

Çapraz Bağlayıcı ve Büyüme Faktörü Emdirilen Hidrojel Sistemlerinden Kontrollü İlaç Salımı: Sistemik İnceleme

Alper Gökçe*, İbrahim Yılmaz**, Murat Tonbul*, Nevzat Selim Gökay*, Rifat Bircan***, Çiğdem Gökçe****

*Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, **Sağlık Bakanlığı, Tekirdağ Devlet Hastanesi, ***Namık Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ****Sağlık Bakanlığı, Sağlık Grup Başkanlığı

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, dünya genelinde son 31 yılda yapılan çalışmalar içerisinde, kontrollü ilaç taşıma sistemi olan ve çapraz bağlayıcı ilavesi ile biyodegradasyona uğratılmış büyüme faktörü emdirilen hidrojelin, kırıkta dejenerasyonunun tedavisindeki yeri sistemik olarak incelenerek konu hakkında daha büyük bir fotoğrafı görebilmek amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, elektronik veritabanlarında dil kısıtlaması olmadan, The Cochrane Collaboration The Cochrane, The Cochrane Library (Issue 2 of 12, Feb. 2011), Ovid MEDLINE (1950 to 5th March Week 1 2011), ProQuest, US National Library of Medicine National Institutes of Health (NLM) ve PubMed, Elektronik ortamda veritabanlarında literatür taraması yapılarak, Mayıs 1970 ile 5 Mart 2011 tarihleri arasında "kırıkta", "kontrollü salım", "çapraz bağlayıcı", "büyüme faktörü" ve "hidrojel" üzerine yapılmış ve basılı olan deneysel çalışmalar "VE", "VEYA" şeklinde tarandı. Elde edilen makaleler arasında, inceleme kriterlerini karşılayan dört adet makale çalışmaya dahil edildi. P değeri <0.05 heterojenite açısından istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuç: İlk tarama sonrasında ortaya konan 957.829 adet makaleden 88 adet makale tam olarak incelendi. Kontrollü ilaç taşıma sistemi olan hidrojelin çapraz bağlayıcı ile biyodegradasyon süresi uzatıldığında ve içerisine büyüme faktörleri emdirildiğinde, kırıkta dejenerasyonuna etkilerinin yeri üzerine literatür içerisinde dört tanesi kriterlerimizi karşıladı. İstatistiksel değerlendirme amacıyla yapılan heterojenite testi sonucu, null hipotezi reddedildi (p=0.75).

Bulgular: Çapraz bağlayıcı ilavesi ile biyodegradasyon süresi uzatılan ve içerisine büyüme faktörü emdirilmiş kontrollü ilaç taşıma sistemi olan hidrojelin, kırıkta hasarı tedavisindeki yeri hakkında yeterli bir kanıt bulunamamıştır. Klinik kullanımına ilişkin yorum yapabilmek amacıyla in-vivo, daha uzun dönem fonksiyonel sonuçlar veren, randomize kontrollü çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: büyüme faktörü, çapraz bağlayıcı, hidrojel, kırıkta, kontrollü salım

Alındığı Tarih: 28.05.2011

Kabul Tarihi: 13.12.2011

Yazışma adresi: Doç. Dr. Alper Gökçe, Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Tunca Caddesi, 59100, Tekirdağ

e-posta: a.gokce@yahoo.com

SUMMARY

Controlled Release From a Crosslinker and Growth Factor Embedded Hydrogel Systems: A Systematic Review

Objectives: We aimed to scan the literature-including growth factors seeded within the scaffold as the signaling- in order to find out high-quality evidence of combination treatments of chondrocytes, produced from chondrocyte tissue cultures, so as to discuss and determine the homogeneity/heterogeneity rates.

Materials and Methods: Without language restriction in this paper, the electronic databases; The Cochrane Collaboration The Cochrane, The Cochrane Library (Issue 2 of 12, Feb. 2011), Ovid MEDLINE (1950 to 5th March Week 1 2011), ProQuest, US National Library of Medicine National Institutes of Health (NLM) and PubMed dating from May 1970 to 5th March 2011, were searched for comparative experimental studies using the terms: "OR", "AND". On-line literature searches were conducted using the key words "cartilage", "controlled release", "cross linking", "growth factor" and "hydrogel", in combinations. Eligible trials were entered into Review Manager software. Heterogeneity was considered significant for comparisons with a P-value of less than 0.05.

Result: The primary search generated 957829 potentially relevant articles. Four experimental studies, which were conducted in various countries, that met our criterias and measure the effectiveness of cartilage degeneration while the biodegradation duration is lengthened by cross linkers and embedding GFs into the hydrogel, were included to this review. Heterogeneity test showed P=0.75, so the null hypothesis that all the studies were homogeneous was not rejected.

Conclusion: There is insufficient evidence to make conclusions about the treatment of cartilage damage by means of hydrogel, in which GFs are embedded so as to form a controlled drug delivery system, and of which cross linkers are added to extend the period of biodegradation. However, sound conclusions can only be acquired by stringently and scientifically designed, large, multicentre and clinical future trials.

Key words: cartilage, controlled release, crosslinking, growth factor, hydrogel

GİRİŞ

Dejeneratif eklem hasarı olan hastalarda zamanla kaybolan kıkırdak dokunun yerinde biyolojik tamir mekanizmalarını harekete geçirmek veya biyolojik bir doku ile defektif alanı onarmak, son yıllarda giderek artan sayıda üzerinde durulan bir araştırma konusudur ⁽¹⁾. Kondrosit hücrelerinin kültür ortamında üretilerek serbest halde doğrudan hastaya aktarılması ile başlanan tedavi süreçlerinde gelişmeler kaydedilmiştir ⁽²⁻⁶⁾. Çatı ağları gibi hücrelerin yuvalanabileceği destek biyomateryalleri ve hücre büyümesinin lokal etkili büyüme hormonları ile sinyallenmesine olanak tanıyan kontrollü salım teknolojileri gözlenen diğer gelişmeler arasındadır ^(7,8). Bu yeniliklerin bir arada kullanılması ile başarılı sonuçların elde edildiği çalışmalar mevcuttur ⁽⁹⁾. Bu çalışmaların kanıt değeri, kullanılabilirliği, birbirilerine görece üstünlükleri ve karşılaştırmaları konusunda literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır. Gerek invitro ve gerekse invivo çalışmalarda kullanılan biyomalzeme içeriği, hücre adedi, sinyalleme miktarı, kombinasyonu, salım zamanlaması konusunda da çok çeşitli deney düzenekleri ile çalışılmıştır ⁽²⁻¹⁴⁾.

