

## PROTEÍNA OSTEOGÉNICA TIPO 1

### Cirugía reconstructiva del aparato locomotor, nuevas técnicas y opciones terapéuticas

X. Flores Sánchez\*, E. Guerra Farfan, P. Corona Pérez-Cardona, C. Amat Mateu y J. Nardi Vilardaga

Unidad de Patología Séptica y Cirugía de Reconstrucción del Aparato Locomotor, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, España

#### PALABRAS CLAVE

Defecto óseo;  
Osteogénesis a  
distracción;  
Seudoartrosis séptica;  
Osteitis crónica;  
BMP;  
Ingeniería tisular;  
Reconstrucción  
esquelética;  
Transporte óseo

#### Resumen

La aplicación de criterios tumorales en el tratamiento quirúrgico secundario de las osteítis crónicas y seudoartrosis sépticas en forma de resecciones segmentarias origina amplios defectos óseos. Una vez controlado el proceso séptico, en un entorno estable y vascularizado, se procede a la reconstrucción en dichas lesiones mediante transporte óseo basado en la osteogénesis a distracción. A pesar de los buenos resultados obtenidos, los períodos de fijación externa y de curación son muy largos, 2-4 meses por centímetro reconstruido. Estos prolongados tratamientos motivan que haya un elevado número de complicaciones.

Los avances en ingeniería tisular y regeneración ósea contribuyen con nuevas técnicas y opciones terapéuticas. La estimulación de la formación de hueso nuevo en la zona de distracción o en el punto de atraque del fragmento transportado puede minimizar las complicaciones asociadas a la larga duración del procedimiento.

La utilización de un osteoinductor como BMP-7 origina en la práctica un aumento de la formación ósea y el nuevo hueso puede tener incrementadas sus propiedades biomecánicas.

© 2010 SECOT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [xavierfloress@gmail.com](mailto:xavierfloress@gmail.com) (X. Flores Sánchez).

**KEYWORDS**

Bone defect;  
Distraction  
osteogenesis;  
Septic pseudoarthrosis;  
Chronic osteomyelitis;  
Bone morphogenetic  
protein;  
Tissue engineering;  
Skeletal  
reconstruction;  
Bone transport

**Reconstructive surgery of the locomotor apparatus: new techniques and therapeutic options****Abstract**

The application of oncologic criteria in the sequential surgical treatment of chronic osteomyelitis foci and septic pseudarthrosis, through segmental resections, produces extensive bone defects. Once the septic process is under control, in a stable and well vascularized atmosphere, we perform reconstruction of intercalary defects through bone transportation based on distraction osteogenesis. Despite the good results, the healing index and the time on ex-fix are very long, about 10 weeks per centimeter rebuilt. These prolonged treatments lead to a large number of complications.

Advances in tissue engineering and bone regeneration have led to new techniques and therapeutic options. Stimulation of new bone formation in the distraction area or in the "docking-site" can minimize the complications associated with the length of time required by the procedure. The use of an osteoinducer, such as BMP-7, increases new bone formation and may enhance its biomechanical properties.

© 2010 SECOT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

Los tratamientos quirúrgicos de reconstrucción de huesos largos debidos a la existencia de amplios defectos óseos segmentarios, originados por la aplicación de criterios tumorales en el tratamiento secuencial de las osteítis crónicas y seudoartrosis sépticas en forma de amplias resecciones segmentarias, son habituales en nuestra unidad. En otros casos, el proceso de reconstrucción se efectúa sobre pérdidas óseas segmentarias debidas al propio traumatismo o a déficit de reserva ósea local originado por la "fagocitosis frustrada" en el foco de infección ósea. En definitiva, se trata de seudoartrosis complejas<sup>1</sup>.

Una vez controlado el proceso séptico, en un entorno estable y vascularizado procedemos a la reconstrucción mediante transporte óseo basado en la osteogénesis a distracción (fig. 1). El protocolo de tratamiento descrito se ha indicado en 106 ocasiones. A pesar de los buenos resultados obtenidos en el control de la infección y la reconstrucción, los períodos de fijación externa y de curación han sido largos, 2,4 meses por centímetro reconstruido. El método no está exento de dificultades y complicaciones. La larga duración de los tratamientos es la causa de muchas de ellas.

