

Kasvutekijät ja biomateriaalit luukudoksen uusiutumisessa

Ira Wass

Luonnontieteiden kandidaatin tutkielma

Biolääketieteen koulutusohjelma

Lääketieteellinen tiedekunta

Turun yliopisto

16.6.2025

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin
OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatin tutkielma

Oppiaine: Biolääketiede

Tekijä: Ira Wass

Otsikko: Kasvutekijät ja biomateriaalit luukudoksen uusiutumisessa

Ohjaaja: Terhi Heino, FT, dosentti

Sivumäärä: 24 sivua

Päivämäärä: 16.6.2025

Tiivistelmä

Väestön ikääntymisen ja luun sairauksien yleistymisen myötä tarve luuta korjaaville biomateriaaleille kasvaa. Luukudoksen jatkuvan uusiutumisen ansiosta kudoksen on mahdollista palauttaa rakenteensa ja toimintansa esimerkiksi luunmurtuman jälkeen. Joissain tapauksissa murtumat kuitenkin paranevat liian hitaasti, epätäydellisesti tai luupuutos voi olla liian suuri, jotta kudoksesta pystyisi uusiutumaan itsestään. Luun kudosteknologiassa onkin pyritty kehittämään biomateriaaleja, jotka kasvutekijöiden avulla saavat aikaan uuden luukudoksen muodostumista.

Monet luun sairaudet johtuvat luun solujen epänormaalista toiminnasta, joten ymmärrys solujen toiminnasta ja toiminnan säätelystä lisää mahdollisuuksia kehittää uusia hoitomuotoja luun korjaamiseksi. Yksi tärkeistä tutkimuskohteista on kasvutekijät ja niiden toiminnan säätely luukudoksessa. Kasvutekijät ovat proteiineja, jotka toimivat solusignaaloinnissa jo pieninä pitoisuuksina. Luukudoksessa kasvutekijät vaikuttavat solujen jakautumiseen, luun soluväliaineen syntymiseen ja solujen erilaistumiseen.

Luukudoksen tärkeimpiä kasvutekijöitä ovat insuliininkaltaiset kasvutekijät (IGF), fibroblastikasvutekijät (FGF), transformoiva kasvutekijä beeta (TGF- β), verihiutalekasvutekijä (PDGF) ja luun morfogeneettiset proteiinit (BMP). Näiden kasvutekijöiden yhdistämistä biomateriaaleihin luun ja verisuonten regeneraation tehostamiseksi tutkitaan, ja uusia sovelluksia kehitetään. Luun paranemista tehostavan regeneratiivisen biomateriaalin tulisi olla osteoinduktiivinen eli osteoblastien muodostumista lisäävä, bioyhteesopiva ja luukudoksen mekaanisiin ominaisuuksiin soveltuva.

Kliinisessä käytössä onkin jo joitakin kasvutekijöihin pohjautuvia biomateriaaleja, kuten kollageenisieni, johon on lisätty ihmisen rekombinanttia luun morfogeneettista proteiinia 2 (rhBMP-2). Tätä kasvutekijään pohjautuvaa biomateriaalia voidaan käyttää esimerkiksi

selkärangan välilevyrappeuman ja sääriluun avomurtumien hoidossa. Yhdistettäessä kasvutekijöitä biomateriaaleihin, täytyy kantajamateriaalin valinnan lisäksi ottaa huomioon myös kasvutekijöiden vapautumismekanismi materiaalista sekä vasteen oikea-aikainen ja paikallinen kohdennus kudoksessa.

Huolimatta siitä, että joitakin kasvutekijöihin pohjautuvia biomateriaaleja on jo kliinisessä käytössä, liittyy materiaalien toiminnallisten ominaisuuksien kehittämiseen edelleen haasteita. Etenkin kasvutekijöiden säädelty vapautuminen materiaaleista on tärkeä kehityskohde uusia luun regeneraatiota tehostavia biomateriaaleja kehitettäessä.

Avainsanat: kasvutekijät, biomateriaalit, luun kudosteknologia, BMP, luun muodostus

Lyhenneluettelo

ACS	Absorboiva kollageenisieni
BMP	Luun morfogeneettinen proteiini
FDA	Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto
FGF	Fibroblastikasvutekijä
IGF-1	Insuliininkaltainen kasvutekijä 1
PDGF	Verihiutalekasvutekijä
rhBMP-2	Ihmisen rekombinantti luun morfogeneettinen proteiini 2
rhPDGF-BB	Ihmisen rekombinantti verihiutalekasvutekijä B-dimeeri
TGF- β	Transformoiva kasvutekijä beeta
VEGF	Verisuonen endoteelin kasvutekijä

Sisällysluettelo

1	Johdanto	6
2	Luukudoksen muodostuminen ja uusiutuminen	7
2.1	Solujen erilaistuminen ja proliferaatio	7
2.2	Endokondraalinen luutuminen	7
2.3	Angiogeneesi	8
2.4	Soluväliaineen mineralisaatio	8
2.5	Luun uusiutuminen ja murtuman paraneminen	9
3	Kasvutekijät	10
3.1	Kasvutekijöiden määritelmä ja toiminta	10
3.2	Yleisimmät kasvutekijät luukudoksessa	11
4	Biomateriaalit luukudoksen uusiutumisessa ja korjaamisessa	14
4.1	Määritelmä, luokittelu ja ominaisuudet	14
4.2	Yleisimmät materiaalit	15
5	Kasvutekijöiden ja biomateriaalien yhdistäminen	16
5.1	Vapautuminen ja vasteen kohdistus	16
5.2	Erilaiset kantajamateriaalit	18
6	Kliiniset sovellukset	18
7	Johtopäätökset	20
	Lähteet	22

1 Johdanto

Ikääntyvän väestön ja kasvavan eliniänodotteen vuoksi patologiset murtumat ja muut luuhun liittyvät vauriot yleistyvät jatkuvasti. Luun vaurio voi syntyä esimerkiksi trauman, kasvaimen poiston tai infektion seurauksena, minkä jälkeen luu pyrkii uusiutumaan korjatakseen vaurioituneen kudoksen. Kaikissa tapauksissa luu ei kuitenkaan pysty uusiutumaan omilla mekanismeillaan, jolloin uusiutumisen tueksi luuhun voidaan asentaa paranemista edistävää ja kudosta tukevaa biomateriaalia.

1

Luuaurioiden hoidossa suosituin menetelmä on luusiirre, joka voi olla peräisin potilaasta itsestään tai luovuttajalta. Tarve uusille hoitomuodoille on kuitenkin suuri, koska luusiirteissä on paljon haasteita kuten vaikea saatavuus, tulehdusriski ja hylkimisreaktioiden mahdollisuus. Luusiirteiden haasteiden ratkaisemiseksi on pyritty kehittämään uudenlaisia biomateriaaleja, joissa käytetään bioaktiivisia komponentteja, kuten kasvutekijöitä. Näiden materiaalien tarkoitus on edistää luun uusiutumista hyödyntämällä osteokonduktiivisia ominaisuuksia, jotka tarjoavat rakenteellisen tuen luukudoksen kasvulle, sekä osteoinduktiivisia ominaisuuksia, jotka lisäävät osteoblastien erilaistumista.¹

Luussa on useita tärkeitä kasvutekijöitä, joilla on vaikutusta luun muodostumiseen ja uusiutumiseen. Näitä kasvutekijöitä ovat insuliininkaltaiset kasvutekijät (IGF), fibroblastikasvutekijät (FGF), transformoiva kasvutekijä beeta (TGF- β), verihiutalekasvutekijä (PDGF) ja luun morfogeneettiset proteiinit (BMP). Kasvutekijät vaikuttavat solujen toimintaan esimerkiksi lisäämällä niiden jakautumista ja erilaistumista. Niillä on myös osteoinduktiivisia vaikutuksia, joten niiden potentiaali luun uusiutumisen lisäämisessä on merkittävä. Kasvutekijöiden yhdistämistä ja hallittua vapauttamista biomateriaaleista on tutkittu jo vuosia, mutta tutkimusta tarvitaan edelleen toimivien ratkaisujen löytämiseksi.

