

# Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler

Aykan Şimşek\*, Gökhan Çakmak\*\*, Erdal Cila\*\*\*

Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplastisi cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>(1,2)</sup>

Kemik grefti olarak otogreftler ve allogreftler kullanılır. Kemik yerine geçebilecek maddeler arasında ise seramikler (doğal ve sentetik), demineralize kemik matriksi, BMP (kemik morfojenik protein), otolog kemik iliği, büyüme faktörleri ve kompozit greftler tercih edilebilir.

## Kemik Greftlerinin Biyolojisi

Kemik doku mühendisliğinin temeli, kemiğin istenen anatomik bölgesinde kemik iyileşmesi için yanıt oluşturmaktır. Klinik başarı, oluşan kemiğin yeniden şekillenme sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal olarak bütünleşmesi (integration) ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir. Kemik greftlerinin biyolojisini anlamak için bazı kavramların açıklanması gereklidir. Bunlar<sup>(3,4)</sup>:

**Osteointegrasyon:** Greftin arada fibröz doku oluşumuna yol açmayacak şekilde alıcı kemik yüzeyine kimyasal olarak tutunabilmesidir.

**Osteokondüksiyon:** Alıcı kemikten vasküler ve perivasküler yapıların grefte ilerlemesi için greftin çatı görevi üstlenerek yüzeyinde yeni kemik oluşumunu destekleyebilmesidir.

**Osteoindüksiyon:** Plüripotent hücrelerin çevre dokuda osteoblastik fenotipe dönmelerini uyartmaktır.

**Osteogenezis:** Greft materyali içindeki hücresel elemanların, transplantasyon sonrası hayatta kalarak, nakledilen alanda yeni kemik oluşturabilmesidir. Yeni kemik dokusu ortaya çıkabilmesi

için öncelikle kemiği meydana getirebilecek yeterli sayıda "osteojenik progenitor hücreler" ortamda bulunmalıdır.

Kullanılan greft materyalleri osteointegrasyon, osteogenezis, osteokondüktif veya osteoindüktif özelliklerin birine veya birden fazlasına sahiptirler. Bu özelliklerin bazıları sentetik materyallerde ve saflaştırılmış büyüme faktörlerinde de bulunmaktadır. Bu da doku mühendisliğini, mevcut maddelerin kombinasyonları veya yeni materyaller ile kırık iyileşmesi için en uygun ortamın ve greftleme metodlarının geliştirilmesi yoluna itmiştir. Bu sayede greftleme tekniklerinin maliyetinin azaltılması ve tedavide yeniliklerin elde edilmesi amaçlanmaktadır.<sup>(5)</sup>

Kemik iyileşmesinde iki önemli faktör bölgenin damarlanması ve mekanik dayanıklılığıdır. Hastaların genel sağlık durumu ameliyat öncesi dönemde düzeltilmeli ve kemik iyileşmesi yanıtını engelleyecek farmakolojik ajanlar verilmemelidir. İyileşme için mekanik çevre de önemlidir. Kemik iyileşmesi doku gerilimi sınırlı olduğu takdirde en uygun koşullarda gerçekleşir. Aksi takdirde kaynamama ile sonuçlanır.<sup>(5)</sup>

Yakın zamana kadar ortopedik cerrahların elinde kemik kaynağı olarak sadece otolog kemik ve allogreftler bulunmaktaydı. Doku mühendisliği uygulamalarının gelişmesi ile günümüzde cerraha birçok farklı seçenek sunmak mümkün olmuştur. Bu yazıda kemik greftleri ve alternatiflerinin özellikleri, birbirlerine olan üstünlükleri ve sorunları gözden geçirilecektir.

## Terminoloji

Aynı bireyde bir yerden başka bir sahaya nakledilen grefte **otogreft** denir. Otolog ya da otogreft olarak da isimlendirilebilir. Tek yumurta ikizleri arasında yapılan doku transferlerinde, transfer edilen doku ise **izogreft** olarak adlandırılır. **Allogreft** ya da allojenik greft aynı türden fakat genetik olarak farklı iki birey arasında yapılan doku transferidir. **Xenogreft** ise, bir türden farklı bir türe

\* Doçent Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji A.D. Ankara \*\* Araş.Gör. Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji A.D. Ankara \*\*\*Prof. Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji A.D. Ankara

yapılan doku naklidir.

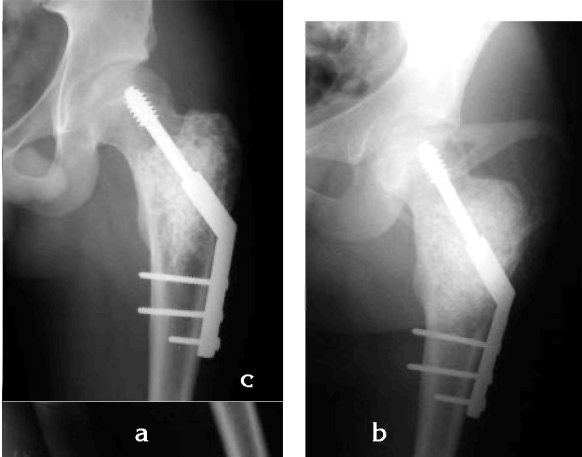
### Otolog Kemik Greftleri

Otolog greftler; kansellöz, damarlı (vaskülarize) olmayan kortikal, damarlı kortikal ve kemik iliği olarak kullanılabilir. Farklı derecelerde osteojenik, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri mevcuttur.

### Otolog Kansellöz Kemik

Otolog kansellöz kemik greftleri halen spinal füzyon, kemik kayıplarının doldurulması ve kırık tedavisinde kemik iyileşmesini sağlayan en etkili greft materyali olarak bilinir (Şekil 1). Otojen kansellöz kemik içinde osteojenik kemik ve kemik iliği hücreleri, osteokondüktif kollajen ve mineral matriksi, matriks proteinleri ve osteoindüktif matriks proteinleri nakledilir. Burwell 1960'lı yıllarda yaptığı çalışmalarda, otogreft uygulaması sonrası gelişen yeni kemik dokusunda primitif osteojenik hücrelerin nakil sonrası hayatta kalarak ileri dönemde osteoblastlara dönüştüğünü göstermiştir.<sup>(6)</sup>

İliak kanattan, Gerdy tüberkülünden, radius distal ucundan ve tibia distalinden otojen kansellöz



Şekil 1a,b,c: Sol femur proksimalinde anevrizmal kemik kisti tanısıyla intralezyonel küretaj, otojen + allojen kortikospongioz kemik grefti ve kalça kompresyon çivisi uygulaması. a: Ameliyat öncesi ön-arka grafi; b: Erken ameliyat sonrası grafi; c: Ameliyat sonrası 2. yıl A-P grafi.

