

Alogrefele în tumorile osoase benigne

*Costina GROZA¹, Ion DASCALIUC², Boris TOPOR¹

¹Catedra anatomia topografică și chirurgia operatorie, Universitatea de Stat Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

²Secția tumori ale aparatului locomotor, Institutul oncologic, Republica Moldova

*Autor corespondent: groza.costina@mail.ru. Recepționat 23.03.2016; acceptat 16.05.2016

Abstract

Background: Bone morphogenetic proteins (BMPs) are essential mediators of bone formation involved in the regulation of differentiation of osteoprogenitor cells into osteoblasts. By their osteoinductive capacities, BMPs have been considered as the most potent growth factors that can promote the bone regeneration and repair, representing an important alternative to bone autotransplant.

Material and methods: Underlying work is accumulated material within the Department of General Oncology and Rehabilitation Oncology Institute of Moldova. There were supervised 572 patients with benign tumors in the period from 2005 to 2015.

Results: Tests revealed that the most frequent benign tumors are cartilaginous ones: osteocondroms 39 to 2.0 %, condroms 14 to 1.5%, condroblastoms – 2 to 0.6%. After cartilaginous tumors, second place is occupied by osteoclastoma. Rarely, patients with bone cyst and osteodisplastic fibrous bone lipoma are uncouncted. Other processes are rarely encountered. Benign tumors more often prevail at men (58 ± 2%).

Conclusions: Experimental and clinical studies suggested a great potential of BMPs in bone formation, especially in critical size bone defects. We may expect that the transplant for bone defects recovery that would satisfy the requirements of oncology can be developed.

Key words: benign tumors, allograft, bone regeneration.

Introducere

Alogrefa reprezintă grefa prelevată de la un subiect din aceeași specie, cu formulă genetică diferită. Tratatamentul chirurgical al bolnavilor cu tumori benigne ale oaselor tubulare este o problemă complicată și multilaterală. Țesutul osos are o capacitate unică de autorefacere. În genere, osteogeneza reparatorie depinde de fenotipul fiecărui organism. În consolidarea și restructurarea alogrefelor osoase în defectele osteoarticulare, după tumorile benigne și afecțiunile tumoriforme, nu întotdeauna influențează arhitectonica structurală a osului utilizat (cortical, spongios, mixt) sau metoda de conservare a alogrefelor (congelare, iradiere, liofilizare, conservare în soluții antiseptice etc.).

Primele loturi importante de grefe osoase au fost utilizate în pseudoartroze și în artrodeze lombosacrale, în 1954, de către frații R. și J. Judet [1].

Odată cu dezvoltarea tehnicilor chirurgicale, utilizarea largă a endoprotezelor, perfecționarea tratamentului chirurgical în oncologie, direcționat spre păstrarea integrității membrilor prin reconstrucția defectelor segmentare osoase, transplantul de os alogen a devenit un procedeu frecvent, utilizat în intervențiile chirurgicale ortopedice. În Franța, în 2002, au fost implantate 11000 de grefe osoase alogene.

În funcție de sursa donatoare, alogrefele pot fi: alogrefe corticale, care sunt penetrate greu de granulațiile vasculare și integrarea redusă în patul recipient, revascularizarea fiind posibilă exclusiv după osteoliza osului cortical și înlocuirea lui cu țesut osos nou. Osteointegrarea are loc pe parcursul mai multor ani, oricum nefiind una completă, cauzată de particularitățile arhitecturale ale osului cortical. Consolidarea cu osul-gazdă are loc numai în regiunea suprafețelor de contact, ceea ce face dificilă integrarea totală a grefei osoase. I. Marin, în 1981 [2], a analizat minuțios rezultatele obținute în tratamentul a 521 de pacienți cu tumori osoase benigne de

diferite localizări (durata supravegherii de la 2 la 19 ani), în tratamentul cărora au fost utilizate alogrefoane osoase, conservate în soluții slabe de formaldehidă. Această metodă de conservare a oaselor a fost propusă în 1965 de V. Parfentieva și coaut. [3] și constă în utilizarea soluției de 0,25-0,75% de formalină cu pH 7,3-7,4.

