve plasebo karşılaştırılmıştır. Defektin tamamen onarılmasında OP-1, 6 hastanın 5'inde, Grafton, 6 hastanın 4'ünde başarı sağlamıştır. Plasebo hastalarının hiçbirinde defekt kapanmamıştır<sup>37</sup>.

TGF- $\beta$  süper ailesinin diğer bir başka üyesi de bazik fibroblast büyüme faktörüdür (bFGF). Anjiyojenik ve mitojenik özelliği pek çok in vitro ve in vivo araştırmada kanıtlanmış olan bFGF hyalüronan jel taşıyıcıyla kullanıldığında bazı hayvan kırık iyileşme modellerinde de başarılı sonuçlar vermiştir. Radomsky ve ark bu kompoziti babun fibulalarındaki 1 mm'lik osteotomilerin tedavisinde tek bir perkütan enjeksiyonla

denemişlerdir<sup>92</sup>. Bu araştırmacılar, fibulaların kalluslarının kontrol gruptakilere oranla daha büyük ve biyomekanik olarak test edildiklerinde %30-50 daha dayanıklı olduklarını bildirmişlerdir. bFGF'nin kullanıldığı klinik araştırmalar Avrupa ve ABD'de halen devam etmektedir.

## SENTETİK KOMPOZİT GREFTLER

Lane ve ark.<sup>68</sup> kompozit biosentetik kemik greftlerinin önemini araştıran bir çalışmada, inert, biodegradabl, polilaktik glikolik asit matriksi (PLGA) içinde kemik iliğinin ve rh-BMP-2'nin tek başlarına etkilerini, beraber kullanımları ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın amacı osteoprogenitör hücrelerin ve rh-BMP-2'nin sinerjistik çalışıp çalışmadığının araştırılmasıydı. Bu çalışmanın sonuçları, beraber kullanılan kemik iliği ve rh-BMP-2'nin inert (PLGA) taşıyıcıyla diğer gruplara karşı açık bir üstünlüğünü göstermektedir. PLGA taşıyıcıyla kullanılan kemik iliği + rh-BMP-2 kemik oluşumu, kaynama ve biomekanik kuvvetlilik olarak anlamlı üstünlük göstererek, farede kemik defektlerini doldurmuştur.

Lane ve ark.<sup>68</sup> çalışmasındaki sonuçlar, kemik iliğinin osteokondüktif ve/veya kemik matriksinin çeşitli komponentleriyle karıştırılarak kullanıldığı bir çok çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir<sup>44,73,81,86,104,113,114</sup>.

## SONUÇ VE ÇIKARIM

Bu yazıda ortopedi alanında kullanılan osteoindüktif büyüme faktörleri ve osteokondüktif materyallerin hayvan ve insanlar üzerinde çeşitli prosedürlerde yapılan araştırma ve sonuçları derlenmeye çalışılmıştır. Yeni ameliyat teknikleri, rekombinant protein teknolojisi yanı sıra son yıllarda yeni ve geliştirilmiş osteokondüktif biyomateryallerin yapılması ortopedik ameliyatların başarı yüzdesini arttırmıştır. Makalede görüldüğü gibi değişik materyaller farklı prosedürlerde kullanılmış ve her materyalin başarı oranı prosedüre göre değişmektedir. Kemik iliğinin rh-BMP-2 ile beraber kombinasyonu sinerjistik olup bu çalışmada tüm kemik defektlerini tamamen ve daha kısa sürede onarmıştır. BMP'ler, kemik iliği olmasa da, lokal mezenkimal hücreleri uyararak kemik yapımını sağlar gözükmemektedir. Ama ortama osteoindüktif büyüme faktörlerine yanıt veren osteoprogenitör hücreler eklemek, kemik tamir ve oluşumu sürecini anlamlı şekilde hızlandırmaktadır. Tüm bu çalışmalarda kullanılan (kansellöz allogreft dahil) greft çeşitleri rh-BMP-2 ve kemik iliği beraber

kullanımı ile karşılaştırıldığında hızlı, sonucu önceden tahmin edilebilir ve istatistiki olarak anlamlı, üstün sonuçlar vermiştir. Ayrıca radyasyon almış bir bölge gibi kök hücrelerin olmadığı veya normal fonksiyon göremeyeceği durumlarda, ortama taze kemik iliği vermek veya pediküllü bir kas flebi çevirmek kaynama için kritik faktör olabilir.