kemik grefti alınabilir.<sup>(7)</sup> En sık greft alınan bölge olan iliak kanata ait morbiditelerle sık olarak karşılaşılmaktadır. Majör komplikasyonlar %8,6, minör komplikasyonlar ise %20,6 olarak rapor edilmiştir (Tablo 1). Greftin sınırlı miktarda alınabilmesi kullanım açısından problem yaratır.<sup>(2- 5,8)</sup> Ameliyat süresinin uzaması, istenilen biçim ve boyutlarda hazırlanabilme güçlüğü ve alıcı sahada ameliyat yarası kalması hastalar açısından tekniğin olumsuz yönleridir. Kansellöz kemik osteoindüktif olarak bilinmesine rağmen, indüktif proteinlerin ve sitokinlerin otolog kansellöz greftte aktif olduğuna dair kanıt bulunmamaktadır.<sup>(7)</sup>

**Tablo1:** İliak kemik grefti alınımında karşılaşılabilecek komplikasyonlar<sup>(2- 8)</sup>

Perioperatif (Akut)	Kronik
<i>Minör</i> Geçici, hafif duyu (Disestezi)- Clzamiş kültür negatif drenaj, 20 gün- Yüzeysel enfeksiyon	<i>Minör</i> - İnatçı, hafif duyu kaybı
<i>Majör</i> Derin doku enfeksiyonu Clzamiş drenaj Revizyon gerektiren yara dokusu- Büyük hematoma- Duyu kaybı- Enterokutanöz fistül	<i>Majör</i> İş göremez duruma getiren ağrı, 6 ay Görüntüyü bozan skar dokuları Meralgia paresthetica- Yürümde güçlük- Pelvis kırığı veya instabilite- Trikortikal greft alımı sonrası fitik
<i>Havatu tehdit eden</i> - Majör viseral organ yaralanması- Hemoraji- Arterio-venöz fistül - Üreter yaralanması	

Otojen kemik grefti uygulamaları sırasında karşılaşılan problemler nedeniyle alternatif greft materyalleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kemik greftinin yerini tutabilecek ideal ajan; biyo-uyumlu, biyo-çözünür, osteokondüktif, osteoindüktif, yapısal olarak kemiğe benzer, kolay kullanılabilir ve ekonomik olmalıdır.<sup>(17)</sup>

### Damarlı Olmayan Otolog Kortikal Kemik

Kortikal kemik greftleri, otojen kansellöz kemik greftlerine göre biyolojik uyum olarak daha az başarılıdır. Kortikal kemiğin porozitesinin az olması nedeniyle damarsal yapıların greftin içine doğru ilerlemesi zor ve yavaştır. Kortikal kemik, trabeküler kemiğe göre daha az sayıda osteoblastik progenitor

hücre içerir. Kortikal kemikteki hücreler, oksijen difüzyonu ve besin aktarımının az olması nedeniyle nakledilmeye daha az dirençlidir.<sup>(5)</sup>

Kortikal kemik greftlerinin başlıca avantajları; mekanik olarak dayanıklı olmaları ve büyük kemik kayıplarının doldurulmasında miktar olarak yeterli olmalarıdır.<sup>(5)</sup> 5-6 cm'in üzeri kemik kayıplarında otolog kortikal kemik greftleri iyi seçenektir. Ancak 12 cm'nin üzeri kemik kayıplarında, damarlı olmayan greftlerin başarısız olma oranının %25-50 olması nedeniyle, damarlı greftler tercih edilir.<sup>(7)</sup>

Herhangi bir kemik grefti cerrahi olarak yerleştirildiğinde, kırık kaynamasına benzer sıra ile; kanama, inflamasyon, dokunun revaskülarizasyonu (yeniden damarlanması) ve greftin lokal doku ile yer değiştirmesi ve yeniden yapılanması (remodelasyonu) aşamalarından geçer. Başarılı bir greft inkorporasyonu; nakledilen dokunun orijinal doku kadar iyi işlev görmesi yani; mekanik bütünlüğünü ve fonksiyonunu greft inkorporasyonu sırasında ve sonrasında koruması anlamına gelir.

Kansellöz otogreftlerin başlangıçta yük taşıma özellikleri olmamasına rağmen, greft üzerine kemik doku birikimi ve alıcı sahadaki kemiklerle kaynama sonucunda yapısal bütünlüğü oluşmaya başlar. Kemik kütlesi arttıkça dayanıklılık ta artar ve oluşan yeni doku Wolf kuralları doğrultusunda yeniden yapılır (remodelasyon).

Kansellöz otogreftlerdeki hücrelerin çoğunluğu özellikle de trabeküler boşluklardakiler greftleme sonrasında ölmesin rağmen yüzeydeki osteoblastlar hayatta kalır ve yeni kemik oluşturmaya başlarlar. Kansellöz kemik poroz yapıda olduğu için alıcı sahadaki damarlar, osteoblastlar ve osteoblast öncülleri greftte periferden merkeze doğru ilerlerler. Damarların invazyonu ile birlikte osteoblastlar ölü trabeküllerin kenarlarında dizilirler ve osteoid yapmaya başlarlar ve ölü kemiğin merkezine kadar osteoid ile kaplarlar. Ardından yeniden yapılanma başlar ve yeni oluşan kemik ve aralarda kalan nekrotik kemik adacıkları osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve yeni oluşturulan kemik ile yer değiştirilir. Sonrasında da mekanik güçler doğrultusunda şekillenir. Bu süreç yaklaşık 6 ay ile 1 yıl arasında tamamlanır.<sup>(9)</sup>

Kortikal greftlerin periostunda osteojenik potansiyeli olan az sayıda hücre canlı kalabilmiş olsa da greftteki osteositlerin çoğunluğu nakil sonrasında ölür ve kalan matriks, alıcı sahadan gelen ve osteo-

jenik özellikleri olan hücrelerin üzerine yerleşebilecekleri bir cansız iskelet görevi görür. Nekrotik trabeküllerden oluşan iskeletin üzerine yeni kemik oluşumu ve ardından nekrotik yapıların rezorbsiyonu ile onarılan kansellöz kemik greftlerinin aksine, kortikal greftler yeni kemik oluşumu öncesinde nekrotik osteonların rezorbsiyonuna ihtiyaç duyarlar. Bu da kortikal greftte porozitenin artmasına ve torsiyonel dayanıklılığın azalmasına yol açar. Sonuçta, yeniden damarlanma ve onarım için oluşan kortikal porozite, özellikle büyük kortikal greftlerde görülen greft kırılması, kaynama gecikmesi ya da kaynamama sorunlarının görülmesindeki en önemli nedenlerdendir. Kortikal greftler başlangıçta yapısal dayanıklılığa sahiptirler. Fakat altı ile 18 ay arasında süren yeniden damarlanma ve yeniden yapılanma evrelerinde gücünün yaklaşık üçte birini kaybeder. Zaman içinde normal yapısına yaklaşarak yaklaşık 2 yılda normal kortikal kemiğin gücüne ulaşır. Yine de greftin içinde yer yer rezorbe olmamış canlı olamayan kemik adacıkları varlığını sürdürür.<sup>(9, 10)</sup>