Alogrefele corticale osoase scindate, implantate în defectele restante posttumorale, se consolidează cu osul recipient prin procese cu însușiri de conductibilitate și inductibilitate, iar cu timpul se restructurează: la copiii în 2-3 ani (după vârsta de 10 ani acest termen devine mai îndelungat), la maturi – până la 25 de ani și mai mult (cu excepția greferelor din oasele falangiene).

Material și metode

La baza lucrării stă materialul acumulat în cadrul Secției de Tumori ale aparatului locomotor și Recuperare a Institutului Oncologic din Moldova.

Pentru sistematizarea bolnavilor a fost utilizată clasificarea histologică internațională a tumorilor oaselor, propusă de Organizația Mondială a Sănătății.

Au fost supravegheați 572 de bolnavi cu tumori benigne în perioada 2005-2015.

Rezultate și discuții

Repartizarea pacienților cu tumori benigne este indicată în tabelul 1, în care se vede că în acest grup se întâlnesc mai des tumori cartilagineoase: osteocondroame - 39 (2,0%), condroame – 14 (1,5%), condroblastoame – 2 (0,6%).

Repartizarea bolnavilor în dependență de sex și vârstă este indicată în tabelul 2.

Conform tabelului dat, tumorile benigne și afecțiunile tumoriforme se întâlnesc mai frecvent la bărbați (58 ± 2%). Sunt afectate toate vârstele.

Tabelul 1
Repartizarea bolnavilor cu tumori benigne ale oaselor tubulare conform formelor nosologice

Forma nosologică	Bolnavi	
	Nr. absolut	%
Osteom	18	3,1 ± 0,7
Osteoid-osteom	18	3,1 ± 0,7
Condrom	82	14 ± 1,5
Osteocondrom (exostoza osteocartilaginoasă)	223	39 ± 2,0
Condriblastom	14	2 ± 0,6
Fibrom condromixoid	6	1,0 ± 0,6
Tumoare cu celule gigantice (osteoclastom)	91	16 ± 1,5
Hemangiom	9	2 ± 0,6
Lipomă	21	4 ± 0,8
Adamantinom al oaselor lungi	1	0,2 ± 0,2
Neurilemom	1	0,2 ± 0,2
Chist osos solitar	7	1,2 ± 0,5
Chist osos anevrismal	38	7 ± 1,9
Chist osos juxtaarticular	1	0,2 ± 0,2
Osteodisplazie fibroasă	42	7 ± 1,9
TOTAL	572	100

Tabelul 2
Repartizarea bolnavilor cu tumori benigne ale oaselor tubulare după gen (sex)

Forma nosologică	Bolnavi		
	Bărbați	Femei	Total
Osteom	11	7	18
Osteoid-osteom	12	6	18
Condrom	42	40	82
Osteocondrom (exostoza osteocartilaginoasă)	134	89	223
Condriblastom	10	4	14
Fibrom condromixoid	5	1	6
Tumoare cu celule gigantice (osteoclastom)	54	37	91
Hemangiom	4	5	9
Lipomă	8	13	21
Adamantinom al oaselor lungi	1	-	1
Neurilemom	-	1	1
Chist osos solitar	2	5	7
Chist osos anevrismal	24	14	38
Chist osos juxtaarticular	-	1	1
Osteodisplazie fibroasă	27	17	42
TOTAL	334	238	572
%	58 ± 2	42 ± 2	100

Factorii care influențează regenerarea defectelor osoase

Grefele sunt necesare pentru alcătuirea unui regenerat osos calitativ la nivel de implantare. Însă alotransplanturile, compacte și masive, produse din diafizele oaselor lungi, cu toate că concresec cu loja recipientă, în decursul mai multor

ani după transplantare, rămân nesubstituite de țesuturile recipientului, deformându-se din cauza resorbției țesutului osos.

Proteinele morfogenetice osoase (BMPs) sunt mediatori esențiali ai formării osoase, implicate în reglarea diferențierii celulelor osteoprogenitoare în osteoblaști. Studii experimentale și clinice au sugerat potențialul mare al BMPs în formarea osoasă și, în special, în defectele osoase de dimensiuni critice. Proteinele morfogenetice osoase deschid noi orizonturi în terapiile personalizate cu celule stem.