Sonuç olarak osteoindüktif büyüme faktörü ve osteokondüktif bir matriksden oluşan sentetik kompozit greftler yeni kemik oluşumu gereken her durum için uygun gözükmektedir. Ama, ortama kemik iliğinden alınan osteoprogenitör hücrelerin de eklenmesi kemik oluşumunu ve kaynamayı kuvvetlendirecek ve iyileşme için gerekli zamanı kısaltacaktır. Bu sonuçlar göstermektedir ki, osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik elementleri içeren bir sentetik kompozit greft, problemlili kemik kayıplarının tedavisinde pratik bir çözüm olabilir. Greftleme alanında osteoindüktif faktörlere yanıt verecek olan progenitör hücrelerin bu faktörlere yakınlığının klinik önemi Lane<sup>68</sup> ve diğer araştırmacılar tarafından gösterilmiştir<sup>73,74,104,106,114</sup>.

#### KAYNAKLAR

- Alper G, Bernick S, Yazdı M, Nimni ME. Osteogenesis in bone defects in rats: the effects of hydroxyapatite and demineralized bone matrix. *Am J Med Sci* 1989; 298 (6): 371-6.
- Altermatt S, Schwobel M, Pochon JP. Operative treatment of solitary bone cysts with tricalcium phosphate ceramic. A 1 to 7 year follow-up. *Eur J Pediatr Surg* 1992; 2 (3): 180-2.
- Anderson ML, Dhert WJ, de Bruijn, JD, et al. Critical size defect in the goat's os ilium. A model to evaluate bone grafts and substitutes. *Clin Orthop* 1999; 364: 231-9.
- Begley CT, Doherty MJ, Mollan RA, Wilson DJ. Comparative study of the osteoinductive properties of bioceramic, coral and processed bone graft substitutes. *Biomaterials* 1995; 16 (15): 1181-5.
- Boden SD, Finnegan M. Breakout Session 2: Bone. *Clin Orthop* 1999; 237S: S130-S132.
- Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC. 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoinductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part II: Study of dose, carrier, and species. *Spine* 1995; 20 (24): 2633-44.
- Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC, Chen MI. 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoinductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part I: Biology of spinal fusion. *Spine* 1995; 20 (24): 2626-32.
- Boden SD, Sandhu HS. The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans. In Proceedings of the 66<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association of Orthopedic Surgeons. Edited, Anaheim, CA, 1999.
- Bostrom MP, Lane JM, Tomin E. et al. Use of bone morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model. *Clin Orthop* 1996; 327: 272-82.
- Bostrom MP, Lane JM, et al. Immunolocalization and expression of Bone Morphogenetic Proteins 2 and 4 in fracture healing. *J Orthop Res* 1995; 13: 357-67.
- Bruder SP, Caplan AI, Gotoh Y, et al. Immunohistochemical localization of a approximately 66 kD glycosylated phosphoprotein during development of the embryonic chick tibia. *Calcif Tissue Int* 1991; 48 (6): 429-37.
- Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem* 1994; 56 (3): 283-94.
- Bucholz RW, Carlton A, Holmes R. Interporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures. *Clin Orthop* 1989; 240: 53-62.
- Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 1987; 18 (2): 323-34.
- Burwell RG. Studies in the transplantation of bone. VII. The fresh composite homograftautograft of cancellous bone. An analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow containing bone grafts. *J Bone Joint Surg [Br]* 1964; 46: 110-14.
- Chapman MW, Bucholz R, Cornell C. Treatment of acute fractures with a collagencalcium phosphate graft material. A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg [Am]* 1997; 79 (4): 495-502.
- Connolly J, Guse R, Lippiello L, Dehne R. Development of an osteogenic bone-marrow preparation. *J Bone Joint Surg [Am]* 1989; 71 (5): 684-91.
- Connolly JF. Injectable bone marrow preparations to stimulate osteogenic repair. *Clin Orthop* 1995; 313: 8-18.
- Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R. Autologous marrow injection for delayed unions of the tibia: a preliminary report. *J Orthop Trauma* 1989; 3 (4): 276-82.
- Constantz BR, Ison IC, Fulmer MT. et al. Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone. *Science* 1995; 267 (5205): 1796-9.
- Cook SD, Baffes GC, Wolfe MW, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 induces healing in a canine long-bone segmental defect model. *Clin Orthop* 1994; 301: 302-12.
- Cook SD, Baffes GC, Wolfe MW, et al. The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of large segmental bone defects. *J Bone Joint Surg [Am]* 1994; 76 (6): 827-38.
- Cook SD, Dalton JE, Prewett AB, Whitecloud TS. 3<sup>rd</sup>. In vivo evaluation of demineralized bone matrix as a bone graft substitute for posterior spinal fusion. *Spine* 1995; 20 (8): 877-86.
- Cook SD, Dalton JE, Tan EH, et al. In vivo evaluation of recombinant human osteogenic protein (rhOP-1) implants as a bone graft substitute for spinal fusions. *Spine* 1994; 19 (15): 1636-55.
- Cook SD, Wolfe MW, Skalkeld SL, Rueger DC. Effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of segmental defects in non-human primates. *J Bone Joint Surg [Am]* 1995; 77 (5): 734-50.
- Dawson E, DR, Dickstein H. The fate of bone substitution with porous hydroxyapatite implants in the dog spine. *Trans ORS* 1981; 6: 206.