### Damarlı (Vaskülarize) Otogreftler

Mikrocerrahi tekniklerinin ilerlemesi ile damarlı otogreftler sık kullanılmaya başlanmıştır. Transplantasyon sırasında hem arter hem de veni anastomoz edildiğinde, osteositlerin yaklaşık %90'ı hayatta kalır ve inkorporasyon ve kaynama için kemiğin osteoklastik rezorbsiyonu görülmez. Damarlı olmayan otogreftlerdeki gibi rezorbsiyon ve ardından osteokondüksiyon ve remodelasyon izlenmez ve bundan dolayı damarlı olmayan otogreftlere göre ilk 6 haftalık dönemde daha dayanıklıdırlar.<sup>(11)</sup> Bu greftler, yapısal bütünlüklerini kaybetmeden inkorpore olur ve nakledildikleri alanın mekanik özellikleri ve Wolf kanunları doğrultusunda hipertrofiye olurlar. Greft alınabilecek bölgeler fibula, kosta, tibia, olekranon ve iliak kanattır, fakat en sık tercih edilen damarlı fibula greftidir.<sup>(3, 5, 8)</sup> Her bölgenin kendine özgü dezavantajları ve morbiditesi olmakla beraber, genelde donör saha problemleri ve ameliyat süresinin uzun olması önde gelen sorunlardır. Tang ve ark. serbest damarlı fibula grefti uyguladıkları 39 hastanın değerlendirmesinde greft alınan ekstremitesinde objektif olarak ciddi bir sorunla karşılaşmazken, %42 hastada subjektif instabilite hissi ve %37'sinde subjektif güçsüzlük bildirmişlerdir.<sup>(12)</sup>

### Kemik İliği

Kemik iliği tek başına osteojenik greft olarak kullanılabilir. Aspirasyon sonrası elde edilen kemik iliği; sitokinler, diğer kemik iliği kökenli hücreler gibi osteoblastik progenitorlar ve hızlı revaskularize olan emilebilir biyolojik fibrin matriks içerir. Muschler ve ark., iliak kanattan aspire edilen kemik iliğini periferik kan ile 20- 40 kat seyrelttikten sonra aspirat başına ortalama 1000 -1400 bağ dokusu progenitörü bulunduğunu görmüşlerdir.<sup>(13)</sup> 2-5 ml kemik iliği içinde genç hastalarda 50000'de bir, yaşlı hastalarda  $2 \times 10^6$  hücrede bir adet osteoprogenitör hücre olduğu düşünülür. Kemik iliği aspirasyon sonrası hemen kullanılmalıdır.

Connolly ve ark., tibia kaynamaması olan 20 hastada intramedüller çivi ve perkutan kemik iliğinin enjeksiyonu uygulamış ve 18 olguda başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Kemik iliği, diğer materyaller ile karıştırılarak kullanıldığında, tedavi yanıtını artırabilir.<sup>(14)</sup>

### Allogreftlerin Genel Özellikleri

Allogreftler; poroz yapıları içinde progenitor hücrelerin ve endotelial hücrelerin bulunduğu birçok kimyasal alan içerirler. Aynı zamanda, osteoklastlar tarafından rezorbe edildiklerinde serbest kalan kemik matriks içinde büyüme faktörleri de içerirler. Allogreft kemikte, osteoindüktif özellik taşıyan az miktarda kemik morfojenik proteini de bulunur. Demineralizasyon, allogreft kemik matriksindeki büyüme faktörlerinin biyo-yararlanımını artırır. Ayrıca demineralizasyon ile HIV enfeksiyonu geçmesi de önlenmiş olur.<sup>(15)</sup>

Modern allogreft kemik elde etme işlemleri esnasında uygulanan ileri yıkama basamakları ile greftin içinde kalan hücre sayısı azaltılır. Bu yıkama basamakları ile immunojenik antijenler ve virüs kaynaklı hastalık geçme riski de azaltılmış olur. Tomford

ve arkadaşlarının 303 kurutulup dondurulmuş allogreft kullanılan olguda yaptıkları retrospektif çalışmada %6,9 oranında bakteriyel enfeksiyon saptanmıştır. Yine Tomford ve arkadaşlarının 1990 yılında yaptıkları farklı bir çalışmada masif kemik allogrefti kullanılan 190 olgunun 13'ünde (%6,8) bakteriyel enfeksiyona rasianmıştır.<sup>(16-17)</sup> Allogreftlerin standart otopreftlere göre avantajları şunlardır: <sup>(5)</sup>

1. Otojen kemik alımı sırasında ortaya çıkan morbidite önlenir.
2. Otopreftin yeterli olmadığı büyük kemik kayıplarında yeterli miktarda greft sağlanır.
3. Otojen kortikal greftlere göre daha büyük miktar ve değişik boyutlarda allojen kortikal kemik sağlanabilir.
4. Jel, toz, fiber ve macun olarak birçok şekilde allogreftler işlenebilir. Bu da amaca yönelik kullanım kolaylığı sağlar. Demineralize kemik matriksleri, morselize ve kansellöz kemik yongalar, kortikokansellöz ve kortikal greftler, osteokondral greftler ve tüm kemik segmentleri gibi birçok değişik ürün elde edilebilir.

Allogreft ve otopreftlerini çeşitli özellikleri karşılaştırmalı olarak tablo 2 de verilmiştir.

Allojen kemik hazırlanması ve sterilizasyonu sırasında yapılan işlemler, kemiğin immunojenik etkilerini azaltırken, osteoindüktivite, osteokondüktivite ve mekanik özellikleri üzerinde de etkilidir. Donörün sağlık durumu ve bulaşıcı hastalık bulunup bulunmadığı tespit edildikten sonra ölümü takiben 24 saat içinde greftler alınır. -20° C derecede 1 yıl veya daha fazla süre saklanarak immunojenik etkiler azaltılır; ancak ortadan kaldırılamaz. Dondurarak kurutma ("freeze drying") işlemi ile immunojenite daha da azaltılır. -20°C derecede saklanan taze donmuş (fresh frozen) kemiklere göre, dondurarak kurutma sonrası elde edilen allogreftlerde mekanik dayanıklılık % 50 daha azdır.