Proteinele morfogenetice osoase (BMPs, bone morphogenetic proteins) sau proteinele osteogenice (OPs, osteogenic proteins), cunoscute ca și metaboleni (metabologens) sunt glicoproteine, care fac parte din familia factorilor de creștere TGF-beta (transforming growth factor-beta). Rolul lor în regenerarea și remodelarea structurii osoase din defecte sau leziuni osoase este susținut, în primul rând, de prezența acestor factori în matricea osului matur [4].

Actualmente, sunt cunoscute 20 de BMPs, care au fost împărțite în subfamilii după similaritățile secvenței de aminoacizi. Aceste proteine sunt osteoinductive, având o importantă proprietate de a induce formarea de os sau cartilaj, excepție fiind BMP-1.

Rolul osteoinductiv al BMPs

Rolul osteoinductiv al BMPs este multifactorial, ele acționând ca:

- agent chemotactic: inițiază recrutarea celulelor stem și a celor progenitoare spre zona leziunii osoase;
- factor de creștere: stimulează atât angiogeneza, cât și proliferarea celulelor stem din țesuturile mezenchimale adiacente;
- factor de diferențiere: promovează maturarea celulelor stem în condrocite, osteoblaști și osteocite.

BMPs sunt molecule pleiotropice, care sunt implicate în chemotaxia, mitoză și diferențierea celulelor mezenchimale în țesutul osos [5].

Principalele BMPs și funcțiile lor

- BMP-1 este o metaloproteină, care acționează pe procolagen, implicată în dezvoltarea cartilajului.
- BMP-2 induce formarea osului și cartilajului, având rol-cheie în diferențierea osteoblastică.
- BMP-3 induce formarea osoasă.
- BMP-4 reglează formarea osoasă din mezoderm, având rol în repararea fracturilor.
- BMP-5 are rol în dezvoltarea cartilajului.
- BMP-6 implicată în integritatea cartilajului.
- BMP-7 intervine în diferențierea osteoblastică, inducând și producerea SMAD1.
- BMP-8a - implicată în dezvoltarea osoasă și a cartilajului.
- BMP-8b este exprimată în hipocampus.

Obținerea BMPs

În prezent există trei căi de a obține proteine morfogenetice osoase și anume:

- extracția lor din matricele osoase umane sau animale;
- producerea lor de către celulele-gazdă prin utilizarea tehnologiilor recombinante (rhBMP-2; rhBMP-7);
- eliberarea directă a ADN-ului codificat pentru obținerea factorilor de creștere și diferențiere spre celulele din locul dorit al formării osoase.

BMPs în formarea osoasă–studii experimentale

Proprietățile osteoinductive ale BMP-2, BMP-7 și BMP-3 purificate au fost studiate pe modele experimentale de animale pentru grefarea defectelor osoase de dimensiuni mari. Astfel, grefarea unor astfel de defecte cu fire de colagen derivate din os bovin, impregnate cu o soluție de BMP-2, a condus la vindecarea osoasă completă [6]. Cartilajul de calcifiere și remineralizarea suportului de colagen a fost observată după o săptămână, urmată de formare osoasă rapidă.

De asemenea, BMPs au rol important în repararea dentinei [7], stimulând mitoză celulelor mezenchimale și inducând diferențierea osteodontinocitelor.

BMPs în reconstrucția osoasă – studii umane

Primele studii umane au fost efectuate pentru reconstrucția osoasă utilizând proteinele morfogenetice rhBMP-2 sau rhOP-1 pe un suport de colagen. Rezultatele acestor studii au demonstrat o largă variație a răspunsurilor la acest tratament. Boyne și colab. (1997) [8] au implantat colagen impregnat cu soluție de BMP-2 în sinusurile maxilare ale 12 pacienți cu atrofi severă a maxilarului. Creșterea în înălțime a maxilarului tratat a variat între 2,3 și 15,7 mm.

Bulstra și colab. [9] au utilizat proteina morfogenetică OP-1 pentru grefarea defectelor osoase din porțiunea proximală a fibulei, într-o doză de 2,5 μg OP-1/1 g colagen. 5 din 6 pacienți tratați au prezentat vindecare osoasă.

Primele studii de aplicații clinice ale BMPs au vizat repararea sau reconstrucția defectelor sau leziunilor cranio-maxilo-faciale [10, 11].