Bu biyomalzemelerden biri olan hidrojellerin, çeşitli büyüme faktörleri ile zenginleştirilmiş ilaç ve hücre taşıyan çatı ağları ve cerrahi olarak uygulanabilecek şekilde tasarlanarak kullanıldığı bildirilmektedir. Bu konuda elde edilmiş in-vitro sonuçları tasnif etmek ve in vivo çalışmalarla desteklendiğinin sistematik olarak analizini çıkarmak, bu tip tedavilerde algoritmaların şekillenmesinde yardımcı olabilecektir.

Bu çalışmada, spesifik büyüme faktörleri veya kombinasyonları ile sinyallenerek üretilen kıkırdak hücreleri ve bunlarla oluşturulan dokuların yerleştirileceği çatı ağları ile yapılan çalışmalar ele alınmıştır. İçlerinden kanıt değeri yüksek olanlar ortaya konarak homojenite ve heterojiniteleri temelinde tartışılmış ve tedavi etkinlikleri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Arama stratejisi:

Ülke kısıtlaması olmaksızın The Cochrane Collaboration The Cochrane, The Cochrane Library (Issue 2 of 12, Feb. 2011), Ovid MEDLINE (1950 to 5th March Week 1 2011), ProQuest, US National Library of Medicine National Institutes of Health (NLM) ve PubMed elektronik veritabanlarındaki deneysel çalışmalar Mayıs 1970 - 5 Mart 2011 tarih aralığında "VE", "VEYA" terimleri kullanılarak tarandı. Tek tek ya da kombine halde "Kıkırdak", "kontrollü salım", "çapraz bağlama", "büyüme faktörleri" ve "hidrojel" anahtar kelimeleri kullanıldı.

Tüm çalışmalar arasından kanıt değeri yüksek olanlar seçildi. Çalışmaların kanıt düzeylerinin belirlenmesi için Lijmer ve ark.'nın çalışmasından yararlanıldı ⁽¹⁵⁾. Veri tabanı araştırması sırasında gözden kaçırıldığı düşünülen tüm bibliyografiler tekrar gözden geçirildi. Ayrıca referans listeleri de uygun makalelerin bulunabilmesi açısından yine değerlendirildi. An-

Tablo 1. Çalışmaların tam metin inceleme sonrasında yıllara göre dağılımı.

Makaleler (Yayın yılı)	Dağılım (yıl)	Makale sayısı
1970 ⁽¹⁶⁾ 1977 ⁽¹⁰⁰⁾	1970-1980	2
1987 ⁽¹⁷⁾ 1988 ⁽¹⁸⁾ 1990 ^(19,20)	1981-1990	4
1991 ^(21,22,23) 1992 ⁽²⁴⁾ 1993 ^(25,26,27,28) 1994 ⁽²⁹⁾ 1995 ⁽³⁰⁾ 1996 ^(31,32,33,34,35,36) 1997 ^(37,38,39,40,41) 1998 ^(42,43,44,45,46,47) 1999 ^(48,49) 2000 ^(50,51,52,53,54,55,56,57,58)	1991-2000	38
2001 ^(9,59,60,61,62,63) 2002 ^(64,65,66,67,68,69) 2003 ^(70,71,72,73,74,75,76) 2004 ^(77,78,79) 2005 ^(80,81,82,83,84) 2006 ^(85,86,87,88,89,99) 2007 ^(4,90,91,92,93,94) 2008 ⁽⁹⁵⁾ 2009 ⁽⁹⁶⁾ 2010 ^(97,98) 2011 ⁽⁻⁾	2001-2011	43

cak, basılmamış çalışmalar değerlendirmeye dahil edilmedi. Yorumlar, mektuplar, editör yazıları, protokoller, kılavuzlar, meta analizler ve derleme yazıları da çalışma dışı bırakıldı. Sıkça atıf alan yazılar belirlendi. Bu yazıların referans ve atıfları incelenerek olası tekrarlardan kaçınılmaya çalışıldı. Çalışmaların tam metin inceleme sonrasında yıllara göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Anahtar sözcüklerimizi kapsayan dört adet yazı bu sistematik incelemeye dahil edilmiştir.

Seçim kriterleri:

Çalışmalar aşağıdaki kriterlere göre belirlendi;

1. Büyüme faktörlerinin tek ya da kombine halde ilaç taşıma sistemi olan hidrojele yüklenmiş olup olmadığı,
2. Hidrojel yapım aşamasında çapraz bağlayıcı kullanılıp kullanılmadığı ve cinsi,
3. Salım süresi,
4. Hidrojelin büyüme faktör ya da faktörlerini ortama kontrollü olarak salım yapıp yapmadığı.

Bu kriterlerin tümüne birden uymayan yayınlar çalışma dışı bırakıldı.

Veri toplama ve değerlendirilmesi:

Yazarlar dahil edilen çalışmalarını bağımsız olarak seçmişlerdir. Potansiyel maskeleyen nedeniyle doğabilecek seçim yanlılığı riski ayrıca araştırılmıştır. Doğruluğun sağlanması amacıyla üç yazar tarafından (İY, ÇG, MT) tüm çalışmalar incelenmiştir. Üç yazar arasında anlaşmazlık olduğu durumlarda, ortak bir fikir birliğine ulaşmak için tüm yazarlara danışılarak konu tekrar ele alınarak uzlaşma sağlanmıştır.

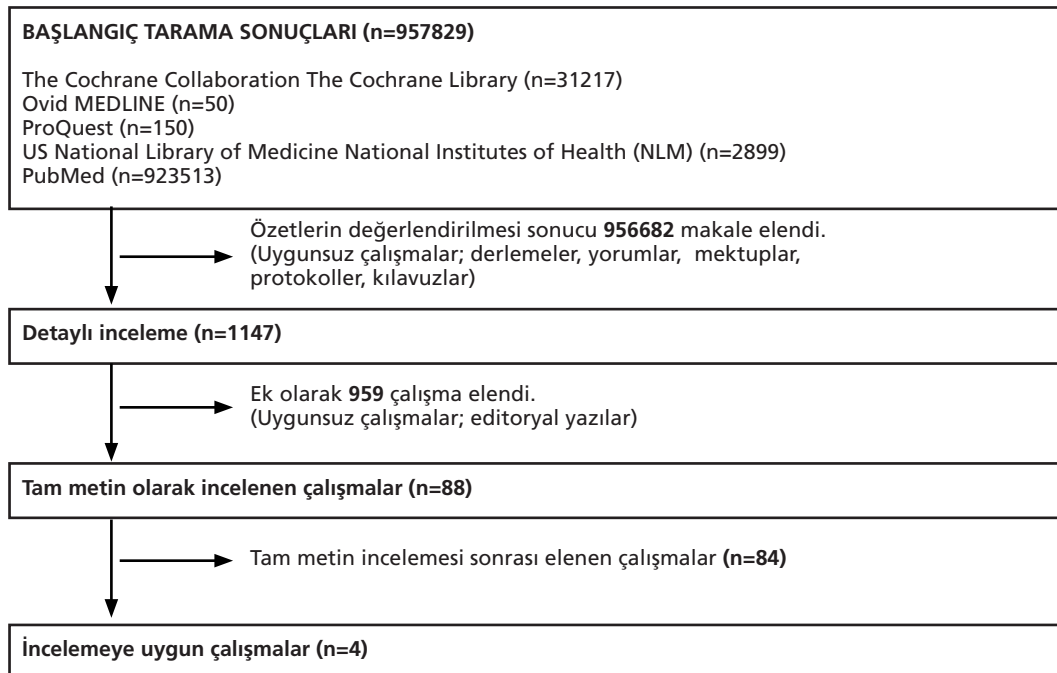
İstatistiksel değerlendirme:

Uygun çalışmalar, Review Manager Software (Version 4.2 for Windows XP, Copenhagen: the Nordic Cochrane Centre, the Cochrane Collaboration, 2003) programına yüklendi. Heterojenite testi Cochrane Q testi ile ölçüldü ve istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri alındı.

BULGULAR

Tarama sonuçları

Gerçekleştirilen ilk taramada 957829 çalışma potansiyel olarak ilişkili bulunmuş olup, bun-



Şekil 1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri ve sistematik inceleme dışında kalanlar.

lar arasından yalnızca dört tanesi arama kısıtlarımızın tümüne birden uyumluluk göstermiştir. Tarama süreci Şekil 1'de özetlenmiştir.

Sonuçta bu derlemeyi, hidrojel içine yerleştirilip çapraz bağlayıcılarla salım süreleri uzatılmış büyüme faktörlerinin kıkırdak dejenerasyonu üzerine etkilerini araştıran dört adet makale üzerinden kurguladık ^(60,84,85,98). Bu çalışmalardan üçü ABD'de ^(60,84,85), bir tanesi de Kore'de ⁽⁹⁸⁾ yürütülmüştür (Tablo 2).

İncelemeye dahil edilen çalışmaların sonuçları kanıt düzeyleri II olan dört adet makale bu çalışmaya dâhil edilmiştir ^(60,84,85,98).

Büyüme Faktörleri

Elisseeff J ve ark. ⁽⁶⁰⁾ ve Holland TA ve ark. ⁽⁸⁴⁾ IGF-I ve TGF-B1, DeFail AJ ve ark. ⁽⁸⁵⁾ TGF-B1 ve Lim SM ve ark. ⁽⁹⁸⁾ BMP-7 ve TGF-B2'yi büyüme faktörleri olarak kullanmıştır.

Çapraz bağlayıcı Ajan

Elisseeff J ve ark. ⁽⁶⁰⁾, Holland TA ve ark. ⁽⁸⁴⁾, DeFail AJ ve ark. ⁽⁸⁵⁾ ve Lim SM ve ark. ⁽⁹⁸⁾ çapraz bağlayıcı ajan olarak sırasıyla, foto-çapraz bağlayıcı, N',N'- metilenbisakrilamid, genipin ve sodyum aljinatı kullanmıştır.

Salım süresi

3.2.4. Salım süresi

Elisseeff J ve ark. ⁽⁶⁰⁾, Holland TA ve ark. ⁽⁸⁴⁾, De-

Fail AJ ve ark. ⁽⁸⁵⁾ ve Lim SM ve ark. ⁽⁹⁸⁾ büyüme faktörlerinin salım sürelerini 15, 28, 21 ve 21. günlerde ölçmüştür.

3.2.5. Büyüme faktörlerinin salım miktarları

Elisseeff J ve ark. salım oranlarını, IGF100 için % 5.5, IGF200 için % 6.25 ve TGF100 için % 0.2 olarak bildirmiştir ⁽⁶⁰⁾.

Holland TA ve ark. IGF-I'in salım oranını %95.2±2.9 olarak rapor etmiştir. TGF-B1'in ise yalnızca ilk salım oranlarını bildirmiştir. TGF-B1'in jelatin mikropartiküllerine yüklenmesi sonrası ilk salım oranı % 10.8±0.7 iken, OPF hidrojel fazında bu oran % 25.2±1.5 olarak bildirilmiştir ⁽⁸⁴⁾.

DeFail AJ ve ark. genipinin TGF-B1'in ilk salımını 17. güne kadar uzattığını ve bu oranının % 72.7±11.7 olduğunu bildirmiştir. Ayrıca mikropartiküllerin bu oranı ilk 1 günde oldukça yüksek oranlara ulaştırdıkları vurgulanmıştır (% 69.01±29.25). Yüksek çapraz bağlı jelatin mikropartiküllerini çevreleyen hidrojel-lerde bu salım oranının 28. günde bile % 100 oranına ulaşamadığı rapor edilmiştir ⁽⁸⁵⁾.

Lim SM ve ark. BMP-7 ve TGF-B2 yüklü nanopartikül/hidrojel sistemlerinde her iki büyüme faktörünün, 21 günlük inkübasyon periyodu sonunda, BMP-7'nin hızlı ve TGF-B2'nin yavaş olacak şekilde, sırasıyla % 80 ve % 30 oranlarında kontrollü olarak salındığını bildirmiş ve özelliklerinin mezenkimal kök hücrelerin diferansiyasyonu için elzem olduğunu vurgu-

Tablo 2. Çapraz bağlayıcılarla salım süreleri uzatılmış büyüme faktörlerini içeren ilaç taşıyıcı sistemlerinin, kıkırdak dejenerasyonu üzerine etkilerini araştıran dört adet makale.

Yazarlar	Çalışma Başlığı	Yıl	Çalışma sayısı
Elisseeff J, McIntosh W, Fu K, Blunk BT, Langer R ⁽⁶⁰⁾	Controlled-release of IGF-I and TGF-beta1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering	2001	
Holland TA, Tabata Y, Mikos AG ⁽⁸⁴⁾	Dual growth factor delivery from degradable oligo (poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering	2005	4
DeFail AJ, Chu CR, Izzo N, Marra KG ⁽⁸⁵⁾	Controlled release of bioactive TGF-beta 1 from microspheres embedded within biodegradable hydrogels	2006	
Lim SM, Oh SH, Lee HH, Yuk SH, Im GI, Lee JH ⁽⁹⁸⁾	Dual growth factor-releasing nanoparticle/hydrogel system for cartilage tissue engineering	2010	

lamışlardır. Büyüme faktörü yüklü nanopar-tikülsüz hidrojel sisteminden salım hızının ve oranının ise, 21. gün sonunda BMP-7 için % 36 ve TGF-B2 için % 16 olacak şekilde daha yavaş ve az olduğunu da bildirmişlerdir ⁽⁹⁸⁾.

