

مواد جایگزین شونده‌ی استخوانی

احمد عریان^۱، سمیه منزهر سینی^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۳)

چکیده

سابقه و هدف، این مقاله به مرور پژوهش‌های مختلف در زمینه‌ی استفاده از ایمپلنت‌ها در نقایص استخوانی می‌پردازد. در این رابطه از روش‌های مختلفی استفاده شده است که می‌توان آنها را در ۴ دسته قرار داد، پیوند اوتوگرافت، پیوند آلوگرافت، پیوند زنوگرافت و مهندسی بافت. در این خصوص اغلب از موادی استفاده می‌شود که خصوصیت القاء استخوانی داشته باشند که به آنها مواد استئواینداکتیو (osteoinductive) می‌گویند. همچنین از مواد استئوکنداکتیو (osteoconductive) استفاده می‌شود که به عنوان داربستی رشد آتی استخوان را هدایت می‌کند؛ از جمله تا کنون از موادی مانند کلاژن، آلزینات، کلسیم فسفات، کلسیم سولفات، مرجان، صدف، پلاکت، مغز استخوان آسپیره شده، هورمون‌های رشد، ماتریکس استخوانی دمنرالیزه شده، پروتئین مورفوژنیک استخوان و ... استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت کتابخانه‌ای و با مطالعه‌ی منابع مختلف انجام گرفته است. نتیجه‌گیری: برای به دست آوردن بهترین نتیجه در پیوند زدن مواد جایگزین شونده استخوانی بهتر است یک ماده‌ی استئوکنداکتیو و یک ماده‌ی استئواینداکتیو به صورت هم‌زمان استفاده شود.

واژگان کلیدی: نقیصه استخوان، ایمپلنت، گرافت

^۱ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

^۲ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*somayahmonazah@gmail.com: تلفن: ۰۹۱۸۸۳۶۹۱۲۰

مقدمه

استخوان ساز است. موادی که دارای خاصیت استئواینداکتیو هستند سبب تغییر فنوتیپ در سلول‌های مختلف شده و آنها را به سلول‌های استئوپروژنیتور (osteoprogenitor) یا پری استئوبلاست تبدیل می‌کنند و موجب استخوان سازی می‌شوند. استئوکنداکشن به معنی رشد استخوان در یک سطح است (۱). استفاده از استخوان اسفنجی و فاکتورهای رشد مثالی از ویژگی استئوکنداکشن است. موادی که دارای خصوصیت استئوکنداکشن هستند یک چارچوب سه بعدی به وجود می‌آورند که بافت استخوان ساز از آن به عنوان داربستی برای بازسازی و استخوان سازی استفاده می‌کند. این مواد خنثی بوده و نقشی در تولید یا تحریک استخوان سازی ندارند مانند هیدروکسی آپاتیت (۱۴ و ۳۱). مواد جایگزین استخوان یا صنعتی باید تعدادی از این ویژگی‌ها را داشته باشن؛ زمان قابل پیش‌بینی برای جذب، قیمت مناسب، کارایی خوب برای استفاده جراح، نتایج مناسب به همان شکل یا حتی بهتر از اتوگرافت‌ها به منظور التیام شکستگی‌ها، عدم تداخل با سیستم‌های جدید تصویربرداری، دارای بودن امتیاز القاء‌کننده استخوان سازی، هدایت‌کننده استخوان سازی و جلب‌کننده سلول‌های پیش‌ساز استخوان سازی، و مقاوم در برابر حرارت داخلی و خارجی (۶ و ۲۴).

الف - پیوند اتوگرافت

به استفاده از استخوان‌های بدن خود فرد (معمولاً استخوان لگن) برای درمان نقیصه استخوانی گفته می‌شود (۳۱). چنانچه اندازه نقیصه کوچک باشد، پیوند اتوگرافت بهترین گزینه برای پیوند استخوانی است؛ زیرا بیشترین سازگاری بافتی را دارد (۲۰). و چون پدیده‌ی پس‌زدن پیوند در آن اتفاق نمی‌افتد، اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما معمولاً مقدار استخوانی که از این

استخوان دو ویژگی دارد که آن را از سایر بافت‌های بدن متمایز می‌سازد، اول اینکه دارای پتانسیل ترمیم خود انگیز است و این کار را نه از طریق تولید بافت همبند، بلکه از طریق جانشین سازی استخوان تازه انجام می‌دهد؛ دوم این که استخوان می‌تواند ویژگی‌های مکانیکی خود را متناسب با نیازها تغییر بدهد (۴). شکستگی‌های استخوان را به ۴ نوع تقسیم می‌کنند: ۱- شکستگی‌های ساده بسته ۲- شکستگی‌های با ترمیم تاخیری (شکستگی‌های باز) ۳- شکستگی‌های غیر یکنواخت ۴- نقایص قطعه‌ای (۳۷). برای تسریع ترمیم شکستگی‌های استخوان از روش‌های مختلفی مانند: امواج اولتراسوند، تحریک الکتریکی، تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی قرار دادن، گرافت‌های استخوانی و ... می‌توان استفاده کرد (۱۰). اغلب شکستگی‌های ایجاد شده در استخوان با روش‌های ارتوپدی و حمایتی التیام پیدا می‌کنند؛ اما امکان ترمیم شدن استخوان‌های خرد شده وجود ندارد (۳۲). همچنین نقایصی که در اثر برداشتن تومورها، کیست‌ها، استئومیلیت، استئوتومی و غیره در استخوان به وجود می‌آیند به درمان جراحی نیاز دارند؛ زیرا ترمیم خود به خودی استخوان فقط در مورد نقایص کوچک استخوانی پاسخگو است (۳۸). تاکنون از پیوندهای استخوان اتوگرافت، آلوگرافت، زنوگرافت، استخوان دمینرالیزه شده، پلیمرها، سرامیک و برخی از فلزات برای ترمیم نقایص استخوان استفاده شده است (۳۴). در هر نوع پیوند استخوان، باید سه ویژگی مهم آن را افزایش داد، استئواینداکشن، استئوکنداکشن، استئوژنیسیته (osteogenicity) را افزایش و میزان تحریک سیستم ایمنی میزبان را کاهش داد (۵). استئواینداکشن به معنی تحریک سلول‌های تمایز نیافته و اولیه‌ی پلوری پوتنت (plory) و تبدیل آن‌ها به رده سلول‌های

طریق به دست می‌آید کم است (۷)، به علاوه مشکلاتی مثل درد در ناحیه، انجام دو عمل جراحی همزمان بر روی یک فرد و افزایش خطر خونریزی و مرگ وجود دارد (۱۹ و ۲۷). از پیوند اتوگرافت می‌توان در تمامی موقعیت‌های کلینیکی استفاده کرد اما این روش خالی از اشکال هم نیست و معایبی مثل خطر بروز عفونت و تحلیل رفتن پیوند دارد.