Aplicațiile clinice ale BMPs în reconstrucția osoasă craniană, mandibulară sau palatină prin utilizarea lor în terapia personalizată cu celule stem au fost recent demonstrate [12]. Transferul celulelor osteoprogenitoare personalizate, îmbogățite cu BMPs, în defecte osoase mari, de dimensiuni critice, prezintă un mare potențial în repararea deformităților cranio-faciale determinate de tumori, traume, infecții sau boli congenitale.

Matricea osoasă a fost propusă pentru prima dată de N. Senn, în 1889, ca remediu osteoinductiv. Matricea osoasă era obținută din os compact, demineralizat în soluție de acid clorhidric, ulterior fiind păstrată în soluție de alcool etilic. Rezultatele pozitive obținute i-au permis autorului să le implementeze în practica medicală la pacienți cu defecte osoase. Implantarea matricei osoase demineralizate în țesutul subcutanat conduce la o inducție osoasă locală. Acest model al morfogenezei osoase inițiază, promovează și menține condrogeneza, osteogeneza în țesuturile netipice țesutului osos. Matricea osoasă demineralizată cu dimensiunile particulelor de 70-420 μ are o capacitate osteoinductoare mai pronunțată

în comparație cu autogrefa osoasă. La inocularea subcutanată a matricei osoase în regiunea peretelui abdominal la șobolan, în cantitate de 0,5 cm³, după 4-8 săptămâni s-a format țesut osos nou.

Brefoplastia este folosirea în calitate de grefă a materialului obținut din țesut osos fetal. Grefele osoase de origine fetală sunt supuse resorbției, fiind substituite de țesut osos nou. Acest transplant este considerat mai eficace, comparativ cu grefele osoase obținute de la donatorii adulți. Activitatea osteoinductivă a acestor grefe se explică prin existența în componența lor a substanțelor bioactive (citokine, factori de creștere etc.), care participă activ la stimularea proceselor metabolice și plastice, la procesele de sinteză a proteinelor de bază ale țesutului osos și colagen.

Terapia celulară, bazată pe celule stem, reprezintă cea mai promițătoare metodă pentru ingineria tisulară. Grefele osoase obținute *in vitro* reprezintă o alternativă importantă în repararea defectelor osoase, iar celulele cu potențial osteogenic și, în special, celulele stem constituie baza ingineriei tisulare osoase.

Celulele stem mezenchimale umane (hMSCs, human mesenchymal stem cells), celule progenitoare multipotente, având un mare potențial de a se diferenția în osteoblaști, condrocite, adipocite sau alte tipuri celulare, au fost utilizate cu succes în regenerarea osoasă [13, 14].

Celule stem mezenchimale derivate din iPSCs

Sursa cea mai importantă de MSCs o reprezintă măduva osoasă; dar ele pot fi obținute și din alte țesuturi sau sânge. Întrucât potențialul lor de diferențiere osteogenică și rata proliferării lor scade semnificativ cu vârsta, a fost necesară descoperirea a noi surse celulare. Astfel iPSCs au devenit o importantă țintă pentru diferențierea celulară și obținerea de celule stem mezenchimale, MSCs. Toate aceste rezultate demonstrează fezabilitatea obținerii de substituenți osoși pornind de la iPSCs specifice pacientului.

Pentru regenerarea osoasă și obținerea de substituenți osoși viabili, specifici pacientului, celulele stem mezenchimale derivate din celule stem pluripotente induse specifice, MSCs-iPSCs, au fost incluse pe diverse suporturi, și anume: ciment de fosfat de calciu, hidroxiapatită cu nanofibre, polimeri, sau combinațiile lor.

Metode de tratament chirurgical al bolnavilor cu tumori benigne ale oaselor tubulare

Metodele de bază în tratamentul tumorilor benigne ale oaselor tubulare sunt cele chirurgicale. Volumul intervențiilor chirurgicale depinde de forma nosologică a formațiunii, de localizarea ei, de extinderea procesului patologic în afara limitelor osului, de implicarea în proces a țesuturilor adiacente, de prezența sau lipsa fracturii patologice, de vârsta bolnavului, de patologia concomitentă și gradul de compensare a ei.

