



Kemik grefti yerine geçen substratlar ve etki mekanizmaları

Substrates that replace bone grafts and their action mechanisms

Feza Korkusuz¹, Eda Çiftci Dede², Zeynep Bal³, Merve Gizer², Hiroyuki Ishiguro³, Takashi Kaito³, Necdet Sağlam⁴, Petek Korkusuz⁵

¹Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Osaka Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedik Cerrahi Bölümü, Osaka, Japonya

⁴Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Kazaların ülkemizde sık görülmesi, refah seviyesinin artmasıyla birlikte yaşanan nüfusta görülen tümör ve metabolik hastalıklar, kemik rejenerasyonu için ileri biyomedikal teknolojik yaklaşımı zorunlu kılar. Oto-greft ve allogreftlerin uygulama sınırlamalarından dolayı, onarılması güç olan kemik dokusu kaybında, bazen tek başına veya klinik alanda kombinasyon halinde sentetik greftler ve kemik greftlerinin yerine geçecek substratlar kullanılır. Osteoindüksiyon ve kaplama ile sentetik materyallerin implant entegrasyonu amaçlansa da, son yıllarda nanoteknolojik ve moleküler biyolojik yaklaşımların geliştirilmesiyle birlikte, osteoindüksiyona yönelinmiştir. Kemik grefti yerine geçen substratların büyük bölümünü büyüme faktörleri oluşturur. Aktif sinyal molekülleri olarak da adlandırılan bu faktörler, doz ve zamana bağlı etki göstererek hücrelerin hasarlı dokuya yönlendirilmesi, ortamda çoğalması, farklılaşması ve daha sonra da ekstrasellüler matriksin yeniden yapılmasında görev alır. Kemik morfojenik proteinleri, aktif sinyal moleküllerinin en bilineni ve en çok çalışılanıdır. Bu proteinler, yeni kemik oluşumunu tetikleyen biyolojik olarak aktif moleküllerdir. Kemik yerine geçen substratların etkisini arttırmak, uygulamaları ortamda uzun süre kalmalarını sağlamak ve kontrollü salınımlarının gerçekleştirilebilmesi için farklı biyomalzemeler taşıyıcı olarak kullanılabilir. Bu derlemede de, kemik greftleri yerine kullanılabilen malzemeler, bunların sahip olması gereken özellikler ve çeşitli taşıyıcılarla beraber kullanımları ile kemik yeniden şekillenmesi ve rejenerasyonuna etkileri değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: kemik morfojenik protein (BMP); aktif sinyal molekülleri; büyüme faktörleri; biyoseramikler; kemik rejenerasyonu; kemik yeniden şekillenmesi

High-energy work and road traffic accidents as well as the increase in tumor rate and metabolic diseases entail an advanced biomedical approach to bone regeneration. In bone tissue loss, which is sometimes difficult to repair, due to application limitations of auto-grafts and allografts, synthetic grafts and substances that replace bone grafts are used alone, or in combination in the clinical field. Although implant integration of synthetic materials is aimed by osteoinduction and coating, with the development of nanotechnological and molecular biological approaches in recent years, osteoinduction is recently aimed. Growth factors constitute the majority of bone graft substitutes. These factors, also called active signal molecules, act by directing the cells to the damaged tissue, proliferating, differentiating and then reconstructing the extracellular matrix by showing dose and time dependent effect. Bone morphogenetic proteins are the most known and most studied of active signaling molecules. These proteins are biologically active molecules that trigger new bone formation. Different biomaterials can be used as carriers to increase the effect of bone substitute substrates, to ensure that they remain in their environment for a long time, and to achieve controlled release. In this review, the materials that can be used instead of bone grafts, the properties they should have, and their use with various carriers have been evaluated for bone remodeling and regeneration.

Key words: bone morphogenetic protein (BMP); active signaling molecules; growth factors (GFs); bioceramics; bone regeneration; bone remodeling

Çeşitli kazalara bağlı travmalar, kemik enfeksiyonları, tümörleri ve benzer nedenler ile oluşan kemik hasarları kemik greftleri ya da greft yerine geçen substratlar ile onarılmaktadır. Bu greftler ya da substratlar, osteointegrasyon, osteokondüktif veya osteoindüktiflik özelliklerinden en az birine sahip olmalıdır.^[1] Mekanik dayanımın istenilen düzeyde olması ve bölgenin damarlanması kemik rejenerasyonunda oldukça önemli kriterlerdir. Oto ve allogreftler onarımı sağlamalarına rağmen çeşitli dezavantajlara sahiptirler. Ototgreftlerin ek bir operasyon ile elde edilmesi, donör bölgede ağrı ve enfeksiyon riskinin bulunması ve otogreftlerin yetersiz kalabilmesi, allogreftlerin ise immün yanıt oluşturabilecek olması, bu greftler yerine kullanılabilecek substratlara yönelime neden olmuştur.

Kemik grefti yerine geçen substratların büyük bölümünü büyüme faktörleri oluşturur. Mekanik^[2], man-yetik ve elektriksel çevresel fiziksel etmenler, büyüme, tiroid, paratiroid gibi sistemik hormonlar, D vitamini^[3], nöromediyatörler, endotelin^[4] ve başta kollajen 1 sentezini düzenleyen genetik yapı transforme edici büyüme faktörü beta'nın (TGF- β) alt grubu olan kemik morfojenik proteinler (BMP) olmak üzere, fibroblast büyüme faktörü (FGF), tümör nekroz faktör (TNF) ve trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) üzerinden kemiği kontrol eder (Şekil 1). Bunlar aynı zamanda, aktif sinyal molekülleri olarak da adlandırılır. Mikrogram veya nanogram düzeyinde sentezlenerek ortama salınan ve çoğunlukla protein olan aktif sinyal molekülleri, çoğunlukla süreci veya diğer bir değişle kaskadı başlatarak ortadan kaybolur. Bu süreç çocukluk ve ergenlikte büyüme iken, ileri yaşlarda onarım ve rejenerasyon da aynı moleküller tarafından yönetilir. Doz ve zamana bağlı etki gösteren aktif sinyal molekülleri, hücrelerin hasarlı dokuya yönlendirilmesi, ortamda çoğalması, farklılaşmasında ve daha sonra da ekstrasellüler matriksin yeniden yapılmasında görev alır. Doğru molekülün, doğru zamanda ve doğru dozda sentezlenmesi önemlidir.