En los 62 casos de reconstrucción finalizados, con un seguimiento > 17 meses, obtuvimos la consolidación en el punto de atraque en todos ellos; en 33 casos (53,2%) la consolidación se produjo espontáneamente; en 29 (el 46,8% de los casos) fue necesario como mínimo una cruentación del punto de atraque, de los que precisaron aporte de injertos autólogos sólo 19 pacientes (30,6%), 15 en el punto de atraque, 1 en la zona de degeneración quística y en 3 los injertos se aplicaron en punto de atraque y en la zona de degeneración quística asociada.

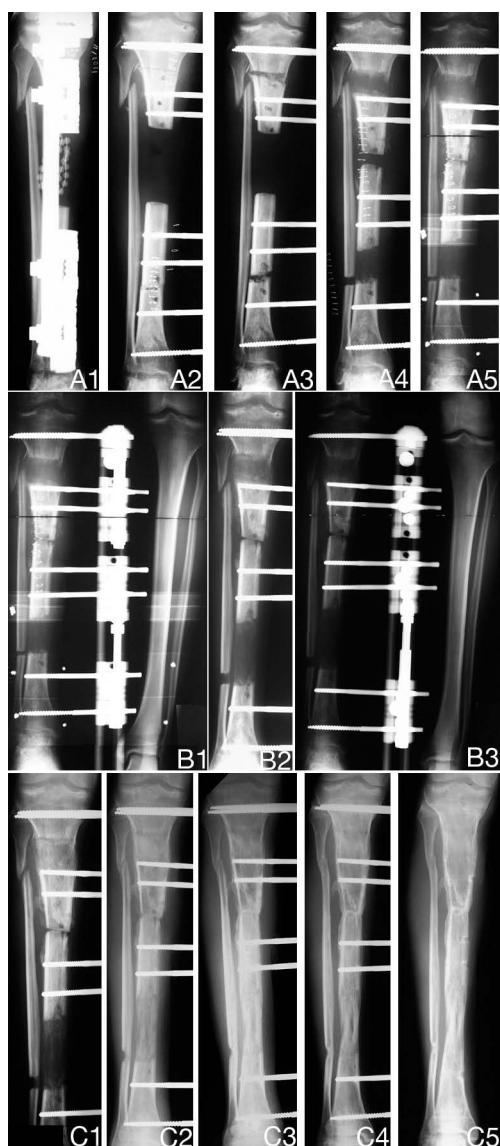
El índice medio de fijación externa en estos 62 pacientes finalizados fue de 1,62 (intervalo, 0,74-5,82) meses por centímetro reconstruido. El índice medio de curación fue de 2,44 (0,83-6) meses por centímetro reconstruido.

Los avances en ingeniería tisular y regeneración ósea<sup>2-6</sup> pueden contribuir con nuevas técnicas y opciones terapéuticas; su aplicación al método descrito de reconstrucción puede acortar la duración del tratamiento. La estimulación de la formación de hueso nuevo en la zona de distracción puede proporcionar grandes ventajas, pues se minimiza la incidencia de las complicaciones asociadas a la prolongación del procedimiento. La utilización de un osteoinductor como BMP-7 origina en la práctica un aumento de la formación ósea y el nuevo hueso presenta mejores propiedades biomecánicas.

El respeto de las bases biológicas y mecánicas, junto con la utilización de autoinjertos y aloinjertos, evita en muchos casos la evolución de las fracturas a seudoartrosis<sup>7</sup>. Los conocimientos científicos actuales sobre los mecanismos de reparación de las fracturas permiten el desarrollo de nuevas técnicas basadas en la utilización de estimuladores y sustitutivos óseos.

Surgen nuevas terapias basadas en los denominados "productos ortobiológicos" o potenciadores biológicos, con distintas capacidades osteogénicas, osteoinductivas y osteoconductivas. La biofísica contribuye con los ultrasonidos y el efecto piezoelectrico; la ingeniería tisular, con los cultivos celulares y de tejidos. La terapia génica contribuirá también en un futuro inmediato con soluciones que potenciarán la capacidad individual en la reparación de las fracturas.