Rezecția marginală

Această operație constă în înlăturarea limitelor stratului cortical sănătos până la canalul medular, uneori împreună

cu o parte de țesut spongios. În cazul defectelor neînsemnate ale stratului cortical, după rezecția marginală, plastia osoasă nu este obligatorie. Atunci când procesul patologic are o creștere exofită în cazul osteocondromului, osteomului, osteoid-osteomului, condromului, lipomului periostal este suficientă rezecția marginală în limitele țesuturilor sănătoase cu înlăturarea focarului până la canalul medular. De obicei, aceste defecte nu necesită substituie. Dacă defectele sunt mari și apare pericolul fracturii osului, osteoplastia este obligatorie.

Rezecția marginală a oaselor tubulare fără osteoplastia defectului s-a efectuat în 280 (490,1%) de cazuri (cu osteom – 18 cazuri, osteoid-osteom – 12, condrom – 9, osteocondrom – 227, condroblastom – 2, fibrom condro-mixoid – 1, osteoclastom – 3, chist osos juxtaarticular – 1, osteodisplazie fibroasă – 1, lipom periostal – 6).

La toți bolnavii operați cu defecte ale stratului cortical, acestea au dispărut și contururile lor s-au restabilit peste 1,5 – 3 ani.

La suplinirea defectelor cu alogrefe s-au utilizat alogrefoane corticale, conservate în soluție de 0,5% formalină după metoda Parfentieva, „alopietriș” osos, iar în ultimul timp – matrice osoasă conservată.

Rezecția segmentară a osului

Cazurile când în proces sunt implicate mai mult de 2 treimi ale osului în diametru sau osul este atacat pe toată lățimea lui, se efectuează rezecția segmentară, în funcție de starea periostului subperiostal sau aperiostal.

La rezecțiile segmentare, porțiunea afectată a osului se înlătură împreună cu componentul țesutului moale (de exemplu, în cazul osteoclastomului), localizat în afara osului.

Descrierea metodei: cu o incizie semiovală în proiecția articulației proximale a oaselor gambei cu trecere în regiunea treimii superioare și medii a fibulei se secționează pielea, țesutul adipos subcutanat și fascia. Țesuturile moi se mobilizează atent în părți până la fibulă, fără ca să fie traumatizat nervul peronier și ramurile lui, apoi se înlătură capătul proximal afectat al osului în limitele țesuturilor sănătoase. După aceasta, se dezgolește suprafața laterală a tibiei. Apoi planta se fixează într-o poziție de supinație maximă astfel încât capătul liber al fibulei să coboare (caudal), mai distal și, la nivel se croiește în tibie un lambou osteoperiostal sub formă de spatulă până la canalul medular. În canalul medular, se formează o gaură în direcție pubică, îndreptată cranial și medial. După aceasta, atent, ca să nu se rupă baza lamboului, aceasta se ridică ușor și lateral și sub el se introduce în canalul medular capătul rezecat al fibulei, ridicând în același timp planta până la poziția fiziologică normală. Ulterior, de osul fibular se apropie lamboul osteo-periostal și se fixează de el cu suturi osoase. Plaga se suturează stratificat. Extremitatea se imobilizează cu o atelă gipsată până la treimea proximală a coapsei pentru 1-1,5 luni. După această perioadă de timp se formează o sinostoză bună.

Eficacitatea metodei:

1. Fixarea sigură a capătului rezecat al fibulei scutește

bolnavii de dureri, reducând traumatizarea țesuturilor moi și a nervului peronier.

2. Se reduce timpul imobilizării extremității, consolidării, tratamentului și reabilitării în comparație cu aloplastia.

După rezecțiile segmentare, apare frecvent necesitatea plastiilor osoase. Pentru suplinirea defectelor diafizei oaselor tubulare, au fost utilizate alotransplanturi tubulare sau știfturi corticale. Aloplastia osului fibular s-a efectuat într-un caz în scopul înlăturării pseudoartrozei și recidivei unui hemangiom al acestui os, care provoacă incomodități în timpul mersului. Operația este simplă.

Pentru substituirea defectelor în regiunea extremităților articulare, s-au utilizat aloextremități articulare, pregătite conform dimensiunilor osului înlăturat (fig. 1, 2, 3).



Fig. 1. Radiograma bolnavei J. până la operație. Osteoclastom al metaepifizei proximale a osului tibial drept.