3.1. İstatistik değerlendirme

Çalışmanın heterojenitesi Cochran Q testi ile değerlendirildi ve homojen olduğu sonucuna ulaşıldı (p=0.75).

TARTIŞMA

Eklem kıkırdak harabiyeti sırasıyla, saçaklanma, çatlak ve ülserlerin olduğu ve sonuçta kıkırdak kalınlığında azalma ile sonuçlanan bir süreçtir ⁽¹⁰¹⁾. Eklem kıkırdağının sınırlı iyileşme yeteneği hastalığın tedavisindeki en önemli engeldir ⁽¹⁰¹⁾. Hücre ağının üç boyutlu proteoglikan yapısı, yük taşıma, yük paylaşma ve yüklerin emilimi açısından çok önemlidir ^(2,3). İrigasyon, debridman, aşındırma artroplastisi, subkondral delme ya da mikro kırık gibi yöntemler, tip II kollajenden oluşan ve çok özelleşmiş bir yapı olan hiyalin kıkırdak yerine fibröz kıkırdak oluşumu ile sonuçlanmaktadır ⁽²⁻⁴⁾.

Hasarlı alanlarda hiyalin kıkırdaktan oluşan tamir dokusunun elde edilmesine yönelik çeşitli biyomateryallerin kullanıldığı birçok çalışma yayınlanmıştır ⁽²⁻⁶⁾. Kısa yarı ömürlü büyüme faktörlerinin kontrollü olarak salındığı ve tedavi süresince, polimerler gibi yapay ağların biyoaktif özelliklerinin yitirilmediği kontrollü salım sistemleri üzerinde hassasiyetle durulmaktadır ⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Son zamanlarda, biyomedikal uygulamalar ve dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi alanında önemli gelişmeler elde edilmiştir ⁽⁹⁾. Sentetik (organik kimyasal) ve biyolojik polimerler tarafından aktive edilebilen ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilmiştir ⁽⁹⁾. Tedavi edici ürünlerin kontrollü salımını sağlamak için iki veya daha fazla büyüme faktörünün kontrollü salımını sağlayan yeni bir polimerik sistem bildirilmiştir ⁽⁹⁾. Kondrosit fenotiplerinin korunması ve uzun ömürlü örneklerin elde edilebilmesi

amacıyla, skafoldların aktif olarak kullanılması ve sistemlerin kombine edilmesi gerektiği ileri sürülmüştür ⁽⁷⁰⁾. Biyolojik ve sentetik polimerlerden oluşan, kıkırdak doku onarımı sırasında in vitro ve in vivo olarak kullanılabilen kolajen bazlı süngerler ve hidrojeller ^(37,64), fibrin ⁽⁵⁹⁾, aljinat ⁽⁷¹⁾, hiyaluronik asit ⁽⁴⁵⁾, poli (glikolit) ⁽²⁷⁾, poli (laktik asit-ko-glikolit) ⁽³²⁾ ve hidrojel peptid ⁽⁶⁵⁾ tabanlı sistemler gibi birçok skafold üzerinde çalışılmıştır.

Seçim kriterlerimizin tümünü içeren ve derlememize temel teşkil eden dört adet çalışma ayrıntılarıyla ele alınacaktır;

DeFai AJ ve ark., transforme edici büyüme faktörü beta-1'in (TGF-β1) kıkırdak rejenerasyonu üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu vurgulamıştır. Hidrojellerini poli (etilen glikol) ile oluşturmuşlar ve parçalanmasını "genipin" isimli toksik olmayan çapraz bağlayıcı ile kontrol etmişlerdir. Hidrojelden salım oranının mikrokürelerden salıma oranla daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. TGF-β1 sistemden 21 gün boyunca salınmıştır. TGF-β1 konsantrasyonunu hidrojel gömülü mikrokürelerce ve genipin tarafından kontrol edilmiştir ⁽⁸⁵⁾.

Elisseeff J ve ark., içinde büyüme faktörlerinin (TGF-β1 ve IGF-I) bulunduğu Polietilenglikol (PEG) hidrojelinin fotoçapraz bağlamıştır. Sığır ekleminden aldıkları kondrositleri 2 hafta boyunca inkübe etmişlerdir. Başarılı bir tamir süreci için büyüme faktörlerinin hidrojelden kontrollü bir şekilde salınması gerektiğini belirtmişlerdir. IGF-I/TGF-β1 mikroküreleri içindeki toplam kolajen yoğunluğu, inkübasyondan 15 gün sonra azalmış, ancak diğer gruplarda değişiklik saptanmamıştır. Fotoçapraz bağlamanın rejenerasyonu 10 kat arttırdığını belirtmişlerdir. Hücrelerin çevrenmesini takiben ve doku gelişimi için matriks sentezi hedeflendiğinde kondrositlerin bölünmesi için büyüme faktörlerinin salımının sağlanması konusunda çalışmaların yapılması gerektiğini vurgulamışlardır ⁽⁶⁰⁾.

Holland TA ve ark., hasarlı kıkırdak dokusuna IGF-1 ve TGF-B1'in kontrollü salımını araştırmıştır. N,N'-metilen bisakrilamid (Sigma) çap-

raz bağlayıcı ajan olarak kullanılmıştır. IGF-1'in 28. gün salım oranı % 95.2±2.9 olarak rapor edilmiştir. Daha az çapraz bağlı mikropartiküller ve alternatif IEP mikropartiküllerinden benzer salım değerleri, ancak 6 gün sonra elde edilebilmiştir. Sistemlerini IGF-1 ve TGF-β1'i ardışık olarak salacak şekilde ikili olarak geliştirmişlerdir. Büyüme faktörü yüklenme fazı ve mikropartiküllerin çapraz bağlayıcı özellikleri değiştirilerek salım profilleri manipüle edilebilmiştir. IGF-1'in 4 haftalık (28 gün) yavaş salımı, bu proteinin yüksek çapraz bağlı ve kapsüllü mikropartiküllere selektif olarak yüklenmesi sonucu elde edilebilmiştir. Bu çalışma sonucunda çift büyüme faktörünün kırıkdam tamirinde gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir⁽⁸⁴⁾.