Los potenciadores biológicos integran el concepto triangular de reparación de las fracturas, que se sustenta en la existencia de tres elementos fundamentales. Las proteínas morfogénéticas óseas (BMP) actúan estimulando la aparición y la proliferación de células osteogénicas que inician los procesos reparativos a través de andamiajes osteoconductivos y osteoinductivos. Giannoudis et al<sup>8</sup> amplían estos conceptos con el denominado concepto de diamante, y añaden un vértice al triángulo señalando que todo lo anteriormente descrito es posible, siempre y cuando se desarrolle en un entorno mecánico correcto. En esta nueva visión resalta la necesidad de una correcta vascularización local, en un receptor sano<sup>9</sup>. Sin



**Figura 1** A: 1 a 5 muestran la evolución de la fase activa de un transporte bipolar de tibia derecha en un varón de 34 años; en la última se ha conseguido el atraque de ambos fragmentos transportados, aunque persiste una dismetría residual. B: 1 a 3 muestran uno de los valores añadidos al método; aun en fase activa se consigue la isometría de las extremidades a expensas de una progresión en alargamiento sólo del regenerado distal. C: 1 a 5 muestran la evolución radiográfica de la fase estática de consolidación-maduración del método; el resultado es una extremidad de alineación normal e isométrica, con inmejorables características biológicas y biomecánicas.

embargo, todo ello está perfectamente asumido por nuestra especialidad desde hace tiempo.

La formación de hueso regenerado mediante la osteogénesis a distracción es posible gracias a la existencia de una angiogénesis precursora, incentivada por la presencia de otras moléculas, los factores de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), un parámetro fundamental para que se produzca la curación en los procesos de osificación endocondral<sup>10</sup> e intramembranosa<sup>11</sup>. Cualquier defecto entre los

elementos citados hasta ahora puede originar la aparición de una seudoartrosis o un retardo en la consolidación<sup>12</sup>.

La intuición de Urist<sup>12</sup> fue que todo lo necesario para la reparación de la fractura estaba allí, en el mismo foco de fractura, y que su activación se producía al mismo tiempo que la lesión<sup>13</sup> (fig. 2). Las BMP están presentes en la matriz ósea desmineralizada; su principal acción es estimular la proliferación y la diferenciación de las células mesenquimales en células osteogénicas capaces de reparar y regenerar el tejido óseo<sup>14</sup>. La literatura sobre las distintas BMP es amplia<sup>15-30</sup>.

Las BMP pueden estar indicadas en múltiples casos<sup>12,13,15-18,29</sup>. Giannoudis et al<sup>30</sup> analizaron la utilización de la BMP-7 en 653 casos, con un seguimiento medio de 15,3 meses; el resultado fue satisfactorio en el 82% de los casos (535 procesos), pero sólo en 150 casos (23%) se utilizó la BMP-7 sola, y en la mayoría de los procedimientos se utilizó combinada con autoinjertos o aloinjertos. Las conclusiones del estudio fueron que utilizar como estimulador óseo las BMP es seguro y constituye una nueva herramienta para el tratamiento de situaciones complejas.

Para algunos autores<sup>25-27</sup> la utilización de BMP en el tratamiento de fracturas abiertas y seudoartrosis se correlaciona con unos índices de infección menores. Los autores relacionan la activación celular debida a las BMP y la presencia de VEGF con el correspondiente aumento de la vascularización y la existencia de una nueva osteogénesis precedida de importante vasculogénesis<sup>31,32</sup>.

La literatura sobre la utilización de BMP es amplia, tanto en fase preclínica como en fase clínica<sup>4,24,28,33-48</sup>. En fase preclínica, Makino et al<sup>33</sup> publicaron el resultado obtenido con la aplicación de BMP en un modelo de seudoartrosis atrófica. En dicho estudio, desde el punto de vista clínico, obtuvieron un 100% de curaciones a las 6 semanas en el grupo tratado con BMP-7, mientras que en el grupo control aún no había consolidaciones a las 8 semanas. Desde el punto de vista biomecánico, el aumento de la rigidez y del punto de rotura en el grupo tratado con BMP-7 era muy superior al observado en el grupo control, tanto a las 4 como a las 8 semanas.