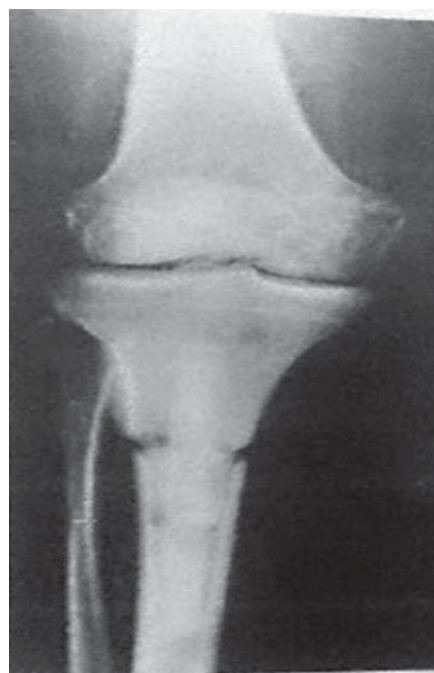


Fig. 2. Radiograma bolnavei J. după o lună de la rezecția extremității articulare proximale a osului tibial drept cu transplantarea aloextremității proximale.



Fig. 3. Radiograma bolnavei J. peste 6 ani după operație.

O mare atenție s-a acordat restabilirii ligamentelor încrucișate și colaterale ale articulației genunchiului. La început, în calitate de material plastic s-au utilizat xenotendoane, restabilind fiecare ligament în parte. Ulterior, s-au elaborat 2 metode originale descrise mai jos.

Prima metodă constă în restabilirea a 4 ligamente cu 2 xenotendoane, propusă de A. M. Țurcan și M. N. Babin (1989). După transplantarea unuia din capetele articulare ale oaselor articulației genunchiului și fixării lui la osul recipient, prin condilii femurului și ai tibiei în direcția fostelor ligamente încrucișate, în direcție oblică, cu ajutorul sfredelului electric se perforază 2 tuneluri, prin care sunt trecute 2 xenotendoane. În cavitatea articulației genunchiului ele se încrucișează. Ulterior, capetele acestora sunt strânse bine și sunt suturate între ele cu 3 ligaturi de mătase la nivelul condililor femurului, unde sunt mai multe țesuturi moi. Regiunile ligaturilor se acoperă de-asupra cu mușchi. Utilizând această metodă, s-a reușit reducerea numărului de ligaturi de la 24 la 6 și obținerea rezultatelor bune la toți bolnavii (fig. 4).

Metoda a doua, propusă de A. M. Țurcan și I. I. Dăscăliuc (inovație nr. 275 din 1986) – metoda restabilirii concomitente a 4 ligamente cu o singură panglică de lavsan constă în

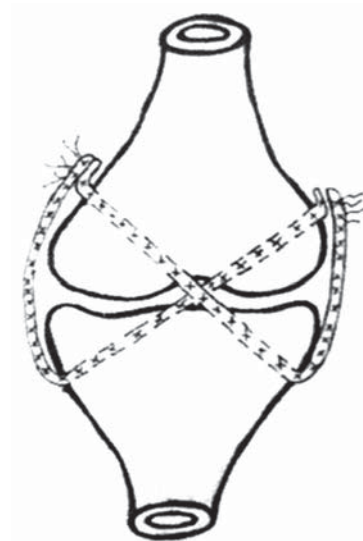


Fig. 4. Schema metodei de restabilire a 4 ligamente ale articulației genunchiului cu 2 xenotendoane sau cu două panglici de lavsan conform metodei Țurcan-Babin.