ب- پیوند آلوگرافت

به فرآورده‌های بافتی گفته می‌شود که از یک فرد گرفته و به فرد دیگری از همان گونه پیوند زده شود. استخوان آلوگرافت را از اجساد تهیه می‌کنند. از معایب این نوع پیوند این است که فاقد خصوصیت استئواینداکتیو بوده و ممکن است سبب انتقال بیماری به گیرنده پیوند شود (۲۵). آلوگرافت‌ها به صورت منجمد شده، منجمد شده خشک شده و معدنی زدایی شده با کاهش خاصیت ایمنی‌زایی در بانک استخوان یافت می‌شوند (۱۹). از میان انواع استخوان‌ها انتخاب استخوانی که توانایی بیشتری در موفقیت پیوند دارد مهم است. استخوان‌های اسفنجی دارای حفرات زیادی هستند که با آندوست پوشیده شده است و خاصیت استئوژنسیته بالا و استئواینداکتیویته پایینی دارند و باعث تحریک سیستم ایمنی بدن می‌زبان می‌شوند اما استخوان‌های متراکم استئواینداکتیویته بالایی دارند (۴۱). معمولاً استفاده از آلوگرافت‌های با منشاء داخل‌غشایی موفقیت بیشتری نسبت به آلوگرافت‌های داخل‌غشایی ایجاد می‌کند. از نظر بافت‌شناسی، استخوان اسفنجی دارای حفرات فراوانی است که سطح تماس آن را فوق‌العاده افزایش می‌دهد و قدرت استئوژنسیته فراوانی برای آن ایجاد می‌کند. در یک حجم مساوی از استخوان متراکم و

استخوان اسفنجی، سطح تماس استخوان اسفنجی با محیط اطراف چند برابر بیشتر است. اما حفرات استخوان اسفنجی توسط مغز قرمز (بافت خون ساز) پر می‌شود و سطح آن را مقدار زیادی بافت آندوست پوشانده است. (۲۸). در مجموع می‌توان گفت برای پیوند اتوگرافت، استخوان اسفنجی انتخاب بهتری است؛ زیرا با داشتن سطوح فراوان پوشیده از آندوست، قدرت استئوژنسیته زیادی را ایجاد می‌کند. در مورد آلوگرافت‌ها، اولین کاری که باید انجام داد، از بین بردن خاصیت آنتی‌ژنیسیته آن است (۴۴). اما به نظر می‌رسد بخشی از تأخیر در روند ترمیم به دلیل آنتی‌ژن‌زدایی است. همچنین دمی‌نرالیزه کردن بافت استخوانی به دلیل ارایه موادی مانند پروتئین مورفوژنیک استخوان باعث افزایش خصوصیت استئواینداکشن قطعه پیوند می‌شود؛ اما این مسئله باعث کاهش استحکام قطعه پیوندی می‌شود. میزان موفقیت آلوگرافت‌های تهیه شده به روش انجمادی خشک بین ۶۵ تا ۹۵ درصد متغیر است (۲۷).

ج- پیوند زنوگرافت

به برداشت بافت از یک فرد و پیوند زدن آن به فرد دیگری از یک گونه دیگر پیوند زنوگرافت گفته می‌شود. مانند مواد ارگانیک به دست آمده از گاو، خوک، گوسفند و هیدروکسی آپاتیت مشتق شده از مرجان (۲۹). زنوگرافت‌ها منابع فراوانی از مواد قابل پیوند به استخوان را پیش روی ما می‌گذارند. از زنوگرافت‌ها به صورت جزء معدنی مثل Bio-OSS یا جزء آلی که دارای فاکتورهای رشد مثل پروتئین مورفوژنیک استخوان هستند؛ استفاده می‌شود. این مواد از طریق استئوکاندکشن و استئواینداکشن سبب ساخته شدن استخوان می‌شوند (۱۹). مضرات استفاده از زنوگرافت هم اضافه می‌شود.

د- مهندسی بافت

چون استفاده از پیوندهای آلوگرافت و اتوگرافت همواره با مشکلاتی همراه است امروزه محققین به دنبال طراحی بافت استخوان هستند. برای این کار استئوبلاست‌های بدن فرد را گرفته، با کمک فاکتورهای رشد و در محیط کشت، بر روی داربستی مناسب کشت داده و محصول به دست آمده (سلول/داربست) را به فرد پیوند می‌زنند. استئوبلاست‌ها را از استخوان‌های اسفنجی خرد شده استخراج می‌کنند. این سلول‌ها بر روی داربست قرار داده و آنها را به صورت سه بعدی کشت می‌دهند. تا کنون مواد مختلفی برای تهیه داربست سلولی به کار گرفته شده‌اند. کشت سلول‌ها به عوامل حمایتی مانند محیط، زمان و داربست مناسب نیاز دارد (۳۲). داربست‌ها برای پیشرفت روند ترمیم و نوسازی بافت‌ها در بدن موجود زنده و شرایط آزمایشگاهی ضروری و اساسی هستند. آنها به عنوان یک بستر مناسب جهت مهاجرت و چسبیدن سلول‌ها و تکوین و تعیین شکل بافت جدید و پیوند آن به بدن موجود

زنده عمل می‌کنند. وجود داربست به جذب مواد غذایی و دفع مواد زائد سلول‌ها کمک می‌کند. این داربست باید با سرعت مناسبی در بدن میزبان تجزیه شود. ساختار داربست باید به گونه‌ای باشد که سبب واکنش التهابی یا تولید سم در بدن نشود و باید خصوصیات مکانیکی متناسب با بافت مورد نظر را داشته باشد (۴۰) نه تنها ترکیب شیمیایی ماده پیوندی، بلکه میزان تخلخل و اندازه خلل و فرج موجود در آن بر رفتار سلول‌ها در محیط کشت مؤثر است. مواد پیوندی که دارای تخلخل مناسب در ساختار خود هستند امکان تکثیر و تمایز بهتر سلولی را در محیط کشت فراهم می‌کنند (۱۵).