KEMİK REJENERASYONU

Kemik rejenerasyonu ve kırık onarımında kanlanma çok önemlidir. Anatomik redüksiyon, immobilizasyon ve kanlanmanın doğru sağlandığı kırık çoğunlukla kaynar. Kırık onarımı ve rejenerasyonunda öncül hücre osteoklasttır. Osteoblastlar osteoklast stimülasyonunu NF- κ B reseptör ligandı (RANKL) salınımı ile desteklerken, aynı zamanda Osteoprotegerin (OPG) salınımıyla da NF- κ B reseptörü (RANK)-RANKL etkileşimini engelleyerek osteoklast inhibisyonu yapar (Şekil 2). Yeniden kanlanmanın (neovaskülerizasyon) sağlanmadığı nekrotik dokuyu rezorbe eden osteoklastlar öncelikle endotelial hücreleri, osteoblast öncülü hücreleri

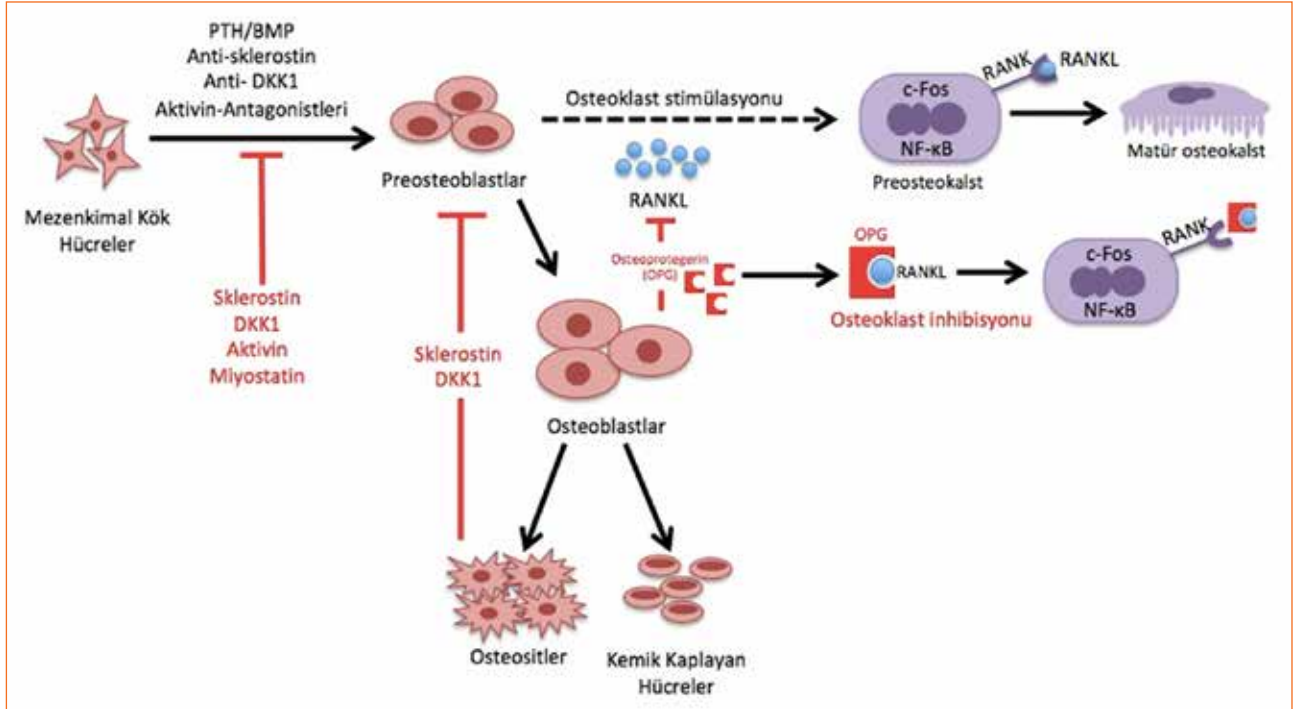
ve osteoblastları kemik onarımını başlatmak üzere osteoprotegerin (OPG) salgılayarak uyarır. Osteositler ise, bu süreçte iletişimden sorumludur.

Kemik rejenerasyonu bir dizi dış ve iç etmene bağlı değişiklik gösterebilir. Kemik rejenerasyonunda kullanılan greftler ve yerine geçecek substratlar alıcının yaşından ve hastalıklarından etkilenir. Şeker hastalığı veya sarkom nedeniyle kemoterapi veya radyoterapi almakta olan hastada rejenerasyon geç ve güç olacaktır. Sigara kullananlarda da kırık geç kaynar.^[5] Alıcının yaşı ve kemik niteliği de belirleyici faktörlerden birisidir. Kemik kütlesi, iç mimarisi ve iç malzeme özellikleri, kemiğin sağlamlığını ve kırığın iyileşmesini belirler. Osteoporoz hastalarında mineral ve kollajen konsantrasyonundaki azalma, kemiğin esnekliğinde, dayanıklılığında ve elastik modülünde de azalmaya neden olur. Yaşla yavaşlayan hücre çoğalması ve şişmanlıkla artan vücut ödemi de kemik onarımını etkiler. Bu nedenle, alıcının kemik mikroçevresi greft yerine geçecek substratların da etkilerini belirleyecektir. Örneğin, ortamda düşük dereceli enfeksiyonun varlığı bu substratların etkisini azaltabilmektedir.