**Tablo 2:** Otopreft ve allogreftlerin karşılaştırılması<sup>TM</sup>.

Kemik grefti	Yapısal dayanıklılık	Osteokondüksiyon	Osteoindüksiyon	Osteogenezis
<b>Otopreft</b>				
Kansellöz	Yok	+++	+++	+++
Kortikal	+++	++	++	++
<b>Allogreft</b>				
Kansellöz- Donmuş	Yok	++	+	Yok
Kansellöz- Dondurulup kurutulmuş	Yok	++	+	Yok
Kortikal- Donmuş	+++	+	Yok	Yok
Kortikal- Dondurulup kurutulmuş			Yok	

Tıbbi malzemelerin gama irradasyonu ile sterilizasyonu için CJluslararası Atom Enerji Ajansı tarafından önerilen doz 25000 gray'dir. Fideler ve ark., taze donmuş kemik- patellar tendon-kemik allogreftinin sterilizasyonunun 30000 gray veya üstü gama irradasyonu ile yapılması gerektiğini; bu doz ve üzerinde HIV'in dokuda saptanmadığını vurgulamışlardır.<sup>(18)</sup>

Gama irradasyonunun kemik greftin kırılabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir. Cornu ve ark., farklı yöntemlerle sterilize edilen kemik allogreftlere göre, dondurulup kurutulmuş ve gama ışınları ile sterilize edilen greftlerin daha kırılabilir ve daha sert olduğu gösterilmiştir.<sup>(19)</sup> Bu nedenle gama ışınlarının dozu arttıkça kemik allogreftin dayanıklılığı azalacak ve kırılabilirliği artacaktır.

Masif allogreftler ile rekonstrüksiyon planlanırken, daha az kırılabilir olmaları nedeniyle taze dondurulmuş allogreftler, dondurulup kurutulmuş allogreftlere tercih edilmelidir. Bununla beraber; saklanmaları ve taşınmaları esnasında soğuk zincir gerekmesi, bakteriyel- viral enfeksiyon riski ve yüksek maliyeti (elde etme ve saklama koşulları nedeniyle) dondurulup kurutulmuş allogreftlere göre dezavantajlarıdır.

### Demineralize Kemik Matrisi

Demineralize kemik matrisi (DKM), osteokondüktif ve farklı derecelerde osteoindüktif bir materyal olarak kemik kayıplarını ve boşlukları doldurmak için kullanılır. DKM hızlı bir şekilde yeniden damarlanır ve aynı zamanda otolog kemik iliği için iyi bir taşıyıcıdır.

Urist ve ark. tarafından tarif edilen ve daha sonra Reddi ve Huggins tarafından geliştirilen standardize edilmiş yöntemle DKM elde edilir. Bu yöntemde allojen kemik 74-420  $\mu$ m partikül büyüklüğüne erişene kadar ezilir ve ardından üç saat 0,5N HCL mEq/gr'da demineralize edilir. Kalan asit steril su, etanol ve etil eter ile yıkanır.<sup>(20-21)</sup> DKM elde etme aşamalarına göre (demineralizasyon zamanı, asit uygulaması, ısı, yağdan arındırma ajan uygulamaları ve gama ışınları veya etilen oksit ile sterilizasyon) doku bankaları ve firmalar arasında farklılıklar bulunur.<sup>(7)</sup>

Demineralize kemik matrisinin biyolojik aktivitesi, ekstrasellüler matrikste bulunan proteinler ve büyüme faktörleri ile olur. DKM'nin osteoindüktif kapasitesi; kemiğin işlenmesi, saklama şekli, steril-

izasyon yöntemi ve donöre göre değişebilir. Ürün; dondurulmuş-kurutulmuş toz, ezilmiş granüller veya yongalar, jel veya macun şeklinde kullanılabilir.<sup>(7)</sup> Gliserol, hyaluronik asit, kalsiyum sülfat ve jelatin ile karıştırılarak bu formlar elde edilir.

Bostrom ve ark. ve Wang ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda gliserolle kombine edilen DKM uygulamaları sonrasında aşırı doz kullanımında nörotoksik ve nefrotoksik etkiler gösterilmiştir.<sup>(22-23)</sup> Bu nedenle gliserolle kombine edilen DKM kullanılacağı zaman 2 cc/kg'nin üzerinde dozda kullanılmaması (düşük vücut ağırlığına sahip çocuk ve yaşlılarda dikkat edilmesi) ve renal fonksiyonları bozuk olan hastalarda kullanımından kaçınılması önerilir. Açıkta bulu-



**Şekil 2a,b,c:**  
Allogreft,  
kansellöz  
greft ve DKM  
karışımının  
ameliyat

sırasında  
hazırlanışı.

nan spinal sinirlerle doğrudan temasının önlenmesi gerektiği belirtilmiştir.<sup>(24)</sup>

DKM'nin uzun kemik kaynamamaları ve kırık sonucu oluşan kemik kayıplarında otolog kemik greftlerine benzer iyileşme sonucu elde edildiğini gösteren çalışmalar bildirilmiştir.<sup>(7,25,27)</sup>

Kemik kaybı büyük olduğu zaman otolog kemik greftini arttırmak ve yoğunlaştırmak için demineralize kemik matriksi, kansellöz greft ile karıştırılarak kullanılabilir. (Şekil 2) Aynı zamanda otolog kemik grefti kullanılmayan hastalarda alternatif olarak düşünülebilir. Yine perkütan olarak demineralize kemik matriksi ve otolog kemik iliği kullanımı bu tip olgularda göz önünde bulundurulmalıdır.<sup>(7)</sup>

DKM bazı dezavantajlar da taşımaktadır. Allojen bir madde olması nedeniyle HIV (Human immunodeficiency virüs) bulaştırma riski taşır. Ancak alıcı seçimi sırasında yapılan değerlendirmeler ve dekalsifikasyon işlemi esnasında virüsün inaktive olması sebebiyle bu risk çok düşüktür. Bugüne kadar yapılan yayınlarda demineralize kemik matriksi kullanımı sonrası HIV geçişi bildirilmemiştir.

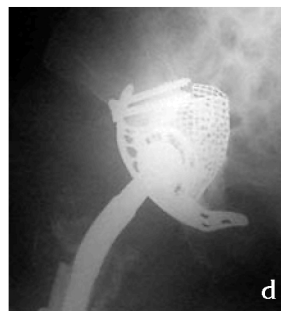
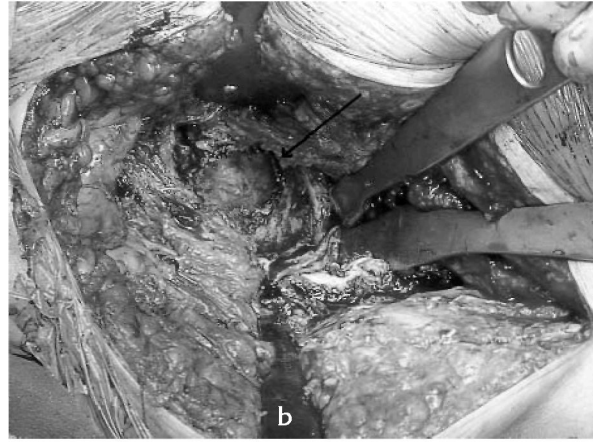
### Morselize ve Kansellöz Allogreftler

Morselize ve kansellöz allogreftler, osteokondiktiftirler ve kompresyona karşı mekanik olarak destek sağlarlar. Dondurulup kurutulularak (freeze-drying, lyophilization) ve vakumla paketlenerek kullanıma hazırlanırlar. Kemik kistlerinde küretaj sonrası oluşan kavitelerin doldurulmasında ve periartiküler metafiz kırıklarında eklem yüzeylerinin kaldırılması sonucu oluşan kemik boşlukların doldurulmasında morselize allogreftler kullanılabilir. Morselize allogreftler, otojen greftler ile karıştırılarak, uygulanacak greft miktarını arttırmak için de kullanılabilir.