27. Delecrin J, Takahashi S, Gouin F, Passuti N. A synthetic porous ceramic as a bone graft substitute in the surgical management of scoliosis: a prospective, randomized study. *Spine* 2000; 25 (5): 563-69.
28. Dutton R, Dawson E. Preliminary observations in segmental femoral substitution with porous hydroxyapatite implants in the dog. *Trans ORS*, 1981; 6: 112.
29. Edwards JT, Scarborough NL. Osteoinductive performance of various forms of human demineralized bone matrix. In *Proceedings 12<sup>th</sup> Annual Meeting of the North American Spine Society*. Edited, 1997.
30. Edwards JT, Diegmann MH, Scarborough NL. Osteoinduction of human demineralized bone: characterization in a rat model. *Clin Orthop* 1998; 357: 219-28.
31. Emery SE, Fuller DA, Stevenson S. Ceramic anterior spinal fusion. Biologic and biomechanical comparison in a canine model. *Spine* 1996; 21 (23): 2713-19.
32. Fleming JE Jr, Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000; 31 (3): 357-74.
33. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, et al. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg [Am]* 83-A (Suppl 1 (Pt 2)): 2001; 151-8.
34. Fuller DA, Stevenson S, Emery SE. The effects of internal fixation on calcium carbonate. Ceramic anterior spinal fusion in dogs. *Spine* 1996; 21 (18): 2131-6.
35. Garg NK, Gaur S, Sharma S. Percutaneous autogenous bone marrow grafting in 20 cases of ununited fracture. *Acta Orthop Scand* 1993; 64 (6): 671-2.
36. Gazdağ AR, Lane JM, Glasser D, Forster RA. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *J Am Acad Orthop Surg* 1995; 3 (1): 1-8.
37. Geesink RG, Hoefnagels N, Bulstra SK. Osteogenic activity of OP-1 bone morphogenetic protein (BMP-7) in a human fibular defect. *J Bone Joint Surg [Br]* 1999; 81 (4): 710-8.
38. Glowacki J, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcif Tissue Int* 1981; 30: 71.
39. Glowacki J, Kaban LB, Murray JE, et al. Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. *Lancet* 1981; 1 (8227): 959-62.
40. Glowacki J, Mulliken JB. Demineralized bone implants. *Clin Plast Surg* 1985; 12 (2): 233-41.
41. Goodman SB, Bauer TW, Carter D, et al. Norian SRS cement augmentation in hip fracture treatment. Laboratory and initial clinical results. *Clin Orthop* 1998; 348: 42-50.
42. Griffith SL, Cunningham BW, Ordway NR, Yuan HA. Non-human primate evaluation of an osteoconductive bone substitute in a interbody fusion cage. *Eur Spine J* 1999; 8: 37.
43. Grosse A, Tavan A, Hovorka I, Pidhorz L. First clinical study to evaluate the performance of Healos as a bone grafting material in the lumbar spine. In *International Conference on lumbar Fusion and stabilization*. Edited, Chesire, UK, 1999.
44. Healey JH, Zimmerman PA, McDonnel JM and Lane JM. Percutaneous bone marrow grafting of delayed union and nonunion in cancer patients. *Clin Orthop* 1990; 256: 280-5.
45. Helber MU. Filling of metaphyseal bone defects with hydroxylapatit-Endobon. In *6<sup>th</sup> Biomaterial Symposium*. Edited, Gottingen Germany, 1994.
46. Helm GA, Sheehan JM, Sheehan JP, et al. Utilization of type I collagen gel, demineralized bone matrix, and bone morphogenetic protein-2 to enhance autologous bone lumbar spinal fusion. *J Neurosurg* 1997; 86 (1): 93-100.
47. Hollingerr JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D. Role of bone substitutes. *Clin Orthop* 1996; 324: 55-65.
48. Holmer R, Hagler H. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in maxillary augmentation. An histometric study. *J Craniomaxillofac Surg* 1988; 16 (5): 199-205.
49. Holmes R, Mooney V, Bucholz R, Tencer A. A coralline hydroxyapatite bone graft substitute. Preliminary report. *Clin Orthop* 1984; 188: 252-62.
50. Holmes R, Bucholz R. Regeneration within canine radius defects treated by coralline implants and iliac grafts. *Trans ORS* 1981; 6: 229.
51. Holmes RE, Bucholz RW, Mooney V. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in diaphyseal defects: a histometric study. *J Orthop Res* 1987; 5 (1): 114-21.
52. Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop* 1981; 157: 259-78.
53. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunions. A preliminary report. *Clin Orthop* 1988; 230: 257-65.
54. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Repair of segmental defects of the tibia with cancellous bone grafts augmented with human bone morphogenetic protein. A preliminary report. *Clin Orthop* 1988; 236: 249-57.
55. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones. Treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigen-extracted, allogeneic (AAA) bone. *Clin Orthop* 1992; 277: 229-37.
56. Johnson KD, Frierson KE, Keller TS, et al. Porous ceramics as bone graft substitutes in long bone defects: a biomechanical, histological, and radiographic analysis. *J Orthop Res* 1996; 14 (3): 351-69.
57. Jupiter JB, Winters S, Sigman S, et al. Repair of five distal radius fractures with an investigational cancellous bone cement: a preliminary report. *J Orthop Trauma* 1997; 11 (2): 110-6.
58. Kado KE, Gambetta LA, Perlman MD. Uses of Grafton for reconstructive foot and ankle surgery. *J Foot Ankle Surg* 1996; 35 (1): 59-66.
59. Khan SN, Lane JM. Bone growth factors. *Orthopedic Clinics of North America* 2000; 31: 375-88.
60. Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000; 31 (3): 389-98.
61. Killian JT, Wilkinson L, White S, Brassard M. Treatment of unicameral bone cyst with demineralized bone matrix. *J Pediatr Orthop* 1998; 18 (5): 621-4.
62. Kirker-head CA, Gerhart TN, Schelling SH, et al. Long-term healing of bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Clin Orthop* 1995; 318: 222-30.
63. Kopylov P, Runnqvist K, Jonsson K, Aspenberg P. Norian SRS versus external fixation in redisplaced distal radial fractures. A randomized study in 40 patients. *Acta Orthop Scand* 1999; 70 (1): 1-5.