Mizumoto et al<sup>34</sup> publicaron otro estudio preclínico aleatorizado, para la utilización de rhBMP en osteogénesis a distracción realizada en el ratón. Utilizaron 14 ratas Long-Evans; trataron a 7 con rhBMP-7 más solvente en el punto de corticotomía y a las otras 7 sólo con solvente. La valoración de resultados, realizada mediante radiología simple y densitometría del hueso regenerado, demuestra una aceleración en la osificación del grupo tratado con rhBMP-7, ostensible durante el proceso de maduración del hueso regenerado en los días 20, 34 y 48, con un efecto positivo proporcionalmente mayor en el día 20, los primeros días de dicho proceso. La aceleración en el proceso de osificación del hueso regenerado origina mejores propiedades biomecánicas del hueso nuevo, y ello se traduce en la práctica en una reducción del tiempo de fijación externa y, en definitiva, de la duración total del tratamiento.

No obstante, Sailhan et al<sup>35</sup> publicaron los resultados de su estudio aleatorizado sobre el efecto de aplicar rhBMP-7 a un modelo de osteogénesis a distracción en un grupo de conejos blancos de Nueva Zelanda. Aplicaron en la brecha de distracción 70 µg de rhBMP combinada con colágeno a 14 conejos, y a los 14 del grupo control no añadieron nada. Los



**Figura 2** Se muestra la consolidación y aumento espontáneo (D-F) de un regenerado precario (A, B), debido al reinicio de los procesos de curación debidos a la fractura (C) del mencionado regenerado, sin ningún tipo de aporte.

hallazgos son muy demostrativos, con más consolidación y diferenciación ósea en el grupo control, al que no se había aplicado nada. En un 92% del grupo tratado se identifican fenómenos de degeneración quística en el seno del nuevo hueso regenerado. Coincidimos totalmente con los autores en interpretar el efecto nocivo que implica la interposición de un obstáculo mecánico sólido en la brecha de osteogénesis a distracción. La obtención de hueso regenerado mediante osteogénesis a distracción es un delicado proceso en el que la formación de hueso nuevo se precede de una activa vasculogénesis precursora de la formación de hueso. Cualquier manipulación que interfiera con dicha vasculogénesis una vez iniciada produce efectos totalmente adversos. En la brecha de osteogénesis a distracción no debe interponerse nada, cualquier interposición origina un efecto adverso en la natural evolución del hueso regenerado. En el estudio de Sailhan et al<sup>35</sup>, la interposición de rhBMP combinado con colágeno se tradujo en la aparición de fenómenos isquémicos por lesión de los nuevos vasos capilares precursores de las osteonas, y ello originó la aparición de zonas de degeneración quística en el hueso nuevo. Cualquier aporte a la zona

de distracción debería efectuarse días antes de iniciar la distracción, posiblemente en el momento de la corticotomía. Una vez iniciada la osteogénesis a distracción, cualquier manipulación intrínseca del propio hueso regenerado debe conducir a alteraciones microvasculares que tienen efectos adversos en su favorable y natural evolución.

El tratamiento convencional de los defectos óseos también ha sido objeto de estudios preclínicos. Boyce et al<sup>36</sup> realizaron un estudio aleatorizado sobre el tratamiento de los defectos óseos en 15 perros. En dicho estudio el defecto óseo se trató mediante relleno con distintas combinaciones y cantidades de BMP-2, combinado o no con injerto esponjoso autólogo. Concluyeron que ninguno de los defectos tratados sólo con injerto esponjoso se curó antes de las 12 semanas; en cambio, todos los defectos tratados con rhBMP-2 se curaron en  $6 \pm 0,9$  semanas, fueran cuales fueren la combinación empleada o la cantidad de rhBMP-2 administrada.

Parece ser que la evidencia preclínica respalda la utilización de las rhBMP como potenciadoras de la formación ósea. Su empleo hace pensar que permitirá de algún modo acortar los tiempos de fijación externa y consolidación de las

reconstrucciones realizadas mediante transporte óseo basado en la osteogénesis a distracción.

Son múltiples los trabajos publicados<sup>4,24,28,37-48</sup> sobre la aplicación clínica de las BMP, si bien con distintos niveles de evidencia.

Fabeck et al<sup>46</sup> publicaron en 2005 el excelente resultado obtenido agregando BMP-7 en el tratamiento de una seudoartrosis congénita de tibia. Datos menos convincentes aportaron Francis Young-In Lee et al en 2006<sup>47</sup> sobre el tratamiento de 5 casos de seudoartrosis congénita.