Lim SM ve ark., mezenkimal kök hücrelerin kondrojenesi için kontrol edilebilir BMP-7 içeren aljinat solüsyonu ve TGF-β2 içeren poliyon kompleks nanopartikülleri içeren çiftli taşıma sistemini geliştirmiştir. Bu büyüme faktörleri (BMP-7/TGF-β2) yüklü nanopartikül/hidrojel sistemi her iki büyüme faktörünün kontrollü olarak salındığını göstermişlerdir. BMP-7 hızlı ve TGF-β2 yavaş olarak salınmış olup, 21 günlük inkübasyon dönemi sonunda mezenkimal kök hücrenin kırıkdam hücrelerine dönüşümünü düşündürecek şekilde, sırasıyla % 80 ve % 30'luk salım oranlarına ulaşmışlardır. Tersine, nanopartikülsüz çift büyüme faktörü yüklü hidrojelden her bir büyüme faktörünün salım hızı, nanopartiküllü hidrojel sisteminde salım hızına kıyasla belirgin olarak daha yavaştır. Bu oranlar 21. gün sonunda BMP-7 için % 36 ve TGF-β2 için % 16 olarak belirtilmiştir. Sonuçta, ayrı ayrı büyüme faktörü yüklü nanopartikül/hidrojel sisteminin kırıkdam rejenerasyonu için gerekli salım kinetiği ve mezenkimal kök hücreden kondrojenizasyonlarında yol gösterebileceği yönünde görüş bildirmişlerdir⁽⁹⁸⁾.

Literatür taramamız sonucu arama kriterlerimizin tümünü birden kapsayan yalnızca dört adet çalışmaya rastladık. Bu çalışmaların tamamı deneysel olup, hiçbirinde klinik çıkarımlar yapılmamıştır. Bu nedenle klinik bir akış şeması oluşturamadık. Bu durum bu derlemenin

zayıf yanı olarak değerlendirilebilir. Tarama makalelerimizin sayısının artırılması arama kriterlerimizin genişletilmesiyle olası olabilir. Ancak, bu durum sonuçlar arasında kafa karıştırıp bağlayıcı çıkarımların yapılmasını engelleyebilir düşüncesindeyiz. Öte yandan, çapraz bağlayıcılarla biyobozunum süreci uzatılmış ve kontrollü salım sistemi oluşturacak şekilde hidrojele emdirilmiş büyüme faktörlerinin kırıkdam tamiri süreci üzerine etkileri ile ilgili kesin çıkarımlar yapacak kanıtlar yetersizdir. Kesin çıkarımlar, ancak geniş ve çok merkezli klinik çalışmalar ile olası olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Cohen DL, Lipton JJ, Bonassar LJ, et al. Additive manufacturing for in situ repair of osteochondral defects. *Biofabrication* 2010; 2:035-004.
2. Hangody L, Dobos J, Baló E, et al. Clinical experiences with autologous osteochondral mosaicplasty in an athletic population: a 17-year prospective multicenter study. *Am J Sports Med* 2010; 38:1125-33. <http://dx.doi.org/10.1177/0363546509360405> PMID:20360608
3. Basad E, Ishaque B, Bachmann G, et al. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation versus microfracture in the treatment of cartilage defects of the knee: a 2-year randomised study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18:519-27. <http://dx.doi.org/10.1007/s00167-009-1028-1> PMID:20062969
4. Nakamae A, Engebretsen L, Peterson L. Autologous chondrocyte transplantation for the treatment of massive cartilage lesion of the distal tibia: a case report with 8-year follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007; 15:1469-72. <http://dx.doi.org/10.1007/s00167-007-0401-1> PMID:17874234
5. Cole BJ, Pascual-Garrido C, Grumet RC. Surgical management of articular cartilage defects in the knee. *Instr Course Lect* 2010; 59:181-204. PMID:20415379
6. Brittberg M. Cell carriers as the next generation of cell therapy for cartilage repair: a review of the matrix-induced autologous chondrocyte implantation procedure. *Am J Sports Med* 2010; 38:1259-71. <http://dx.doi.org/10.1177/0363546509346395> PMID:19966108
7. Lee M, Lo AC, Cheung PT, et al. Drug carrier systems based on collagen-alginate composite structures for improving the performance of GDNF-secreting HEK293 cells. *Biomaterials* 2009; 30:1214-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.11.017> PMID:19059641
8. Lu L, Yaszemski MJ, Mikos AG. TGF-beta1 release from biodegradable polymer microparticles: its effects on marrow stromal osteoblast func-