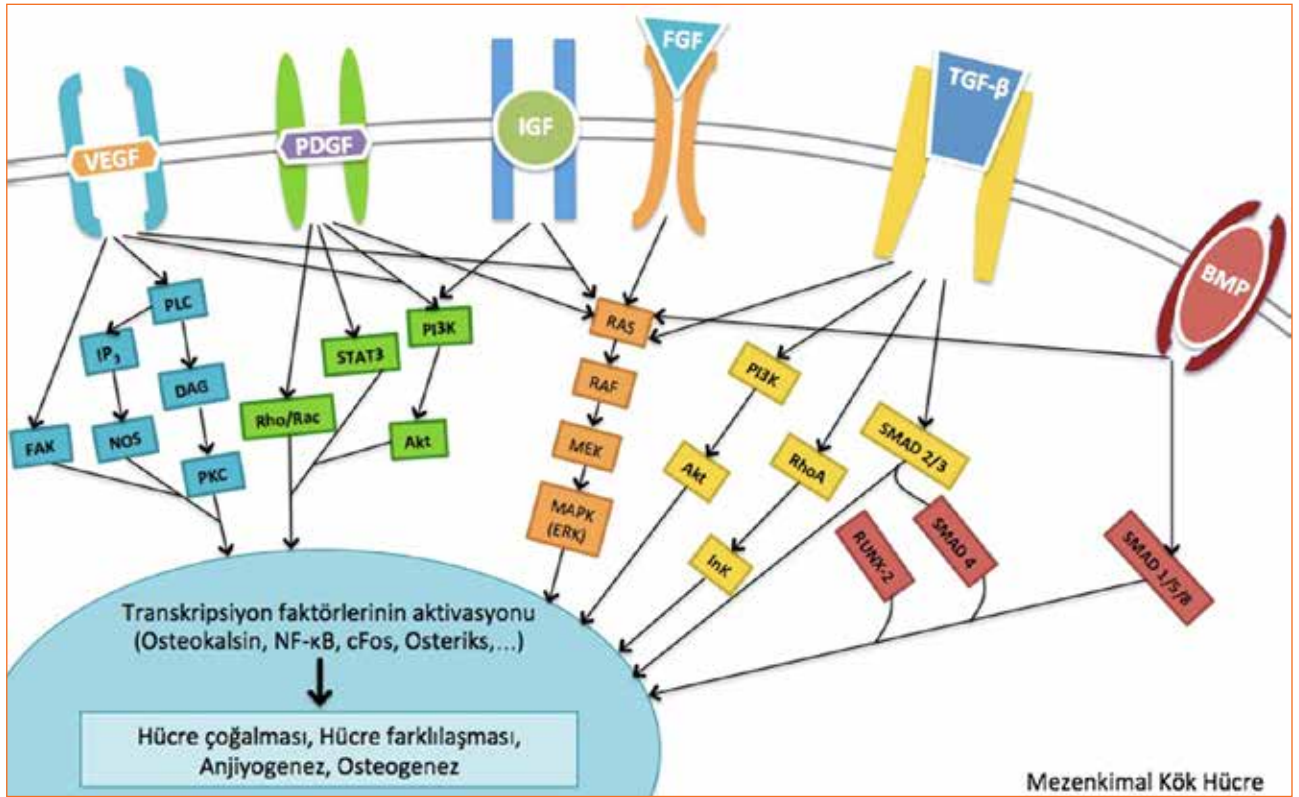
KEMİK MORFOJENİK PROTEİNLERİ

(Bone Morphogenic Protein-BMP)

İlk kez 1965 yılında Dr. Marshal Urist tarafından tanımlanan kemik morfojenik proteinleri (BMP)^[6] aktif sinyal moleküllerinin en bilineni ve en çok çalışılanıdır. Biyolojik olarak aktif olan bu moleküllerin bazıları kemik oluşumunu tetiklemektedir.^[7,8] Bu proteinlerin, hücre çoğalması, farklılaşması ve ekstrasellüler matriksin yapılmasında görev aldığı bilinir; kemik onarımının yeniden şekillenmesinde de apoptozu kontrol ettikleri belirtilir.^[9] Kemik grefti yerine geçen substratların hücre duvarındaki membran reseptörleri ve hücre içi sinyal mekanizmaları aydınlatılmıştır.^[10] Alfa ve beta integrinler, başta kalsiyum, sodyum, potasyum ve klor olmak üzere, iyon kanalları ve G_s - G_q reseptörlerine bağlanan substratlar, hücre içi aktin ve miyozin aracılığıyla hücre çekirdeğini uyarak, NF- κ B başta olmak üzere transkripsiyon faktörleri aracılığıyla hücrel cevap ve ekstrasellüler matriks yapımını başlatır. Bu substratlara duyarlı membran reseptörleri osteoblast ve kondroblast dışında osteoklastlarda da bulunduğundan, bunların kemik ve kırıkdağın homeostazında da görev aldığı söylenebilir. Dışarıdan uygulanan substrat dozu genellikle yüksek tutulur. Özellikle, BMP'nin kök hücrenin yaralı bölgeye göçünü arttırdığı belirtilir. Hipertrofik kaynama yokluğunda BMP'nin etki mekanizması kök hücre göçüyle açıklanmaya çalışılmakla birlikte, bu hücrelerin ortamda bulunmadığı atrofik kaynama yokluğunda etkinin nasıl olduğu bilinmemektedir. Ektopik kemik oluşumunun indükleyicisi



Şekil 1. Mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasındaki önemli sinyal molekülleri, bunların birbirleri ile etkileşimleri ve sinyal ağları şeması.



Şekil 2. Kemik rejenerasyonu ve yeniden şekillenme mekanizması şeması. Parathormon (PTH), kemik morfojenik protein (BMP) gibi çeşitli sinyal molekülleri osteoblast farklılaşmasını tetiklerken DKK1, sklerostin, aktivin ve miyostatin farklılaşmayı engeller. Osteoblastlar osteoklast stimülasyonunu RANKL salınımı ile desteklerken aynı zamanda Osteoprotegerin (OPG) salınımıyla RANK-RANKL etkileşimini engelleyerek osteoklast inhibisyonu yapar.

olarak tanımlanan BMP'lerin, kemik oluşumunda, kemik rejenerasyonunda, kırık iyileşmesinde ve osteofit oluşumunda önemli etkileri olduğu bilinir.^[11] BMP-2'nin in vitro ortamda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin, miyoblastların ya da osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasında etkili olduğu rapor edilmiştir.^[12]