### Osteokondral ve Kortikal Allogreftler

Osteokondral ve kortikal allogreftler pelvis, kostalar, femur, tibia ve fibuladan elde edilerek majör kemik ve eklem kayıplarında kullanılırlar. Ekstremitte koruyucu cerrahiler sonrası, büyük kemik kayıplarını rekonstrükte etmek için sık olarak kullanılırlar.(Şekil 3 ve 4) Ayrıca periprotetik kırıkların tedavisinde hem yapısal hem de mekanik destek sağlarlar. Osteokondüktif özellik taşıyan bu greftler, derin dondurularak veya dondurulup kurularak saklanabilirler.

Derin dondurulmuş allogreftler materyal özelliklerini korurlar ve eritildikten sonra hemen kullanıla-



**Şekil 3a,b,c:** Sağ asetabulum medial duvarda kemik kaybı nedeniyle revizyon total kalça artroplastisi. a: Ameliyat öncesi ön-arka grafi; b: Asetabulum medial duvarındaki defekt; c: Masif taze donmuş allogreft ve DKM+kansellöz allogreft ile kemik kaybının rekonstrüksiyonu; d: Ameliyat sonrası ön-arka grafi.



**Şekil 4a,b:** Sol radius distal uçta dev hücreli tümör. Olguya geniş rezeksiyon ve taze donmuş masif radius grefti, DKM ve kortikal vidalar ile rekonstrüksiyon uygulanmış. a: Ameliyat öncesi ön-arka ve yan grafileri; b: Ameliyat sonrası 2. yıl grafileri

bilirler. Ancak dondurulup kurutulmuş allogreftler rehidratasyon sonrası uygulanmalanna rağmen torsiyon ve eğilme kuvvetlerine karşı zayıftırlar.

Osteokondral ve kortikal allogreft uygulamaları sonrası, düşük de olsa HIV enfeksiyonu riski bulunmaktadır. ABD'de HIV virüsü tanımlandıktan sonra 3 milyon doku transplantasyonu yapılmıştır ve taze donmuş allogreft uygulanan iki vakada HIV virüsü saptanmıştır.<sup>(7)</sup>

Taze allogreftlerde herhangi bir işlem uygulanmadığından belirgin immün reaksiyon meydana gelme riski vardır ve bu da onları otogreftlerden daha az etkili kılar. Taze allogreftlerin kullanımı sınırlıdır, eklem yüzeyi rekonstrüksiyonu için kullanılabilir.<sup>(7)</sup>

### Seramik Matriksler

Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat (TCP) gibi kalsiyum fosfat birleşikleri seramik matriksler olarak adlandırılırlar. Kalsiyum sülfat tuzları da bu gruba dahil edilebilir. Bu materyaller üç gruba ayrılır

1. Hızlı rezorbe olan seramikler
2. Yavaş rezorbe olan seramikler
3. Enjekte edilebilen seramik çimentolar<sup>(5)</sup>

### Hızlı Rezorbe Olan Seramikler ve Kalsiyum Tuzları

Poroz TCP implantları, TCP tozlarının naftalin gibi taşıyıcılar kullanıldıktan sonra sıkıştırılması ile elde edilir. Elde edilen poroz yapı %35 oranındadır ve oluşan porlar 100-300  $\mu\text{m}$  boyutlanındadır. TCP, hidroksiapatite göre daha hızlı çözünür ve rezorbe olur. Gözenek yapısının çok küçük olması ve gözenekler arasında bağlantı bulunmaması nedeniyle rezorpsiyon olmadan kemik hücreleri yapının içine ilerleyemez. Bu yüzden TCP'nin granül formu kemik grefti olarak daha kullanışlıdır.<sup>(5)</sup>

Yüksek kalsiyum fosfat iyon konsantrasyonu içeren yüzeyler ve lokal mikroçevre, TCP rezorpsiyonunu etkiler. TCP'nin bulunması ve kalsiyum fosfat kristallerinin lokal depolanması osteoklastları uyarır. Osteoklastik aktivitenin artması ile osteoblastik aktivite de artacağı için yeni kemik oluşumu meydana gelir.<sup>(2,5)</sup>

### Yavaş Rezorbe Olan Seramikler

Klasik yavaş rezorbe olan kalsiyum fosfat seramik örneği hidroksiapatittir. Yüksek derecede kristalize hidroksiapatit (mercan kaynaklı) in vivo olarak stabildir ve yılda %5-10 oranında rezorbe olur. Chiroff ve ark. mercanların yapısının kortikal ve kansellöz kemikler ile benzer olduğunu bildirmişlerdir.<sup>(28)</sup> Basit hidrotermal değişiklik sonucu mercan kalsiyum karbonatı ( $\text{CaCO}_3$ ) mekanik olarak güçlü hidroksiapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) dönüşür. Hayvan ve insanlarda yapılan uygulamalar sonucunda hidroksiapatit poroz implantların fibrovasküler doku ile kaplandığı ve sonra lameller



kemiğe döndüğü gözlenmiştir. Oluşan kemik otojen greftlere benzer görünümündedir.<sup>(5)</sup>

Klinik olarak hidroksiapatitin yavaş emilimi dezavantajdır. Bu nedenle emilimini arttırmak için değişik uygulamalar geliştirilmiştir. Bunlar; kalsiyum karbonatın dış kabuğunun hidrotermal olarak hidroksiapatite çevrildiği implantlar, hidroksiapatitten elde edilen bifazik kalsiyum fosfat seramikler ve hidroksiapatit ile TCP karışımı olan kompozit materyaller olarak sayılabilirler.<sup>(5)</sup>

### Enjekte Edilebilen Seramik Çimentolar

Seramik çimentolar, a-TCP, dibazik dikalsiyum fosfat ve tetrakalsiyum fosfat monoksit karışımlarından oluşur. Maddeler likid macun şeklinde karıştırılır ve ardından belirgin ısı oluşmadan kristalize olarak sertleşir. Bir miktar hidroksiapatit oluşsa da sertleşen çimentonun büyük kısmı saflaşmamış, kolay rezorbe olan kalsiyum fosfat seramik kristalleri içerir ve osteoklastlar tarafından remodelize edilir. Meydana gelen sertleşmiş materyalin kompresif güçlere dayanıklılığı kansellöz kemiklere eşdeğerdir.<sup>(5)</sup>