- tion. *J Bone Joint Surg Am* 2001; 83-A Suppl 1:582-91.
PMid:11314800
9. Richardson TP, Peters MC, Ennett AB, et al. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol* 2001; 19:1029-34.
<http://dx.doi.org/10.1038/nbt1101-1029>
PMid:11689847
 10. Casper ME, Fitzsimmons JS, Stone JJ, et al. Tissue engineering of cartilage using poly-epsilon-caprolactone nanofiber scaffolds seeded in vivo with periosteal cells. *Osteoarthritis and Cartilage* 2010; 18:981-91.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2010.04.009>
PMid:20434575 PMCID:2900423
 11. Hao T, Wen N, Cao JK, et al. The support of matrix accumulation and the promotion of sheep articular cartilage defects repair in vivo by chitosan hydrogels. *Osteoarthritis and Cartilage* 2010; 18:257-65.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.007>
PMid:19744589
 12. Pei M, He F, Boyce BM, et al. Repair of full-thickness femoral condyle cartilage defects using allogeneic synovial cell-engineered tissue constructs. *Osteoarthritis and Cartilage* 2009; 17:714-22.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2008.11.017>
PMid:19128988
 13. Pulkkinen HJ, Tiitu V, Valonen P, et al. Engineering of cartilage in recombinant human type II collagen gel in nude mouse model in vivo. *Osteoarthritis and Cartilage* 2010; 18:1077-87.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2010.05.004>
PMid:20472086
 14. Kai T, Shao-qing G, Geng-ting D. In vivo evaluation of bone marrow stromal-derived osteoblasts-porous calcium phosphate ceramic composites as bone graft substitute for lumbar intervertebral spinal fusion. *Spine (Phila Pa 1976)* 2003; 28:1653-8.
 15. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, et al. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA* 1999; 282:1061-6.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.282.11.1061>
 16. Prudden JF, Miguel P, Hanson P, et al. The discovery of a potent pure chemical wound-healing accelerator. *Am J Surg* 1970; 119:560-4.
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9610\(70\)90175-3](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9610(70)90175-3)
 17. Ignatz RA, Endo T, Massagué J. Regulation of fibronectin and type I collagen mRNA levels by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 1987; 262:6443-6.
PMid:3471760
 18. Vacanti JP, Morse MA, Saltzman WM, et al. Selective cell transplantation using bioabsorbable artificial polymers as matrices. *J Pediatr Surg* 1988; 23(1 Pt 2):3-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3468\(88\)80529-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3468(88)80529-3)
 19. Beck LS, Chen TL, Mikalauski P, et al. Recombinant human transforming growth factor-beta 1 (rhTGF-beta 1) enhances healing and strength of granulation skin wounds. *Growth Factors* 1990; 3:267-75.
<http://dx.doi.org/10.3109/08977199009003669>
PMid:2257148
 20. Thompson JP, Pearce RH, Schechter MT, et al. Preliminary evaluation of a scheme for grading the gross morphology of the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* 1990; 15:411-5.
 21. Morales TI, Joyce ME, Sobel ME, et al. Transforming growth factor-beta in calf articular cartilage organ cultures: synthesis and distribution. *Arch Biochem Biophys* 1991; 288:397-405.
[http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90212-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(91)90212-2)
 22. Mankin HJ, Jennings LC, Treadwell BV, et al. Growth factors and articular cartilage. *J Rheumatol Suppl* 1991; 27:66-7.
PMid:2027134
 23. Hiraki Y, Inoue H, Shigeno C, et al. Bone morphogenetic proteins (BMP-2 and BMP-3) promote growth and expression of the differentiated phenotype of rabbit chondrocytes and osteoblastic MC3T3-E1 cells in vitro. *J Bone Miner Res* 1991; 6:1373-85.
<http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.5650061215>
PMid:1665281
 24. Shvartzman L, Weingarten E, Sherry H, et al. Costeffectiveness analysis of extended conservative therapy versus surgical intervention in the management of herniated lumbar intervertebral disc. *Spine* 1992; 17:176-82.
<http://dx.doi.org/10.1097/00007632-199202000-00010>
PMid:1532460
 25. Oegema TR Jr. Biochemistry of the intervertebral disc. *Clin Sports Med* 1993; 12:419-39.
PMid:8364983
 26. Phillips GD. Transforming growth factor beta (TGF-B) stimulation of angiogenesis: an electron microscopic study. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1993; 25:149-155.
PMid:7686811
 27. Freed LE, Marquis JC, Nohria A, et al. Neocartilage formation in vitro and in vivo using cells cultured on synthetic biodegradable polymers. *J Biomed Mater Res* 1993; 27:11-23.
<http://dx.doi.org/10.1002/jbm.820270104>
PMid:8380593
 28. Streuli CH, Schmidhauser C, Kobrin M, et al. Extracellular matrix regulates expression of the TGF-beta 1 gene. *J Cell Biol* 1993; 120:253-60.
<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.120.1.253>
PMid:8416992
 29. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331:889-95.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199410063311401>
PMid:8078550
 30. Buckwalter JA. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine* 1995; 20:1307-14.
PMid:7660243
 31. Waddell G. Low back pain: a twentieth century health care enigma. *Spine* 1996; 21:2820-5.
<http://dx.doi.org/10.1097/00007632-199612150-00002>
PMid:9112705
 32. Sittinger M, Reitzel D, Dauner M, et al. Resorbable polyesters in cartilage engineering: affinity and biocompatibility of polymer fiber structures to chondrocytes. *J Biomed Mater Res* 1996; 33:57-63.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199622\)33:2<57::AID-JBM1>3.0.CO;2-K](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199622)33:2<57::AID-JBM1>3.0.CO;2-K)
 33. Isobe M, Yamazaki Y, Oida S, et al. Bone morpho-

- hogenetic protein encapsulated with a biodegradable and biocompatible polymer. *J Biomed Mater Res* 1996; 32:433-8.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199611\)32:3<433::AID-JBM17>3.0.CO;2-H](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199611)32:3<433::AID-JBM17>3.0.CO;2-H)
34. Aspenberg P, Jeppsson C, Wang JS, et al. Transforming growth factor beta and bone morphogenetic protein 2 for bone ingrowth: a comparison using bone chambers in rats. *Bone* 1996; 19:499-503.
[http://dx.doi.org/10.1016/S8756-3282\(96\)90257-4](http://dx.doi.org/10.1016/S8756-3282(96)90257-4)
 35. Dinbergs ID, Brown L, Edelman ER. Cellular response to transforming growth factor-beta1 and basic fibroblast growth factor depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *J Biol Chem* 1996; 271:29822-9.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.271.47.29822>
 PMID:8939921
 36. Blottner D, Wolf N, Lachmund A, et al. TGF beta rescues target-deprived preganglionic sympathetic neurons in the spinal cord. *Eur J Neurosci* 1996; 8:202-10.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01181.x>
 PMID:8713464
 37. Nehrer S, Breinan HA, Ramappa A, et al. Canine chondrocytes seeded in type I and type II collagen implants investigated in vitro. *Journal Biomed Mater Res* 1997; 38:95-104.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199722\)38:2<95::AID-JBM3>3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199722)38:2<95::AID-JBM3>3.0.CO;2-B)
 38. Hutton WC, Elmer WA, Boden SD, et al. Analysis of chondroitin sulfate in lumbar intervertebral discs at two different stages of degeneration as assessed by discogram. *J Spinal Disord* 1997; 10:47-54.
<http://dx.doi.org/10.1097/00002517-199702000-00007>
 PMID:9041496
 39. Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N. 1997 Volvo Award winner in basic science studies. Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs. *Spine (Phila Pa 1976)* 1997; 22:2781-95.
 40. O'Kane S, Ferguson MW. Transforming growth factor beta s and wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29:63-78. Review.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1357-2725\(96\)00120-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1357-2725(96)00120-3)
 41. Nimni ME. Polypeptide growth factors: targeted delivery systems. *Biomaterials* 1997; 18:1201-25. Review.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00050-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00050-1)
 42. Repanti M, Korovessis PG, Stamatakis MV, et al. Evolution of disc degeneration in lumbar spine: a comparative histological study between herniated and postmortem retrieved disc specimens. *J Spinal Disord* 1998; 11:41-5.
 PMID:9493769
 43. Nerlich AG, Boos N, Wiest I, et al. Immunolocalization of major interstitial collagen types in human lumbar intervertebral discs of various ages. *Virchows Arch* 1998; 432:67-76.
<http://dx.doi.org/10.1007/s004280050136>
 PMID:9463590
 44. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage repair and transplantation. *Arthritis Rheum* 1998; 41:1331-42.
[http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131\(199808\)41:8<1331::AID-ART2>3.0.CO;2-J](http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131(199808)41:8<1331::AID-ART2>3.0.CO;2-J)
 45. Aigner J, Tegeler J, Hutzler P, et al. Cartilage tissue engineering with novel nonwoven structured biomaterial based on hyaluronic acid benzyl ester. *J Biomed Mater Res* 1998; 42:172-81.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199811\)42:2<172::AID-JBM2>3.0.CO;2-M](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199811)42:2<172::AID-JBM2>3.0.CO;2-M)
 46. Ikada Y, Tabata Y. Protein release from gelatin matrices. *Adv Drug Deliv Rev* 1998; 3:287-301.
 47. Sherris DA, Murakami CS, Larrabee WF Jr, et al. Mandibular reconstruction with transforming growth factor-beta1. *Laryngoscope* 1998; 108:368-72.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005537-199803000-00011>
 PMID:9504609
 48. Sztrölovics R, Álini M, Mort JS, et al. Age-related changes in fibromodulin and lumican in human intervertebral discs. *Spine (Phila Pa 1976)* 1999; 24:1765-71.
 49. Uhrich KE, Cannizzaro SM, Langer RS, et al. Polymeric systems for controlled drug release. *Chem Rev* 1999; 99:3181-3198.
<http://dx.doi.org/10.1021/cr940351u>
 PMID:11749514
 50. Lee YM, Park YJ, Lee SJ, et al. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol* 2000; 71:418-24.
<http://dx.doi.org/10.1902/jop.2000.71.3.418>
 PMID:10776929
 51. Murphy WL, Peters MC, Kohn DH, et al. Sustained release of vascular endothelial growth factor from mineralized poly(lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 2000; 21:2521-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00120-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00120-4)
 52. Uludag H, D'Augusta D, Golden J, et al. Implantation of recombinant human bone morphogenetic proteins with biomaterial carriers: a correlation between protein pharmacokinetics and osteoinduction in the rat ectopic model. *J Biomed Mater Res* 2000; 50:227-38.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(200005\)50:2<227::AID-JBM18>3.0.CO;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(200005)50:2<227::AID-JBM18>3.0.CO;2-2)
 53. Yamamoto M, Tabata Y, Hong L, et al. Bone regeneration by transforming growth factor beta1 released from a biodegradable hydrogel. *J Control Release* 2000; 64:133-42.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00129-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00129-7)
 54. Steinbrech DS, Mehrara BJ, Rowe NM, et al. Gene expression of TGF-beta, TGF-beta receptor, and extracellular matrix proteins during membranous bone healing in rats. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105:2028-38.
<http://dx.doi.org/10.1097/00006534-200005000-00018>
 55. Bezemer JM, Radersma R, Grijpma DW, et al. Microspheres for protein delivery prepared from amphiphilic multiblock copolymers. 2. Modulation of release rate. *J Control Release* 2000; 67:249-60.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00212-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00212-1)
 56. Bezemer JM. Zero-order release of lysozyme from poly(ethylene glycol)/poly(butylene terephthalate) matrices. *J Controlled Release* 2000; 64:179-92.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00127-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00127-3)