Tässä tutkielmassa tarkastellaan luussa käytettävien biomateriaalien ja luussa toimivien kasvutekijöiden ominaisuuksia, toimintaa ja niiden yhdistämistä kudosteknologiseksi hoitomenetelmiksi. Tutkielmassa pohditaan merkittävimpiä haasteita kasvutekijöpohjaisten biomateriaalien käytössä ja kehityksessä, kuten vasteen oikeanlaista kohdennusta ja vapautusta kantajamateriaalista. Lopuksi tutkielmassa käydään läpi jo kliinisessä käytössä olevia hoitomenetelmiä, joissa käytetään kasvutekijöpohjaisia biomateriaaleja.

2 Luukudoksen muodostuminen ja uusiutuminen

2.1 Solujen erilaistuminen ja proliferaatio

Luuta muodostavat osteoblastit erilaistuvat mesenkymaalisista kantasoluista, jotka erilaistuvat ensin osteoprogenitorisoluiksi. Näitä esiastesoluja esiintyy esimerkiksi luukalvoissa ja luun soluväliaineen sisällä kulkevissa verisuonikanavissa. Kypsät osteoblastit muodostavat uutta soluväliainetta tuottamalla kollageenisäikeitä ja muita soluväliaineen orgaanisia komponentteja. Inaktiivisia osteoblasteja kutsutaan myös luun pintasoluiksi, ja niiden tehtävä on ankkuroida hematopoieettisia kantasoluja ja tuottaa signaaleja, jotka pitävät solut erilaistumattomina. ² Osa osteoblasteista jää tuottamansa soluväliaineen sisään ja kypsyy edelleen osteosyyteiksi. Ne eivät tuota uutta soluväliainetta, vaan ylläpitävät luun solujen toimintaa esimerkiksi tuottamalla sklerostiinia, joka säätelee osteoblastien aktiivisuutta.

Muista luun solutyypeistä poiketen osteoklastit eli luuta hajottavat solut erilaistuvat hematopoieettisista kantasoluista. Osteoklastien tehtävä on poistaa vanhaa luuta liuottamalla proteiineja ja soluväliainetta lysosomaalisten entsyymien ja happojen avulla. Vanhan luun poistaminen on tasapainossa uuden luun muodostumisen kanssa, jotta elimistön kalsiumtasapaino pysyy vakaana. ²

2.2 Endokondraalinen luutuminen

Endokondraalinen luutuminen on prosessi, jossa uusi luu muodostuu rustomallin kautta ja sitä tapahtuu erityisesti pitkien luiden muodostuessa. Rustomalli syntyy, kun mesenkymaaliset kantasolut muodostavat solurykelmiä tulevan luun muotoon ja alkavat erilaistua rustokudoksen soluväliainetta tuottaviksi kondroblasteiksi. Kun kondroblastit jäävät tuotetun soluväliaineen sisään, ne muuttuvat kondrosyyteiksi. Ensisijainen luumuodostuskeskus syntyy muodostuvan pitkän luun varsiosaan, kun kondrosyytit jakautuvat ja jatkavat soluväliaineen eritystä, minkä seurauksena rustomalli kasvaa pituutta ja paksuutta. Rustomallin kasvaessa sen keskiosiin jäävät kondrosyytit alkavat kasvaa kokoa. Rustomallia ympäröivät solut muodostavat luun ulkokalvon diafyysin keskiosaan, jolloin ensisijainen luumuodostuskeskus jää kehittyvän luun sisään. Kondrosyyttejä ympäröivä soluväliaine alkaa

kalsifikoitua ja ne kuolevat, jolloin niiden jättämään tilaan muodostuu lakuunoita eli altaita, joissa osteoblastit myöhemmin kypsyvät osteosyyteiksi. Ensisijaisen luumuodostuskeskuksen kasvaessa kohti muodostuvan luun päitä, osteoklastit hajottavat keskiosaan muodostunutta luuta ja jäljelle jäävään tilaan kehittyä luuydinontelo. ^{3,4}

Toissijaiset luumuodostuskeskukset kehittyvät myöhemmin epifyyseissä eli pitkien luiden päissä. Hypertrofisten kondrosyyttien tilaan tunkeutuu verisuonia ja osteoprogenitorisoluja perikondriumista. Suurin osa epifyysin rustosta korvautuu hohkaluulla, lukuun ottamatta nivelrustoa ja kasvulevyjä. Epifyysin rustoiset kasvulevyt sijaitsevat epifyysin ja diafyysin välissä, ja ne vastaavat luiden pituuskasvusta. ³

2.3 Angiogeneesi

Angiogeneesi eli uusien verisuonten muodostuminen on tärkeä tapahtuma luun muodostumisessa ja uusiutumisessa. Muodostuvien verisuonten kautta luun uusiutumisessa tarvittavat solut ja inflammatoriset tekijät pääsevät uusiutumisalueelle. Verisuonet mahdollistavat myös hapen ja ravinteiden kuljetuksen kudokseen, mikä edistää luun uusiutumista ja kasvua.

Hypertrofiset kondrosyytit erittävät angiogeenisiä tekijöitä, kuten verisuonen endoteelin kasvutekijää (VEGF), joka indusoi verisuonten tunkeutumista perikondriumista ensisijaiseen luumuodostuskeskukseen luuydinontelon muodostamiseksi ³. VEGF:n lisääntynyt ilmentyminen aiheuttaa perikondriumien osteoprogenitorisolujen liikkeen kohti ensisijaista luumuodostuskeskusta yhdessä osteoklastien, verisuonten ja hematopoieettisten kantasolujen kanssa ⁵. Verisuonet valtaavat tilan, jossa aiemmin oli hypertrofisia kondrosyyttejä, ja verisuonet alkavat kasvaa kohti kehittyvän luun molempia päitä niin, että kapillaarien päät ulottuvat kalsifikoituneen ruston sisään ³.

2.4 Soluväliaineen mineralisaatio

Kypsä tiivisluu koostuu 70 % epäorgaanisista suoloista ja 30 % orgaanisesta soluväliaineesta ⁶. Soluväliaineen mineralisaatio alkaa rustomallin sisäosista, ja etenee kohti luun päitä. Kalsifikoituneessa rustossa osteoprogenitorisolut erilaistuvat osteoblasteiksi, jotka tuottavat luun soluväliaineen proteiineja kuten tyypin I kollageenia, jota on orgaanisen soluväliaineen proteiineista

noin 90 %.^{3,7} Proteoglykaanit säätelevät kollageenisäikeiden muodostumista ja soluväliaineeseen jäävän veden määrää⁶. Kollageenin lisäksi soluväliaineessa esiintyy myös muita proteiineja, esimerkiksi osteokalsiinia, osteonektiiniä ja luun sialoproteiineja. Niiden tehtävä on säädellä kalsiumin sitoutumista mineralisaation aikana ja lisätä kollageenin ja mineraalikomponenttien välisiä sidoksia⁶. Soluväliaineen epäorgaaninen osa koostuu mineraaleista, lähinnä kalsiumin ja fosfaatin muodostamasta hydroksiapatiitista.

Osteoplastien tuottama ja erittämä kollageeni muodostaa ensin osteoidia, eli mineralisoitumatonta soluväliainetta, jonka kollageenisäikeiden väliin amorfiset kalsiumfosfaattisuolat alkavat saostua. Näissä mineralisaatiokeskuksissa kalsiumfosfaattisuolat alkavat yhdistyä ja muovautua hydroksiapatiittikiteiksi⁶. Osteoidin sisään jäävät osteoplastit muuttuvat luun ylläpidosta vastaaviksi osteosyyteiksi, jotka järjestäytyvät luun soluväliaineen muodostamiin osteoneihin.