Günümüzde BMP, spinal füzyonda, zor kaynayan kırıklarda ve kemik defekti onarımında kullanılmaktadır. Zor kaynayan kırıkların başında tibia 1/3 distal bölge kırıkları tanımlanmıştır.^[13] Tümör, enfeksiyon ve hamilelerde kullanılması ise endikasyon dışıdır. Çocuk ve genç erişkinlerde kullanımı ise tartışmalıdır. Başta BMP olmak üzere kemik grefti yerine geçen substratların bir bölümü ticari ürün olarak bulunup hastalarda kullanılmaktadır, ancak bu durumda hasta seçimi önemlidir.^[14] Kemik grefti yerine geçecek olan ürünlerin gelecekte doku mühendisliği alanında daha yaygın kullanılması söz konusudur. Kemik morfojenik protein ve diğer kemik grefti yerine geçen substratların kullanıldığı olgularda mekanik sağlamlığın kırık bölgesinde korunuyor olması gerekir. Ancak, implant varlığında bunların kullanılması deneysel verilerin başarısında bağlıdır. Kemik morfojenik proteinin anjiyojenik faktörlerle^[15,16], paratiroid hormonla^[17] ve mezenkimal kök hücrelerle birlikte kullanılması^[18,15] söz konusudur. Kemik grefti yerine geçen substratlar tek başına da kullanılabilmekle birlikte, çoğunlukla iyileşmeyi yönlendiren hücre ve biyomalzemelerle birlikte kullanılır. Günümüzün önemli araştırma konularından birisi; kemik grefti yerine geçen substratların, skafoid, talus boyun, tibia distal uç gibi zor kaynayan bölgelerde kırığın belirlendiği anda kullanılabilesidir. Yine güncel araştırma konularının başında; diyabet, vasküler yetmezlik, çoklu travma, enfeksiyon, osteoporoz ve osteoartrit gibi sistemik hastalıklarda gelişen kırıklarda bu substratların kullanılması gelmektedir. Kemik grefti yerine geçen substratların dokuda etkili olabilmesi için, hücre duvarındaki reseptörlerinin ve hücre içi sinyal moleküllerinin de iyi anlaşılması gerekir.

Onarım ve rejenerasyonda BMP'nin doğru doz ve zamanda kırık bölgesine verilebilmesinin değerlendirilebilmesi için, Seo ve ark.^[19] beş farklı hidrojel formülasyonundan salınım çalışması gerçekleştirmiş ve hidrojelden BMP'nin hızlı çıkışının rejenerasyon için yeterli olmadığı, geç salınım hidrojel formülasyonunun da etkiyi baskıladığı gösterilmiştir. Lopez-Cebral ve ark. da^[20] yeni hidrojeller ile BMP-2'nin taşınmasını çalışmıştır. Hidrojeller, son yıllarda BMP'nin taşınması için ideal malzemeler olarak görülmekle birlikte, suda hızlı çözümleri BMP'nin erken salınmasına neden olur. Bu nedenle, bir çalışmada^[21] katyonik stearylamin ve kolesterol kullanılarak fare kraniyal defektlerinin onarımı

için siRNA yaralı bölgeye taşınmıştır. Kemik morfojenik proteinin kemik rejenerasyonu bölgesine doğru taşınması için çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma yapılmış ve yayımlanmıştır.^[22] Rekombinant - insan kemik morfojenik protein 2 (rhBMP2)'nin çapraz bağ içermeyen pegile poli-gliserol sebakat (PEGs) ile kaplı mezoporöz biyocam kompozit hücre iskeleleri ile taşınması hem in vitro hem de in vivo olarak değerlendirilmiş, PEGs'in rhBMP2'nin kontrollü salınımını sağlayarak, hızlı kemik oluşumunu desteklediği bildirilmiştir.^[23]

Kemik morfojenik proteinle gerçekleştirilen klinik çalışmaların bir bölümünde örneklem sayısı düşüktür ve kontrol grubu bulunmamaktadır.^[24,25] Bu araştırmalarda BMP oto- veya allogreftle birlikte kullanıldığından, etkinin substrattan mı yoksa greftin kendisinden mi geldiği ayırt edilememektedir. Diğer taraftan, otoplastların ve allogreftlerin komplikasyonları iyi bilindiğinden, kemik grefti yerine geçen substratlar klinikte giderek önem kazanmaktadır. Kemik morfojenik proteinle ilgili klinik çalışmalar^[26-28] ameliyatta kan kaybını 43 ila 336 ml azalttığı ve ameliyat süresini 9 ila 15 dakika kısalttığını göstermektedir. Bu çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılmış olmakla birlikte, klinik önemleri gelecekte yapılacak çalışmalarla ortaya konabilecektir. Bu substratlarla ilgili güvenlik, etkinlik ve güvenilirlik çalışmaları bu nedenle önemlidir. Ayrıca, kemik morfojenik proteinin enfeksiyonu nasıl azalttığı ve hastanın yaşam kalitesini nasıl arttırdığının araştırılması da önemlidir.

Son yıllarda BMP'ye bağlı komplikasyonlar da bildirilmiştir. Bir koyun çalışmasında^[29] inflamatuvar hücrelerle birlikte BMP'ye karşı serum antikorlarının arttığı, bunun da vücutta genel ödeme neden olarak kemikte aşırı büyüme ile heterotopik ossifikasyona neden olduğu bildirilmiştir.^[30] Klinik çalışmalara bağlı komplikasyonlar; yumuşak dokularda hematoma oluşumu, proksimal humerus kırıklarında aşırı inflamasyon, kemik kisti oluşumu ve açık tibia kırıklarında enfeksiyon olarak bildirilmiştir.^[31] Aynı derlemede, yan etkiyi azaltmak üzere düşük doz BMP kullanıldığında da açık tibia kırıklarında kaynamamanın %44 oranında arttığı belirtilmiştir. Bir ürün için ise sekiz kanser olgusu bildirildiğinden, başta BMP olmak üzere kemik grefti yerine geçen substratların kas-iskelet sistemindeki olası yan etkilerinin bilinmesinde yarar vardır. Kemik morfojenik proteinin endikasyonları giderek çoğalmaktadır^[32], ancak skafoid kemik^[33] ve talus gibi zor kaynadığı bilinen kemiklerin rejenerasyonunda BMP'nin yararlığı konusunda sınırlı sayıda çalışma yayımlanmıştır. Kemik grefti yerine geçen substratların doku mühendisliği uygulamalarında yakın gelecekte daha fazla kullanılması beklenmektedir.^[10] Doku mühendisliğinde hücreler, taşıyıcı matrisler ve sinyal moleküllerinin birlikte

kullanılması söz konusudur. Kemik grefti yerine geçen substratların dokuya taşınmasında kullanılacak taşıyıcılara yönelik araştırmalar^[34,35] sürmektedir. Virüs içermeyen ve kemik grefti yerine geçen substratların genini taşıyabilecek yöntemler güncellik kazanmaktadır. Gen aktive matriks olarak adlandırılan bu yaklaşımla, kırık iyileşmesi veya kemik rejenerasyonunda tüm molekülün taşınması yerine, kilit proteinin yaralı bölgeye verilerek içerde sentezin tetiklenmesi hedeflenmiştir.^[36]