57. Suh JK, Matthew HW. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials* 2000; 21:2589-98.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00126-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00126-5)
58. Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford DS, et al. Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. *J Biomed Mater Res* 2000; 51:586-95.
[http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636\(20000915\)51:4<586::AID-JBM6>3.0.CO;2-S](http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636(20000915)51:4<586::AID-JBM6>3.0.CO;2-S)
59. Perka C, Arnold U, Spitzer RS, et al. The use of fibrin beads for tissue engineering and subsequent transplantation. *Tissue Eng* 2001; 7:359-61.
<http://dx.doi.org/10.1089/10763270152044215>
PMid:11429155
60. Elisseeff J, McIntosh W, Fu K, et al. Controlled-release of IGF-I and TGF- β 1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering. *J Orthop Res* 2001; 19:1098-104.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0736-0266\(01\)00054-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0736-0266(01)00054-7)
61. Hunziker EB, Driesang IM, Morris EA. Chondrogenesis in cartilage repair is induced by members of the transforming growth factor- β superfamily. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 391 Suppl:S171-81.
<http://dx.doi.org/10.1097/00003086-200110001-00017>
PMid:11603702
62. Shu XZ, Zhu KJ. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure. *Int J Pharm* 2002; 233:217-25.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00943-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00943-7)
63. Catterson EJ, Nesti LJ, Li WJ, et al. Three-dimensional cartilage formation by bone marrow-derived cells seeded in polylactide/alginate amalgam. *J Biomed Mater Res* 2001; 57:394-403.
[http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636\(20011205\)57:3<394::AID-JBM1182>3.0.CO;2-9](http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636(20011205)57:3<394::AID-JBM1182>3.0.CO;2-9)
64. Ushida T, Furukawa K, Toita K, et al. Three-dimensional seeding of chondrocytes encapsulated in collagen gel into PLLA scaffolds. *Cell Transplant* 2002; 11:489-94.
PMid:12382679
65. Kisiday J, Jin M, Kurz B, et al. Grodzinsky, Self-assembling peptide hydrogel fosters chondrocyte extracellular matrix production and cell division: implications for cartilage tissue repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:9996-10001.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.142309999>
PMid:12119393 PMCID:126613
66. Sakano S, Hasegawa Y, Murata Y, et al. Inhibitory effect of bFGF on endochondral heterotopic ossification. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293:680-5.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00273-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00273-5)
67. Mierisch CM, Cohen SB, Jordan LC, et al. Transforming growth factor- β in calcium alginate beads for the treatment of articular cartilage defects in the rabbit. *Arthroscopy* 2002; 18:892-900.
<http://dx.doi.org/10.1053/jars.2002.36117>
PMCID:287978
68. Miura Y, Parvizi J, Fitzsimmons JS, et al. Brief exposure to high-dose transforming growth factor- β 1 enhances periosteal chondrogenesis in vitro: a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84:793-9.
PMid:12004023
69. Kafienah W, Jakob M, Démartheau O, et al. Three-dimensional tissue engineering of hyaline cartilage: comparison of adult nasal and articular chondrocytes. *Tissue Eng* 2002; 8:817-26.
<http://dx.doi.org/10.1089/10763270260424178>
PMid:12459060
70. Kim SE, Park JH, Cho YW, et al. Porous chitosan scaffold containing microspheres loaded with transforming growth factor- β 1: Implications for cartilage tissue engineering. *J Control Release* 2003; 91:365-74.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(03\)00274-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(03)00274-8)
71. Masuda K, Sah RL, Hejna MJ, et al. A novel two-step method for the formation of tissue-engineered cartilage by mature bovine chondrocytes: the alginate-recovered-chondrocyte (ARC) method. *J Orthop Res* 2003; 21:139-48.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0736-0266\(02\)00109-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00109-2)
72. Ueda H, Nakamura T, Yamamoto M, et al. Repairing of rabbit skull defect by dehydrothermally crosslinked collagen sponges incorporating transforming growth factor β 1. *J Control Release* 2003; 88:55-64.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00481-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00481-9)
73. Sohler J, Haan RE, de Groot K, et al. A novel method to obtain protein release from porous polymer scaffolds: emulsion coating. *J Control Release* 2003; 87:57-68.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00350-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00350-4)
74. van Dijkhuizen-Radersma R, Roosma JR, Kaim P, et al. Biodegradable poly(ether-ester) multiblock copolymers for controlled release applications. *J Biomed Mater Res A* 2003; 67:1294-304.
<http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.20044>
PMid:14624516
75. Valcourt U, Gouttenoire J, Aubert-Foucher E, et al. Alternative splicing of type II procollagen pre-mRNA in chondrocytes is oppositely regulated by BMP-2 and TGF- β 1. *FEBS Lett* 2003; 545:115-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00510-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00510-6)
76. Luk KD, Ruan DK, Lu DS, et al. Fresh frozen intervertebral disc allografting in a bipedal animal model. *Spine (Phila Pa 1976)* 2003; 28:864-9; discussion 870.
77. Lee JE, Kim KE, Kwon IC, et al. Effects of a Chitosan Scaffold Containing TGF- β 1 Encapsulated Chitosan Microspheres on In Vitro Chondrocyte Culture. *Artif Organs* 2004; 28:829-39.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2004.00020.x>
PMid:15320946
78. Lee JE, Kim KE, Kwon IC, et al. Effects of the controlled-released TGF- β 1 from chitosan microspheres on chondrocytes cultured in a collagen/chitosan/glycosaminoglycan scaffold. *Biomaterials* 2004; 25:4163-73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.057>
PMid:15046906
79. Chin D, Boyle GM, Parsons PG, et al. What is transforming growth factor- β (TGF- β)? *Br J Plast Surg* 2004; 57:215-21. Review.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2003.12.012>
PMid:15006522
80. Sun Q, Chen RR, Shen Y, et al. Sustained vascu-