Geesink et al<sup>24</sup>, en 1999, realizaron un estudio prospectivo aleatorizado y a doble ciego en dos fases sobre la utilización de BMP-7 en defectos críticos de peroné asociados a 24 osteotomías de tibia proximal, en él queda patente el potencial osteogénico de BMP-7 respecto al grupo control.

Freidlaender et al publicaron en 2001<sup>45</sup> los resultados de un estudio multicéntrico, comparativo, prospectivo y aleatorizado. Encontraron que BMP-7 es segura y eficaz en el tratamiento de la seudoartrosis tibial tratada con enclavado endomedular. El estudio se basa en el tratamiento de 124 seudoartrosis tibiales tratadas mediante enclavado tibial combinado con injerto autólogo o BMP-7, y se consiguió la consolidación en el 81% de los casos tratados con BMP-7 ( $n = 63$ ) y en el 85% de los casos tratados con injerto autólogo ( $n = 61$ ) a los 2 años ( $p = 0,939$ ). Es un excelente trabajo,

pero alguno de los casos tratados con BMP-7 también fue objeto de fresado endomedular en el momento de aplicación de la BMP, y no debemos olvidar la posible interferencia en el estudio, ya que el fresado pudo actuar como un autoinjerto.

En 2008 Ekrol et al<sup>48</sup>, en un estudio comparativo aleatorizado sobre la utilización de BMP-7 o injerto autólogo para el relleno de la brecha resultante de osteotomías correctoras de metáfisis distales de radio, encontraron que los injertos autólogos son más eficaces para obtener la consolidación. En ese estudio se hace hincapié en la importancia de una correcta estabilización del foco para que los procesos reparativos sean eficaces.

Kanakaris et al<sup>4</sup> publicaron en 2004 un estudio prospectivo multicéntrico con un 89,7% de éxitos (61 casos) en el tratamiento de 68 seudoartrosis de tibia de más de 23 meses de evolución.

En nuestra práctica diaria clasificamos los defectos óseos en dos tipos, según su tamaño: pequeños si su tamaño es  $< 4$  cm y amplios si es  $\geq 4$  cm.

Entre las distintas opciones terapéuticas para su reconstrucción disponemos de diversos métodos: autoinjerto de hueso esponjoso, injerto intertibioperoneal (posterior-lateral o anterior), injertos óseos simples o compuestos microvascularizados, transferencias de peroné homolateral o contralateral y transporte óseo basado en la osteogénesis a distracción.



**Figura 3** A y B: imagen de una seudoartrosis atrófica en el punto de atraque de un transporte tibial de proximal a distal; el regenerado obtenido está en una avanzada fase de maduración. C: aspecto de la lesión una vez desbridada y cruentada la interlínea de seudoartrosis (1); aplicación de BMP-7 a la brecha ósea (2-4); cobertura del conjunto con malla de hialuronato (5, 6).

En los pequeños defectos ( $< 4$  cm), el patrón de referencia es el autoinjerto, ya que reúne todas las propiedades deseadas en una reconstrucción ósea, tiene capacidad osteogénica (células mesenquimales), es osteoinductivo (tiene BMP) y su estructura es la de un buen osteoconductor. Sus inconvenientes son la escasa disponibilidad y la morbilidad en la zona dadora<sup>49-53</sup>.

Para solucionar los defectos segmentarios amplios, nuestra elección es la osteogénesis a distracción. Es la mejor manera de obtener extensos regenerados óseos de morfología tubular, bien vascularizados y en continuidad con el tejido óseo primitivo<sup>54-57</sup>.

Hemos empezado a utilizar BMP-7 como método añadido para solucionar complicaciones surgidas en los tratamientos basados en la osteogénesis a distracción. Su utilización nos parece indicada contra retardos de la consolidación o en seudoartrosis del punto de atraque una vez finalizado el transporte, en el tratamiento de las degeneraciones quísticas del regenerado y en estadios iniciales de la reconstrucción en la corticotomía previa al inicio de la distracción. El

objetivo<sup>58</sup> es reducir los períodos de sanación y obtener mejores propiedades biomecánicas del nuevo hueso regenerado.