64. Ladd AL, Pliam NB. Use of bone-graft substitutes in distal radius fractures. *J Am Acad Orthop Surg* 1999; 7 (5): 279-90.
65. Landendorff KP, Schontag H. Die Auffüllung knocherner defekte mit bovinen hydroxlyapatit-formakorporen bei frakturen. *Osteo Int* 1994; 2: 171-6.
66. Lane JM, Bostrom MP. Bone grafting and new composite biosynthetic graft materials. *Instr Course Lect*, 1998; 47: 525-34.
67. Lane JM, Tomin E, Bostrom MP. Biosynthetic bone grafting. *Clin Orthop* (367 Suppl) 1999: 107-17.
68. Lane JM, Yasko AW, Tomin E, et al. Bone marrow and recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair. *Clin Orthop* 1999; 361: 216-27.
69. LeHuec JC, Lesprit E, Delavigne C, et al. Tri-calcium phosphate ceramics and allografts as bone substitutes for spinal fusion in idiopathic scoliosis as bone substitutes for spinal fusion in idiopathic scoliosis: comparative clinical results at four years. *Acta Orthop Belg* 1997; 63 (3): 202-11.
70. Lemmons JE, Weiss AB. Investigations of bone replacement with porous tricalcium phosphate ceramic. *Trans ORS* 1977; 2: 123.
71. Lettice JJ, Kelley J, McCort M. Supplemental autogenous growth factors in spinal reconstructive surgery. In *Scoliosis Research Society 34<sup>th</sup> Annual Meeting*. Edited, 1999.
72. Levai JP, Boisgard S. Acetabular reconstruction in total hip revision using a bone graft substitute. Early clinical and radiographic results. *Clin Orthop* 1996; 330: 108-14.
73. Lindholm TS, Nilsson OS, Lindholm TC. Extraskeletal and intraskeletal new bone formation induced by demineralized bone matrix combined with bone marrow cells. *Clin Orthop* 1982; 171: 251-5.
74. Lindholm TS, Urist MR. A quantitative analysis of new bone formation by induction in composite grafts of bone marrow and bone matrix. *Clin Orthop* 1980; 150: 288-300.
75. Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone* 1999; 25 (2 Suppl): 47-50.
76. Martin GJ Jr, Boden SD, Titus L, Scarborough NL. New formulations of demineralized bone matrix as a more effective graft alternative in experimental posterolateral lumbar spine arthrodesis. *Spine* 1999; 24 (7): 637-45.
77. Michelson JD, Curl LA. Use of demineralized bone matrix in hindfoot arthrodesis. *Clin Orthop* 1996; 325: 203-8.
78. Mirzayan R, Panossian V, Avedian R, et al. The use of calcium sulfate in the treatment of benign bone lesions. A preliminary report. *J Bone Joint Surg [Am]* 2001; 83-A 3: 355-8.
79. Morone MA, Boden SD. Experimental posterolateral lumbar spinal fusion with a demineralized bone matrix gel. *Spine* 1998; 23 (2): 159-67.
80. Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plast Reconstr Surg* 1980; 65 (5): 553-60.
81. Muschler GF, Hyodo A, Manning T, et al. Evaluation of human bone morphogenetic protein 2 in a canine spinal fusion model. *Clin Orthop* 1994; 308: 229-40.
82. Muschler GF, Negami S, Hyodo A, et al. Evaluation of collagen ceramic composite graft materials in a spinal fusion model. *Clin Orthop* 1996; 328: 250-60.