از آنجا که هنوز ایمپلنتی کامل و بی‌نقص در جهت پر کردن نقایص استخوانی ارائه نشده است تحقیقات تا پیدا شدن ماده جایگزین شونده استخوانی بی‌نقص ادامه دارد. اکنون با بررسی پژوهش‌هایی که بر روی مواد مختلفی که تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است می‌توان یک دیدگاه کلی در مورد رایج‌ترین مواد جایگزین شونده‌ی استخوان به دست آورد.

جدول شماره ۱: مواد استئوکنداکتیو و استئو اینداکتیو استفاده شده به عنوان گرافت استخوانی

ردیف	داربست‌ها	عوامل محرک استخوان‌سازی
۱	کلاژن	ماتریکس دمینرالیزه استخوان
۲	سولفات کلسیم	پروتئین مورفوژنیک استخوان
۳	فسفات کلسیم	پلاکت
۴	آلژینات	مغز استخوان آسپیره شده
۵	صدف	هورمون‌ها
۶	مرجان	فاکتورهای رشد

کلاژن

می‌توانند باعث رگزایی و در نهایت استخوان‌سازی در محل ضایعه شوند (۱۷). ماتریکس دمنیرالیزه‌ی استخوان به صورت تجارتي نیز تهیه می‌شود و بیشتر در مورد شکستگی‌های چند تکه‌ای استفاده می‌شود. از آنجایی که این یک نوع پیوند آلوگرافت محسوب می‌شود احتمال این که بیماری‌ها را منتقل کند وجود دارد (۳۱). امروزه با کمک اسید ماتریکس دمنیرالیزه شده‌ی استخوان را از استخوان‌های کورتیکال انسانی استخراج می‌کنند. ماتریکس دمنیرالیزه شده‌ی استخوان ساختار مستحکمی را فراهم نمی‌کند (۳۰).

پروتئین مورفوژنیک استخوان (BMP)

ماتریکس دمنیرالیزه‌ی استخوان ساختار گلیکوپروتئینی دارد و جزء خانواده فاکتور رشد تغییر شکل محسوب می‌شود و سبب استخوان سازی داخل غضروفی می‌شود (۳۱). BMP باعث رشد و تمایز انواع سلول‌ها از جمله استئوبلاست‌ها، سلول‌های عصبی و نیز مرگ سلول‌های عضلانی می‌شوند. این پروتئین‌ها به گروه‌های کوچکتر 9 - BMP2 تقسیم شده‌اند که نقش بعضی از آنها در روند شکل‌گیری اسکلت بدن به اثبات رسیده است. BMP-2 در دوزهای مشخص باعث افزایش مهاجرت استئوبلاست‌ها و هدایت استخوان‌سازی می‌شود. وجود پروتئین مورفوژنیک استخوان سبب می‌شود سلول‌های تمایز نیافته دور عروقی به استئوبلاست تبدیل شوند. خاصیت استئوینداکتیو ترکیب rh-BMP (recombinant bone morphogenetic protein) و BMP-2 اثبات شده است. (۸) BMP-2 سبب افزایش فعالیت استئوبلاست‌ها و تحریک استخوان‌سازی می‌شود و از این طریق حجم استخوانی را افزایش می‌دهد (۴۵). ماتریکس عاج دمنیرالیزه با داشتن عوامل رشد، BMP و فاکتورهای دیگر بر روی سلول‌های بافت چربی اثر کرده و منجر به تمایز آنها و

بخش اعظم ماتریکس آلی استخوان، کلاژن تیپ یک می‌باشد. کلاژن، پروتئین‌های غیرکلاژنی ماتریکس را به هم متصل می‌کند (۱۷). همچنین مینرالیزه شدن را آغاز و کنترل می‌کند. کلاژن اگر باتری کلسیم فسفات-هیدروکسی آپاتیت مخلوط شود خصوصیت استئوکنداکتیو پیدا می‌کند و اگر مغز استخوان آسپیره شده (از ستیغ استخوان ایلئوم) را به آن اضافه کنیم خصوصیات استئوینداکتیو و استئوژنز را هم به دست می‌آورد (۳۰). کلاژن رشته‌ای از کلاژن پوست گاو تصفیه شده به دست می‌آید. استفاده از این مواد در درمان شکستگی استخوان‌های طویل (همراه با نقیصه) با گرافت استخوانی اوتوژن قابل مقایسه است. تا کنون انتقال بیماری مشترک از طریق کلاژن گاوی گزارش نشده است (۳۱). Collagraft (ترکیبی از سوسپانسیون کلاژن رشته‌ای و سرامیکی از کلسیم فسفات متخلخل با نسبت یک به یک) و Healos (اسفنج کلاژنی مینرالیزه که هر رشته کلاژن تیپ یک با هیدروکسی آپاتیت پوشیده می‌شود) مواد پیوندی حاوی کلاژن به صورت هستند که به صورت تجارتي قابل استفاده می‌باشند.

ماتریکس دمنیرالیزه‌ی استخوان (DBM)

دانشمندان نشان داده‌اند که ماتریکس دمنیرالیزه شده‌ی استخوان سبب تشکیل استخوان هتروتروپیک می‌شود. ماتریکس دمنیرالیزه شده‌ی استخوان را با کمک آنزیم کلاژناز باکتریایی هضم کرده و در مخلوطی از نمک و اتیلن گلیکول استفاده می‌کنند (۱۸). تزریق پروتئین مورفوژنیک استخوانی استخراج شده از آن در بافت‌های نرم مثل عضلات سبب القاء استخوان‌سازی می‌شود. این مواد برای سلول‌های پروژنیاتور جاذبه شیمیایی داشته و آنها را به کندروبلاست تبدیل می‌کند و سپس ماتریکس غضروف مینرالیزه می‌شود. آنها

می‌شود و گاهی با مواد القاء کننده استخوان‌سازی و آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (۳۱).

فسفات کلسیم

ترکیبات حاوی فسفات کلسیم از رایج‌ترین مواد مصنوعی مورد استفاده در ترمیم نقایص استخوانی می‌باشند. مشتقات مختلف فسفات کلسیم توانایی‌های متفاوتی در ترمیم نقایص استخوانی دارند. گروهی از آنها فقط به عنوان حامل پروتئین‌های استخوان ساز عمل می‌کنند و گروه دیگر علاوه بر این خاصیت، در مجاورت بافت استخوانی صدمه دیده موجب القای استخوان‌سازی می‌گردند (۲۳).