Utilizamos rhBMP-7 contra retardos de consolidación del punto de atraque en las reconstrucciones efectuadas por transporte óseo basado en la osteogénesis a distracción. Después de desbridamiento, cruentación y repermeabilización de los canales medulares en la zona de consolidación ausente, procedemos a la aplicación de la BMP-7 en el lecho óseo cruentado. Para evitar la diseminación y la migración del producto, envolvemos el punto de atraque y la BMP en una malla de hialuronato, material reabsorbible y que al mismo tiempo estimula la vasculogénesis local (fig. 3). El reducido número de casos tratados de este modo (5 pacientes) no nos autoriza a hablar de resultados por el momento.

También aplicamos BMP-7 en el punto de corticotomía el mismo día en que la practicamos, con la intención de obtener mejores cualidades del hueso regenerado en el menor tiempo posible. Por el momento no hemos detectado ningún fenómeno adverso (fig. 4).



**Figura 4** A: distracción temporal del foco de corticotomía. B: colocación en la brecha ósea de BMP-7. C: aspecto antes de cubrir la zona con el plano muscular. D: aspecto general del montaje.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Mahendra A, Maclean AD. Available biological treatments for complex non-unions. *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 4:S7-12.
2. Giannoudis PV, Psarakis S, Kanakaris NK, Pape HC. Biological enhancement of bone healing with Bone Morphogenetic Protein-7 at the clinical setting of pelvic girdle non-unions. *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 4:S43-8.
3. Giannoudis PV, Tzioupis C, Almalki T, Buckley R. Fracture healing in osteoporotic fractures: is it really different? A basic science perspective. *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 1:S90-9.
4. Kanakaris NK, Paliobeis C, Manidakis N, Giannoudis PV. Biological enhancement of tibial diaphyseal aseptic non-unions: the efficacy of autologous bone grafting, BMPs and reaming by-products. *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 2:S65-75.
5. Stylios G, Wan T, Giannoudis P. Present status and future potential of enhancing bone healing using nanotechnology. *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 1:S63-74.
6. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: Which are the important molecules? *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 1:S11-25.
7. Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: a harmony of optimal biology and optimal fixation? *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38 Suppl 4:S1-2.
8. Giannoudis PV, Einhorn TA, Schmidmaier G, Marsh D. The diamond concept —open questions. *Injury, Int J Care Injured.* 2008;39 Suppl 2:S6-8.
9. Giannoudis PV, Pape HC. Trauma and immune reactivity: too much, or too little immune response? *Injury, Int J Care Injured.* 2007;38:1333-5.
10. Jacobsen KA, Al-Aql ZS, Wan C, Fitch JL, Stapleton SN, Mason ZD, et al. Bone formation during distraction osteogenesis is dependent on both VEGFR1 and VEGFR2 signaling. *J Bone Miner Res.* 2008;23:596-609.
11. Wang YQ, Luk JM, Chu AC, Ikeda K, Man K, Kaneda K, et al. TNP-470 blockage of VEGF synthesis is dependent on MAPK/COX-2 signaling pathway in PDGF-BB-activated hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;341:239-44.
12. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science.* 1965;150: 893-9.
13. Urist MR, Mikulski A, Lietze A. Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979; 76:1828-32.
14. Pountos I, Georgoulis T, Blokhuis TJ, Pape HC, Giannoudis PV. Pharmacological agents and impairment of fracture healing: what is the evidence? *Injury, Int J Care Injured.* 2008;39:384-94.
15. Gupta D, Tuli SM. Osteoinductivity of partially decalcified alloimplants in healing of large osteoperiosteal defects. *Acta Orthop Scand.* 1982;53:857-65.