2.5 Luun uusiutuminen ja murtuman paraneminen

Luun uusiutumisella tarkoitetaan luukudoksen jatkuvaa uusiutumista, jossa osteoplastit hajottavat vanhaa kudosta ja osteoplastit muodostavat uutta kudosta hajotetun tilalle. Luun uusiutumista tapahtuu läpi elämän, ja sen tarkoitus on ylläpitää elimistön kalsiumtasapainoa ja saavuttaa luun optimaalinen vahvuus korjaamalla luun mikroskooppisia vaurioita.³

Luun murtumat voivat parantua endokondraalisesti tai intramembranoottisesti, eli ilman rustovälivaihetta. Tyypillisesti murtumat, joissa luun päät ovat liikkumattomat ja lähellä toisiaan paranevat intramembranoottisen luutumisen kautta. Muunlaiset murtumat parantuvat endokondraalisen luutumisen kautta³.

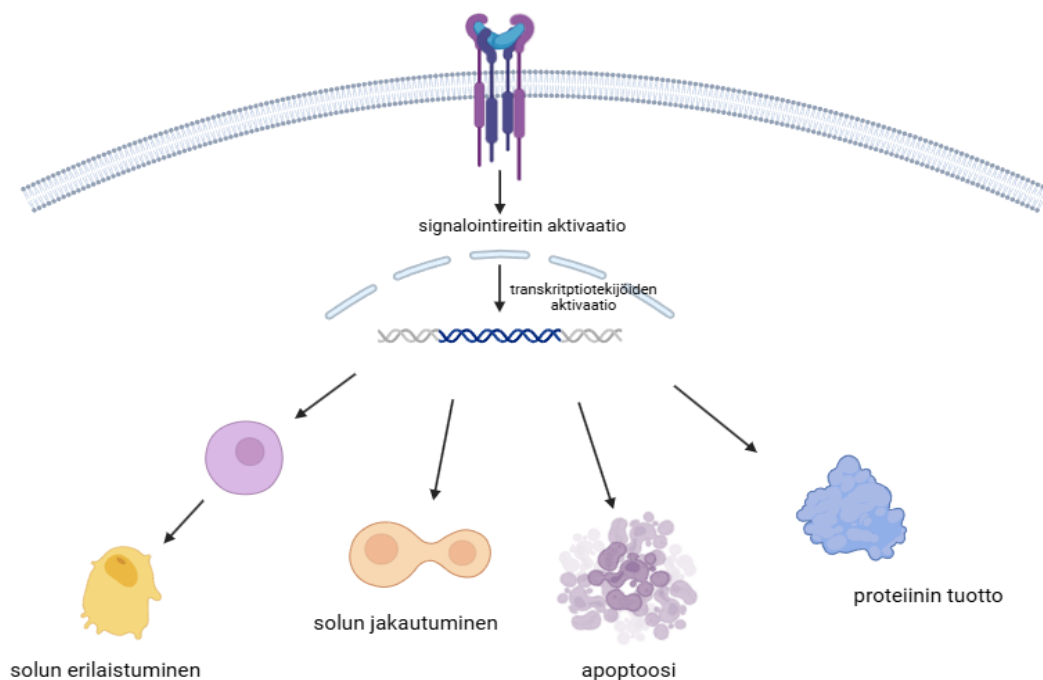
Aluksi murtuman alueelle kerääntyy verta ja muodostuu verihyytymä (hematooma), mikä aiheuttaa turvotusta ja käynnistää inflammatorisen vasteen. Ensimmäisen viikon aikana murtuneen luun päiden välille muodostuu ensin rustokudosta (kallus), joka liittää päät yhteen. Fagosyyttiset solut alkavat poistaa kuolleita soluja ja vaurioitunutta luuta, verisuonet alkavat muodostua uudelleen ja osteoprogenitorisolut pääsevät kudokseen erilaistumaan osteoplasteiksi, minkä jälkeen rustoinen kallus korvautuu luulla. Uutta luuta alkaa muodostua noin 3–4 viikkoa murtumasta. Osteoplastit poistavat ylimääräistä uudisluaa vielä 2–3 kuukautta murtuman jälkeen.³

3 Kasvutekijät

3.1 Kasvutekijöiden määritelmä ja toiminta

Yksi tärkeimmistä solujen toimintaa säätelevistä molekyyliyhdistä ovat kasvutekijät. Kemialliselta rakenteeltaan ne ovat polypeptidejä tai proteiineja, ja niiden tehtävä on vaikuttaa solujen toimintaan toimimalla paikallisina säätelijöinä ^{8,9}. Kasvutekijät sitoutuvat niille spesifeihin solukalvoreseptoreihin, mikä tyypillisesti aktivoi proteiinikinaasin toiminnan solun sisällä ⁹. Proteiinikinaasin toiminta aktivoi signaalintireittejä, mikä johtaa solun muuttuneeseen geenien ilmentämiseen ^{9,10}.

Vaikka eri reseptoriryhmien välillä on rakenteellisia eroja, monet tekijät geenin aktivoivassa signaalintireitissä ovat samoja riippumatta siitä, millaiseen reseptoriin kasvutekijä sitoutuu ⁸. Kasvutekijät siis sitoutuvat niille spesifeihin reseptoreihin, mutta erilaiset kasvutekijät voivat aiheuttaa samanlaisia vasteita solussa, kuten solun jakautumisen, erilaistumisen, apoptoosin tai proteiinin tuoton (kuva 1) ⁸.



Kuva 1. Kasvutekijöiden toiminta. Kasvutekijä sitoutuu reseptoriinsa solukalvon pinnalla, minkä seurauksena käynnistyy solun toiminnan muutokseen johtava solunsisäinen signaalintireitti. Kasvutekijän sitoutumisen seurauksena solu voi esimerkiksi erilaistua, jakautua, tuottaa jotakin proteiinia tai mennä apoptoosiin. Kuva tehty BioRenderillä.

3.2 Yleisimmät kasvutekijät luukudoksessa

Luussa toimii useita erilaisia kasvutekijöitä, jotka vaikuttavat kudoksen kasvuun ja uusiutumiseen. Tärkeimpiä luunmuodostukseen vaikuttavia kasvutekijöitä ovat insuliininkaltaiset kasvutekijät (IGF), luun morfogeneettiset proteiinit (BMP), fibroblastikasvutekijä (FGF) ja transformoiva kasvutekijä beeta (TGF- β) ja verihiutalekasvutekijä (PDGF) ^{11,12}. Tärkein angiogeneesiä eli verisuonten uudismuodostusta ohjaava kasvutekijä on VEGF.