هیدروکسی آپاتیت، از مشتقات فسفات کلسیم است. این ماده دارای ساختمانی مشابه با فاز معدنی استخوان بوده و به دلیل خاصیت زیست فعالی عالی آن به عنوان یکی از مشهورترین جایگزین‌های استخوان به شمار می‌رود (۲). استفاده از هیدروکسی آپاتیت در بافت استخوان سبب ایجاد واکنش التهابی بین گرانول‌های هیدروکسی آپاتیت و بافت‌های موجود در محل قرارگیری ایمپلنت نمی‌شود و سبب تسریع روند ترمیم استخوان در اطراف ایمپلنت می‌شود. Bio-oss، osteon، تری کلسیم فسفات، اکتا کلسیم فسفات از دیگر مشتقات فسفات کلسیم هستند که برای پیوند استخوانی استفاده می‌شوند (۱۶).

مرجان

در تحقیقات از اسکلت آهکی مرجان دریایی به صورت پودر یا پلیت برای ترمیم ضایعات موجود در بدن انسان به کار می‌روند. مقدار مواد ارگانیک موجود در ساختار مرجان کم است. مرجان دارای ترکیبات کربنات کلسیم کریستالی است. مرجان ۹۹٪

سلول‌های مزانشیمی که به محل مهاجرت نموده‌اند، به سلول‌های استئوبلاست می‌شود و سپس استخوان‌سازی در آن اتفاق می‌افتد. قرار دادن عاج یا استخوان دمی‌نرالیزه شده، تاندون و عضله در فضای بین عضلانی منجر به جذب عاج و استخوان شده و به جای آن استخوان جدید ساخته می‌شود. علت این پدیده وجود پروتئین مورفوژنیک استخوان، فاکتور رشد انسولینی و فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت است. تزریق پروتئین مورفوژنیک استخوان و پروتئین‌های غیر کلاژنی نامحلول به عضله سبب ایجاد استخوان‌سازی می‌شود (۱).

سولفات کلسیم

به سولفات کلسیم گچ پارسی هم گفته می‌شود. استفاده از آن برای فیکس کردن خارجی شکستگی‌ها از مدت‌ها پیش مرسوم بوده است. اولین کسی که از آن به طور داخل استخوانی استفاده کرد درسمن (Dorsman) بود. در پزشکی تلاش می‌شود کریستالیزه شدن سولفات کلسیم طوری کنترل شود که اندازه و شکل کریستال‌ها یک دست باشد، تا خصوصیات انحلال و جذب آهسته‌تر و قابل پیش بینی‌تری داشته باشند. این ماده سبب التهاب موضعی و واکنش جسم خارجی در محل ضایعه نمی‌شود (۲۲)، به راحتی توسط استئوکلاست‌ها جذب می‌شود. استئوکلاست‌ها محیط را اسیدی می‌کنند و در نتیجه احتمال بروز آماس ثانویه را کم‌تر می‌کنند (۳۰). از طرفی سبب تحریک فعالیت استئوبلاست‌ها می‌شوند. سرعت جذب سولفات کلسیم بسیار زیاد است به طوری که گاهی به جای بافت استخوانی بافت همبند در محل ضایعه تولید می‌شود. سولفات کلسیم به شکل گرانول و ساچمه مانند برای پر کردن حفره‌های استخوانی استفاده

و حلزونی از نظر ساختمان شبیه استخوان‌های متراکم انسان هستند و جایگزین مناسبی برای پیوند استخوان می‌باشند. صدف‌های مختلف از نظر تخلخل، استحکام و لایه‌های سازنده‌شان متفاوت هستند که بر قوام و استحکام آنها و کارایی آنها به عنوان جایگزین پیوند استخوانی تأثیر دارد. می‌توان از صدف در ترکیب با چسب‌ها یا سیمان‌های استخوانی استفاده کرد. به طور کلی می‌توان گفت صدف تا حدود ۵۰ درصد خصوصیات یک جانشین عالی برای پیوند استخوان را دارد. صدف سازگاری زیستی خوبی دارد. ایجاد واکنش موضعی و عفونت نمی‌کند و به خوبی در بدن جذب می‌شود (۶).

آلژینات

آلژینات یک بیوپلیمر طبیعی است و از جلبک قهوه‌ای و باکتری‌ها به دست می‌آید. آلژینات در ماتریکس خارج سلولی جلبک‌های قهوه‌ای، در ترکیب با کاتیون‌های کلسیم، منیزیم و سدیم است. آلژینات به عنوان داربست بستری مناسب جهت رشد استئوبلاست‌ها ایجاد می‌کند. این ماده به صورت پودر ژل آلژینات استفاده می‌شود. آلژینات داربست سه بعدی ایجاد می‌کند که مساحت بیشتری را برای تکثیر سلول‌ها فراهم کرده و انتشار مواد غذایی در محیط کشت را آسان می‌کند و موجب تسهیل رشد سلول‌ها می‌شود. این ویژگی‌ها باعث شده است که این ماده به عنوان داربستی مناسب در طراحی بافت به کار رود. منافذی که در ژل آلژینات وجود دارد به انتشار ماکرومولکول‌ها کمک می‌کند. انتشار مواد غذایی در داربست‌های آلژینات به غلظت آلژینات، اسیدیته، دما و روش تهیه ژل وابسته است. ترکیبات منومری، توالی ساختمانی و سرعت تشکیل ژل آلژینات بر میزان انتشار مواد، تخلخل، درصد تورم و استحکام و زیست‌سازگاری این ژل تأثیر دارد. ژل آلژینات نسبت به هیدروکسی