16. Einhorn TA, Lane JM, Burstein AH, Kopman CR, Vigorita VJ. The healing of segmental bone defects induced by demineralised Bone matrix. *J Bone Joint Surg (Am).* 1984;66:A274-9.
17. Einhorn TA. Bone regeneration and repair: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg (Am).* 2006;88:A469-70.
18. Feighan JE, Davy D, Prewett AB, Stevenson S. Induction of bone by a demineralized bone matrix gel: a study in a rat femoral defect model. *J Orthop Res.* 1995;13:881-91.
19. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87:2220-4.
20. Hammonds RG, Schwall R, Dudley A, Berkemeier L, Lai C, Lee J, et al. Bone inducing activity of mature BMP-2b produced from a hybrid BMP-2a/ 2b precursor. *Mol Endocrinol.* 1991;5:149-55.
21. Chen X, Schmidt A, Tsukayama DT, Bourgeault CA, Lew WD. Recombinant human osteogenin protein-1 induces bone formation in a chronically infected, internally stabilised segmental defect in the rat femur. *J Bone Joint Surg (Am).* 2006;88:A1510-23.
22. Özkanak E, Rueger DC, Drier EA, Corbett C, Ridge RJ, Sampath TK, et al. OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF-beta family. *EMBO J.* 1990;9:2085-93.
23. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev.* 1992;32:160-7.
24. Geesink RGT, Hoefnagels NHM, Bulstra SK. Osteogenic activity of OP-1 bone morphogenetic protein (BMP-7) in a human fibular defect. *J Bone Joint Surg (Br).* 1999;81:BT10-8.
25. Govender S, Csimma C, Genant HK, Valentim-Opran A, Amit Y, Arbel R, et al. BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma (BESTT) Study Group. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg (Am).* 2002;84:A2123-34.
26. McKee MD. The effect of human recombinant bone morphogenetic protein (rhBMP-7) on the healing of open tibial shaft fractures: results of a multicentre, prospective, randomised clinical trial. OTA 2002 Annual meeting, Toronto, Ontario Canada, October 2002. Paper 45.
27. Swiontowski MF, Aro HT, Donell S, Esterhai JL, Goulet J, Jones A, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 in open tibial fractures. *J Bone Joint Surg (Am).* 2006;88:A1258-65.
28. Dimitriou R, Dahabreh Z, Katsoulis E, Matthews SJ, Branfoot T, Giannoudis PV, et al. Application of recombinant BMP-7 on persistent upper and lower limb non-unions. *Injury, Int J Care Injured.* 2005;36 Suppl 4:S51-9.
29. Reddi AH. Cell biology and biochemistry of endochondral bone development. *Coll Relat Res.* 1981;1:209-26.
30. Giannoudis PV, Tzioupis CH. Clinical applications of BMP-7. The UK perspective. *Injury, Int J Care Injured.* 2005;36 Suppl 3:S47-50.
31. Ramoshebi LN, Ripamonti U. Osteogenic protein-1, a bone morphogenetic protein, induces angiogenesis in the chick chorioallantoic membrane and synergizes with basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta1. *Anat Rec.* 2000;259:97-107.
32. Chen TL, Bates RL, Dudley A, Hammonds RG, Amento EP. Bone morphogenetic protein-2b stimulation of growth and osteogenic phenotypes in rat osteoblast-like cells: comparison with TGF-beta 1. *J Bone Miner Res.* 1991;6:1387-93.
33. Makino T, Hak DJ, Hazelwood SJ, Curtiss S, Reddi AH. Prevention of atrophic nonunion development by recombinant human bone morphogenetic protein-7. *J Orthop Res.* 2005;23:632-8.
34. Mizumoto Y, Moseley T, Drews M, Cooper III VN, Reddi H. Acceleration of regenerate ossification during distraction osteogenesis with recombinant human bone morphogenetic protein-7. *J Bone Joint Surg (Am).* 2003;85 Suppl 3:A124-30.
35. Sailhan F, Chotel F, Chousta A, Viguier E, Boivin G. Unexpected absence of effect of rhBMO-7 on distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 2006;457:227-34.
36. Boyce AS, Reveal G, Scheid K, Kaehr D, Maar D, Watts M, et al. Canine investigation of rhBMP-2, autogenous bone graft, and rhBMP-2 with autogenous bone graft for the healing of a large segmental tibial defect. *J Orthop Trauma.* 2009;23:685-92.