Histolojik olarak, implantasyon sonrası vasküler kanallann invazyonu ve birkaç hafta sonra osteoklastik aktivite gözlenir bunu yeni kemik oluşumu izler. Klinik olarak açık ve kapalı olarak kırık sahasına ve kemik kaybı olan bölgeye uygulanabilir. Radius distal uç kırıklarında, humerus proksimal uç kırıklarında, vertebra kompresyon kırıkları tedavisinde enjekte edilebilen seramik çimentolar kullanılabilir.<sup>(5)</sup>

### Kollajen

Tip I kollajen, çapraz bağlı fibriler yapısıyla kemik ekstrasellüler matriksi içinde en fazla bulunan proteindir. Kollajen, kemik oluşumunda ve mineral depolanmasında önemli bir proteindir. Yüzeyinde minerallerin depolandığı ve kollajen olmayan matriks proteinlerinin bağlandığı alanlar bulunmaktadır.<sup>(5)</sup>

Klinikte kullanımı bulunan saflaştırılmış sıgır kaynaklı tip I kollajen matriks yapılarının (jel, toz ve poroz sünger) elde edilmesinde kullanılır.<sup>(5)</sup> Osteoblastik progenitor hücrelerin ve diğer osteoprogenitor materyallerin uygulanmasında taşıyıcı olarak kullanılabilir.<sup>(2)</sup> Kollajenin, seramik granüller, kemik morfojenik proteinler ve osteoblastik progenitor hücrelerin taşınmasında etkili olduğu gösterilmiştir.

Wernitz ve ark., tek başına kollajenin fare femurlarında diafiz kayıplarının iyileşmesinde etkisiz olduğunu; ancak kemik iliği ile birlikte kullanıldığı zaman otolog kansellöz greftlemeye göre üstün olduğunu göstermişlerdir.<sup>(29)</sup> Johnson ve ark., kemik kaybı modelinde kollajen jel, bifazik seramik hidroksiapatit ve TCP'den oluşan kompozit kullanımının tek başına seramik kullanımına göre kemik oluşumunu belirgin olarak arttırdığını göstermişlerdir.<sup>(30)</sup>

Zerwekh ve arkadaşları kollajen jel, bifazik seramik hidroksiapatit ve TCP'den oluşan kompozitin anterior spinal füzyonda otojen greft ile karıştırılarak kemik grefti miktarının artırılmasında kullanılabileceğini göstermişlerdir.<sup>(31)</sup> Buna karşın, Muschler ve ark., köpeklerdeki posterior spinal füzyon modelinde; otolog kemiğin etkisinin kollajen jel, bifazik seramik hidroksiapatit ve TCP'den oluşan kompoziti ile karıştırıldığı zaman azaldığını bularak farklı bir sonuç elde etmişlerdir.<sup>(32)</sup>

### Biyoaktif Camlar

Değişik şekillerde biyoaktif camlar, periyodontal cerrahide kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bu materyal; silikon dioksit (%45), kalsiyum oksit (%24,5), disodyum oksit (%24,5) ve pirofosfattan (%6) oluşur. uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan poroz matriks oluşturur.<sup>(7)</sup> Granül, blok ve çubuk şeklinde ürünler vardır. Absorbe olan ve olmayan tipleri bulunur. Antibiyotikler ile ve kemik yapımını arttıran maddeler ile karışım halinde kullanılamazlar. Hidroksiapatit implantlardan daha dayanıklıdır.<sup>(3)</sup>

### Cam İyonomerleri

İyonomerik çimento, kalsiyum-alüminyum-florosilikat cam tozunun, polikarboksilik asit ile karıştırılması sonucu elde edilir. Polimerizasyon esnasında ekzotermik reaksiyon oluşmaması nedeniyle kemik çimentosundan üstündür. Toz formunda bulunur ve rezorbe olmaz. Antibiyotik ve kemik oluşumunu uyaran maddeler ile karıştırılabilir. Kompresif gücü ve elastisitesi kortikal kemik ile eşdeğerdedir.<sup>(3)</sup>

### Alüminyum Oksit

Alüminyum oksit, birkaç biyoaktif materyalin karışımından oluşur. Ancak tek başına greft olarak

kullanılmaz. Aluminyum seramikler, biyoaktif camlar gibi implant ve kemik arasında iyon değişimi yapmazlar. Bu yüzden osteointegrasyonu sağlayamazlar. Bunun yerine, implantın üzerindeki streslere bağlı olarak, çevreleyen kemikle arasında mekanik bir bağ oluşur. Aluminyum seramikler çok sert ve katıdırlar. Eğilmeye bağlı kırılmaya karşı seramikler, hidroksiapatitlere göre çok daha dayanıklıdırlar. Granül ve blok formları bulunur. Rezorbe olmazlar. Antibiyotik ve kemik oluşumunu uyaran maddeler ile karıştırılmazlar. Kemik greftini genişletmek için, açık kama osteotomilerinde, eklem protezlerinde kaplama olarak kullanılırlar.<sup>(3)</sup>

### Kemik Morfojenik Proteinleri (BMP)

Kemik morfojenik proteinleri, düşük molekül ağırlıklı kollajen olmayan glikoproteinlerdir. Bu protein ailesi çok sayıda büyüme ve farklılaşma faktörü içeren bir grup olan TGF- $\beta$  (transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ ) grubuna dahil olan dimerik moleküllerden oluşmaktadır. BMP adı ile anılan BMP-2'den BMP-8'e kadar yedi üyesi olmasına rağmen osteojenik proteinler, kırıldak kaynaklı morfojenik proteinler ya da büyüme ve farklılaşma faktörleri gibi çeşitli isimlerle anılan otuzdan fazla molekül bu aile içinde yer almaktadır ve hepsi birlikte TGF- $\beta$  grubunun üçte birinden fazlasını oluştururlar.

Kemik morfojenik proteinleri, tüm kemik proteinlerinin ağırlık olarak %0,1'ini oluştururlar. DKM, kemik morfojenik proteinlerinin kanşımından oluşur ve immünojeniktir. Ancak saf BMP, immünojenik ve türlere özgü değildir. Rekombinant gen teknolojisi ile kemik morfojenik proteinleri ayrı ayrı üretilmiştir. Klinik kullanımda ise BMP kanşımları saflaştırılmış kemik ekstraterlerinden elde edilmektedir. Çalışılmakta olan rekombinant BMP'ler; rh-OP-1 (osteojenik protein 1), rh-BMP-2 ve rh-BMP-7'dir.

Boden ve ark., lomber spondilolistezli 14 hastada, metal kafeslerin içine rhBMP-2/ kollajen (11 hasta) ve otogreft (3 hasta) yerleştirerek spinal füzyon uygulamışlardır. rhBMP-2/ kollajen kullanılan 11 hastada altıncı ayda füzyon saptanırken, diğer üç hastanın ikisinde füzyon birinci yılda olmuştur.<sup>(33)</sup>

Gelecekte BMP'ler revizyon artroplastisinde, femur başı avasküler nekrozunda, omurga füzyonunda ve enjekte edilebilir formlarıyla minimal invaziv cerrahide yaygın kullanım alanı bulacaktır.