کربنات کلسیم به صورت آراگونیت و مقدار کمی فلوراید سدیم دارد (۱۲). همچنین حاوی تخلخل می‌باشد و در بدن به عنوان یک داربست عمل می‌کند. این خصوصیات باعث تهاجم سلول‌های خونی و مغز استخوان می‌شود. البته وقتی در جایگاه نا به جا کاشته شود تولید بافت استخوانی را موجب نمی‌شود. هنگامی که مرجان در نقیصه استخوانی کاشته شود توسط بدن جذب می‌شود و استخوان‌سازی در اطراف آن آغاز می‌شود (۱۳). میزان جذب آن در بدن به تخلخل و مواد معدنی موجود در ساختار آن بستگی دارد. مرجان دارای زمان جذب میان مدت است. به دلیل خصوصیات القاء-کنندگی و استخوان‌سازی مرجان، سلول‌های کندروبلاست به داخل آن نفوذ می‌کنند، ابتدا غضروف تشکیل شده و در نهایت سنتز استخوان اتفاق می‌افتد. وقتی به صورت پودر استفاده می‌شود؛ هر کدام از گرانول‌ها به عنوان هسته‌ی مرکزی عمل می‌کنند که استئوبلاست‌ها اطراف آنها تجمع کرده و جزایر مستقل استخوانی در اطراف گرانول‌ها تشکیل می‌شود (۶). از خصوصیات مرجان؛ زیست‌سازگاری، در دسترس بودن، ارزان بودن، غنی بودن از کلسیم و شباهت زیاد به استخوان اسفنجی می‌باشد. مرجان خاصیت هدایت استخوان‌سازی نیز دارد و در بدن واکنش التهابی ایجاد نمی‌کند؛ اما برخی از منابع تورم بافتی و واکنش جسم خارجی را در مورد استفاده از مرجان گزارش کرده‌اند (۴۳). می‌توان مرجان را در ترکیب با سایر جانشین شونده‌های پیوند استخوان یا در چسب‌ها و خمیرهای ارتوپدی به کار برد (۱).

اسکلت آهکی صدف

صدف یک ماده ارزان بوده و به آسانی در دسترس می‌باشد اما به دلیل شکل‌های خاصی که دارد، استفاده از آن در تهیه قطعات با ابعاد مناسب استخوانی مشکلاتی را در پی دارد. صدف دوکفه‌ای

پلاکت انسانی به عنوان منبع فاکتور استئواینداکتیو استفاده می‌شود (۲۵).

مغز استخوان آسپیره شده

مغز استخوان قرمز توانایی زیادی در سنتز استخوان جدید دارد. قرار دادن آن در بافت‌های مزانشیمی مانند عضلات سبب تشکیل استخوان در آنها می‌شود (۱۰). مطالعات مختلف نشان می‌دهند که استفاده از مغز استخوان قرمز اتوزن می‌تواند به عنوان یک گرافت استفاده شود و استفاده از آن نتیجه‌ای مشابه با استفاده از گرافت استخوانی دارد. مغز استخوان دارای سلول‌های استئوپروژنی‌تور است که سهم زیادی در تشکیل استخوان و ترمیم شکستگی دارد. دو نوع سلول استئوپروژنی‌تور شناخته شده است: اولین نوع، سلول‌های مزانشیمی تمایز نیافته هستند (۱۱)؛ در تمام بافت‌های همبند وجود دارند و دومین نوع فقط در مغز استخوان یافت می‌شود؛ به خط تولید استخوان تمایز پیدا می‌کند (۱۰).

هورمون‌ها

استفاده از فاکتورهای رشد در گرافت‌های استخوانی بسیار رایج است. تأثیر آنها بر بافت بستگی دارد به نوع و ترکیب فاکتورهای رشد، دوز مورد استفاده و نحوه استفاده از فاکتورهای رشد. که به اشکال مختلف مثل استفاده سیستمیک، تزریق موضعی در محل نقیصه، استفاده از سیستم‌های پمپ و سیستم‌های حامل مختلف مثل مینی پلیت‌ها، اسفنج کلاژن، بلوک‌های پلی‌لاکتیک و ... استفاده می‌شود. هر کدام از این روش‌ها معایبی دارند در روش استفاده به صورت سیستمیک بافت‌های دیگری غیر از بافت هدف هم متأثر می‌شوند، در مورد تزریق موضعی خطرات تزریق وجود دارد، در مورد سیستم‌های پمپ تکنیک‌های نادرست بالینی

آپاتیت‌تری کلسیم فسفات‌دار بست بهتری برای تکثیر و بقای سلول‌ها به حساب می‌آید که این نتیجه به دلیل تخلخل ژل آلژینات است که فرآیندهای سلولی و متابولیکی را تسریع می‌کند (۳۲).

پلاکت

معمولاً برای به کار بردن پلاکت از پلاسمای غنی شده استفاده می‌کنند. پلاسمای غنی شده از پلاکت حاوی چندین فاکتور رشد از قبیل: فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت، فاکتور رشد تغییر شکل X-1، فاکتور رشد تغییر شکل II، فاکتور رشد شبه انسولینی I و II و فاکتور رشد اندوتلیال عروق می‌باشد که همه‌ی آنها مشوق ترمیم استخوان و البته فاقد پروتئین مورفوژنیک استخوان می‌باشند (۲۶). فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت برای استئوبلاست‌ها خاصیت میتوژنیک دارد و مهاجرت سلول‌های پیشرو مزانشیمی را تحریک می‌کند و تشکیل کالوس را القا می‌کند. فاکتور رشد تغییر شکل X اثر تحریک کننده بر استئوژنز و اثر ممانعت کننده بر جذب استخوان دارد. فاکتور رشد شبه انسولینی I، فاکتور آنژیوژنیک و فاکتور رشد اندوتلیال عروق به طور مؤثری تشکیل استخوان را القا می‌کنند (۲۵). ژل پلاسمای غنی از پلاکت باعث افزایش وسکولاریتی و سلولاریتی می‌شود و مسبب رسوب سریع‌تر املاح معدنی و افزایش دانسیته آن است (۳۹). برخی از محققین معتقدند که پلاسمای غنی از پلاکت فقط وقتی مؤثر است که همراه با گرافت استخوانی استفاده شود (۲۵)، اما برخی از تحقیقات نشان داده‌اند که پلاسمای غنی از پلاکت به تنهایی سبب استخوان‌سازی بهتر و سریع‌تر می‌شود (۳۴). یکی از فاکتورهای رشد موجود در پلاسمای غنی از پلاکت فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت‌ها است. پلاسمای غنی از

فیبروبلاستی (bFGF) به طور موضعی در طول فاز آغازی ترمیم شکستگی و در استخوان تولید می‌شود و مشخص شده است که باعث تحریک سلول‌های سازنده‌ی غضروف و استخوان می‌شود (۳۰). تأثیر فاکتورهای رشد بر بافت‌ها به نوع و ترکیب فاکتورهای رشد، دوز مورد استفاده و نحوه استفاده از آنها بستگی دارد (۳۶).