Transformoiva kasvutekijä beeta (TGF- β) kuuluu TGF- β superperheeseen. Tähän superperheeseen kuuluu viisi tunnistettua alatyyppeä, joista TGF- β 1-TGF- β 3 toimivat useissa kudoksissa lisäämällä mesenkyymalista alkuperää olevien solujen jakautumista ja erilaistumista ⁹. TGF- β -reseptoreja on eniten osteoblasteissa, joissa sitä myös tuotetaan. Kasvutekijää varastoidaan luun soluväliaineeseen, ja luusto onkin ihmiselimestön suurin TGF- β -varasto. TGF- β 1:tä ilmennetään erityisesti luunmurtumien varhaisessa vaiheessa, jolloin se lisää mesenkymaalisten solujen ja osteoblastien jakautumista ja erilaistumista. ⁹

Vuoteen 2024 mennessä on tunnistettu yli 15 erilaista ihmiselimestössä esiintyvää luun morfogeneettisen proteiinin (BMP) alatyyppeä ¹³. BMP:t ovat signaalinvälityksessä peptideinä toimivia sytokiinejä. Niiden toiminta johtaa solujen jakautumiseen, liikkumiseen, erilaistumiseen ja soluväliaineen muodostumiseen ⁵. Aminohapposekvenssien tutkimuksella on havaittu, että luukudoksen toimintaan vaikuttavat alatyypit BMP2–BMP7 kuuluvat TGF- β -superperheeseen ¹¹. BMP:itä ilmennetään sekä kehittyvän luun että murtumassa muodostuvan uudisluun soluissa, ja ne vaikuttavat muiden luun muodostukseen osallistuvien kasvutekijöiden ilmenemiseen ¹¹. Osteoblasteissa ja kondrosyyteissä BMP:t toimivat solujen kasvun säätelyssä, erilaistumisessa ja apoptoosissa ¹⁴. Osteoinduktiivisten ominaisuuksien lisäksi BMP:t vaikuttavat raajojen luiden muodostumiseen alkionkehityksen aikana ¹¹.

Insuliininkaltainen kasvutekijä 1 (IGF-1) säätelee kasvuhormonin vaikutuksia luukudoksessa, lisää solunjakautumista ja luun soluväliaineen muodostumista, sekä lisää tyypin 1 kollageenin ilmentymistä ¹¹. IGF-1:tä ilmennetään runsaasti kehittyvää luuta ympäröivässä luukalvossa, kasvulevyissä ja parantuvan luunmurtuman uudisluussa ¹¹. IGF-1 säätelee pitkien luiden kasvulevyjen endokondraalista luutumista ja voi samalla mekanismilla osallistua myös luun murtumien paranemiseen ⁸. IGF-1:n ilmentymistä on havaittu myös osteoklasteissa, mikä viittaa

siihen, että se toimii autokriinisenä säätelijänä ja lisää luun hajottamista ¹¹. IGF-1 toimii auto- tai parakriinisenä säätelijänä, ja sitä voi varastoitua muodostuvan soluväliaineen sisään ja vapautua sieltä luun hajoamisen yhteydessä ¹¹.

Fibroblastikasvutekijäperheeseen kuuluu yhdeksän rakenteeltaan samansukuista polypeptidiä, joista FGF-1:tä ja FGF-2:ta esiintyy eniten ihmiselimistössä ⁹. Fibroblastikasvutekijöitä (FGF) tuotetaan useissa soluissa, kuten monosyyteissä, makrofageissa, osteoblasteissa ja rustosoluissa ⁹. Niillä on useita biologisia funktioita, joista merkittävin on fibroblastien stimulointi. FGF:en on havaittu vaikuttavan myös muiden solutyypin, kuten rustosolujen, toimintaan merkittävästi. Esimerkiksi kasvulevyjen rustosoluissa FGF vaikuttaa mitogeenisesti, eli solujen jakautumista edistävästi ⁸. Fibroblastikasvutekijöillä on merkittävä rooli myös alkionkehityksessä ja ne vaikuttavat angiogeneesiin lisäämällä kapillaarien solujen jakautumista ⁵.

Verihiutalekasvutekijä (PDGF) on kemialliselta rakenteeltaan dimeerinen glykoproteiini, joten sen biologiset vaikutukset riippuvat siitä, minkä alayksiköiden muodostama yhdistelmä on kyseessä ⁹. PDGF-BB ja PDGF-AB toimivat systeemisinä kasvutekijöinä, mutta PDGF-AA toimii paikallisena kasvutekijänä luussa ⁹. PDGF:ää tuotetaan verihiiutaleissa, monosyyteissä, makrofageissa ja endoteelisoluissa ⁹. Yleisesti PDGF:t lisäävät DNA-synteesiä, solujen replikaatiota ja proteiinisynteesiä. PDGF:llä on vaikutusta alkionkehityksen aikana tapahtuvaan organogeneesiin ja haavojen paranemiseen, mutta sen yli-ilmentyminen on yhdistetty myös erilaisiin patologisiin tiloihin, kuten munuaiskudoksen arpeutumiseen ja keuhkovaltimopaineen kohoamiseen ^{5,15}. PDGF:n mitogeeniset vaikutukset eivät kuitenkaan rajoitu vain osteoblastisen solulinjan soluihin, sillä PDGF-BB:n on osoitettu stimuloivan myös luuston ulkopuolisia fibroblasteja ⁹. Luussa PDGF indusoi mesenkymaalaisia kantasoluja erilaistumaan osteoblasteiksi ja fibroblasteiksi, jotka vaikuttavat luun uusiutumiseen ⁵. Lisäksi PDGF vaikuttaa vaurioituneessa kudoksessa angiogeneesin alkamiseen lisäämällä verisuonten endoteelikasvutekijän ilmentymistä vaurioalueella ⁵.

Osteogeneesin ja angiogeneesin välillä on tiivis yhteys etenkin alkionkehityksen ja luun murtuman paranemisen aikana ¹⁶. Yksi tärkeimmistä angiogeneesiä ohjaavista tekijöistä on VEGF, jolla on merkittävä rooli etenkin kehittyvissä, kasvavissa ja paranevissa luissa ¹⁶. VEGF säätelee endoteelisolujen jakautumista, liikkumista ja selviytymistä ¹⁷. Uudet verisuonet muodostuvat ikään kuin kuroutumalla olemassa olevista verisuonista, jolloin solut jakautuvat VEGF:n vaikutuksesta pidentäen muodostuvaa verisuonta. VEGF vaikuttaa siis muodostuvan verisuonen kasvuun, mutta

myös sen muotoon ja muodostuspaikkaan ¹⁷. Luukudoksen tärkeimpien luun muodostukseen ja uusiutumiseen vaikuttavien kasvutekijöiden ominaisuuksia on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Luun kasvutekijöiden toiminta.

Kasvutekijä	Toiminta
BMP	Säätölee osteoblastien kasvua, erilaistumista ja apoptoosia
TGF-β	Lisää mesenkymaalista alkuperää olevien solujen jakautumista ja erilaistumista
IGF-I	Säätölee kasvuhormonin vaikutuksia, lisää soluväliaineen muodostumista ja solujen jakautumista, lisää tyypin 1 kollageenin tuotantoa
FGF	Säätölee rustosolujen jakautumista kasvulevyissä, solujen toiminnan säätely alkionkehityksen aikana, angiogeenesis stimulointi
PDGF	Lisää DNA-synteesiä, solujen replikaatiota ja proteiinisynteesiä, vaikuttaa murtuman normaaliin paranemiseen, edistää kantasolujen erilaistumista osteoblasteiksi ja fibroblasteiksi, lisää VEGF:n ilmentymistä
VEGF	Säätölee endoteelisolujen jakautumista, liikkumista ja selviytymistä, säätölee verisuonten muodostumista ja kasvua

4 Biomateriaalit luukudoksen uusiutumisen ja korjaamisessa

4.1 Määritelmä, luokittelu ja ominaisuudet

European Society for Biomaterials (ESB) linjasi konsensuskokouksessaan vuonna 1986 biomateriaalin olevan eloton materiaali, jota käytetään lääkinnällisissä laitteissa vuorovaikuttamaan biologisten systeemien kanssa¹⁸. Tämän määritelmän mukaan biomateriaalit olisivat lähinnä implantoitavia ja interventionaalisia lääkinnällisiä laitteita. Vuonna 2018 pidetyssä kansainvälisessä konsensuskokouksessa biomateriaalien määritelmää tarkennettiin materiaaleiksi, jotka on suunniteltu ottamaan muoto, jonka avulla ne voivat vuorovaikutuksessa elävien järjestelmien kanssa ohjata minkä tahansa terapeutin tai diagnostisen toimenpiteen kulkua.¹⁸