KEMİK GREFTİ YERİNE GEÇEN SUBSTRATLARIN TAŞIYICILARLA UYGULANMASI

Kemik yerine geçen substratların etkisini arttırmak ve uygulandıkları ortamda uzun süre kalmalarını sağlamak için farklı biyomalzemeler taşıyıcı olarak kullanılabilir. Son yıllarda kullanılan nano-hidroksiapatit toz veya granüller bu biyomalzemelerin başında gelir. Bir çalışma^[37] laktoferinin nano-hidroksiapatit rod ve mikrokürelerle birlikte kullanıldığında kemik rejenerasyonunu arttırdığını göstermiştir. Benzer bir çalışmada Gao ve ark., laktoferinin kemik rejenerasyonundaki etkisini değerlendirilmiş, laktoferin içeren grupların, karşılaştırılan gruplardan daha yüksek kemik hacmi fraksiyonu ve yeni kemik oluşumunu geliştirdiği gözlenmiştir.^[38] Başka bir çalışmada da^[39], kalsiyum fosfat, jelatin ve ipek-fibroin kullanılarak geliştirilen mekanik dayanıklılığı yüksek biyomalzemenin hücre kültürü ortamında MG63 hücrelerinin çoğalmasını arttırdığı belirlenmiştir. Başka bir tavşan çalışmasında^[40], ipek-fibroin karbon nano-liflerle güçlendirilerek BMP ve TGF- β kemik defektine birlikte uygulanmış ve başarılı sonuç elde edilmiştir. Paratiroid hormon (PTH), kemiğin dengesini sağlayan en önemli sistemik hormonlardan birisidir ve osteoporoz tedavisinde kullanılır. Dang ve ark.^[41] biyomimetik nanofibroz bir ağ kullanarak PTH'nın kırık bölgesine atımlar halinde uygulanmasını sağlamış ve bunun farelerde PTH'ya bağlı olası yan etkileri azaltarak kritik boyuttaki defekte kemik rejenerasyonu sağladığını göstermiştir. Nanoteknoloji ve nanotıbbın gelişmesi, özellikle kemiğe afinitesi olan bifosfonat ve tetrasiklin veya bunların bileşiklerinin kemiğe PTH gibi substratların eklenmesine katkı vermiştir.^[42] Bu yaklaşımla, özellikle osteoporoz hastalarında büyük moleküllerin böbrek gibi organlardaki olası hasarlarının önüne geçilmesine çalışılmaktadır.

Vücut içine uygulandıklarında katılan jelatin bazlı hidrojelлер de^[43] kemik grefti yerine geçen substratların taşınmasında yaygın kullanılır. Bu hidrojelлер üç boyutlu biyolojik yazıcılarda kullanıldığında hücre ile birlikte doku baskısı yapabildiklerinden, doku mühendisliği yaklaşımları için önemli bir malzeme grubunu

oluşturmaktadır. Domuz veya dana derisi ya da kemiğinden elde edilen jelatin önceleri yaygın olarak kullanılırken, buna bağlı gelişen vücut tepkimesi^[44] son yıllarda klinikte kullanımını azaltmıştır. Ancak jelatin günümüzde kollajenin zor bulunduğu koşullarda sistem optimizasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır.^[45] Rekombinant teknoloji ile saflığı yüksek jelatinin üretilmesiyle, hayvan kökenli malzemenin sorunları aşılabılır. Çözünmenin gecikmesi için çapraz bağlama gerekir. Hidrojeli çapraz bağlayarak bunların sıvı ortamda çözünmesi yavaşlatıldığında, hem hücrelerin hem de aktif sinyal moleküllerinin taşınması için ideal malzeme yapısına ulaşılabilir. Çapraz bağlama için mikrodalga kullanılması basit ve ucuz bir yöntemdir. Hidrojeller, yine son zamanların gelişen teknolojisi olan elektron-eğirtme (*electrospinning*) sisteminde de yaygın kullanılır.^[45] Bu yaklaşımla, örneğin, yerel nüksün önlenmesi için implant kaplamasına anti-kanser ilaçlarının eklenmesi başarılmıştır. Çalışmalar, bu hidrojelлерin BMP-2, IGF ve bFGF'nin kemik rejenerasyonu bölgesine taşınması aşamasında da kullanıldığını göstermektedir. Örneğin, bFGF'in gözenekli hidroksiapatit granül ve jelatin hidrojel mikroküre ile tavşan kraniyal defektine uygulandığı bir çalışmada^[46] başarılı sonuç bildirilmiştir.

Nanoteknolojinin tıp alanında kullanılması, kemik yerine geçen substratların onarım bölgesine taşınmasına yardımcı biyomalzemelerin geliştirilmesine katkı vermiştir. Nanomalzemelerin başında nano-hidroksiapatit (nHAp) gelmektedir. nHAp'nın doku ile temas eden yüzey alanının geniş olması ve mikron boyutundaki eşdeğerlerine göre düşük doku yanıtı oluşturma özelliği bulunmaktadır.^[47] nHAp yakın geçmişte, kök hücrelerin yaralı bölgeye taşınmasında^[48], strontium veya boron gibi eser elementlerin kemik hücrelerini uyarıcı etkilerinin incelenmesinde^[49] ve osteomiyeliti önlemek amacıyla kontrollü vankomisin salınımında^[50] kullanılmıştır. Yakın geçmişte tamamlanan bir çalışmada^[51], nHAp'ların özellikle nano-küre formunda olanlarının kemik defekti onarımında daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, kemik yerine geçen substratların taşınmasında nHAp'nın sferik formlarının tercih edilmesi önerilmektedir.