در مورد جزئیات اثر هورمون‌ها بر استخوان سازی اختلاف نظرهایی وجود دارد. برای ایجاد تغییر در رشد استخوان باید دوزهای بالایی از هورمون‌ها استفاده شود. محققان تأثیر هورمون‌های استروژن، تستوسترون، کورتیزون، تیروکسن، نئومرکازول و هورمون رشد را در استخوان‌سازی بررسی کرده‌اند و مشخص شده است که استروژن و کورتیزول و نئومرکازول تأثیر بیشتری در رشد استخوان دارند. هورمون تیروکسن در دوزهای بالا تأثیر مثبت و در دوزهای پایین تأثیر معکوس بر رشد استخوان دارد (۴۲). هورمون کلسیتونین یک هورمون پلی‌پپتیدی است که از غده تیروئید ترشح می‌شود. این هورمون از طریق مهار کردن فعالیت سلول‌های استئوکلاست و فعال کردن سلول‌های استئوبلاست بر استخوان‌ها تأثیر می‌گذارد و از جذب کلسیم از استخوان جلوگیری می‌کند. غلظت این هورمون در مراحل اولیه ترمیم شکستگی افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد این هورمون در ترمیم استخوان نقش داشته باشد (۱۲). تزریق هورمون‌های جنسی نر موجب افزایش سرعت ترمیم و افزایش تراکم بافت استخوانی در محل ضایعه می‌شود. تعداد استئوبلاست‌ها در بافت ترمیمی افزایش یافته و تعداد استئوکلاست‌ها کاهش پیدا می‌کند. هورمون‌های جنسی نر موجب افزایش سرعت ترمیم و افزایش میزان تشکیل بافت ترمیمی می‌گردد. در افراد بالغ، هورمون‌های جنسی نقش مهمی در رشد اسکلت و حفظ تعادل استخوانی دارند ولی چگونگی عمل هورمون‌های جنسی بر

به دلیل سخت بودن و پیچیدگی‌های آن و در روش سیستم‌های حامل آزاد سازی غیرقابل کنترل و در نتیجه کینتیک استاندارد نشده و واکنش‌های بافتی ناخواسته از معایب آنها است. استفاده از ایمپلنت‌های پوشیده شده با فاکتورهای رشد هم یک راه دیگر استفاده‌ی موضعی از آنها است (۱۵). هورمون رشد بر روی رشد خطی و متابولیسم استخوان نقش دارد. گیرنده‌های هورمون رشد بر روی استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها یافت می‌شود؛ اما بر روی استئوسیت‌های بالغ یافت نمی‌شود. هورمون رشد تکثیر، تمایز سلولی و تولید ماتریکس خارج سلولی را تحریک می‌کند و در فعالیت به کارگیری و باز جذب دوباره‌ی استخوان در استئوکلاست‌ها نقش دارد (۳) هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و سیتوکائین‌های زیادی در ترمیم شکستگی‌ها نقش دارند. فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF)، فاکتور رشد پلاکتی (PDGF)، پپتید رشد استخوانی (OGP) و فاکتور رشد انتقالی ($TGF-\beta$) در تسریع و تکمیل روند ترمیم استخوان مؤثرند (۱). تجویز سیستمیک هورمون رشد باعث تسریع رزئراسیون استخوان می‌شود. استفاده موضعی از فاکتورهای رشد مثل فاکتور رشد شبه انسولینی ۱ ($IGF-1$) و فاکتور رشد تغییر شکل بتا یک ($TGF-\beta 1$) در تحریک متابولیسم استخوان نقش شناخته شده‌ای دارند. هورمون‌های خانواده‌ی IGFS خصوصاً $IGF-1$ واسطه تأثیرات هورمون رشد بر بافت‌های هدفند و سبب تکثیر استئوبلاست‌ها و سنتز ماتریکس استخوانی می‌شوند. TGFS شامل یک گروه هتروژنی از فاکتورهایی است که استفاده سیستمیک و موضعی از آنها بر روی رشد و تمایز بافت‌ها تأثیر دارند. $TGF-\beta 1$ انواع سلول‌های مختلف مثل سلول‌های مزانشیمی، کندروسیت‌ها، استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها که مستقیماً در ترمیم و سازمان‌یابی استخوان نقش دارند را کنترل می‌کند (۳۵). فاکتور رشد پایه‌ای

استئوبلاست ها، استئوکلاست ها فعال و جذب استخوان را موجب می شوند (۹).

نتیجه گیری

استفاده از هر کدام از مواد فوق مزایا و معایب مخصوص به خود را دارد. استفاده از گرافت‌هایی که تنها از یک نوع ماده تشکیل شده اند، معمولاً نتایج قابل قبولی به دست نخواهد داد. برای مثال کلاژن به تنهایی خاصیت القاء و تحریک استخوان سازی ندارد و یا مثلاً اگر کلاژن را تنها با مغز استخوان ترکیب کنیم، این ترکیب ساختار محکمی را برای گرافت استخوانی فراهم نمی کند و کنترل حرکت آن مشکلاتی ایجاد خواهد کرد (۳). به طور مشابه استفاده از ماتریکس دمینرالیزه شده‌ی استخوان در مواردی که ساپورت استخوان نیاز است (مثلاً شکستگی متافیز) مناسب نیست زیرا این ماده هم ساختار مستحکمی را فراهم نمی کند (۴۰). برخی از مواد سبب بروز واکنش التهابی در بافت می شوند؛ مانند: سولفات کلسیم. یا اگر هیدروکسی آپاتیت به تنهایی استفاده شود باعث القای استخوان سازی نخواهد شد (۱۵). هر چند استفاده از موادی مانند اکتا کلسیم فسفات، هنگامی که به تنهایی یا در ترکیب با مواد دیگر استفاده شود، نتایج قابل قبولی در ترمیم نقائص استخوانی به دست می دهد (۱۳). با توجه به نتایج تحقیقات مختلف پیشنهاد می شود که برای ساختن گرافت‌های استخوانی از یک ماده‌ی استئوکنداکتیو به همراه یک ماده‌ی استئو اینداکتیو استفاده شود تا گرافت ساخته شده هم قدرت استخوان سازی داشته باشد و هم استحکام کافی برای محل نقیصه‌ی استخوانی را ایجاد کند و نتایج مطلوب-تری به دست بیاید.