Luussa käytettävät biomateriaalit ovat synteettistä tai luonnollista alkuperää olevia materiaaleja, joita käytetään kudoksen tukemiseen ja uusiutumisen edistämiseen. Luun korjaamisessa käytettävät materiaalit voidaan luokitella usealla tavalla, esimerkiksi alkuperän tai käyttökohteen mukaan. Tässä tutkielmassa materiaalit luokitellaan perinteisiin ja moderneihin biomateriaaleihin. Perinteisiin materiaaleihin luokitellaan auto-, allo- ja ksenogeeninen luu, biokeraamit ja metallit. Moderneihin biomateriaaleihin luokitellaan polymeerit, komposiitit ja luun kudosteknologialla kehitetyt materiaalit.¹⁹

Luussa käytettäviltä materiaaleilta vaaditaan tiettyjä ominaisuuksia, jotta niiden potentiaali tehostaa luun uusiutumista olisi mahdollisimman korkea. Materiaalin on tärkeää olla bioyhteensopiva, jotta kudoksen solujen normaali toiminta säilyy materiaalin ympärillä. Kestävyyden kannalta tärkeitä ominaisuuksia ovat materiaalin mekaaninen kestävyys ja osteokonduktiivisuus, eli materiaalin kyky toimia rakenteellisena alustana luun kasvulle. Luun uusiutumisen kannalta materiaalin tulisi olla osteoinduktiivinen, eli lisätä osteoblastien muodostumista materiaalin alueella. Koska ideaalitulanteessa materiaali korvautuu aikanaan kokonaan uudella luukudoksella, sen tulisi olla myös biohajoava.²⁰

4.2 Yleisimmät materiaalit

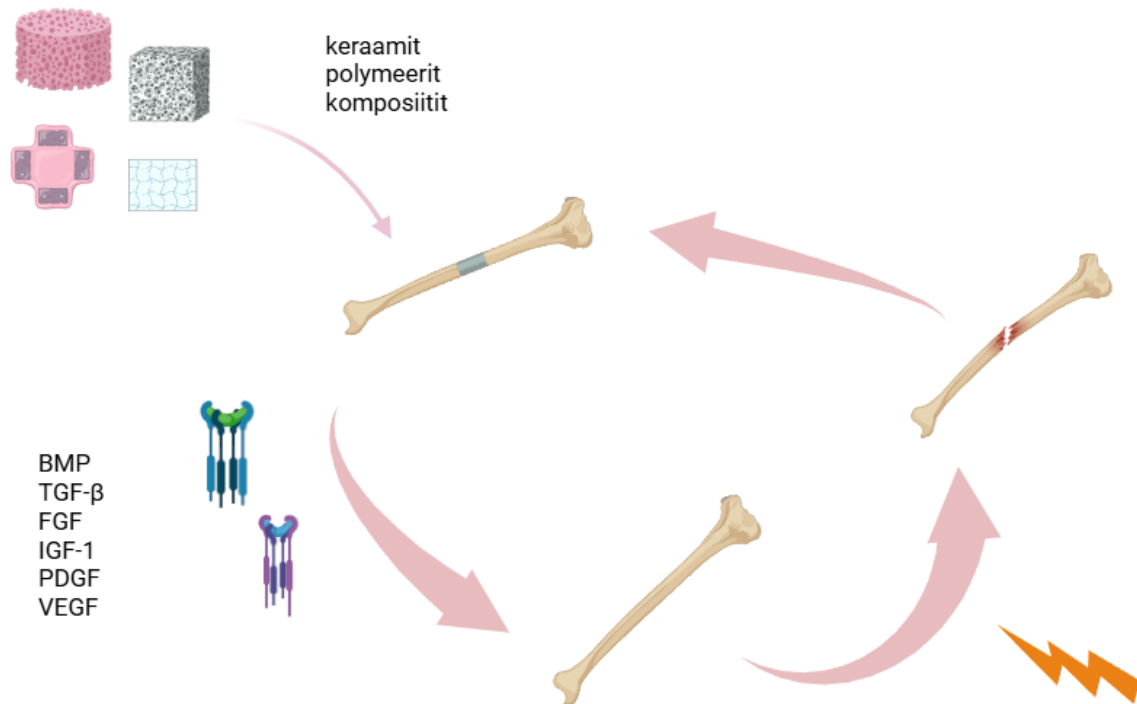
Perinteiset biomateriaalit ovat kliinisesti käytetyimpiä materiaaleja luun tukemiseen. Luusiirteiden käyttö on edelleen paras vaihtoehto luupuutosten hoitoon, mutta niiden saatavuushaasteiden vuoksi tarve uusille materiaaleille on suuri. Etenkin luovuttajilta saatuihin luusiirteisiin liittyy saatavuuden lisäksi myös suuri hylkimis- ja infektioriski. Yleisesti luun tukimateriaalina käytetään myös metalleja niiden suuren mekaanisen kestävyysvuoksi.²⁰ Kliinisessä hoidossa käytetään myös biokeraameja, yleisimpänä hydroksiapatiittia, joita voidaan asentaa luuhun erilaisina huukoisina tukirakenteina²¹. Huokoinen tukirakenne mahdollistaa kudoksen kasvun rakenteen sisään, mikä johtaa vahvaan kiinnittymiseen elävän kudoksen kanssa. Hydroksiapatiitin lisäksi muita luukudoksessa käytettyjä biokeraameja ovat karbonaattiapatiitti²², β -trikalsiumfosfaatti²² ja bioaktiivinen lasi¹⁹.

Moderneihin biomateriaaleihin kuuluvat polymeerit voivat olla synteettisiä tai luonnollisia. Luonnolliset polymeerit jäljittelevät luun orgaanisen soluväliaineen rakennetta ja biokemiallisia ominaisuuksia, mutta heikko mekaaninen kestävyys rajoittaa niiden laajempaa käyttöä²³. Luonnollisista polymeereistä laajassa käytössä on etenkin kollageeni, jonka kestävyysongelma on pyritty ratkaisemaan yhdistämällä sitä erilaisiin keraameihin. Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston (FDA) hyväksymiä synteettisiä polymeerejä ovat luun kanssa bioyhteensopivat polyglykolihiappo (PGA) ja polylaktidihiappo (PLA), mutta niillä ei ole juurikaan käyttökohteita luun uusiutumisessa niiden heikon osteokonduktiivisuuden vuoksi²³.

Komposiitit ovat yhdistelmä materiaaleja, joissa käytetään vähintään kahta koostumukseltaan erilaista biomateriaalia, esimerkiksi polymeeriä ja biokeraamia¹⁹. Tämän tyyppisissä materiaaleissa voidaan optimoida kummankin materiaalityypin halutut ominaisuudet, jolloin komposiitista saadaan mahdollisimman hyvin käyttötarkoitukseensa sopiva materiaali²⁰. Useita biokeraamien ja polymeerien muodostamia komposiitteja on käytössä, joista etenkin kollageenin ja hydroksiapatiitin yhdistelmä on melko yleinen²³.

Biomateriaalia voidaan käyttää vain luun tukemiseen, mutta kudosteknologiassa pyritään kehittämään materiaaleja, jotka tukirakenteena toimimisen lisäksi edistäisivät myös solujen toimintaa ja sitä kautta luun uusiutumista. Tämä voidaan saavuttaa lisäämällä materiaaliin joitakin biologisia tekijöitä, kuten kantasoluja tai kasvutekijöitä, joilla on vaikutusta luun uusiutumiseen. Tässä tutkielmassa on keskitytty materiaaleihin, joihin on yhdistetty luun uusiutumisen kannalta tärkeitä

kasvutekijöitä. Tähän strategiaan perustuvia materiaaleja on tutkittu paljon, mutta vain muutamat ovat saaneet FDA:n hyväksynnän potilaskäyttöön ²⁴. Kuva 2 havainnollistaa kasvutekijäpohjaisen biomateriaalin käyttöä luuvaurioiden korjaamisessa. Kliinisistä sovelluksista kerrotaan tarkemmin luvussa 6.