### Diğer Büyüme Faktörleri

Kemiğin ekstrasellüler matriksinden elde edilen büyüme faktörlerinin (DKM, BMP) yanında, kan dolaşımında bulunan diğer büyüme faktörleri de kırık iyileşmesinde etkilidir. TGF- $\beta$ , kemik biyolojisinde en çok çalışılan büyüme faktörüdür. BMP'leri oluşturan molekül ailesinin tümünü kapsar. 1994 yılında rekombinant teknoloji ile ilk olarak elde edilmiştir ve kırık iyileşmesini hızlandırdığına ait çalışmalar bulunmaktadır.<sup>(34)</sup>

Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF), tavşan tibialarında yapılan osteotomilerde kırık iyileşmesini uyardığı gösterilmiştir.<sup>(35)</sup> Otolog büyüme faktörleri, cerrahi sırasında "cell saver" cihazı yardımıyla toplanan kan pıhtısından santrifüj sonucu elde edilirler. Bu madde özellikle TGF- $\beta$  ve PDGF'den zengindir. Diğer kırık iyileşmesine etkili faktörlerden temel fibroblast büyüme faktörünün de (bFGF) klinikte kullanımı bulunmaktadır.<sup>(36)</sup>

### Gen Tedavisi

Gen tedavisi ile ex vivo veya in vivo olarak nükleik asit materyallerinin (DNA veya RNA) hücre içine transferi mümkün olmaktadır. Konjenital veya edin sel hastalıkların tedavisinde gen tedavisi arayışları sürmektedir. Gen tedavisinin, ekzojen kaynaklı osteoindüktif kemik morfojenik proteinlerinin bolus olarak enjekte edilmesine göre avantajları bulunmaktadır. Hüresel taşıyıcı ile modifiye edilmiş genetik materyalin kullanılması, zamanlama ve konsantrasyon olarak osteokondüktif matrikse göre daha fizyolojiktir. Kemik iyileşmesinde etkili bazı genler, vektörler yardımıyla başıyla transfer edilmiştir. (TGF- $\beta$ 1, LMP-1 ve BMP-2)<sup>(37)</sup> Önümüzdeki yıllarda doku mühendisliği ve gen tedavisi konularındaki gelişmeler ile en uygun otojen olmayan kemik grefti bulunacaktır.<sup>(36)</sup> Viggeswarapu ve ark., LIM mineralizasyon protein-1'i adenoviral vektör aracılığıyla transfer etmiştir.<sup>(38)</sup> Bu gen tedavisi sayesinde sistemik veya lokal kemik yapımı artırılarak kırık iyileşmesi ve spinal füzyon oranlarının arttırılabileceği düşünülmektedir.<sup>(39)</sup>

### Sonuç

Kemik greftleri ortopedik cerrahi girişimlerde sıklıkla kullanılır. Otogreftler; osteogenesis, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteointegrasyon dikkate alındığında, majör ve minör komp-

**Tablo 3:** Klinik ve deneysel

Materyal	greft materyallerinin özellikleri (Skorlama 0-3 arası) <sup>&lt;5,40)</sup>			Dezavantajları	
	Osteoin dükatif	Osteojenik	Avantajlar	Morbidite, sınırlı miktarda kullanım, elde etme zorluğu	Klinik sonuçlar %
Otogreft	2	2	"Altın standart"(biyoyumluluk ve füzyon açısından)		56-100 spinal füzyon
Allogreft	1	0 0	Değişik şekillerde bulunabilmesi	Immunojenik, hastalık transfer riski	%60-90 spinal füzyon
Kemik Morfojenik Proteini (BMP)	2	0 0	Osteoindüktif BMP'leri içerir, kemik greftinin hacmini artırır	Yapısal destekte bulunmaz. Değişken osteoindüktif özellikleri vardır.	Yoğunlaştırıcı olarak kullanıldığı zaman saf otogreft eşdeğerdir
TCP, hidroksiapatit	0	0 0	Kaynak sınırlılığı yok biyoyumlu	Başlangıçta az yapısal destek	Otogreft eşdeğer; fakat daha az komplikasyon
Kalsiyum fosfat çimentosu	0	2	Edilebilir Kaynak sınırlılığı yok	Deneysel çalışma ve pazarlama problemi	Konvansiyonel tedaviye eşdeğer veya daha üstün sonuçlar
B-TCP/kemik iliği kompoziti	2	0	Bol kaynak	Başlangıçta az yapısal destek	Preklinik sonuçlar bulunmaktadır
Kollajen	0		Diğer greft materyalleri için iyi bir taşıyıcıdır	Az yapısal destek	Uzun kemik kırıklarında kemik iliği ile birlikte kullanıldığında otogreft kullanımına eşdeğer sonuçlar
BMP/sentetik kompozit	3		Sınırsız kaynak potansiyeli	Immünojenik reaksiyon potansiyeli ma nedeniyle yüksek maliyet	rhBMP-2' in seramik veya kollajen ile birlikte kullanıldığında otogreft eşdeğer sonuçlar elde edilen klinik çalışmalar var
Kemik iliği	2	2	Diğer materyallerle karıştırılarak greftlemeye tedavi yanıtını arttırmak için kullanılabilir.	Sınırlı miktarda kullanım	Başarılı deneysel ve klinik sonuçlar

likasyonları olmakla birlikte özellikle gelişmekte olan ülkemiz koşullarında ilk tercih edilecek greftler olarak düşünülmelidir. Bununla birlikte seçilmiş olgularda allogreftler ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddelerin klinik kullanımı her geçen gün yaygınlaşmaktadır. Taze donmuş allogreftler, dondurulmuş-kurutulmuş ve solvent teknolojisi ile elde edilen greftlere göre mekanik olarak daha stabildirler. Doğal ve sentetik seramikler, demineralize kemik matriksi, kemik morfojenik protein, büyüme faktörleri uzun dönem takip sonuçları olmamakla birlikte umut vermektedirler. Bu maddelerin kullanımına karar verirken doku kültürlerinde ve hayvan deneylerinde başarılı sonuçlar veren bir ajanın insanlar üzerinde uygulandığı zaman aynı olumlu sonuçları bazen veremeyeceği göz önünde bulundurulmalıdır. DKM, otolog büyüme faktörleri gibi ajanların güvenilirliğini ve yararlılığını belirten bir standart bulunmamaktadır. Bu yüzden insan uygulamalarında, hayvan modellerinde saptanmayan beklenmedik sonuçlar görülebilir. Genetik çalışmalar ile elde edilecek greft materyalleri ortopedik

cerrahide umut vermektedirler.

Türkiye koşullarında çok merkezli olarak kurulacak olan bir doku bankası, ülkemiz koşullarında ortopedik cerrahi dikkate alındığında önemli bir açığı kapatacak ve Türkiye'yi dışa bağımlı olmaktan kurtaracaktır.