Taşıyıcı kullanıldığında, BMP'nin tek başına kullanıldığında gereken dozdan daha düşük dozlarda etkili olabileceği gösterilmiştir.^[52,8] BMP'nin taşınmasında kullanılan çeşitli malzemeler ve kullanım formları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Kemik morfojenik proteinlerinin, kemik rejenerasyonunu başlatıp sürdürmesi için optimum dozda salınmasının sağlanması önemli olmakla birlikte, yüksek doz BMP'nin inflamasyona, yumuşak doku ödeme ve istenmeyen kemik oluşumlarına neden olduğu da

Tablo 1. BMP taşıyıcı malzemeler ve kullanım formları

Malzeme türü	Malzeme çeşidi	Kullanım şekli
Doğal polimerler	Kollajen	Toz, membran filmler, sulu form, jel, nanofiber, putty, sünger
	Hiyaluronik asit/Hyaluronan	Jel, hücre iskelesi, sulu form
	Jelatin	Hidrojel, kompozit hücre iskelelerinde mikroparçacık
	Fibrin	Hidrojel
	Kitosan	Film
	Aljinat	Sulu form
	İpek	Film, 3 boyutlu poröz hücre iskelesi, mikroparçacık
Sentetik polimerler	PLA (poli-laktik asit)	Sulu form, yeniden şekillendirilebilir implantlar
	PGA (poliglikolik asit)	Örgü formunda olmayan PGA fiberler, hücre iskeleleri ve nano parçacıklar
	PLGA poli (D, L-laktid-ko-glikolid)	Mikroparçacıklar, implantlar, 3 boyutlu hücre iskeleleri, kapsüller, jeller
	PEG (poli-etilenglikol)	Hidrojel
	PCL (poli-kaprolakton)	Üç boyutlu hücre iskelesi
	PPF (polipropilen-fumarat)	Poröz hücre iskelesi
	Blok Polimer	PLA-PEG Peletler
		PLA-DX-PEG İmplantlar
İnorganik malzemeler	Hidroksiapatit	Fiber kafes, sement, poröz hücre iskelesi
	TCP (trikalsiyum fosfat)	Poröz multisilindir hücre iskeleleri, sement, granüller
	BCP (bikalsiyum fosfat)	Hücre iskeleleri

bilinmektedir.^[48] Kaito ve ark., BMP taşıyıcısı olarak PLA-PEG blok kopolimeri kullanmışlar ve rekombinant insan BMP-2 (rhBMP-2) için bu kompozitin, etkili bir taşıyıcı olduğunu vurgulamışlardır. Yüksek doz rhBMP-2'nin ilk dört haftada implant çevresinde kemik oluşumunu tetiklediği belirtilmişse de, operasyon sonrası sekiz haftada düşük dozda BMP uygulanmasının histolojik, biyomekanik ve radyografik etkilerinin aynı olduğu gösterilmiştir.^[52] Bu nedenle, BMP 2'nin kontrollü salınımının yapılabilmesi için çeşitli taşıyıcılar kullanılabilmektedir. Bu taşıyıcılardan PLA-PEG, biyouyumlu ve biyoçözünür bir polimerdir. BMP ile birleştirilmiş PLA-PEG, in vivo ortamda hidrojel yapısı oluşturur. Hettiaratchi ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada ise BMP-2'nin hızlı salınımının önüne geçmek için PCL nano-fiber ızgara tüpler ve heparin mikropartiküller ile kollajen hücre iskeleleri geliştirilmiştir. BMP-2'nin bağlanma ve salınım özelliklerinin incelendiği in vitro çalışmalarda, BMP-2'nin bağlanma potansiyelinin arttığı ve tüplerden salınımının azaldığı görülmüştür. Ancak in vivo çalışmalarda, ratlarda kritik boyutlu femoral segmental hasar modeli oluşturularak, üretilen malzemenin hasarlı bölgenin remineralizasyonu ve heterotopik ossifikasyonuna

etkileri incelendiğinde, hipotezinin aksine mekanik özellikler, yenilenmiş kemik hacmi ve ossifikasyon değerleri açısından anlamlı bir etki gözlenmemiştir.^[53]

KEMİK YERİNE GEÇEBİLECEK SUBSTRATLARIN MAALİYET DEĞERLENDİRMESİ

Tahmin edilebileceği üzere, kemik grefti yerine geçen substratların üretilerek klinikte kullanılmasının maliyeti yüksektir.^[54] Örneğin, skolyoz cerrahisinde bir segmentte füzyonun sağlanabilmesi için kullanılacak BMP'nin maliyeti tüm cerrahinin maliyetini doğrudan etkilemekle birlikte, bazı olgularda kullanılması gerekmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, BMP'nin bir hastada kullanılabilecek miktarı 3 mg/ml'yi geçmemelidir. Bu nedenle, füzyon bölgesinin iyi belirlenerek optimum BMP kullanımına özen gösterilmelidir. Kemik morfojenik proteinin üretiminde, yeni teknolojinin kullanılmasıyla birlikte maliyetlerin azalması öngörülmektedir.

Sonuç olarak; başta BMP olmak üzere kemik grefti yerine geçen substratlar, tek başlarına veya taşıyıcı biyomalzemelerle birlikte, son yıllarda özellikle kemik