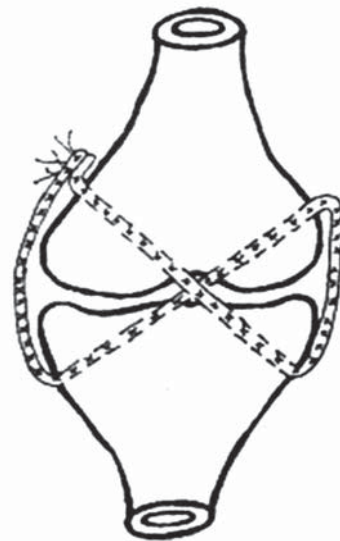


Fig. 5. Schema restabilirii concomitente a 4 ligamente ale articulației genunchiului cu o singură panglică de lavsan sau capron conform metodei Țurcan-Dăscăliuc.

următoarele: după formarea canalelor în condilii osului femural și ai tibiei, prin ele se întinde o panglică de lavsan din partea condilului lateral al femurului spre condilul medial al tibiei, apoi capătul se trece de pe condilul medial al tibiei în condilul lateral al tibiei, după aceasta ambele capete ale panglicii de lavsan se strâng bine, se leagă în nod în adâncul mușchilor de-asupra condilului lateral al femurului. Astfel, cu o singură panglică de lavsan, întinsă în direcția ligamentelor laterale, și încrucișate sub formă de cifra 8 concomitent se restabilesc toate cele 4 ligamente. Capetele panglicii sunt fixate suplimentar cu suturi de mătase în scopul preîntâmpinării slăbirii nodului sau dezlegării lui (fig. 5).

Concluzii

Nu este încă elaborată o greafă, care ar satisface solicitările ortopediei și ale traumatologiei în recuperarea defectelor osoase.

În prezent, datorită potențialului osteogenic, relevat în studii experimentale *in vitro* și *in vivo*, celulele stem pluripotente induse, iPSCs, reprezintă o sursă celulară promițătoare în regenerarea osoasă.

Ingineria tisulară pe bază de celule iPSCs, derivate din celule somatice autologe, și obținerea *in vitro* a noi substituenți osoși cu celule specifice pacientului, deschid noi orizonturi în regenerarea osoasă și medicina osteoregenerativă personalizată.

Bibliografie

1. Judet H. Essai sur greffe de tissues articulaires. *Comp. rend. Acad. Sci.* 1998;149:193-196, 600-603.
2. Marin IM, Vucolov VV, Dmitrienco VI, ș. a. Alopastia defectelor restante la pacienții operați pe fon de tumori benigne și leziuni pseudotumorale ale oaselor. Rezultate la distanță. *Revista de ortopedie și traumatologie.* 1997;7(1):29-32.
3. Парфентьева, В. Ф., Розвадовский, В. Д., Дмитриенко, В. И. Консервация гомологических трансплантатов. Кишинев, 1965, 30 с.
4. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/ absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry.* 1997;17:10-25.
5. Chenard Kristofer E, Teven Chad M, He Tong-Chuan, et al. Bone Morphogenetic Proteins in Craniofacial Surgery: Current Techniques, Clinical Experiences, and the Future of Personalized Stem Cell Therapy. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2012. Article ID 601549.
6. Lee KH, Marden JJ, Thompson MS, et al. Cloning and genetic mapping of zebrafish BMP-2. *Dev Genet.* 1998;23(2):97-103.
7. 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.
8. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/ absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry.* 1997;17:10-25.
9. Greensing RGT, Bulstra SK, Hoefnagels NHM. Fibula defect repair using OP-1 device versus sham treatment, carrier or demineralized bone in patients undergoing tibial osteotomy. *Procs 2nd Int Conf Bone Morphogen Prot, Sacramento, California, 4-8 June 1997*;137.
10. Liu Y, Goldberg AJ, Dennis JE, et al. One-step derivation of mesenchymal stem cell (MSC)-like cells from human pluripotent stem cells on a fibrillar collagen coating. *PLoS One.* 2012;7:e33225.
11. Nakashima M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of dog by bone morphogenetic protein. *J. Arch Oral Biol.* 1990;35:493-7.
12. Athanasian, E. A., Bishop, A. T., Amadio, P. C. Autogenous fibular grafts and silicone implant arthroplasty following resection of gigant cell tumor of the metacarpal: a report of two cases. In: *Journal of Hand Surgery.* 2008; 33(3):505-7.
13. Bowers GM, Reddi AH. Regeneration of the periodontium in advanced periodontal disease. *J Am Dent Assoc.* 1992;122:45-8.
14. Sailer HF, Kolb E. Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) preparations in cranio-maxillofacial surgery. Reconstruction in craniofacial malformations and post-traumatic or operative defects of the skull with lyophilized cartilage and BMP. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* 1994;22(4):191-199.