Kuva 1. Luun korjaaminen biomateriaalin ja kasvutekijöiden avulla. Vaurioituneeseen luuhun voidaan laittaa biomateriaalia tukemaan kudosta ja lisäämään sen uusiutumista. Biomateriaali voi sisältää jotakin kasvutekijää, joka vapautuu materiaalista ja lisää luun uusiutumista esimerkiksi lisäämällä osteoblastien erilaistumista. Kuva tehty BioRenderillä ja muokattu lähteestä M. R. Iaquinta et al., "Innovative biomaterials for bone regrowth," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 3, p. 618, Jan. 2019.

5 Kasvutekijöiden ja biomateriaalien yhdistäminen

5.1 Vapautuminen ja vasteen kohdistus

Yksi suurimmista haasteista kasvutekijäpohjaisen biomateriaalin kehittämisessä on kasvutekijän hallittu vapautuminen oikeassa paikassa. Vaikka kasvutekijöillä on paljon potentiaalia luun uusiutumisessa, niiden kudosteknologisen käytön haasteisiin kuuluu lyhyt biologinen

puoliintumisaika fysiologisissa olosuhteissa, aktiivisuuden muutokset ja mahdolliset vakavat kliiniset haittavaikutukset, kuten kipu ja ektooppinen luunmuodostus.²⁰

Kantajamateriaalin valinnassa tulee ottaa huomioon ominaisuudet, jotka vaikuttavat kasvutekijän vapautumiseen. Näitä ovat esimerkiksi materiaalin kantokapasiteetti, sitoutumisaffiniteetti ja stabiilisuus. Kasvutekijän vapautumiseen materiaalista voidaan vaikuttaa muokkaamalla materiaalin ominaisuuksia, kuten huokoisuutta, polymeerien koostumusta ja tukirakenteen muotoa.¹ Optimaalinen terapeutinen annos ja sen vapautuminen materiaalista riippuvat yksilöllisesti kustakin kasvutekijästä ja käyttökohteesta²⁵.

Kasvutekijöiden vapauttamiseen ja vasteen kohdennukseen voidaan käyttää erilaisia menetelmiä. Yksinkertaisin menetelmä on sulkea kasvutekijät fyysisesti biomateriaalin sisään, josta ne vapautuvat diffuusiolla tai materiaalin hajotessa. Kiinteissä materiaaleissa, kuten polymeereissä tai komposiiteissa, kasvutekijät voidaan sekoittaa suoraan materiaalin komponentteihin, jolloin niiden vapautus riippuu esimerkiksi materiaalin huokoisuudesta. Tässä menetelmässä heikkoutena on kasvutekijän pulssimainen, liian nopea vapautuminen sekä kasvutekijän bioaktiivisuuden mahdollinen heikkeneminen. Kasvutekijät voidaan myös sitoa kemiallisesti biomateriaaliin, esimerkiksi kasvutekijän ja polymeerin välisillä kovalenttisilla sidoksilla. Menetelmän vahvuutena on vapauttamisen säätelymahdollisuudet, koska kasvutekijä voidaan saada vapautumaan haluttuun aikaan esimerkiksi hydrolyysillä. Toisaalta tämä voi denaturoida kasvutekijän ja sitä kautta vaikuttaa sen aktiivisuuteen.²⁵

Yksi käytetyimpiä menetelmiä paikallisen vaikutuksen aikaansaamiseksi on yksinkertainen materiaalin pinnan päällystäminen kasvutekijällä. Kasvutekijä saadaan sidottua pintaan epäspesifeillä vuorovaikutuksilla, esimerkiksi van der Waalsin voimilla, jolloin sidoksen vetovoiman heikentyessä materiaali vapauttaa kasvutekijän kudokseen. Menetelmää käytetään, koska siinä voidaan hyödyntää lähes mitä tahansa materiaalia, mutta sen heikkoutena voi olla kasvutekijän hallitsematon vapautuminen materiaalista. Kasvutekijän sitominen spesifisesti materiaalin pintaan tarjoaa paremmat mahdollisuudet vapauttamisen hallitsemiseen verrattuna epäspesifiin sitoutumismenetelmään. Tämä voidaan toteuttaa kemiallisilla tai fysikaalisilla menetelmillä, joissa funktionaalisesti toiminnalliset ryhmät sidotaan kovalenttisesti materiaalin pintaan. Kasvutekijän spesifinen sitominen mahdollistaa suuremman kantokapasiteetin, stabiilisuuden ja pidemmän vapautusajan.²⁵

5.2 Erilaiset kantajamateriaalit

Yksi suosituimmista ja yksinkertaisimmista biomolekyylien kantajamateriaaleista on polymeeripohjainen hydrogeeli, jonka sisään biomolekyylit voidaan sulkea tai sekoittaa. Hydrogeeli voidaan valmistaa esimerkiksi kollageenista tai kitosaanista. Kasvutekijän vapautumista hydrogeelistä voidaan hallita, koska materiaali reagoi hyvin erilaisiin ärsykkeisiin, kuten mekaaniseen rasitukseen tai pH:n muutokseen. Toisaalta hydrogeelien käytön haasteita ovat rajalliset muotoilumahdollisuudet ja heikot mekaaniset ominaisuudet.²⁵

Hydrogeelien lisäksi kollageenista voidaan valmistaa erilaisia sienimäisiä materiaaleja. Absorboiva kollageenisieni (absorbable collagen sponge, ACS) oli yksi ensimmäisistä kantajamateriaaleista BMP-2:lle²⁶. ACS:n käyttö on kuitenkin kliinisesti haastavaa sen hajoamisnopeuden ja kasvutekijän hallitsemattoman vapauttamisen takia. Kasvutekijä saattaa vapautua pulssimaisesti liian suurella konsentraatiolla, mikä voi kliinisessä käytössä johtaa hankaliin haittavaikutuksiin²⁶.

Biokeraameista hydroksiapatiittia ja trikalsiumfosfaattia käytetään yleisesti kasvutekijöiden kantajamateriaaleina niiden osteokonduktiivisten ominaisuuksien vuoksi²⁷. Kalsiumfosfaattipohjaisilla keraameilla on erinomainen biohyteensopivuus luukudoksen kanssa. Ne ovat myös bioaktiivisia, mikä tarkoittaa sitä, että ne voivat vaikuttaa biologisiin prosesseihin²⁸. Etenkin BMP:n vapauttamista keraameista on tutkittu, ja varsinkin injektoitavilla materiaaleilla odotetaan olevan laajasti käyttökohteita vähäistä invaasiota vaativissa operaatioissa²⁸. Usein keraami yhdistetään johonkin polymeeriin, jotta kasvutekijä voidaan sitoa ja vapauttaa materiaalista tehokkaasti.

6 Kliiniset sovellukset

Joitakin biomateriaalien ja kasvutekijöiden yhdistelmiä on kliinisessä käytössä. Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) on hyväksynyt tiettyjen kasvutekijöiden ja bioaktiivisten molekyylien käytön luun uusiutumista edistävissä hoitomuodoissa, joista BMP-2 ja PDGF ovat edelleen käytössä, mutta aiemmin hyväksytty BMP-7 on sittemmin vedetty pois markkinoilta.²⁴

Useissa prekliinisissä ja kliinisissä tutkimuksissa on havaittu ihmisen rekombinantin luun morfogeneettisen proteiinin 2 (rhBMP-2) lisäävän luun muodostumista, etenkin koeasetelmissa,

joissa kasvutekijä on yhdistetty johonkin biomateriaaliin, kuten kollageenisieniin²⁹⁻³¹. Jäniksillä tehdyissä tutkimuksissa havaittiin, että rhBMP-2 tuottaa uutta luuta tehokkaammin, kun se on yhdistetty absorboivaan kollageenisieniin (ACS)³¹.