Kemik greftleri kullanımına karar verirken önemli olan uygun olgularda doğru endikasyonlar içinde hastaya ait faktörler, çevresel faktörler, cerrahin deneyimi ve greft kullanımının ekonomik boyutu dikkate alınarak bu materyallerin tercih edilmesi zorunluluğudur.

**Yazışma Adresi:** Dr. Aykın Şimşek  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji A.D.  
Beşevler, 06510 Ankara, TÜRKİYE E-  
posta: ayk@gazi.edu.tr

#### Kaynaklar:

1. Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN: Bone-graft substitutes: facts, fictions, and

- applications. *J Bone Joint Surg Am* 2001, 83-A(Suppl 2, Pt 2):98-103.
2. Szpalski M, Gunzburg R: Applications of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers in trauma surgery. *Orthopedics* 2002, 25(5 Suppl):601-9.
  3. Moore WR, Graves SE, Bain GI: Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001, 71(6):354-61.
  4. Bauer TW, Muschler GF: Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop* 2000, 371:10-27.
  5. Fleming JE Jr, Cornell CN, Muschler GF: Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000, 31(3):357-74.
  6. Burwell RG: Studies in the transplantation of bone. VII. The fresh composite homograft autograft 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-B:110-40.
  7. Finkemeier CG: Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am* 2002, 84-A(3):454-64.
  8. Arrington ED, Smith WJ, Chambers HG, Bucknell AL, Davino NA: Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop* 1996, 329:300-9.
  9. Stevenson S: Enhancement of fracture healing with autogenous and allogenic bone grafts. *Clin Orthop* 1998, 355 (Suppl):S239-46.
  10. Enneking WF, Burchardt H, Puhl JJ, Piotrowski G: Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone Joint Surg Am* 1975, 57-A(2) :237-52.
  11. Dell PC, Burchardt H, Glowczewskie FP: A roentgenographic, biomechanical, and histological evaluation of vascularized and non-vascularized segmental fibular canine autografts. *J Bone Joint Surg Am* 1985, 67-A(1):105-12.
  12. Tang CL, Mahoney JL, McKee MD, Richards RR, Waddell JP, Louie B: Donor site morbidity following vascularized fibular grafting. *Microsurgery* 1998;18(6):383-6.
  13. Muschler GF, Boehm C, Easley K: Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg Am* 1997, 79(11):1699-709. Erratum in: *J Bone Joint Surg Am* 1998, 80(2):302.
  14. Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R: Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. *Clin Orthop* 1991, 266:259-70.
  15. Swenson CL, Arnoczky SP: Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. *J Bone Joint Surg Am* 2003, 85-A(2):323-32.
  16. Tomford WW, Starkweather RJ, Goldman MH: A study of the clinical incidence of infection in the use of banked allograft bone. *J Bone Joint Surg Am* 1981, 63-A(2):244-8.
  17. Tomford WW, Thongphasuk J, Mankin HJ, Ferraro MJ: Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. *J Bone Joint Surg Am* 1990, 72-A(8):1 137-43.
  18. Fideler BM, Vangsnæs CT Jr, Moore T, Li Z, Rasheed S: Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in frozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *J Bone Joint Surg Am* 1994, 76-A(7): 1032-5.
  19. Cornu O, Libouton X, Naets B, Godts B, et al: Freeze-dried irradiated bone brittleness improves compactness in an impaction bone grafting model. *Acta Orthop Scand* 2004, 75(3):309-14.
  20. Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM: The bone induction principle. *Clin Orthop* 1967, 53:243-83.
  21. Urist MR, Dawson E: Intertransverse process fusion with the aid of chemosterilized autolyzed antigen-extracted allogenic (AAA) bone. *Clin Orthop* 1981, 154:97-113.
  22. Bostrom MP, Yang X, Kennan M, Sandhu H, Dicarolo E, Lane JM: An unexpected outcome during testing of commercially available demineralized bone graft materials: how safe are the nonallograft components? *Spine* 2001, 26(13): 1425-8.
  23. Wang JC, Kanim LE, Nagakawa IS, Yamane BH, Vinters HV, Dawson EG: Dose-dependent toxicity of a commercially available demineralized bone matrix material. *Spine* 2001, 26(13): 1429-35
  24. Dickman CA: Osteoinductive demineralized bone: what's the risk? *Spine* 2001, 26(13): 1409-10.
  25. 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.
  26. Hu X, Yao L, Lu C, Wang S, Chen Y: Experimental and clinical investigations of human insoluble bone matrix gelatin. A report of 24 cases. *Clin Orthop* 1993, 293:360-5.
  27. 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, allogenic (AAA) bone. *Clin Orthop* 1992, 277:229-37.
  28. Chiroff R, Weber J, White E: Tissue ingrowth of replamine-form implants. *J Biomed Mater Res* 1975, 6:29.
  29. Werntz JR, Lane JM, Piez C: The repair of segmental bone defects with collagen and marrow. *Orthop Trans* 1986, 10:262.
  30. Johnson KD, Frierson KE, Keller TS, Cook C, 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.
  31. Zerwekh JE, Kourosh S, Scheinberg R, Kitano T, et al: Fibrillar collagen-biphase calcium phosphate composite as a bone graft substitute for spinal fusion. *J Orthop Res* 1992, 10(4):562-72.
  32. Muschler GF, Nitto H, Boehm Ca, et al: Evaluation of collagen ceramic composite graft materials in a spinal fusion model. *Clin Orthop* 1996, 328:250-60.
  33. Boden SD, Zdeblick TA, Sandhu HS, Heim SE: The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. *Spine* 2000, 25(3):376-81.
  34. Heckman JD, Ehler W, Brooks BP, Aufdemorte TB, Lohmann CH, et al: Bone morphogenetic protein but not transforming growth factor-beta enhances bone formation in canine diaphyseal nonunions implanted with a biodegradable composite polymer. *J Bone Joint Surg Am* 1999, 81-

- A(12):1717-29.
35. Nash TJ, Howlett CR, Martin C, Steele J, Johnson KA, Hicklin DJ: Effect of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. *Bone* 1994, 15(2):203-8.
  36. Parikh SN: Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med* 2002, 48(2): 142-8.
  37. Betz RR: Limitations of autograft and allograft: new synthetic solutions. *Orthopedics* 2002, 25(5 Suppl):s561-70.
  38. Viggswarapu M, Boden SD, Liu Y, Hair GA, et al: Adenoviral delivery of LIM mineralization protein-1 induces new bone formation in vitro and in vivo. *J Bone Joint Surg Am* 2001, 83-A(3):364-76.
  39. Vaccaro AR, Chiba K, Heller JG, Patel T, et al: North American Spine Society for Contemporary Concepts in Spine Care. Bone grafting alternatives in spinal surgery. *Spine J* 2002, 2(3):206-15.
  40. Vaccaro AR: The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics* 2002, 25(5 Suppl):s571-8.