- lar endothelial growth factor delivery enhances angiogenesis and perfusion in ischemic hind limb. *Pharm Res* 2005; 22:1110-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-005-5644-2> PMID:16028011
81. van Dijkhuizen-Radersma R, Métairie S, Roosma JR, et al. Controlled release of proteins from degradable poly(ether-ester) multiblock copolymers. *J Controlled Release* 2005; 101:175-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.08.014> PMID:15588903
 82. Bhatia R, Hare JM. Mesenchymal stem cells: future source for reparative medicine. *Congest Heart Fail* 2005; 11:87-91; quiz 92-3. Review. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1527-5299.2005.03618.x> PMID:15860974
 83. Anderson DG, Risbud MV, Shapiro IM, et al. Cell-based therapy for disc repair. *Spine J* 2005; 5:297S-303S. <http://dx.doi.org/10.1016/j.spinee.2005.02.019> PMID:16291126
 84. Holland TA, Tabata Y, Mikos AG. Dual growth factor delivery from degradable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering. *J Control Release* 2005; 101:111-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.07.004> PMID:15588898
 85. DeFail AJ, Chu CR, Izzo N, et al. Controlled release of bioactive TGF- β 1 from microspheres embedded within biodegradable hydrogels. *Biomaterials* 2006; 27:1579-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.08.013> PMID:16140372
 86. Guo T, Zhao J, Chang J, et al. Porous chitosan-gelatin scaffold containing plasmid DNA encoding transforming growth factor- β 1 for chondrocytes proliferation. *Biomaterials* 2006; 27:1095-103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.08.015> PMID:16143394
 87. Nair LS, Laurencin CT. Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2006; 102:47-90. Review. <http://dx.doi.org/10.1007/b137240>
 88. Zhang Y, Cheng X, Wang J, et al. Novel chitosan/collagen scaffold containing transforming growth factor- β 1 DNA for periodontal tissue engineering. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 344:362-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.03.106> PMID:16600180
 89. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8:315-7. <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905> PMID:16923606
 90. Noël D, Djouad F, Bouffi C, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells and immune tolerance. *Leuk Lymphoma* 2007; 48:1283-9. <http://dx.doi.org/10.1080/10428190701361869>
 91. Sohier J, Hamann D, Koenders M, et al. Tailored release of TGF- β 1 from porous scaffolds for cartilage tissue engineering. *Int J Pharm* 2007; 332:80-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.09.037> PMID:17056215
 92. Karp JM, Langer R. Development and therapeutic applications of advanced biomaterials. *Curr Opin Biotechnol* 2007; 18:454-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2007.09.008> PMID:17981454
 93. Guo CA, Liu XG, Huo JZ, et al. Novel gene-modified-tissue engineering of cartilage using stable transforming growth factor- β 1-transfected mesenchymal stem cells grown on chitosan scaffolds. *J Biosci Bioeng* 2007; 103:547-56. <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.103.547> PMID:17630127
 94. Champion JA, Katare YK, Mitragotri S. Particle shape: a new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers. *J Control Release* 2007; 121:3-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.03.022> PMID:17544538
 95. Murua A, Portero A, Orive G, et al. Cell micro-encapsulation technology: towards clinical application. *J Control Release* 2008; 132:76-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.08.010> PMID:18789985
 96. Vinatier C, Mrugala D, Jorgensen C, et al. Cartilage engineering: a crucial combination of cells, biomaterials and biofactors. *Trends Biotechnol* 2009; 27:307-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.02.005> PMID:19329205
 97. Han Y, Wei Y, Wang S, et al. Cartilage regeneration using adipose-derived stem cells and the controlled-released hybrid microspheres. *Joint Bone Spine* 2010; 77:27-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2009.05.013> PMID:20022784
 98. Lim SM, Oh SH, Lee HH, et al. Dual growth factor-releasing nanoparticle/hydrogel system for cartilage tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med* 2010; 21:2593-600. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-010-4118-1> PMID:20577785
 99. George M, Abraham TE. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan-a review. *J Control Release* 2006; 114:1-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.017> PMID:16828914
 100. Andresen IL, Skipnes O, Smidsrod O, et al. Some biological functions of matrix composition of seawater. *ACS Symp Ser* 1977; 48:361-81. <http://dx.doi.org/10.1021/bk-1977-0048.ch024>
 101. Zhao JG, Wang J, Xin Q, et al. Calcium pentosan polysulfate and sodium pentosan polysulfate may be used to treat intervertebral disc degeneration. *Med Hypotheses* 2011; 76:610-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2011.01.016> PMID:21296506