Yksi ensimmäisistä kasvutekijän ja biomateriaalin yhdistävistä kliinisistä sovelluksista olikin rhBMP-2:n ja ACS:n muodostama kokonaisuus²⁹. Sen käyttö hyväksyttiin kauppanimellä INFUSE® Bone Graft (Medtronic Spinal and Biologics, Memphis, TN) ensin vuonna 2002 käytettäväksi selkärangan luudutusleikkauksissa ja kaksi vuotta myöhemmin sääriluun avomurtumien hoitoon³². Vuonna 2007 INFUSE® Bone Graft hyväksyttiin autogeenisen luusiirteen korvaajaksi poskiontelon augmentaatioihin ja hampaanpoiston yhteydessä syntyneiden luupuutteiden hoitoon³².

Vaikka INFUSE® Bone Graft on laajasti tutkittu ja FDA:n hyväksymä useaan käyttötarkoitukseen³², sen käyttö ei ole täysin ongelmaton. BMP-2:n on havaittu aiheuttavan inflammatorisia komplikaatioita, kuten pehmytkudoksen turvotusta ja ektooppisen luun muodostusta²⁴. Tutkimuksissa on osoitettu, että rhBMP-2:n konsentraatiolla on merkitystä ektooppisen luun muodostumiseen, eikä sitä esiinny konsentraation ollessa riittävän matala³³. Joissain tutkimuksissa on selvitetty myös rhBMP-2:n mahdollista karsinogeenisyyttä, mutta tilastollisesti merkittäviä tuloksia kasvutekijän aiheuttamasta syöpäriskistä ei ole saatu^{20,26}.

Toinen edelleen kliinisessä käytössä oleva kasvutekijäpohjainen biomateriaali on ihmisen rekombinantin PDGF-BB:n (rhPDGF-BB) ja trikalsiumfosfaatin yhdistelmä, jonka oletettiin olevan yhtä turvallinen ja tehokas kuin autografitiluusiirre²⁴. FDA hyväksyi yhdistelmän käytön kauppanimellä Augment® Bone Graft (Augment, Biomimetic Therapeutics, Inc., Franklin, TN) vuonna 2015 nilkan jäykistysleikkauksissa käytettäväksi²⁴. Odotusten mukaisesti materiaali toimi yhtä hyvin ja sen käytössä potilailla ilmeni vähemmän sivuvaikutuksia verrattuna autografitiluusiirteeseen²⁴.

RhPDGF-BB:n ja trikalsiumfosfaatin yhdistelmää käytetään myös kauppanimellä GEM 21S® (Luitpold Pharmaceuticals) esiintyvässä valmisteessa. GEM 21S® on FDA:n vuonna 2005 hyväksymä valmiste parodontiitin aiheuttamien leukaluun ja hammasjuurien haarautumiskohtien vaurioiden hoitoon²⁴. Käyttötarkoituksen lisäksi valmisteet eroavat käytetyn trikalsiumfosfaattipartikkeleiden koossa, GEM 21S®-valmisteessa niiden ollessa pienempiä verrattuna Augment® Bone Graft:iin. GEM 21S® ja Augment® Bone Graft on kuitenkin todettu

toiminnaltaan ja teholtaan samanarvoisiksi tuotteiksi, vaikka niiden trikalsiumfosfaattipartikkelit ovat eri suuruusluokkaa ³⁴.

Prekliinisissä tutkimuksissa on havaittu, että vaikka kummallakin kaupallisella PDGF-BB-trikalsiumfosfaatti -valmisteella oli potentiaali muodostaa uutta luuta, muodostuva luun määrä on rajallinen ja kasvutekijä vapautuu trikalsiumfosfaatista nopeasti ³⁴. Kliinisissä tutkimuksissa PDGF-BB:n ja trikalsiumfosfaatin yhdistelmän on osoitettu aikaansaavan lähes yhtä nopean fuusion ja tuottavan vähemmän kipua sekä muita haittavaikutuksia verrattuna autograftisiirteen saaneisiin potilaisiin ^{24,35}.

Kasvutekijäpohjaisten biomateriaalien kliinistä käyttöä rajoittaa vakavien haittavaikutusten lisäksi korkea hinta ja rajattu saatavuus potilaille. Monissa tapauksissa materiaalien keskimääräinen hinta on sadoista tuhansiin dollareihin, mikä rajoittaa tuotteiden laajempaa saatavuutta potilaille ²⁴. GEM 21S[®] ja INFUSE[®] Bone Graft ovat laajassa käytössä lähinnä Yhdysvalloissa, vaikka niillä on myyntiluvat myös Euroopassa ^{36,37}.

7 Johtopäätökset

Tämän tutkielman tarkoituksena oli tarkastella luussa käytettävien biomateriaalien ja luussa toimivien kasvutekijöiden ominaisuuksia, toimintaa ja yhdistämistä kliiniseksi kudosteknologiseksi hoitomenetelmiksi. Luun tärkeimpiä kasvutekijöitä ovat insuliininkaltaiset kasvutekijät (IGF), fibroblastikasvutekijät (FGF), transformoiva kasvutekijä beeta (TGF- β), verihitulekasvutekijä (PDGF) ja luun morfogeneettiset proteiinit (BMP). Näiden kasvutekijöiden rooli luun uusiutumisessa perustuu niiden kykyyn muuttaa solujen toimintaa, esimerkiksi aiheuttamalla solun jakautuminen, erilaistuminen tai apoptoosi.

Tutkielmassa perehdyttiin luussa käytettäviin biomateriaaleihin, niiden ominaisuuksiin ja käytön haasteisiin. Erilaisia perinteisiä ja moderneja biomateriaaleja on käytössä, mutta niiden ominaisuudet eivät vielä vastaa täydellisesti luussa käytettävän materiaalin tarpeita. Olemassa olevien materiaalien puutteiden vuoksi onkin tärkeää pyrkiä kehittämään uudenlaisia materiaaleja, joilla olisi luun uusiutumista lisääviä vaikutuksia. Näitä voidaan kehittää luun kudosteknologialla yhdistämällä biomateriaaleja joihinkin biologisiin tekijöihin, kuten kasvutekijöihin.

Tutkielmassa tarkasteltiin merkittävimpiä haasteita kasvutekijäpohjaisten biomateriaalien käytössä ja kehityksessä, kuten vasteen oikeanlaista kohdennusta ja kasvutekijöiden vapautusta kantajamateriaalista. Erilaisten kantajamateriaalien ominaisuudet ja kasvutekijöiden kuljetusmenetelmät tulee ottaa huomioon uutta kasvutekijäpohjaista biomateriaalia kehitettäessä, jotta kasvutekijän vapautumista ja vaikutuksia voidaan hallita.

Lopuksi tutkielmassa käytiin läpi hoitomenetelmiä, joissa käytetään kasvutekijäpohjaisia biomateriaaleja. Vaikka tämän tyyppisiä materiaaleja on jo kliinisessä käytössä, niiden käyttöön liittyy jonkin verran ongelmia. Kasvutekijöiden liian nopea vapautus ja kliiniset haittavaikutukset, kuten ektooppinen luunmuodostus, turvotus ja kipu, ovat edelleen ratkaisemattomia ongelmia. Näiden ongelmien ratkaiseminen edellyttää lisätutkimusta materiaalien ja kasvutekijöiden yhdistämisestä, jotta voidaan kehittää bioyhteensopivuudeltaan parempia kasvutekijäpohjaisia biomateriaaleja.