onarımı veya rejenerasyonun sorunlu olduğu hastalık veya yaralanmalarda giderek artan oranlarda kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle, otogreftin alındığı donör bölgesindeki ağrı, sinir yaralanması, enfeksiyon gibi sorunlar, bu substratların kullanımını arttırmıştır. BMP'nin klinikteki kullanım dozu önemlidir. Düşük dozda BMP verilmesi etkiyi azaltırken, yüksek dozda BMP istenmeyen ossifikasyona neden olur. BMP'nin osteoindüktif taşıyıcılarla kullanılmasının nedeni olanı yan etkileridir. Farklı taşıyıcılar kullanılmış olmakla birlikte, son yıllardaki araştırmalar bunların polimer ve nano-hidroksiapatit biyoseramik kompozitlerle taşınmasının doğru olacağını gösterir yöndedir. Diğer bir yaklaşım da, BMP'nin tüm protein dizininin verilmesi yerine etkili fragmanlarının uygulanmasıdır. Yakın gelecekte, bazı primer yaralanmalarda veya kaynama yokluğu olgularında kemik grefti yerine geçen substratların klinikte artan oranlarda kullanılması beklenmektedir; araştırmalar da bu doğrultuda sürdürülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. TOTBİD Derg 2004;3.
2. Uslu MM, Bozdoğan Ö, Güney S, Bilgili H, Kaya Ü, Olcay B, Korkusuz F. The effect of extracorporeal shock wave treatment (ESWT) on bone defects: an experimental study. Bull Hosp Joint Dis 1999;58:114-8.
3. Ömeroğlu H, Ömeroğlu S, Korkusuz F, Ateş Y. Effect of 25-OH-vitamin D on fracture healing in elderly rats. J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc 1999;17:795.
4. Muratlı HH, Tabak AY, Korkusuz P, Örs Ü, Korkusuz F, Ercan S. Endotelin antagonist bosentanin kırık iyileşmesi üzerindeki etkisinin kobay modelinde incelenmesi. İnsizyon 1999;2:171-80.
5. Yorgancıgil H, Özerdemoğlu RA, Korkusuz F, Erdoğan N, Mumcu EF. The effects of nicotine on fracture healing in rats. J Musculoskeletal Res 1998;2:289-96.
6. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. Science 1965;150:893-9.
7. Kaneko K, Higuchi C, Kunugiza Y, Yoshida K, Sakai T, Yoshikawa H, Nakata K. Hyaluronan inhibits BMP-induced osteoblast differentiation. FEBS Lett 2015;589:447-54. [Crossref](#)
8. Morimoto T, Kaito T, Kashii M, Matuso Y, Sugiura T, Iwasaki M, Yoshikawa H. Effect of intermittent administration of teriparatide (PTH1-34) on BMP-induced bone formation in a rat spinal fusion model. J Bone Joint Surg Am 2014;96:e107. [Crossref](#)
9. Li X, Cao X. BMP Signaling and skeletogenesis. Ann NY Acad Sci 2006;1068:26-40. [Crossref](#)
10. Bessa PC, Casal M, Reis RL. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts). J Tissue Eng Regen Med 2008;2:1-13. [Crossref](#)
11. Hong Y, Fan H, Li B, Guo B, Liu M, Zhang X. Fabrication, biological effects and medical applications of calcium phosphate nanoceramics. Mater Sci Eng R Rep 2010;70:225-42. [Crossref](#)
12. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Bone regeneration: current concepts and future directions. BMC Med 2011;9:66. [Crossref](#)
13. U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov>
14. Hood L. A doctor's vision of the future of medicine. Newsweek, July 6/ July 13: 50, 2009. Available at: <http://www.newsweek.com/doctors-vision-future-medicine-80793>
15. Huang YC, Kaigler D, Rice KG, Krebsbach PH, Mooney DJ. Combined angiogenic and osteogenic factor delivery enhances bone marrow stromal cell-driven bone regeneration. J Bone Miner Res 2005;20:848-57. [Crossref](#)
16. Patel ZS, Young S, Tabata Y, Jansen JA, Wong ME, Mikos AG. Dual delivery of an angiogenic and an osteogenic growth factor for bone regeneration in a critical size defect model. Bone 2008;43:931-40. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2008.06.019>
17. Morgan EF, Mason ZD, Bishop G, Davis AD, Wigner NA, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Combined effects of recombinant human BMP-7 (rhBMP-7) and parathyroid hormone (1-34) in metaphyseal bone healing. Bone 2008;43:1031-8. [Crossref](#)
18. Fu TS, Chen WJ, Chen LH, Lin SS, Liu SJ, Ueng SW. Enhancement of posterolateral lumbar spine fusion using low-dose rhBMP-2 and cultured marrow stromal cells. J Orthop Res 2009;27:380-4. [Crossref](#)
19. Seo BB, Koh JT, Song SC. Tuning physical properties and BMP-2 release rates of injectable hydrogel systems for an optimal bone regeneration effect. Biomaterials 2017;122:91-104. [Crossref](#)
20. López-Cebral R, Civantos A, Ramos V, Seijo B, López-Lacomba JL, Sanz-Casado JV, Sanchez A. Gellan gum based physical hydrogels incorporating highly valuable endogenous molecules and associating BMP-2 as bone formation platforms. Carbohydr Polym 2017;167:345-55. [Crossref](#)
21. Cui ZK, Sun JA, Baljon JJ, Fan J, Kim S, Wu BM, Aghaloo T, Lee M. Simultaneous delivery of hydrophobic small molecules and siRNA using Sterosomes to direct mesenchymal stem cell differentiation for bone repair. Acta Biomater 2017;58:214-24. [Crossref](#)
22. Segredo-Morales E, Garcia-Garcia P, Evora C, Delgado A. BMP delivery systems for bone regeneration: Healthy vs osteoporotic population. Review. J Drug Delivery Sci Technol 2017;42:107-18. [Crossref](#)
23. Chai Y, Lin D, Ma Y, Yuan Y, Liu C. RhBMP-2 loaded MBG/PEGylated poly (glycerol sebacate) composite scaffolds for rapid bone regeneration. J Mater Chem B 2017;5:4633-47. [Crossref](#)
24. Granjeiro JM, Oliveira RC, Bustos-Valenzuela JC, Sogayar MC, Taga R. Bone morphogenetic proteins: from structure to clinical use. Braz J Med Biol Res 2005;38:1463-73. [Crossref](#)
25. McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE® Bone Graft). Int Orthop 2007;31:729-34. [Crossref](#)
26. Burkus JK, Gornet MF, Dickman CA, Zdeblick TA. Anterior lumbar interbody fusion using rhBMP-2 with tapered interbody cages. J Spinal Disord Tech 2002;15:337-49.
27. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, Cierny G, Muschler GF, Zych GA, Calhoun JH, LaForté AJ, Yin S. Osteogenic protein-1 (Bone Morphogenetic Protein-7) in the treatment of tibial nonunions. J Bone Joint Surg Am 2001;83-A Suppl 1:S151-8.