روی بافت استخوانی هنوز ناشناخته باقی مانده است (۳۳). در گذشته اعتقاد بر این بود که تأثیر هورمون‌های جنسی به طور غیرمستقیم و از طریق هورمون‌های دیگر از قبیل هورمون‌های پاراتیروئید، رشد و کلسی‌تونین و ویتامین D اعمال می شود. امروزه وجود گیرنده‌های آندروژن در سلول‌های شبه استئوبلاست‌ها و کندروسیت‌ها در محیط کشت مشخص شده و شواهدی از اثرات مستقیم هورمون‌های استروئیدی (مانند هورمون‌های جنسی نر) روی رشد اسکلت، مستقل از هورمون رشد و سایر عوامل اثبات شده است. تستوسترون و استروژن در محیط کشت اثرات آنابولیکی بر ترمیم و ساخته شدن بافت استخوانی دارند. تأثیر این هورمون‌ها با جنسیت ارتباط مستقیم دارد. هورمون پاراتیروئید سبب افزایش دانسیته‌ی استخوان می شود و ریسک شکستگی استخوان (لگن) را کاهش می دهد (۲۱). کاهش هورمون‌های تیروئید در خون موجب تأخیر در ترمیم بافت استخوانی، کاهش فعالیت استخوان سازی و کاهش ضخامت پریوست استخوانی، وزن استخوانی و عدم تکامل استخوانی می شود. هورمون‌های تیروئیدی یکی از مهم ترین تنظیم کننده‌های تکامل و متابولیسم استخوان می باشند. افزایش هورمون‌های تیروئید در خون، میزان جذب استخوان را افزایش می دهد. مکانیسمی که از طریق آن هورمون‌های تیروئید فعالیت و رشد استئوکلاست‌ها را موجب می شوند، هنوز ناشناخته مانده است. برخی از پژوهشگران معتقدند اثر هورمون‌های تیروئید در جذب استخوان از طریق عمل واسطه ای استئوبلاست‌ها اعمال می شود. بدین معنی که هورمون‌های تیروئید بر روی استئوبلاست‌ها اثر می کنند و در حضور

منابع

1. Albrektsson T., Johansson C., (2001) Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Journal of Eur Spine* (10) S96–S101
2. Allison D., Lindberg A., Samimi B., Mirzayan R., Menendez L. (2011) A Comparison of Mineral Bone Graft Substitutes for Bone Defects. *Journal of US Oncology & Hematology* 7 (1) 38-49
3. Andreassen T. T., Oxlund H. (2001) The effects of growth hormone on cortical and cancellous bone. *Journal of Musculoskel Neuron Interact* 2 (1) 49-58
4. Ansari M. H. (2007) Spontaneous osteogenesis of mandible without bone graft a case report. *Journal of Iran Surgery* 15 (3) (text in persian)
5. Babaei S., Changizy S., (2007) Comparative Assessment of the Healing process of Two Kinds of Endochondral Bone Allografts with each other and with Intramembranous Allografts Assisted by Double Deantigenization . *Jurnal of Iran medicine school* 14 (55) 35-45 (text in persian)
6. Banwart J.C., Asher M.A., Hassanein R.S. (1995) Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity:A statistical evaluation. *Jurnal of Spine* 20 (1)1055-1060
7. Bigham A., Dehghani S., Shafiei Z., Torabi Nezhad S., (2008) Xenogenic Demineralized Bone Matrix and Fresh Autogenous Cortical Bone Effects on Experimental Bone Healing: Radiological, Histopathological and Biomechanical Evaluation. *Journal of Orthopaed Traumatol* (9) 73-80
8. Boyne P. J., (2001) Application of bone morphogenetic proteins in the treatment of clinical oral and maxillofacial osseous defects. *Journal of Bone J Surg Am* 83-A(Suppl 1(Part 2)):S146- S150
9. Chapurlat R. D., Garnero P., Breart G., Meunier P. J., Delmas P.D., (2000) Serum estradiol and sex hormone-binding globulin and the risk of hip fracture in elderly women:the EPIDOS study. *Journal of Bone Miner Res* 15:1835-1841
10. Emami M. J., Oryan A., Saeidnasab H., Meimandiparizi A., (2002) The effect of bone marrow graft on bone healing: A radiological and biomechanical study. *Journal of Iranian Medical Sciences* 27 (2) 63-66
11. Emami M.J., Oryan A., Meimandi-Parizi A., Kasraei R., Tanidah N. Mehrabani D., (2006) Bone marrow transplantation and autogenic cancellous bone grafting in healing of segmental radial defects: an animal study. *Journal of Applied Animal Research* 30 (1) 69-72
12. Erfani M. A., Namazi H., Vesal M. T., (2005) Efficacy of calcitonin on bone healing in guinea pigs. *Jurnal of curio of science* 11 (2) 11-17 (text in persian)
13. Guillemin G., Patat J. L., Fournie J., Chetail M., (1987) The use of coral as a bone graft substitute. *Journal of Biomed Mat Res* 21 557-67
14. Hegde C., Shetty V., Wasnik S., Ahammed I., Shetty V., (2012) Use of bone graft substitute in the treatment for distal radius fractures in elderly. *Journal of Eur J Orthop Surg Traumatol* 2 112-114
15. Herten M., Rothamel D., Schwarz F., Friesen K., Koegler G., Becker J., (2009) Surface- and nonsurfacedependent in vitro effects of bone substitutes on cell viability. *Journal of Clin Oral Investig* 13 (2) 149-155
16. Iijima M., Moriwaki Y., Kuboki Y., (1996) Oriented growth of octacalcium phosphate on and inside the collagenous matrix in vitro. *Journal of Connect Tissue Res* 32 519-524
17. Keating J., McQueen M., (2001) Substitutes for Autologous Bone Graft in Orthopedic Trauma. *Journal of Bone and Joint Surgery* 83-B (1) 3-8