Lähteet

1. Rothe R, Hauser S, Neuber C, et al. Adjuvant Drug-Assisted Bone Healing: Advances and Challenges in Drug Delivery Approaches. *Pharmaceutics*. 2020;12(5):428. doi:10.3390/pharmaceutics12050428
2. Bone, muscle, skin and connective tissue - Medical Sciences - ClinicalKey Student. Accessed March 20, 2025. <https://www.clinicalkey.com/student/content/book/3-s2.0-B9780702082399000182#hl0001899>
3. Abraham L Kierszenbaum, Laura L Tres. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. Vol 2020. 5th ed. Elsevier Inc
4. Tortora GJ, Derrickson B. *Principles of Anatomy & Physiology*. 14th edition. Wiley; 2014.
5. Toosi S, Behravan J. Osteogenesis and bone remodeling: A focus on growth factors and bioactive peptides. *BioFactors*. 2020;46(3):326-340. doi:10.1002/biof.1598
6. Skeletal tissues - Wheater's Functional Histology - ClinicalKey Student. Accessed March 24, 2025. <https://www.clinicalkey.com/student/content/book/3-s2.0-B9780702083341000104#hl0001011>
7. Zylberberg L. New data on bone matrix and its proteins. *Comptes Rendus Palevol*. 2004;3(6):591-604. doi:10.1016/j.crpv.2004.07.012
8. Trippel SB, Coutts RD, Einhorn TA, Mundy GR, Rosenfeld RG. Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons - Growth Factors as Therapeutic Agents*†. *JBJS*. 1996;78(8):1272.
9. Solheim E. Growth factors in bone. *Int Orthop*. 1998;22(6):410-416. doi:10.1007/s002640050290
10. Stone WL, Leavitt L, Varacallo MA. Physiology, Growth Factor. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2025. Accessed May 6, 2025. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442024/>
11. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. GROWTH FACTORS FOR BONE GROWTH AND REPAIR: IGF, TGFP AND BMP'. 19(1).
12. Wozney JM, Rosen V, Byrne M, Celeste AJ, Moutsatsos I, Wang EA. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci*. 1990;1990(Supplement_13):149-156. doi:10.1242/jcs.1990.Supplement_13.14
13. Wu M, Wu S, Chen W, Li YP. The roles and regulatory mechanisms of TGF- β and BMP signaling in bone and cartilage development, homeostasis and disease. *Cell Res*. 2024;34(2):101-123. doi:10.1038/s41422-023-00918-9
14. Growth Factor Regulation of Fracture Repair. doi:10.1359/jbmr.1999.14.11.1805
15. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev*. 2008;22(10):1276-1312. doi:10.1101/gad.1653708
16. Maes C, Clemens TL. Angiogenic–osteogenic coupling: the endothelial perspective. *BoneKEy Rep*. 2014;3. doi:10.1038/bonekey.2014.73
17. Jeroen Rouwkema, Khademhosseini A. Vascularization and Angiogenesis in Tissue Engineering: Beyond Creating Static Networks. *Trends Biotechnol*. 2016;34(9):733-745. doi:10.1016/j.tibtech.2016.03.002

18. Zhang K, Ma B, Hu K, et al. Evidence-based biomaterials research. *Bioact Mater.* 2022;15:495-503. doi:10.1016/j.bioactmat.2022.04.014
19. Tang G, Liu Z, Liu Y, et al. Recent Trends in the Development of Bone Regenerative Biomaterials. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9. doi:10.3389/fcell.2021.665813
20. Chen R, Wang J, Liu C. Biomaterials Act as Enhancers of Growth Factors in Bone Regeneration. *Adv Funct Mater.* 2016;26(48):8810-8823. doi:10.1002/adfm.201603197
21. Dec P, Modrzejewski A, Pawlik A. Existing and Novel Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2022;24(1):529. doi:10.3390/ijms24010529
22. Ishikawa K, Miyamoto Y, Tsuchiya A, Hayashi K, Tsuru K, Ohe G. Physical and Histological Comparison of Hydroxyapatite, Carbonate Apatite, and β -Tricalcium Phosphate Bone Substitutes. *Mater Basel Switz.* 2018;11(10):1993. doi:10.3390/ma11101993
23. Jaquinta MR, Mazzoni E, Manfrini M, et al. Innovative Biomaterials for Bone Regrowth. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3). doi:10.3390/ijms20030618
24. Gillman CE, Jayasuriya AC. FDA-approved bone grafts and bone graft substitute devices in bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;130:112466. doi:10.1016/j.msec.2021.112466
25. Nyberg E, Holmes C, Witham T, Grayson WL. Growth factor-eluting technologies for bone tissue engineering. *Drug Deliv Transl Res.* 2016;6(2):184-194. doi:10.1007/s13346-015-0233-3
26. Kowalczewski CJ, Saul JM. Biomaterials for the Delivery of Growth Factors and Other Therapeutic Agents in Tissue Engineering Approaches to Bone Regeneration. *Front Pharmacol.* 2018;9:513. doi:10.3389/fphar.2018.00513
27. De Witte TM, Fratila-Apachitei LE, Zadpoor AA, Peppas NA. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. *Regen Biomater.* 2018;5(4):197-211. doi:10.1093/rb/rby013
28. Sun H, Yang HL. Calcium Phosphate Scaffolds Combined with Bone Morphogenetic Proteins or Mesenchymal Stem Cells in Bone Tissue Engineering. *Chin Med J (Engl).* 2015;128(8):1121-1127. doi:10.4103/0366-6999.155121
29. Visser R, Arrabal PM, Becerra J, Rinas U, Cifuentes M. The effect of an rhBMP-2 absorbable collagen sponge-targeted system on bone formation in vivo. *Biomaterials.* 2009;30(11):2032-2037. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.046
30. Oh JS, Kim SG. Collagen sponge and rhBMP-2 improve socket healing in rats treated with zoledronic acid. *Braz Oral Res.* 2017;31:e99. doi:https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2017.vol31.0099
31. Baek WS, Yoon SR, Lim HC, Lee JS, Choi SH, Jung UW. Bone formation around rhBMP-2-coated implants in rabbit sinuses with or without absorbable collagen sponge grafting. *J Periodontal Implant Sci.* 2015;45(6):238-246. doi:10.5051/jpis.2015.45.6.238
32. McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE® Bone Graft). *Int Orthop.* 2007;31(6):729-734. doi:10.1007/s00264-007-0418-6
33. Alruwaili MK, Sugaya T, Morimoto Y, Nakanishi K, Akasaka T, Yoshida Y. Can a low dosage of recombinant human bone morphogenetic protein-2 loaded on collagen sponge induce ectopic bone? *Dent Mater J.* 2023;42(3):433-440. doi:10.4012/dmj.2022-229

34. Young CS, Ladd PA, Browning CF, et al. Release, biological potency, and biochemical integrity of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) combined with Augment™ Bone Graft or *GEM 21S* beta-tricalcium phosphate (β -TCP). *J Controlled Release*. 2009;140(3):250-255. doi:10.1016/j.jconrel.2009.06.030
35. DiGiovanni CW, Lin SS, Baumhauer JF, et al. Recombinant human platelet-derived growth factor-BB and beta-tricalcium phosphate (rhPDGF-BB/ β -TCP): an alternative to autogenous bone graft. *J Bone Joint Surg Am*. 2013;95(13):1184-1192. doi:10.2106/JBJS.K.01422
36. Inductos | European Medicines Agency (EMA). August 17, 2018. Accessed May 15, 2025. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/inductos>
37. BioMimetic Therapeutics Announces Approval to Market GEM 21S® in the European Union | Fierce Pharma. January 3, 2012. Accessed May 15, 2025. <https://www.fiercepharma.com/pharma/biomimetic-therapeutics-announces-approval-to-market-gem-21s%C2%AE-european-union>