83. Nakahara H, Goldberg VM, Caplan AI. Culture-expanded periosteal-derived cells exhibit osteochondrogenic potential in porous calcium phosphate ceramics in vivo. *Clin Orthop* 1992; 276: 291-8.
84. Nishida S, Endo N, Yamagiwa H, et al. Number of osteoprogenitor cells in human bone marrow markedly decreases after skeletal maturation. *J Bone Miner Metab* 1999; 17 (3): 171-7.
85. Ohgushi H, Goldberg VM, Caplan AI. Heterotopic osteogenesis in porous ceramics induced by marrow cells. *J Orthop Res* 1989; 7 (4): 568-78.
86. Ohgushi H, Goldberg VM, Caplan AI. Repair of bone defects with marrow cells and porous ceramic. Experiments in rats. *Acta Orthop Scand* 1989; 60 (3): 334-9.
87. Oikarinen J. Experimental spinal fusion with decalcified bone matrix and deep-frozen allogeneic bone in rabbits. *Clin Orthop* 1982; 162: 210-8.
88. Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, et al. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clin Orthop* 1997; 334: 316-25.
89. Paley D, Young MC, Wiley AM, et al. Percutaneous bone marrow grafting of fractures and bony defects. An experimental study in rabbits. *Clin Orthop* 1986; 208: 300-12.
90. Passuti N, Rogez JM, Martin S, Bainvel JV. Macroporous calcium phosphate ceramic performance in human spine fusion. *Clin Orthop* 1989; 248: 169-176.
91. Peltier LF, Jones RH. Treatment of unicameral bone cysts by curettage and packing with plaster-of-Paris pellets. *J Bone Joint Surg [Am]* 1978; 60 (6): 820-2.
92. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, et al. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res* 1999; 17 (4): 607-14.
93. Sandhu H, Shamie A. Human spinal fusions with native bone morphogenetic protein: Short term and ten year follow up. *Trans Am Acad Orthop Surg* 1997-1998; 21: 161.
94. Sandhu HS, Kanim LE, Kobo JM, et al. Evaluation of rhBMP-2 with an Opla carrier in a canine posterolateral (transverse process) spinal fusion model. *Spine* 1995; 20 (24): 2669-82.
95. Sandhu HS, Kanim LE, Kobo JM, et al. Effective doses of recombinant human bone morphogenetic protein-22 in experimental spinal fusion. *Spine* 1996; 21 (18): 2115-22.
96. Schaller P. Spongioses hydroxlyapatit (Endobon) zur auffütterung von knochenhöhlen am hand-und fubskelett. *Osteo Int* 1994; 2: 177-81.
97. Schimandle JH, Boden SD. Spine update. The use of animal models to study spinal fusion. *Spine* 1994; 19 (17). 1998-2006.
98. Schimandle JH, Boden SD, Hutton WC. Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Spine* 1995; 20 (12): 1326-37.
99. Schliephake H, Neukam FW, Klosa D. Influence of pore dimensions on bone ingrowth into porous hydroxylapatite blocks used as bone graft substitutes. A histometric study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1991; 20 (1): 53-8.
100. Sciadini MF, Dawson JM, Johnson KD. Bovine-derived bone protein as a bone graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Trauma* 1997; 11 (7): 496-508.