37. Knutzen R, Wergedal JE, Sampath TK, Baylink DJ, Mohan S. Osteogenic protein-1 stimulates proliferation and differentiation of human bone cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;194:1352-8.
38. Hentunen TA, Lakkakorpi PT, Tuukkanen J, Lehenkari PP, Sampath TK, Väänänen HK. Effects of recombinant human osteogenic protein-1 on the differentiation of osteoclast-like cells and bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;209:433-43.
39. Cook SD, Barrack RL, Patron LP, Salkeld SL. Osteogenic protein-1 in knee arthritis and arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;428:140-5.
40. Cook SD, Dalton JE, Tan EH, Whitecloud TS, Rueger DC. In vivo evaluation of recombinant human osteogenic protein (rhOP-1) implants as a bone graft substitute for spinal fusions. *Spine.* 1994;19:1655-63.
41. Sampath TK, Maliakal JC, Hauschka PV, Jones WK, Sasak H, Tucker RF, et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1) induces new bone formation in vivo with a specific activity comparable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblast proliferation and differentiation in vitro. *J Biol Chem.* 1992;267:20352-62.
42. Vukicevic S, Stavljenic A, Pecina M. Discovery and clinical applications of bone morphogenetic proteins. *Eur J Clin Chem Biochem.* 1995;33:661-71.
43. Grande DA, Halberstadt C, Naughton G, Schwartz R, Manji R. Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of articular cartilage grafts. *J Biomed Mater Res.* 1997;34:211-20.
44. Shigeyama Y, D'Errico JA, Stone R, Somerman MJ. Commercially-prepared allograft material has biological activity in vitro. *J Periodontol.* 1995;66:478-87.
45. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, Cierny G, Muschler GF, et al. Osteogenic Protein-1 (Bone Morphogenetic Protein-7) in the tibial nonunions. A prospective, randomised clinical trial comparing RhOP-1 with fresh bone autograft. *J Bone Joint Surg (Am).* 2001;83 Suppl 1:S151-8.
46. Fabeck L, Ghafil D, Gerroudj M, Baillon R, Delincé Ph. Bone morphogenetic protein 7 in the treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia. *J Bone Joint Surg (Br).* 2006;88:B116-8.
47. Lee FY-I, Snicropi SM, Lee FS, Vitale MG, Roye DP, Choi IH. Treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia with recombinant human bone morphogenetic protein-7 (rhBMP-7). A report of five cases. *J Bone Joint Surg (Am).* 2006;88:A627-33.
48. Ekrol I, Hajducka C, Court-Brown Ch, McQueen M. A comparison of RhBMP-7 (OP-1) and autogenous graft for metaphyseal defects after osteotomy of the distal radius Injury. *Int J Care Injured.* 2008;39 Suppl 2:S73-82.
49. Abdollahi K, Kumar PJ, Shepherd L, Patzakis MJ. Estimation of defect volume in segmental defects of the tibia and femur. *J Trauma.* 1999;46:413-6.
50. Arrington ED, Smith WJ, Chambers HG, Bucknell AL, Davino NA. Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;329:300-9.
51. Fernyhough JC, Schimandle JJ, Weigel MC, Edwards CC, Levine AM. Chronic donor site pain complicating bone graft harvesting from the posterior iliac crest for spinal fusion. *Spine.* 1992;17:1474-80.
52. Kurz LT, Garn SR, Booth RE. Harvesting autogenous iliac bone grafts: a review of complications and techniques. *Spine.* 1989; 14:1324-31.
53. Sasso RC, Williams JI, Dimasi N, Meyer PR Jr. Postoperative drains at the donor sites of iliac-crest bone grafts. A prospective, randomized study of morbidity at the donor site in patients who had a traumatic injury of the spine. *J Bone Joint Surg (Am).* 1998;80:A631-5.
54. Hayda RA, Bosse MJ. Moderators' summary: management of segmental bone defects. *J Am Acad Orthop Surg.* 2006;14 Suppl:S142-4.
55. Ai-Aql ZS, Alagi AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res.* 2008;87:107-18.
56. Soucacos PN, Johnson EO, Babis G. An update on recent advances in bone regeneration. *Injury, Int J Care Injured.* 2008;39 Suppl 2:S1-4.
57. Laurencin CT, Einhorn TA, Lyons K. Fracture repair: challenges and opportunities. *J Bone Joint Surg (Am).* 2008;90 Suppl 1:1-2.
58. Sakou T. Bone morphogenetic proteins: from basic clinical studies to clinical approaches. *Bone.* 1998;22:691-703.