28. Jones AL, Bucholz RW, Bosse MJ, Mirza SK, Lyon TR, Webb LX, Pollak AN, Golden JD, Valentin-Opran A. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:1431-41. [Crossref](#)
29. Egermann M, Lill CA, Griesbeck K, Evans CH, Robbins PD, Schneider E, Baltzer AW. Effect of BMP-2 gene transfer on bone healing in sheep. *Gene Ther* 2006;13:1290-9. [Crossref](#)
30. Perri B, Cooper M, Laurysen C, Anand N. Adverse swelling associated with use of rhBMP-2 in anterior cervical discectomy and fusion: a case study. *Spine J* 2007;7:235-9. [Crossref](#)
31. El Bialy I, Jiskoot W, Reza Nejadnik M. Formulation, delivery and stability of bone morphogenetic proteins for effective bone regeneration. *Pharm Res* 2017;34:1152-70. [Crossref](#)
32. Bagaria V. Bone morphogenetic protein: Current state of field and the road ahead. *J Orthopaedics* 2005;2:e3.
33. Bilic R, Simic P, Jelic M, Stern-Padovan R, Dodig D, Pompe van Meerdervoort H, Martinovic S, Ivankovic D, Pecina M, Vukicevic S. Osteogenic protein-1 (BMP-7) accelerates healing of scaphoid non-union with proximal pole sclerosis. *Int Orthop* 2006;30:128-34. [Crossref](#)
34. Nie H, Ho ML, Wang CK, Wang CH, Fu YC. BMP-2 plasmid loaded PLGA/Hap composite scaffolds for treatment of bone defects in nude mice. *Biomaterials* 2009;30:892-901. [Crossref](#)
35. Seeherman H, Wozney JM. Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopedic tissue regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:329-45. [Crossref](#)
36. D'Mello S, Atluri K, Geary SM, Hong L, Elangovan S, Salem AK. Bone Regeneration Using Gene-Activated Matrices. *AAPS J* 2017;19:43-53. [Crossref](#)
37. Shi P, Wang Q, Yu C, Fan F, Liu M, Tu M, et al. Hydroxyapatite nanorod and microsphere functionalized with bioactive lactoferrin as a new biomaterial for enhancement bone regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2017;155:477-86. [Crossref](#)
38. Gao R, Watson M, Callon KE, Tuari D, Dray M, Naot D, Amirapu S, Munro JT, Cornish J, Musson DS. Local application of lactoferrin promotes bone regeneration in a rat critical-sized calvarial defect model as demonstrated by micro-CT and histological analysis. *J Tissue Eng Regen Med* 2016. [Crossref](#)
39. Huh J, Lee J, Kim W, Yeo M, Kim G. Preparation and characterization of gelatin/ α -TCP/SF biocomposite scaffold for bone tissue regeneration. *Int J Biol Macromol* 2018;110:488-96. [Crossref](#)
40. Naskar D, Ghosh AK, Mandal M, Das P, Nandi SK, Kundu SC. Dual growth factor loaded nonmulberry silk fibroin/carbon nanofiber composite 3D scaffolds for in vitro and in vivo bone regeneration. *Biomaterials* 2017;136:67-85. [Crossref](#)
41. Dang M, Koh AJ, Jin X, McCauley LK, Ma PX. Local pulsatile PTH delivery regenerates bone defects via enhanced bone remodeling in a cell-free scaffold. *Biomaterials* 2017;114:1-9. [Crossref](#)
42. Carbone EJ, Rajpura K, Allen BN, Cheng E, Ulery BD, Lo KW. Osteotropic nanoscale drug delivery systems based on small molecule bone-targeting moieties. *Nanomedicine* 2017;13:37-47. [Crossref](#)
43. Echave MC, Sanchez P, Pedraz JL, Orive G. Progress of gelatin-based 3D approaches for bone regeneration. *J Drug Delivery Sci Technol* 2017;42:63-74. [Crossref](#)
44. Korkusuz F, Korkusuz P, Ekşioğlu F, Gürsel I, Hasirci V. In vivo response to biodegradable controlled antibiotic release systems. *J Biomed Mater Res* 2001;55:217-28.
45. Emül E, Sağlam S, Ateş H, Korkusuz F, Sağlam N. Characterization of electrospun nanofibrous scaffolds for nanobiomedical applications. *J Electronic Mater* 2016;45:3835-41. [Crossref](#)
46. Yokota K, Matsuno T, Tabata Y, Mataga I. Evaluation of porous hydroxyapatite granule and gelatin hydrogel microsphere composite in bone regeneration. *J Hard Tissue Biol* 2017;26:203-14. [Crossref](#)
47. Shinto Y, Uchida A, Korkusuz F, Araki N, Ono K. Calcium hydroxyapatite ceramic used as a delivery system for antibiotics. *J Bone Joint Surg Br* 1992;74-B:600-4.
48. Kankilic B, Köse S, Korkusuz P, Timuçin M, Korkusuz F. Mesenchymal stem cells and nano-bioceramics for bone regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016;11:487-93.
49. Ciftci E, Köse S, Korkusuz P, Timuçin M, Korkusuz F. Boron containing nano hydroxyapatite (B-n-HAp) stimulate mesenchymal stem cell adhesion, proliferation and differentiation. *Key Eng Mater* 2015;631:373-8. [Crossref](#)
50. Kankilic B, Bilgic E, Korkusuz P, Korkusuz F. Vancomycin containing PLLA/beta-TCP controls experimental osteomyelitis in vivo. *J Orthop Surg Res* 2014;19:9:114. [Crossref](#)
51. Yang G, Liu H, Hu X, Chen Z, Friis TE, Wang J, Xiao Y, Zhang S. Bio-inspired hybriide nonoparticles promote vascularized bone regeneration in a morphology-dependent manner. *Nanoscale* 2017;9:5794-805. [Crossref](#)
52. Kaito T, Myoui A, Takaoka K, Saito N, Nishikawa M, Tamai N, Ohgushi H, Yoshikawa H. Potentiation of the activity of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration by a PLA-PEG/hydroxyapatite composite. *Biomaterials* 2005;26:73-9. [Crossref](#)
53. Hettiaratchi MH, Chou C, Servies N, Smeekens JM, Cheng A, Esancy C, Wu R, McDevitt TC, Guldberg RE, Krishnan L. Competitive protein binding influences heparin-based modulation of spatial growth factor delivery for bone regeneration. *Tissue Eng Part A* 2017;23:683-95. [Crossref](#)
54. Cahill KS, Chi JH, Day A, Claus EB. Prevalence, complications, and hospital charges associated with use of bone-morphogenetic proteins in spinal fusion procedures. *JAMA* 2009;302:58-66. [Crossref](#)