101. Sciadini MF, Johnson KD. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 as a bone- graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Res* 2000; 18 (2): 289-302.
102. Seitz WH jr, Froimson AI, Leb RB. Autogenous bone marrow and allograft replacement of bone defects in the hand and upper extremities. *J Orthop Trauma* 1992; 6 (1): 36-42.
103. Sudkamp N, Khodadayan C, Haas N. Arthroscopically aided minimal invasive treatment of tibial head fractures. In 6<sup>th</sup> Congress of European Society of Sports Traumatology Knee Surgery and Arthroscopy. Edited, Berlin, Germany, 1994.
104. Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein-induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin Orthop* 1982; 171: 224-31.
105. Tay BK, Le AX, Heilman M, et al. Use fo a collagen-hydroxyapatite matrix in spinal fusion. A rabbit model. *Spine* 1998; 23 (21): 2276-81.
106. Tiedeman JJ, Connolly JF, Strates BS, Lippiello L. Treatment of nonunion by percutaneous injection of bone marrow and demineralized bone matrix. An experimental study in dogs. *Clin Orthop* 1991; 268: 294-302.
107. Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF. The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics* 1995; 18 (12): 1153-8.
108. Tiedeman JJ, Huurman WW, Connolly JF, Strates BS. Healing of a large nonossifying fibroma after grafting with bone matrix and marrow. A case report. *Clin Orthop* 1991; 265: 302-5.
109. Urist M. The search for and the discovery of bone morphogenetic protein (BMP). Edited by Urist M, OCB, Burwell RG, 315-362, Oxford, Butterworth-Heinemann, 1994.
110. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*, 1965; 150 (698): 893-9.
111. Urist MR, Silverman BF, Buring K, etal. The bone induction principle. *Clin Orthop* 1967; 53: 243-83.
112. Walsh WR, Arn DM. Growth factor gel and resorbable porous ceramic for use in spinal fusion. *Trans ORS* 1999; 24: 270.
113. Werntz JR, Lane JM, Burstein AH, et al. Qualitative and quantitative analysis of orthotopic bone regeneration by marrow. *J Orthop Res* 1996; 14 (1): 85-93.
114. Wittbjer J, Palmer B, Rohlin M, Thomgren KG. Osteogenic activity in composite grafts of demineralized compact bone and marrow. *Clin Orthop* 1983; 173: 229-38.
115. Wolfe SW, Pike L, Slade JF 3<sup>rd</sup> and Katz LD. Augmentation of distal radius fracture fixation with coralline hydroxyapatite bone graft substitute. *J Hand Surg [Am]* 1999; 24 (4): 816-27.
116. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev*, 1992; 32 (2): 160-7.
117. Yasko AW, Lane JM, Fellingner EJ, et al. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2). A radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg [Am]* 1992; 74 (5): 659-70.
118. Younger EM, Chapman MP. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 1989; 3: 192-5.
119. Zegzula HD, Buck DC, Brekke J, et al. Bone formation with use of rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2). *J Bone Joint Surg [Am]* 1997; 79 (12): 1778-90.
120. Zerwekh JE, Kourosch, S, Scheinberg R, et al. Fibrillar collagen-biphasic calcium phosphate composite as a bone graft substitute for spinal fusion. *J Orthop Res* 1992; 10 (4): 562-72.