18. Khoshzaban A., Mehrzad S., Tavakoli V., Heidari S., Behrouzi G., Bashtar M., (2011) The comparative effectiveness of demineralized bone matrix, beta-tricalcium phosphate, and bovine-derived anorganic bone matrix on inflammation and bone formation applying a paired calvarial defect model in rats. *Jurnal of Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry* (3) 69-78
19. Laureano Filho J.R., Andrade E.S., Albergaria-Barbosa J.R., Camargo I.B., Garcia RR., (2009) Effects of demineralized bone matrix and 'Rcinus communis' polymer on bone regeneration:a histological study in rabbit calvaria. *Jurnal of Oral Sci* 51 (3) 451-6
20. Lin A., Meyer M.A., Vecchio K., (2006) Mechanical properties and structure of *Strombus gigas*, *Tridacna gigas*, and *Halitos refuscens* seashells:a comparative study. *Jurnal of Mater Sci Eng C* 26 1380-1389
21. Lindi H., In-Lu Amy L., Theodore X., Philip I., (2006) The Effect of Parathyroidectomy on Bone Fracture Risk in Patients with Primary Hyperparathyroidism.*Jurnal of Arch Surg* 141 885-891
22. Lins L., Santana E., Falcao A., Martins P., Calmon T., Sarmento V., (2003) The Influence of Hydroxyapatite on Bone Healing in Titanium Implants As Shown By Scanning Electron Microscopy. *Jurnal of Braz J morphol Sci* 20 (1) 25-29
23. Magin M. N., Delling G., (2001) Improved lumbar vertebral interbody fusion using rhOP-1: a comparison of autogenous bone graft, bovine hydroxylapatite (Bio-Oss), and BMP-7 (rhOP-1) in sheep. *Jurnal of Spine* 26 (5) 469-78
24. Mehdi Nassab SA, Hadadpour AA. Transposition of ipsilateral fibula for major tibial defect. *Iranian Journal Of Orthopaedic Surgery* 2008, 7(1):35-37. (text in persian)
25. Meimandi Parizi A., Oryan A., Shafiei-Sarvestani Z., Bigham A., (2012) Human Platelet Rich Plasma Plus Persian Gulf Coral Effects on Experimental Bone Healing in Rabbit Model: Radiological, Histological, Macroscopical and Biomechanical Evaluation. *Jurnal of Mater Sci Mater Med* (23) 473-483
26. Meimandi-Parizi A. H., Oryan A., Shafiei-Sarvestani Z., Bigham A.S., (2012). hPRP and hydroxyapatite or natural coral combination for bone healing in rabbits: Radiological, biomechanical, macroscopical and histopathological evaluations. *International Journal of Surgery* 10 (2) 96-101
27. Nagata M., Messori M., Okamoto R., (2009) Influence of the proportion of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: an immunohistochemical analysis in rat calvaria. *Jurnal of Bone* 45 339-45
28. Oryan A., Meimandi-Parizi A.H., Shafiei-Sarvestani Z., Bigham A.S., (2011). Eeffects of combined hydroxyapatite and human platelet rich plasma on bone healing in rabbit model: radiological, macroscopical, histopathological, ultrastructural and biomechanical studies. *Jurnal of Cell and Tissue Banking*. DOI : 10.1007/s10561-011-9285-x.
29. Oryan A., Moshiri A., Memandi-Parizi A.H., (2012). Graft selection in ACL reconstructive surgery: Past, Present and Future. *Current Orthopaedic Practice*, In Press.
30. Parikh S., (2002) Bone Graft Substitutes: Past, Present, Future. *Jurnal of Postgraduate Medicine*; 48 (2) 142-148
31. Rosiris D., Marcos B., Abrao R., Maria A., (2003) Induction of osteogenesis by demineralized homologous and xenograft bone matrix. *Jurnal of Acta Cirurgica Brasileira* 18 (3) 178-182

32. Sadeghi H., Bahramian H., Hashemibeni B., Esfandiary E., Aliakbari F., (2010) Comparison of human osteoblast proliferation in alginate and hydroxyapatite-tricalcium phosphate scaffolds . *Journal of Isfahan Medical School* 28 (111) 579-590 (text in persian)
33. Schmidmaier G., Wildemann B., Heeger J., Gabelein T., Flyvbjerg A., Bail H., Raschke M., (2002) Improvement of Fracture Healing by Systemic Administration of Growth Hormone and Local Application of Insulin-Like Growth Factor-1 and Transforming Growth Factor-B1. *Jurnal of Bone* 31 (1) 165-172
34. Shafiei-Sarvestani Z., Oryan A., Bigham A., Meimandi-Parizi A., (2012) The Effect of Hydroxyapatite-hPRP, and Coral-hPRP on Bone Healing in Rabbits: Radiological, Biomechanical, Macroscopic and Histopathologic Evaluation. *International Journal of Surgery* 2 96-101
35. Shafieisarvestani Z., Meimandiparizi A.H., Oryan A., Bighamsadegh A., (2011). Effect of human platelet rich plasma on bone healing in rabbits. *Online Journal of Veterinary Research* 3 239-248
36. Simon A., Manigrasso M., O'Connor J., (2002) Cyclo-Oxygenase 2 Function Is Essential for Bone Fracture Healing. *Journal of Bone and Mineral Research* 17 (6) 963-976
37. Simpson A., Mills L., Noble B., (2006) The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing. *Journal of Bone And Joint Surgery* 88-B (6) 701-705
38. Sobhani A., Ragi A., Radmehr B., (2000) Histological evaluation of applying gelatin and bone matrix in healing of bone defect in tibia of rabbit. *Medicine Journal of cell* (6) 91-96 (text in persian)
39. Souza T., Ferreira G., Sakamoto S., Albuquerque V., Bomfim S., Andrade A., (2011) Radiographic and Densitometric Aspects of Experimental Radial Fractures of Dogs Treated With Platelet-Rich Plasma. *Jurnal of ARS Veterinaria Jaboticabal SP* 27 (1) 1-6
40. Sun J.S., Tsuang Y.H., Liao C.J., Liu H.C., Hang Y.S., Lin F.H., (1997) The effects of calcium phosphate particles on the growth of osteoblasts. *Jurnal of Biomed Mater Res* 37 (3) 324-34
41. Tadjoedin E.S., De Lange G.L., Bronckers A.L.J.J., Lyaruu D.M., Burger E.H., (2003) Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss®) as bone substitute for sinus floor elevation. *Jurnal of Clin Periodontol* 30 (3) 261-70
42. Tapp E., (1966) The Effects of Hormones on Bone in Growing Rats. *Jurnal of Bone and Joint Surgery* 48 (3) 526-531
43. Watabe N., (2000) Studies in Shell Formation. Crystal-Matrix Relationships in the Inner Layers of Mollusk Shells. *Jurnal of Calcified Tissue International* 29 163-167
44. Weibrich G., Hansen T., Kleis W., Buch R., Hitzler W.E., (2004) Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Jurnal of Bone* 34 (4) 665-671
45. Wong R.W., Rabie A.B., (2005) Early healing pattern of statin-induced osteogenesis. *Br Jurnal of Oral Maxillofac Surg* 43 46-50

